

令和元年6月10日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10762

研究課題名(和文)内耳ドラッグ・デリバリー・システムの解析

研究課題名(英文)analysis of inner ear drug delivery system

研究代表者

神崎 晶 (Kanzaki, Sho)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：50286556

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：新しいin vivo imaging systemとGFAP-Luc マウスを用いて、薬物動態を解析した。局所投与と全身(静脈)投与のそれぞれの単独投与群と局所と全身投与の併用群で薬物動態を観察比較した。そこで得られたシグナルのピークは、全身投与後よりも局所注入(鼓室内投与)で早くみとめられた。局所投与のみ(TT-left)群と比較して全身投与(静脈注射)と局所投与併用(CT-left)群でtotal photon counts ならびにAUCは有意に増加していた。すなわち、内耳に取り込まれた総量は併用群で最も多く、次いで局所投与のみ群、静脈投与群の順であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内耳性障害による難聴は難治性である。内耳への治療として、ステロイドの全身投与に加えて局所投与が効果的である、という報告が散見される。一方、内耳薬物動態については不明である。今回、生体モニタリングを用いて内耳薬物動態を解析し、併用投与の方が好ましいという結論に至ったことは今後の難聴治療を変革させるという点で学術的意義がある。アメリカの突発性難聴ガイドラインの解説では、本研究成果を用いた神崎の過去論(Kanzaki S et al. PLoS one 2014) が引用されており、局所投与を推奨している。WHOによれば難聴はQOLを阻害する7番目の症状であり、その治療は社会的インパクトがある。

研究成果の概要(英文)：We used a new in vivo imaging system to compare the pharmacokinetics of combined therapy (CT), with intravenous (IV) or transtympanic (TT) injection alone in both ears of transgenic GFAP-Luc mice. Biological half-life, total photon counts and the area under the curve (AUC) value significantly increased after CT. However, adding IV to TT injection cannot strengthen the peak photon of the drug in the inner ear. In addition, the volume of total photon count and AUC value of CT-left ear are larger than the combined volume of TT-left ear and IV-left ear, suggesting a synergistic effect, and those of CT-right ear are almost equal to the summation of those of IV-right group and TT-right group, suggesting no amplifying effect on the risk of systemic side effect. This study showed that CT could deliver more drugs into the inner ear, and brought a longer therapeutic window, and were more effective than intravenous or transtympanic injection alone in the pharmacokinetics.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：内耳 薬物動態 局所投与

### 1. 研究開始当初の背景

突発性難聴を中心として内耳障害に対してステロイド投与が内耳局所・全身投与で行われている。局所投与の効果に関するエビデンスも報告されており、ステロイド局所投与は全身投与と比較して非劣性であり同等の効果があることが無作為化試験にて示された(Raush 2011)。しかしながら、内耳薬物動態はまだ解明されていない点が多い。特に、障害時における内耳薬物動態は正常時と異なる可能性があるが、まだ解明されていない。今回提案する研究課題は、臨床上、問題提起されている課題であり、本研究は臨床に還元するものである。突発性難聴などの内耳障害に対して内耳へのステロイド局所(鼓室内)・全身投与が行われている。

上記の問題を解決するため、われわれは、以下の2つの方法を行って生体下で同一個体の内耳薬物動態の解析に成功し、国際学会賞(国際耳科学会賞 2013年)と日本医師会賞を受賞している。

### 2. 研究の目的

本研究は、内耳障害に対する局所・全身投与における内耳薬物動態を生体下でイメージングを利用して解析することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 内耳らせん神経細胞領域に蛍光物質を発現させるマウス

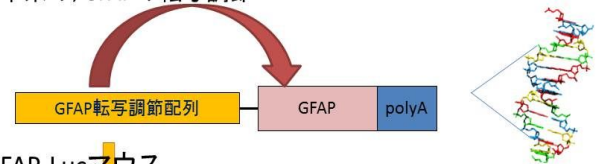
グリア線維酸性タンパク質 (Glial fibrillary acidic protein 以下 GFAP と略す) プロモータ下にルシフェラーゼ酵素を発現する GFAP-Luc トランスジェニックマウスを用いた(図)。ルシフェラーゼは、器質であるルシフェリンを分解する際に化学発光を誘導する酵素である。すなわち、ルシフェリンが内耳グリア細胞に到達するとルシフェラーゼと酵素反応し発色する。この発色が個体の骨・皮膚を透過し超高感度発光・蛍光できるようになった。すなわち、同一個体においてリアルタイムに dynamic に in vivo で薬物移行を観察することが可能である。GFAP は内耳では蝸牛神経を中心に強く発現する遺伝子である。上記マウスに対して、ルシフェリンを内耳に投与し、ルシフェリンが内耳らせん神経節グリア細胞に到達するとルシフェラーゼと酵素反応し発色する。

#### (2) IVIS system による生体下での経時的薬物動態における変化の検出

この発色が個体の骨・皮膚を透過し超高感度発光・蛍光 in vivo イメージングシステム IVIS® Imaging System で解析が可能になった。したがって、今まで不可能であった同一個体においてリアルタイムに dynamic に in vivo で薬物移行を観察することが可能である。われわれは、GFAP-Luc マウスの内耳において蛍光の発現が in vivo でトレースできることをマイクロ CT との重ね合わせで確認した。

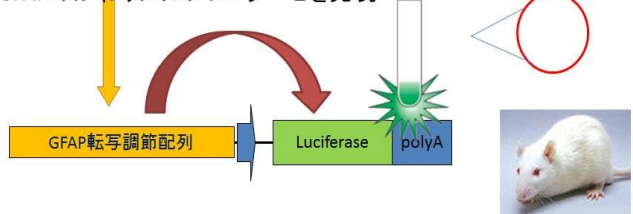
#### GFAP-Luc トランスジェニックマウス

(本来の)GFAPの転写調節



#### GFAP-Lucマウス

GFAPのかわりにルシフェラーゼを発現

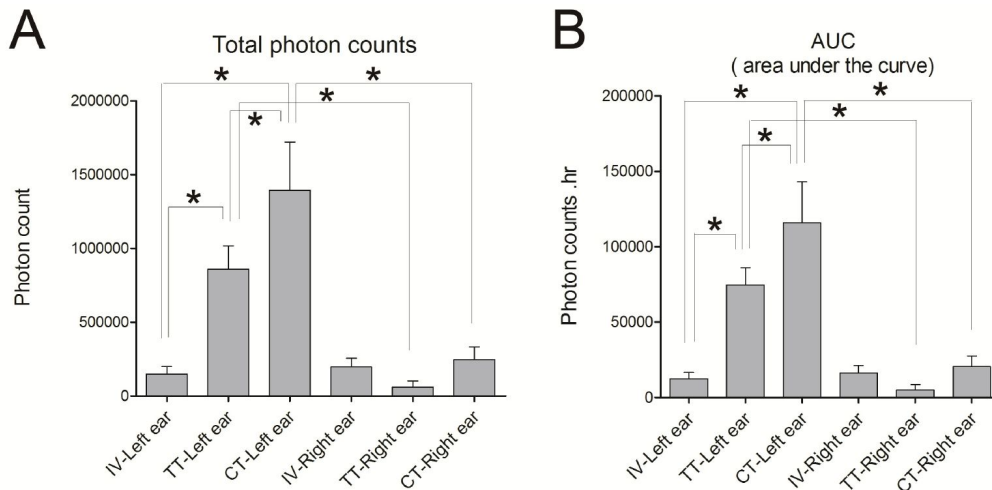


#### 4. 研究成果

局所投与と静脈投与の併用で薬物動態を観察した。そこで得られたシグナルのピークは、全身投与後よりも局所注入（鼓室内投与）で早くみとめられた。

下図 A,B で見られるように、局所投与のみ(TT-left)群では静脈注射と局所投与併用(CT-left)群で total photon counts ならびに AUC は有意に増加していた。

すなわち、内耳にとりこまれた総量は併用群で最も多く、次いで局所投与のみ群、静脈投与群の順であった。



( Li,et al in submission )

また、注入された薬物量は、内耳で測定されたシグナル数と有意に相関した。すなわち全身投与された薬物量を増加させると、内耳に到達した薬物濃度が増加した。この研究は生体下内耳薬物動態やドラッグデリバリーシステムを検討する上で有用である。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計8件)

1. Kanzaki S. Gene Delivery into the Inner Ear and Its Clinical Implications for Hearing and Balance. *Molecules.*;23(10). pii: E2507. 2018 査読有
2. 神崎 晶 【内耳基礎研究の展望】 内耳薬物動態と創薬について *Otology Japan*28(1) 15-18.2018.
3. 神崎 晶. 突発性難聴の最近の動向 日本耳鼻咽喉科学会会報 120 (8)1100-1101 2017 査読無
4. 神崎 晶. 総説 急性感音難聴の新しい治療戦略 日本耳鼻咽喉科学会会報 119 (7) 937-940 2016 査読無  
神崎 晶. 【内耳機能の手術的保存・改善への道】 内耳機能温存・改善手術のための薬物治療と薬物投与方法とは何か? *Otology Japan* 26 (2) 81-83.2016 査読無
5. 神崎 晶. 【細胞移植と神経再生】 感覚器 聴覚(中耳・内耳)の再生 *Clinical Neuroscience* 34 10 1138-1141. 2016 査読無

6. Inagaki Y, Kanzaki S, (CA) Inagaki Y, Fujioka M, Kanzaki S, Watanabe K, Oishi N, Itakura G, Yasuda A, Shibata S, Nakamura M, Okano HJ, Okano H, Ogawa K. Sustained Effect of Hyaluronic Acid in Subcutaneous Administration to the Cochlear Spiral Ganglion. PLoS One. 2016;11(4):e0153957. 査読有
7. Kanzaki S(CA), Watanabe K, Fujioka M, Shibata S, Nakamura M, Okano HJ, Okano H, Ogawa K. Novel in vivo imaging analysis of an inner ear drug delivery system: Drug availability in inner ear following different dose of systemic drug injections. Hear Res. 2015;330(Pt A):142-6. 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Kanzaki S, (Instruction Course) Systematic review of idiopathic sudden sensorineural hearing loss and pharmacokinetics. the European Academy of Otology and Neurotology instructional workshop and consensus in hearing implant. 2018.
2. 神崎 晶、テーマセッション 8 内耳基礎研究の展望(トランスレーショナルリサーチ委員会企画) 全身投与と局所投与における内耳薬物動態の基礎的解析 鼓室内投与と静脈注射の併用療法の効果について 第 27 回日本耳科学会、2017 年
3. 神崎 晶、ランチョンセミナー 急性感音難聴の新しい治療、第 116 回日本耳鼻咽喉科学会総会、2015 年
4. 神崎 晶、【シンポジウム 内耳機能の手術的保存・改善への道】内耳機能温存・改善手術のための薬物治療と薬物投与方法とは何か? 第 24 回日本耳科学会 2015 年

〔図書〕(計 1 件)

1. 神崎 晶、突発性難聴の治療:最新のエビデンス 【耳鼻咽喉科診療の進歩 40 のエッセンス】山嵜達也編 16-19. 医学のあゆみ BOOKS 医歯薬出版株式会社 2017

〔産業財産権〕

なし

出願状況(計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 出願年:  
 国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 取得年:  
 国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：藤岡 正人

ローマ字氏名：MASATO, Fujioka

所属研究機関名：慶應義塾大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号(8桁): 70398626

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。