

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月12日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591933

研究課題名（和文） 経脈絡膜上腔ドラッグデリバリーの開発

研究課題名（英文） Experimental study of suprachoroidal drug delivery

研究代表者

林 篤志（HAYASHI ATSUSHI）

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）・教授

研究者番号：20283773

研究成果の概要（和文）：

眼内局所に薬物を比較的長期間投与するための方法として、強膜と脈絡膜の間に相当する脈絡膜上腔にコラーゲンゲルと薬物を投与する方法を考案し、眼内でのゲルおよび薬物の動態を組織学的に検討した。その結果、コラーゲンゲルは脈絡膜上腔投与後3か月で消失することがわかった。また、ゲルに混合したステロイド剤の眼内投与は、ステロイド剤単体を投与した場合と比較して投与後3か月で眼内濃度に有意差がないことがわかった。

研究成果の概要（英文）：

We designed a method to deliver drugs into the eye for a relatively long term by delivering collagen gel and steroid into the suprachoroidal space between the sclera and the choroid. We examined the injected collagen gel histologically. As results, we found the collagen gel disappeared from the suprachoroidal space by 3 months after injection. The intraocular concentrations of the steroid mixed with the collagen gel were not significantly different from those of the steroid only during 3 months.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：眼組織学

1. 研究開始当初の背景

眼底疾患の治療においても、他分野と同様に生物学的製剤である抗体治療が盛んに行われている。昨年および今年初めから滲出型加齢黄斑変性に対して抗 VEGF 薬が保険適

応になって以降、その使用が急増した。抗 VEGF 抗体は抗血管新生効果が高く、滲出型加齢黄斑変性に対して臨床上有用であることが明らかにされつつある。しかし、現在の投与法は抗体溶液をそのまま眼内に注射す

るため、時間経過とともに眼内から消失していき、2 か月後には再投与が必要となってしまう。そのため、改善した視力を維持するために患者は約2 か月ごとに眼内に注射を受ける必要がある。これは、患者にとっても医師にとっても大変な労力が必要であり、注射の度に失明の危険をもつ感染性眼内炎の危険がある。眼科においては眼局所投与の必要性和有用性は高く、どのような製剤を用いるにせよ、リスクのできるだけ少ない眼内局所投与法を開発することが必要である。硝子体腔内に徐放製剤を注入したり、徐放器具を強膜に縫着するという方法があり、臨床治験もされているが、硝子体腔内で移動したり、手術操作に伴う合併症の危険などがあり、さらにより投与法の開発が望まれる。

脈絡膜上腔は強膜と脈絡膜の間に存在し、本来腔として存在しているわけではなく、強膜と脈絡膜は動静脈の通過により接着しているだけなので、脈絡膜から出血や滲出液が生じると脈絡膜上腔に貯留し、脈絡膜下出血や脈絡膜剥離を生じる。この脈絡膜上腔を薬物投与のルートとして活用することは、すでに2-3の研究者により報告されている。まず、ウサギを用いてカニューラを脈絡膜上腔に挿入し、ポリマー(poly ortho esters)を注入し、その組織変化を検討した報告がある(Einmahl S et al. IOVS, 2002)。その結果、このポリマーを脈絡膜上腔に注入した場合にその内側の網膜には組織学的変化を認めず、脈絡膜上腔を薬物投与のルートとして活用できる可能性が示唆された。また、別の報告では、脈絡膜上腔に投与するために開発した光源付きカテーテルを用いてブタの脈絡膜上腔にステロイドを投与した結果では、問題なく実施できた場合には組織学的変化を認めず、投与したステロイドも血中濃度は非常に低かったが、眼内からは120日間検出可

能であったと報告している(Olsen TW et al. Am J Ophthalmol, 2006)。

以上のような背景のもと、我々は、以前よりドラッグデリバリーの開発に興味をもち、網膜下へのナノ粒子の注入などの研究を行ってきた。本研究では、まず、脈絡膜上腔用の特殊なカテーテルを用いて脈絡膜上腔にコラーゲンを注入し、その生体適合性を組織学的に検討するとともに網膜脈絡膜循環に与える影響を検眼鏡および蛍光眼底撮影により検討する。その後、このコラーゲンに薬物を混合し、その眼内薬物動態を検討し、動物を用いた疾患モデルにおける効果を検討する。なお、我々が用いるコラーゲンは、高研(株)から提供されるもので低温でゲル状であるが、体温で固形となる特徴を有し、すでに臨床で人体に使用されているものである。

2. 研究の目的

眼内に薬物を投与する場合に、いかに長期に有効濃度を投与できるかが大きな課題となっている。我々は、体温で固化するコラーゲンを用いて、ウサギ眼球の脈絡膜上腔内に薬物を混合したゲルを投与するドラッグデリバリーの方法を考案し、その組織学的検討を行うとともに、薬物動態を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

平成22年度

本研究では有色ウサギ(1.5-2.0 kg)を用いる。手術により強膜を露出させ、特殊なカテーテルによりコラーゲンを脈絡膜上腔に投与し、網膜、脈絡膜に与える組織学的変化を経時的に検討した。

手術方法： ケタラールおよびセラクターを用いた全身麻酔下にて結膜切開し、眼球を上転させ、強膜切開を行う。脈絡膜を露出させ、脈絡膜上腔にカテーテルを挿入し、眼

底後極部付近まで挿入し、眼底観察下でカテーター先端を確認して脈絡膜上腔にコラーゲンを注入した。その後、ゲルを眼球外より若干温めることでゲルを固形化させた。

経過観察： 手術直後、術後1週、2週、1か月、2か月、4か月で眼底写真を取り、検眼鏡的变化を経時的に観察した。また、組織学的検討のため、上記の術後期間でウサギを安楽死させ、眼球を摘出した。

組織学的検討： 経時的に摘出した眼球をホルマリン固定し、パラフィン包埋後、組織切片を作成し、ヘマトキシリン エオジン（HE）染色により網膜および脈絡膜の形態および組織障害の有無、脈絡膜上腔に注入したコラーゲンを観察した。また、組織障害とし、網膜におけるアポトーシスを検討するため、網膜切片でTUNEL染色を行った。

平成23年度以降

平成22年度に得られた結果をもとに眼科臨床で用いているステロイド剤であるトリアムシノロンを混合したコラーゲンを作成し、トリアムシノロン溶液と比較して、その眼内薬物動態および組織障害の有無などについて検討する。薬物動態は、投与後1か月、2か月、3か月でウサギを安楽死させ、眼球を摘出し、ドライアイスで眼球を冷凍させた後、強膜、角膜、水晶体を除去することで、硝子体、脈絡膜、網膜に含まれる薬物濃度を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。組織障害はTUNEL染色で検討した。

4. 研究成果

1) ウサギ脈絡膜上腔におけるコラーゲン残存期間の検討

ウサギの眼球組織のHE染色標本より、コラーゲンは脈絡膜上腔投与後1週、2週では著明に脈絡膜上腔にコラーゲンを認めたが（図1、2）、1か月以降ではかなりコラーゲンが減少した（図3、4）。投与後3か月では消失していた（図5）。TUNEL染色では要請細胞を認めず、網膜にアポトーシスはいずれの時点でも生じていなかった。

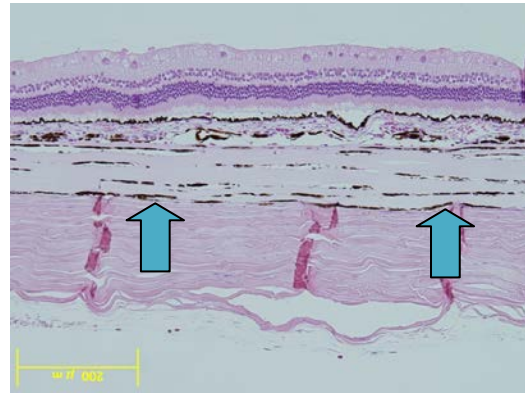


図1 手術直後のコラーゲンゲル

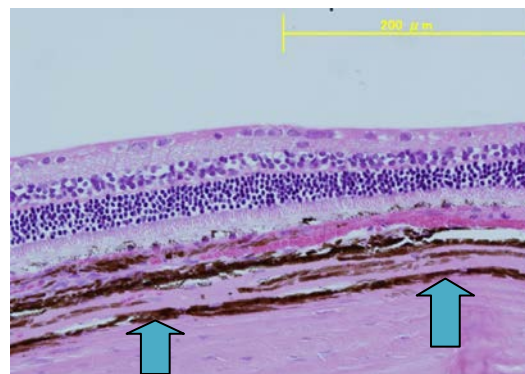


図2 術後1週のコラーゲンゲル

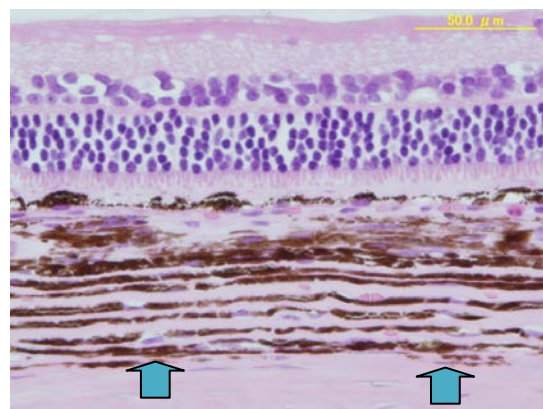


図3 術後2週のコラーゲンゲル

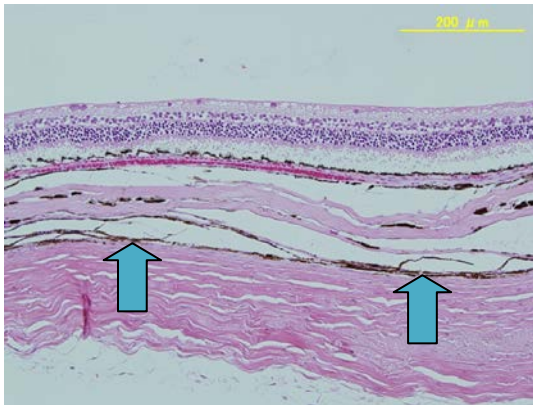


図4 術後1か月のコラーゲンゲル

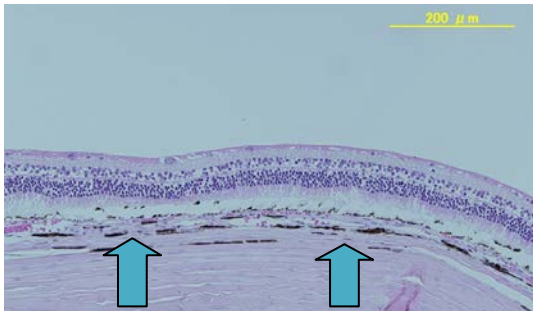


図5 術後2か月のコラーゲンゲル

2) ステロイド混合コラーゲンゲルの眼内投与後の薬物動態

コラーゲンゲルにトリアムシノロンを混合し、そのコラーゲンゲルをウサギ眼内に投与する群と同量のトリアムシノロン溶液のみをウサギ眼内に投与する群を作成した。投与後1、2、3か月後に眼球を摘出し、硝子体および脈絡膜、網膜内のトリアムシノロン濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定した結果、両群とも投与後3か月で眼内からほとんど消失し、両群間で有意差は認められなかった。したがって、コラーゲンゲルにトリアムシノロンを混合しても溶液のままでも眼内薬物動態は有意差がなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)
投稿準備中

〔学会発表〕(計 1件)

Hayashi A., and Sato S

Histologic changes in the Retina and the Choroid After Atelocollagen Gel Injection

into the Suprachoroidal Space of Rabbit Eyes.

10th The International Symposium on Ocular Pharmacology and Therapeutics. 2013,3,7-10, Paris, France.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 篤志 (HAYASHI ATSUSHI)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：20283773

(2) 研究分担者

御手洗 慶一 (MITARAI KEIICHI)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号：50527918