

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03015

研究課題名(和文) 難治性網膜疾患治療を目指した経強膜多剤徐放デバイスの開発

研究課題名(英文) Development of transscleral multi-drug delivery device for retinal disease treatment

研究代表者

永井 展裕 (Nagai, Nobuhiro)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30400039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は経強膜マルチドラッグデリバリーシステムを臨床へ実用化することを目的とした。デバイスを柔軟なシリコン素材で作成しステンレスワイヤーを組み込むことで、眼球曲率に合わせて自在に変形するデバイスを開発した。ウサギとサルを用いて1年間の薬物網膜移行性を確認した。ウサギとサルを用いて1年間の眼局所毒性を認めないことを確認した。網膜変性ウサギを用いて44週間の網膜保護効果を確認した。デバイス周囲に形成する瘢痕は網膜機能に影響しないことを確認した。シクロスポリンAの共徐放によって薬物網膜移行が促進されることが示唆された。治験用デバイスは24か月間安定で生物学的安全性試験では毒性を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Purpose is the evaluation of a transscleral multi-drug delivery device for clinical practice. We developed a flexible device that can fit on the curvature of the eyeball by using a silicon material and stainless wire. Pharmacokinetics in the eye was evaluated for 1 year using rabbits and monkeys. Safety in the retinal function 1 year after device implantation was confirmed. Pharmacological effects in transgenic retinal degeneration model rabbits was confirmed. Scar formation around the device did not affect the retinal function. Enhanced drug delivery by simultaneous cyclosporine A release was indicated. Devices for clinical use was stable for 24 months and safe biologically.

研究分野：網膜ドラッグデリバリーシステム

キーワード：薬物送達 生体材料 眼科学 網膜

1. 研究開始当初の背景

視覚は情報の8割を占めるため視覚障害は生活の質を著しく低下させる。失明原因の上位は網膜疾患である。中でも網膜色素変性症 (Retinitis Pigmentosa ; RP) は、遺伝性・進行性の疾患で、典型的 RP では夜盲と視野狭窄を主症状として発症し、長い年月を経て中心視力も徐々に障害され、場合によっては失明に至る重篤な疾患である。暗視野で機能する杆体細胞がまず変性し夜盲と視野狭窄が生じ、次いで視力や色覚に関連し明視野で機能する錐体細胞が2次的に障害される。このように RP は、特に錐体細胞機能の低下が患者の QOL を著しく低下させる重篤な疾患であるが、今日まで有効な治療法が確立されていない。従って現時点の治療は薬物投与による網膜変性の抑制 (網膜保護治療) が中心である。

眼疾患に対しては薬物の点眼による治療が一般的である。しかし点眼剤は使用を忘れたり、視野狭窄などの視機能障害が強い患者や高齢者には正確に点眼できないという服薬アドヒアランスの問題がある。また、角膜や結膜の上皮細胞バリアによって網膜への薬剤移行の効率が悪くなり、点眼では効果を示しにくい可能性も考えられる。一方で、全身投与を試みても、血液房水柵 (Blood aqueous barrier) や血液網膜関門 (Blood retinal barrier) のため有効濃度になるほど網膜に移行しない場合が多い。その結果、投与量が増えるため全身の副作用を考慮する必要が出てくる。このように網膜変性の進行を抑制する薬物が報告されてもなかなか実用化されないのは、投与方法にも課題があるためと考えられる。

最近の網膜疾患治療では、硝子体注射、硝子体内インプラント、結膜注射などが利用されるようになった。硝子体注射は、加齢黄斑変性症などの治療で実施されているが、硝子体内に抗 VEGF 抗体を直接注射する方法である。視力改善効果は得られているが反復投与が必要であり、眼内への感染症等の合併症リスクがあることや高額な医療費が課題としてあげられる。硝子体内インプラントは、眼内操作などに伴う合併症リスクが報告されている。また結膜注射は、結膜と周囲組織への薬剤吸収が多く、薬剤が網膜へ十分移行しない場合や高用量投与による副作用がある。以上から、安全で持続的な網膜への薬物投与方法の開発が重要である。

この問題を解決する方法として我々は経強膜ドラッグデリバリーシステムの開発を行ってきた。基材には、光硬化性樹脂のポリエチレングリコールジメタクリレート (Polyethylene glycol dimethacrylate; PEGDM) とトリエチレングリコールジメタクリレート (Triethylene glycol dimethacrylate; TEGDM) を用いた。光重合した TEGDM は低分子化合物が浸透しにくい性質を持ち、光重合した PEGDM は低分子化合物が浸透する性質を有

する。この性質を応用し、TEGDM と PEGDM の混合比を調整することで様々な低分子化合物の徐放化を報告してきた。また、ラット網膜光障害モデルにおいて、ウノプロストン (UNO) とエダラボン (EDV) の共徐放デバイスは単剤徐放デバイスよりも相乗的に網膜保護効果を示すことを報告した。

2. 研究の目的

本研究は、経強膜マルチドラッグデリバリーシステムを臨床現場へ実用化することを目的に、下記の点について検討を行った。

(1) ヒト眼球に対応するデバイス形状のオーダーメイドデザイン

(2) デバイスの強膜上固定方法の検討

(3) デバイス周囲に形成する Fibrosis の影響

(4) 動物モデルを用いた網膜保護エビデンスの検討

(5) 治験用デバイスの安定性

3. 研究の方法

(1) ヒト眼球に対応するデバイス形状のオーダーメイドデザイン

ヒト眼球の MRI データから 3D プリンターを用いて眼球モデルを作成した。眼球の曲率に合わせた鋳型を作成し、デバイスを作成した。

(2) デバイスの強膜上固定方法の検討

デバイス後端部に縫合糸をかける溝を作り、デバイスを強膜上に留置後、7-0 縫合糸でデバイスを固定する方法を検討した。最長で1年間埋植後に眼球摘出し、デバイスの密着状態を確認した。

(3) デバイス周囲に形成する Fibrosis の影響

デバイス埋植後のデバイス周囲の癭瘻 (Fibrosis) を病理標本で確認した。また、網膜機能などの眼局所毒性を1年間検討した。

(4) 動物モデルを用いた網膜保護エビデンスの検討

RP の動物モデルである変異型ロドプシン遺伝子 [P347L] トランスジェニックウサギにウノプロストン徐放デバイスを埋植し、44 週間の網膜機能 (網膜電図) と網膜組織 (光干涉断層計) を評価した。また、正常ウサギにウノプロストン徐放デバイスを埋植後、24 週間の眼内薬物動態を検討した。また、サルにウノプロストン徐放デバイスを埋植後、1 年間の眼内薬物動態を検討した。

(5) 治験用デバイスの安定性と安全性

ヒト眼球に対応したウノプロストン徐放デバイスの安定性を検討した。25 60%RH で 3, 6, 12, 18, 24 か月間保存後にデバイスを取り出し、ウノプロストン徐放性、ウノプロストン含量、無菌性を評価した。また、デバイス抽出物を用いた生物学的安全性試験を検討した。

4. 研究成果

(1) ヒト眼球に対応するデバイス形状のオーダーメイドデザイン

眼球の曲率は近視や疾患等で個人差があることや、徐放薬物が効率よく眼内に移行するためにはデバイスが強膜上へ密着することが重要であることから、デバイスの曲率をオーダーメイドに調整する方法を検討した。眼球のMRIデータから眼球を3D造形し、これを鋳型にデバイスの曲率を調整することができた。ただし、MRIデータの取得は容易ではないため、より簡便な設計方法を検討する必要があると考えられた。その1つとして、デバイスをシリコンのような柔軟な素材で作成し、ステンレス製ワイヤーを組み込んで自在に曲げることができるデバイスを開発し、特許を取得した。

(2) デバイスの強膜上固定方法の検討

眼球運動によりデバイスが埋植部位から移動したり、強膜上から外れたりする可能性があるため、デバイスを強膜上に固定する方法を検討した。デバイス後端に糸掛け用の溝を付与し、強膜上に縫合して固定する方法を検討した結果、埋植1年後に置いてもデバイスは埋植部位から移動することなく強膜に密着していた。埋植数か月を超えると、縫合糸は生体吸収されて消失していたが、デバイス周囲に形成する癒痕によってデバイスがカプセル化されており、移動が抑制されたと考えられる。

(3) デバイス周囲に形成するFibrosisの影響

デバイス埋植後は異物反応によってデバイス周囲に癒痕が形成される。癒痕形成に伴う眼局所毒性を網膜電図と光干渉断層計によって検討した。その結果、サルに対する1年間の検討では、網膜電図の振幅値は埋植前と比較して有意な低下は見られず、網膜機能は正常であることを確認した。また、光干渉断層計による非侵襲的な網膜組織の観察の結果、網膜の組織構造や厚みに異常は見られなかった。また、デバイス周囲の組織を観察した結果、埋植2週目以降は炎症細胞は消失して安定な癒痕となっていることが示唆された。以上から、デバイス埋植後に癒痕は形成されるものの眼局所毒性は見られないことが分かった。

(4) 動物モデルを用いた網膜保護エビデンスの検討

ウノプロストンは網膜保護効果があることが示唆されている。そこでウノプロストン徐放デバイスをRPモデルウサギに埋植し網膜保護効果を検討した。網膜電図による網膜機能の検査から、ウノプロストン徐放デバイスはプラセボデバイスおよび未処置群対比、32週間にわたって振幅値の低下を優位に抑制した。また、44週目の網膜層厚みを評価した結果、視細胞が多く集まるVisual streak部位においてウノプロストン徐放デバイスは有意な高値を示した。正常ウサギに対する眼内動態を検討した結果、24週間にわたって

持続的に網膜および脈絡膜内にウノプロストンを検出した。サルに対する眼内動態を検討した結果、1年間にわたって持続的に網膜および脈絡膜内にウノプロストンを検出した。また前眼部への移行は少ないことがわかり、後眼部局所に薬物を送達できていることが示唆された。ラットに対する眼内動態の検討では、免疫抑制剤シクロスポリンAを共徐放した群で、薬物の移行が促進されることが示唆された。以上から、本DDSは、1年間にわたって安全かつ持続的に網膜へ薬物を送達することが可能であり、シクロスポリンAなどの薬物をマルチ徐放することによって薬物移行を促進する可能性が示唆された。

(5) 治験用デバイスの安定性と安全性

24か月間保存後のウノプロストン徐放性、ウノプロストン含量、無菌性は保存前と比較して有意な差は認められず、24か月間安定であることを確認した。また、V79細胞のコロニー形成試験の結果、デバイス抽出物はコロニー形成を阻害しないことがわかった。以上から、治験用デバイスとして安定かつ安全であることが示唆された。

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8件)

1. Yuanhui Song, Nobuhiro Nagai, Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “In situ forming injectable chitosan-gelatin hydrogels for sustained intraocular drug delivery through double crosslinking strategy” *Materials Science & Engineering C*, 88, 1-12 (2018). 査読有, DOI: 10.1016/j.msec.2018.02.022.
2. Nobuhiro Nagai, Shinji Yamada, Junichi Kawasaki, Eri Koyanagi, Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe. “Pharmacokinetic and Safety Evaluation of a Transscleral Sustained Unoprostone Release Device in Monkey Eyes” *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59(2), 644-652 (2018). 査読有, DOI: 10.1167/iovs.17-22429.
3. Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji. “A self-deploying drug release device using polymeric films” *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(2), 780-786 (2018). 査読有, DOI: 10.1002/jbm.b.33887.
4. Shinji Yamada,[†] Nobuhiro Nagai,[†] Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Kozue Imura, Masafumi Goto, Toshiaki Abe. ([†]equal contribution) “Controlled basic fibroblast growth factor release device made of

- poly(ethyleneglycol) dimethacrylates for creating a subcutaneous neovascular bed for cell transplantation” Journal of Biomedical Materials Research Part A, 105(11), 3017-3024 (2017). 査読有, DOI: 10.1002/jbm.a.36153.
5. Hirokazu Kaji, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe. “Drug delivery devices for retinal diseases” Advanced Drug Delivery Reviews, DOI: 10.1016/j.addr.2017.07.002. (2017). 査読有, DOI: 10.1016/j.addr.2017.07.002.
 6. Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Yoshimasa Yamazaki, Hirokazu Kaji, Junichi Kawasaki, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe. “Physicochemical and biological characterization of sustained isopropyl unoprostone-release device made of poly(ethyleneglycol) dimethacrylates” Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 28(107), 1-7 (2017). 査読有, DOI: 10.1007/s10856-017-5919-2.
 7. Li-Jiun Chen, Shuntaro Ito, Hiroyuki Kai, Kuniaki Nagamine, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji. “Microfluidic co-cultures of retinal pigment epithelial cells and vascular endothelial cells to investigate choroidal angiogenesis” Scientific Reports, 7(1):3538 (2017). 査読有, DOI: 10.1038/s41598-017-03788-5.
 8. Nobuhiro Nagai, Eri Koyanagi, Yasuko Izumida, Junjun Liu, Aya Katsuyama, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Noriko Osumi, Mineo Kondo, Hiroko Terasaki, Yukihiko Mashima, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe. “Long-term Protection of Genetically-Ablated Rabbit Retinal Degeneration by Sustained Transscleral Unoprostone Delivery” Investigative Ophthalmology & Visual Science, 57(15), 6527-6538 (2016). 査読有, DOI: 10.1167/iovs.16-20453.

〔学会発表〕(計 23 件)

国際学会 (8 件)

1. Nobuhiro Nagai, Zhaleh Kashikouli Nezhad, Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Biodegradable injectable sheet as transscleral drug delivery system” 2017 ARVO annual meeting (2017)
2. Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Aya Katsuyama, Shinji Yamada, Toru Nakazawa, Mineo Kondo, Hiroko Terasaki, Yukihiko Mashima, and Toshiaki Abe “Protective Effects of Sustained Unoprostone Release Device in Rhodopsin Pro347Leu Transgenic Rabbits” 2016 ARVO annual meeting

(2016)

3. Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Remi Motoyama, Eri Koyanagi, Aya Katsuyama, Shinji Yamada, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “Polymeric device based on UV-cured poly(ethyleneglycol) dimethacrylates for controlled intraocular drug delivery” Pacificchem2015 (2015)
4. Shinji Yamada, Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Aya Katsuyama, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “Controlled drug release device fabricated with PDMS mold-based UV curing of polyethyleneglycol dimethacrylates” BMES 2015 annual meeting (2015)
5. Toshiaki Abe, Shinji Yamada, Hirokazu Kaji, Aya Katsuyama, Matsuhiko Nishizawa, Nobuhiro Nagai “Sustained release system of ranibizumab for transscleral administration” BMES 2015 annual meeting (2015)
6. Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe “Polymeric Device for Transscleral Drug Delivery to the Posterior Segment of the eye”ソウル大学・香港大学・東北大学 Joint Conference in Sendai 2015 (2015)
7. Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Eri Koyanagi, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Takahito Imagawa, Akiko Morikawa, Toru Nakazawa, Yukihiko Mashima, Toshiaki Abe “Pharmacokinetic and Safety Evaluation of a Transscleral Sustained Unoprostone Release Device” 2015 ARVO annual meeting (2015)
8. Toshiaki Abe, Aya Katsuyama, Hideyuki Onami, Toru Nakazawa, Nobuhiro Nagai “Transscleral Sustained Ranibizumab Delivery Device Using Polyethyleneglycol Dimethacrylates” 2015 ARVO annual meeting (2015)

国内学会 (15 件)

1. 西條早絢、永井展裕、Song Yuanhui、榎弘和、西澤松彦、阿部俊明「再注入可能な持続性薬物徐放デバイスの開発と経強膜型網膜 DDS への応用」第 39 回日本バイオマテリアル学会大会 (2017) Oral
2. 西條早絢、永井展裕、榎弘和、阿部俊明「再注入可能および持続的なシクロスポリン A 徐放カプセルの開発」第 33 回日本 DDS 学会学術集会 (2017) Poster
3. 永井展裕、山田慎二、西條早絢、川崎淳一、榎弘和、中澤徹、西澤松彦、阿部俊明「ウノプロストン徐放デバイスのサル強膜上 12 箇月間留置における眼内動態と眼毒性評価」第 33 回日本 DDS 学会学術集会 (2017) Poster
4. 西條早絢、永井展裕、Song Yuanhui、阿部俊明「再注入可能な持続性薬物徐放デバイスおよび再充填用インジェクタブ

- ルゲルの開発」第 16 回日本再生医療学会総会 (2017) Poster
5. **永井展裕**、**梶弘和**、**泉田泰子**、**山田慎二**、**中澤徹**、**西澤松彦**、**眞島行彦**、**阿部俊明** 「後眼部局所持続投与を指向した薬物徐放デバイスの開発」第 32 回日本 DDS 学会学術集会 (2016) Oral (ワークショップ)
 6. **永井展裕**、**泉田泰子**、**梶弘和**、**勝山綾**、**中澤徹**、**近藤峰生**、**寺崎浩子**、**西澤松彦**、**山田慎二**、**眞島行彦**、**阿部俊明** 「網膜色素変性モデルウサギに対するウノプロストン徐放デバイスの網膜保護効果」第 120 回日本眼科学会総会 (2016) Oral
 7. **永井展裕**、**泉田泰子**、**梶弘和**、**勝山綾**、**西澤松彦**、**山田慎二**、**眞島行彦**、**阿部俊明** 「網膜色素変性症治療を目指した薬剤徐放デバイスの開発」第 15 回日本再生医療学会総会 (2016) Poster
 8. **永井展裕**、**勝山綾**、**泉田泰子**、**小柳恵理**、**山田慎二**、**梶弘和**、**阿部俊明** 「持続性抗がん剤マルチ徐放デバイスの開発」第 37 回バイオマテリアル学会大会 (2015) Poster
 9. **山田慎二**、**永井展裕**、**勝山綾**、**泉田泰子**、**小柳恵理**、**梶弘和**、**阿部俊明** 「ミクロ細孔を有するタンパク質徐放デバイスに関する検討」第 37 回バイオマテリアル学会大会 (2015) Poster
 10. **永井展裕**、**泉田泰子**、**梶弘和**、**勝山綾**、**西澤松彦**、**山田慎二**、**眞島行彦**、**阿部俊明** 「ウノプロストン経強膜持続投与デバイスの開発」第 35 回日本眼薬理学会 (2015) Oral
 11. **Zhaleh Kashkouli Nezhad**、**梶弘和**、**近藤太郎**、**永井展裕**、**西澤松彦**、**阿部俊明** 「Development of Injectable Nanosheets as Promising Drug Delivery Systems for Retinal Diseases」第 35 回日本眼薬理学会 (2015) Oral
 12. **永井展裕** : 「低侵襲で持続的な後眼部 DDS の開発」第 1 回東北ドラッグデリバリーシステム研究会 (2015) 招待講演
 13. **Zhaleh Kashkouli Nezhad**、**梶弘和**、**近藤太郎**、**永井展裕**、**西澤松彦**、**阿部俊明** 「Injectable degradable/non-biodegradable micropatterned nanosheets for the treatment of eye disease」第 31 回日本 DDS 学会学術集会 (2015) Poster
 14. **近藤太郎**、**Zhaleh Kashkouli Nezhad**、**永井展裕**、**西澤松彦**、**阿部俊明**、**梶弘和** 「高分子薄膜を用いた薬剤徐放デバイスの開発」第 31 回日本 DDS 学会学術集会 (2015) Poster
 15. **永井展裕**、**泉田泰子**、**小柳恵理**、**梶弘和**、**西澤松彦**、**中澤徹**、**眞島行彦**、**阿部俊明** 「経強膜持続投与デバイスの眼毒性評価」第 119 回日本眼科学会総会 (2015) Oral

〔図書〕(計 1 件)

1. **阿部俊明**、**永井展裕** : 「3 節 網膜色素変性症」DDS 先端技術の製剤への応用開発、337-344、技術情報協会 (2017 年 6 月 30 日) 第 6 章病変部位・臓器をターゲットとした DDS の具体的応用事例

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称 : 薬物を再注入可能な持続性薬物徐放デバイスおよび再充填用のインジェクタブルゲル

発明者 : **阿部俊明**、**西條早絢**、**永井展裕**

権利者 : 東北大学

種類 : 特許

番号 : 特願 2017-017163

出願年月日 : 2017 年 2 月 1 日

国内外の別 : 国内

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.dct.med.tohoku.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永井 展裕 (NAGAI NOBUHIRO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号 : 30400093

(2) 連携分担者

阿部 俊明 (ABE TOSHIAKI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号 : 90191858

梶 弘和 (KAJI HIROKAZU)

東北大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号 : 70431525