

別紙1

厚生労働科学研究費補助金研究報告書表紙

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

低侵襲で多剤動態制御可能な薬物徐放デバイスの開発と  
網膜疾患治療への応用

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 永井 展裕

平成25（2013）年 5月

厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

目 次

I. 総括研究報告		
低侵襲で多剤動態制御可能な薬物徐放デバイスの開発と 網膜疾患治療への応用に関する研究	-----	1
永井展裕		
II. 分担研究報告		
1. デバイスの設計と構造評価に関する研究	-----	13
梶弘和		
2. デバイスの移植と網膜機能評価に関する研究	-----	19
阿部俊明		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	26
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	27

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

（総括）研究報告書

低侵襲で多剤動態制御可能な薬物徐放デバイスの開発と  
網膜疾患治療への応用に関する研究

研究代表者 永井展裕 東北大学大学院医学系研究科 助教

研究要旨

本研究の目的は、失明疾患の上位を占める網膜疾患の治療デバイスとして、強膜上に置くだけの低侵襲な方法で移植できる経強膜ドラッグデリバリーシステム（DDS）を作製し、さらに多剤併用療法に対応するために複数の薬物を任意の速度で徐放できるマルチ DDS デバイスを開発することである。H24 年度はアールテックウエノ社と連携して、緑内障治療薬レスキュラ（ウノプロストン：UNO）のシングル DDS 化を検討した。また、昨年度に網膜保護効果を報告した Edaravone（EDV；抗酸化剤）と UNO のマルチ DDS 化を検討した。その結果、UNO はデバイス基材の PEGDM/TEGDM 組成を変えることで徐放量を制御することが可能であり、ラット網膜光障害モデルに対して、保護効果を示すことがわかった。また、EDV と UNO マルチ DDS は各薬剤の PEGDM/TEGDM 組成を変えることで独立徐放制御できた。さらに EDV/UNO 徐放デバイスはシングル DDS と比較して相乗効果的に網膜保護効果を示すことが示唆された。網膜保護メカニズムとして、細胞死関連シグナルの p38 のリン酸化が薬剤によって抑制されている可能性が示唆された。ウサギ眼による網膜への薬剤移行性を評価した結果、1 週間にわたって持続的に網膜中に UNO が検出された。また全身への移行は点眼よりも少ないことが示唆された。デバイス自体の眼局所毒性は小さいことが網膜電図から示唆された。以上より、本デバイスは経強膜的に複数薬物を網膜へ送達することができ、多剤徐放によって相乗効果的に網膜保護できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

本研究の目的は、失明疾患の上位を占める網膜疾患の治療デバイスとして、強膜上に置くだけの低侵襲な方法で移植できる経強膜ドラッグデリバリーシステム（DDS）を作製し、多剤併用療法に対応するために、

複数の薬物を任意の速度で徐放できるマルチ DDS デバイスを開発することである。

視覚はヒトの情報の8割を占めるため、視覚障害は Quality of life（生活の質）を著しく低下させる。2006年の厚生労働省難治性疾患克服事業の統計結果では、失明疾患の

上位はすべて網膜疾患（1位 緑内障、2位 糖尿病網膜症、3位 網膜色素変性症、4位 黄斑変性症）である。加齢性疾患が多い網膜疾患においては、超高齢化社会を迎え今後さらに増加する可能性がある。

網膜疾患治療において、点眼・点滴・内服では網膜への薬物移行が不十分なため、眼内注射や眼内インプラントなど眼内に直接薬物を投与する方法が行われる。例えば、加齢黄斑変性症治療では、抗VEGF抗体の硝子体注射が成果をあげている（N Engl J Med, 355, 1419-1431, 2006）。しかしこの硝子体注射は月に一度の注射が必要で、眼内への感染症や網膜剥離等の副作用のリスクが報告されている（Am J Ophthalmol, 145, 879-882, 2008）。また、ブドウ膜炎やサイトメガロウイルス性網膜炎の治療で使われていた炎症剤の眼内インプラント（Vitraser, Retisert）は硝子体中に移植されるが、眼内移植による網膜剥離等の重大な合併症がほぼ必発であることが報告されており（Ophthalmology, 117, 567-575, 2010）、東北大学眼科では使用が中止されている。従って、現状では眼の最深部にある網膜に低侵襲な方法で安全に効率よく投薬する方法はないと言っても過言ではない。

この問題を解決する方法として、眼内への薬物徐放を指向したDDSが長年研究されてきた。例えばコンタクトレンズ型のOcuser（Arch Ophthalmol, 93, 771, 1975）は前眼部にパッチする扱いやすいDDSであるが、点眼と同様に前眼部から網膜への薬物移行性が悪い。網膜下に注入する微粒子や強膜に穿刺するプラグ（Ophthalmologica, 215, 143, 2001）はいずれもインプラントが眼内に及ぶため、眼内への副作用リスクがある。

また、ほとんどのDDSは生分解型ポリマーで作製されており、予想外の担体分解に伴う高濃度薬物バースト問題がある（J Control Release, 37, 143-150, 1995）。また、これまで複数の薬物を徐放するDDSは開発されていない。

このような背景から我々は、デバイスが眼内に及ばない眼外に置くだけの「経強膜DDS」が眼内への副作用をなくし、安全に持続的に眼内へ薬物を投与できる方法であると期待している。すでに複数の研究者がこの経強膜DDSを報告しているがいくつかの問題が残っている。まずDDS担体が生分解型ポリマーで作製されているため、上記した薬物バーストの問題がある（J Pharm Sci, 99, 2219-2239, 2010）。さらに、薬物は強膜側だけではなく反対の結膜側へと全方向に徐放されるため、結膜血流による薬物の吸収が起こり、強膜側への薬物移行が効率的ではないという問題がある（J Control Release, 148, 42-48, 2010）。我々はこれらを解決するために、非分解型ポリマーの光硬化性樹脂ポリエチレングリコールジメタクリレート（Polyethyleneglycol dimethacrylate ; PEGDM）を微細加工機によってリザーバー型に成形し、薬物をペレット化してリザーバーに充填し、PEGDM製の徐放膜で蓋をしたカプセル型DDSを考案した（Biomaterials, 32, 1950-1956, 2011）。分子量の短いPEGDM（Tryethyleneglycol dimethacrylate ; TEGDM）をリザーバー用樹脂に用いると、薬剤はリザーバーを通過することができず、徐放膜側から一方向性に徐放することが可能である。このデバイスの作製方法は国際雑誌Biomaterials（Impact factor 7.882）にPublishされ、国内・国際特許を出願済みである（P

CT/JP2010/63793)。このデバイスの発展系として、リザーバー内に複数の薬物ペレットを充填し、複数の薬物を任意の速度で徐放できるデバイスの開発を目指した。また、経強膜DDSの網膜保護エビデンスはまだ報告されておらず、本研究では網膜光障害モデル動物を用いて経強膜DDSの網膜保護効果を検討した。

本研究はまずアールテックウエノ社と連携して、緑内障治療薬レスキュラ（ウノプロストン：UNO）のシングルDDS化を検討した。次に昨年度網膜保護効果を報告したEdaravone（EDV）とUNOをマルチDDS化し、網膜光障害モデルに対する網膜保護効果を検討した。UNOは長年緑内障治療薬として使用されている眼圧下降薬である。イオンチャンネル開口薬としての作用を有し、BKチャンネルを活性化することで細胞内Caイオン濃度を低下させることにより、繊維柱帯細胞を弛緩させ、房水の繊維柱帯での流出抵抗を軽減し、眼圧を下降させることが示唆されている。また最近、UNOは網膜色素変性を抑制する可能性が報告され、2013年3月に第3相臨床試験が開始されている。これは点眼によって投与されている。

EDVは脳保護剤として利用されている抗酸化剤（ラジカット）である。最近、光障害モデル、網膜剥離モデル、N-メチル-Dアスパラギン酸（NMDA）障害モデルに対して網膜保護効果があることが報告されている（光障害：Invest Ophthalmol Vis Res, 52, 7289-7297, 2011、網膜剥離：Invest Ophthalmol Vis Res, 52, 3825-3831, 2011、NMDA：Eur J Pharm Biopharm, 79, 119-125, 2011）。これはいずれも全身投与で行われている。

本研究はUNOとEDVのマルチDDSデバイスを作製し、網膜光障害モデルに対して網膜保護効果を示すか検討を行った。検討項目として、下記の内容を検討した。

- (1) UNOシングル徐放条件検討
- (2) In vitro細胞培養によるUNOとEDVの薬効評価
- (3) UNOシングル徐放デバイスの網膜保護効果
- (4) UNO/EDVマルチ徐放デバイスの網膜保護効果
- (5) ウサギ眼用デバイスの作製
- (6) デバイスの局所毒性評価
- (7) ウサギ眼によるUNO眼内移行性の評価

## B. 研究方法

### (1) デバイスの作製

デバイスはリザーバー、薬物ペレット、徐放膜から構成される。まずリザーバーの鋳型を作成した。鋳型は3D CAD (computer assisted drawing)で鋳型の設計図を作成し、CADデータを小型NC微細加工機Micro MC-2 (株式会社PMT)へ取り込み、アクリル板に掘り込んで作成した。このアクリル板をフルオロシアンでコートし鋳型Aとした。この鋳型Aにポリジメチルシロキサン (PDMS)をキャストし60°Cで30分加熱して硬化させた。このPDMS鋳型をフルオロシアンでコートし鋳型Bとした。鋳型BにPDMSをキャストし60°Cで30分加熱して硬化させた。このPDMS鋳型をリザーバーを作製するための最終鋳型Cとした。このPDMS鋳型Cに、TEGDM 1mlに2-Hydroxy-2-methyl-propiophenone 10µlを混合したプレポリマーをキャストし、UV架橋 (10mW/cm<sup>2</sup>, 3min [浜松

ホトニクス、LC8])して硬化させた。鋳型CからTEGDMリザーバーを剥がして完成した。作成したリザーバーのサイズは、ラット移植用が内径、縦1.5mm×横1.5mm×高さ0.6mm、薬剤充填部容量は1.2 $\mu$ lとし、in vitro徐放用が内径、縦7mm×横7mm×高さ2mm、薬剤充填部容量は9 $\mu$ lである。

薬物ペレットは薬物をPEGDMとTEGDMの混合プレポリマーに混合し、あらかじめ作っておいたペレット用PDMS鋳型にキャスト (1.2  $\mu$  L) してUV硬化 (10mW/cm<sup>2</sup>、1.5min) して作成した。ペレットサイズはリザーバー内にぴったり合うように外径が縦1.5mm×横1.5mm×高さ0.6mmで作製した。

薬物としてEdaravone (EDV、WAKO)、Unoprostone isopropyl (UNO、アールテック・ウエノ(株)から譲渡) を使用した。ペレットに各薬物が250mg/mlになるように調整した。プレポリマー中のPEGDMとTEGDMの比率は0:100から100:0の間で調整した。以下、PEGDM:TEGDM=60:40の場合はP60、PEGDM:TEGDM=100:0の場合はP100、PEGDM:TEGDM=0:100の場合はP0、と略す。

UNOとEDVをマルチで搭載するデバイスは、各薬物ペレットを2分の1に切って、各1個ずつをリザーバー内に詰めた。このときペレットのPEGDM/TEGDM組成を様々な組み合わせになるように詰めた。

徐放膜は、PEGDMとTEGDMを混合したプレポリマーで作製した。上記の薬物ペレットを充填したリザーバー上にプレポリマーを1 $\mu$ L滴下し、ガラス板でカバーした後、UV硬化して作成した。この条件で徐放膜の厚みは約100  $\mu$  mになることが電子顕微鏡の観察からわかっている。

## (2) 徐放薬物のIn vitro定量

デバイスをPhosphate-buffered saline (PBS) 1mLに浸漬し、37°Cでインキュベーションした。定期的にPBSを回収し、新しいPBSに置き換えた。回収したPBSにアセトニトリルを1:1で混合し、0.45  $\mu$  mフィルターでろ過してから、高速液体クロマトグラフィー (HPLC; 島津、Prominence system) で薬物濃度を測定した。あらかじめEDVとUNOの検量線を作製し、薬物濃度を計算した。

## (3) EDVとUNOの薬効濃度検討 (In vitro細胞培養)

ラット網膜神経節細胞株 (RGC5) の低酸素・低栄養負荷培養におけるUNOの細胞保護効果を検討した。

RGC5を $0.25 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>で96ウェルプレートに播種し、2日間培養した (37度)。UNOを0から500  $\mu$  Mで含有した培地 (DMEM、FBS 10%、4.5mM Glucose) で1日間培養した。低酸素・低栄養負荷として、Cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>、200  $\mu$  M) を含む培地でNormoxia (20% O<sub>2</sub>) で培養する条件、低酸素インキュベーター (2% O<sub>2</sub>) で2.8mM Glucoseを含む培地で培養する条件 (OD、Oxygen deprivation) および0mM Glucoseを含む培地で培養する条件 (OGD、Oxygen-glucose deprivation) の3つを検討した。UNOおよびEDVはこれらの培地に0から2000  $\mu$  Mで含有するように調整した。UNOとEDVはDMSO (ジメチルスルホキシド) で溶解してから培地に添加した。なおDMSO終濃度は0.03%になるように調整した。このDMSO濃度は細胞毒性を示さないことを確認済みである。負荷培養24時間後に、MTS法 (Promega) によって細胞数を測定した。

また、負荷培養後の細胞を回収し、細胞死関連シグナル発現 (p38、MAPKのリン酸化) をウェスタンブロット法で評価した。さらに、回収した細胞をCellROX試薬でReactive oxygen-species (ROS)を標識し、ROS産生Positive細胞数をセルサイトメーター (Tali、Invitrogen) で評価した。

#### (4) 動物

動物実験操作は、ARVOの眼科研究の動物使用に関する声明のガイドラインに従い、東北大学大学院医学系研究科の動物管理委員会の承認を得た。200から250gの雄のSDラットを使用した。1.5kgから2.5kgの雄の日本白色ウサギを使用した。すべての過程においてケタミン塩酸塩 (90mg/kg) とキシラジン塩酸塩 (10mg/kg) の腹腔内注射で麻酔をした。瞳孔は2.5%phenylephrinと1%tropicamideで拡大した。Oxybuprocaine hydrochloride (0.4%) を局所麻酔として使用した。

#### (5) デバイスの移植

麻酔後、実体顕微鏡で観察しながら、眼球の上方結膜を切開しテノン嚢を鈍的に剥離し強膜を露出させた。デバイスを挿入し強膜上に接着するように固定した。結膜を縫合し、タリビッド眼軟膏を点入し終了とした。

#### (6) 網膜光障害モデル

EDVシングルDDS、UNOシングルDDS、EDV/UNOマルチDDSデバイスを移植後1週間後に光障害を行った。ラットを2.5%phenylephrinと1%tropicamideで散瞳してから、空調を有するLED光障害装置 (特注モデル) 内で、デバイスを移植したラットを飼育した

(22°C、8000Lux)。予備実験で光障害時間は、24時間が適当と判断した。この条件では、完全に視力を失うわけではなく動物の行動に異常は見られなかった。照射後、LEDを消灯し、装置内で4日間暗順応した。暗順応後、暗室内でラットを麻酔し、2.5%phenylephrinと1%tropicamideで散瞳してから網膜電図 (ERG ; Purec、Mayo株) を評価した。

コンタクトレンズ電極 (2mmベースカーブ、Mayo) を角膜に当て、Identical reference 電極を口に、Ground電極をしっぽに置いた。Single flash light (1000cds/m<sup>2</sup>, 3msec) を刺激にERG波形を計測した (Dark-adapted maximal rod/cone combined response)。a波 (ベースラインからa波の振幅) およびb波 (a波とb波の最大振幅) の振幅を計測した。コントロールとして、PBSを含有するデバイスを移植したラット、および未移植のラットを使用した。

シングルDDSデバイスでは、カバー条件の異なるデバイス (P100からP0) を移植し、カバー条件 (徐放量) と網膜保護効果の関係を調べた。マルチDDSデバイスでは、EDVとUNOのペレット条件を様々な組み合わせ (EDV-P40/UNO-P40、EDV-P60/UNO-P40、EDV-P40/UNO-P60、EDV-P60/UNO-P60) で検討し、最適な徐放量の組み合わせを評価した。

#### (7) 組織学的評価

ERG評価後7日目にラットを安楽死し、眼球を摘出した。パラフィン包埋によって標本作製し、HE染色およびTUNEL染色を行った。また、網膜を分画し、ホモジネートのウェスタンブロットを行った。細胞死関連シグナルのp38とMAPKのリン酸化、およ

び内部標準の $\beta$ -tubulinを評価した。Bio-rad製ゲルでSDS-PAGEを行い、Bio-rad製トランスブロットでPVDF膜に転写した。スキムミルクでブロッキング後、各一次抗体 (Cell signaling) で反応後、二次抗体 (Cell signaling) で反応し、ECL plus (GE healthcare) でバンドを検出した。バンド強度をImageJソフトウェアで解析した。

#### (8) ウサギ眼用リザーバーの作製

ウサギ用デバイスの形状として、幅4.4mm×長さ12mm×厚さ1mm、薬物充填量 $12\mu\text{L}$ のリザーバーをAuto CADでデザインした。微細加工機MC-2 microに上記のCADデータをロードし、CAMによってアクリル板 (10cm×10cm×5mm) にリザーバー形状を切削した。以降はラット用デバイスと同様にPDMS鋳型を作製し、TEGDMでリザーバーを作製した。

形状の特徴として、デバイスを移植に持ちやすくするためにグリップ (長さ3mm) と、強膜上に縫合するために糸を通すための穴 (直径0.4mm) もしくは糸を引っ掛ける溝 (4つ) を設計した。

#### (9) 電子顕微鏡観察 (SEM)

移植後のデバイスをPBSでよく洗浄した後、臨界点乾燥機 (HCP-2、日立工機) で乾燥し、イオンコーター (L350S-C、Anelva) でPtスパッタリングした。5-20kVでSEM観察 (VE-9800、Keyence) を行った。

#### (10) デバイス中モノマー残存の定量

作成したデバイスをPBSに浸漬し、定期的にPBSを新しいものに交換した。回収したPBSを高速液体クロマトグラフィー (HP

LC、Prominence、島津) で測定した。あらかじめ、PEGDM、TEGDM、硬化促進剤を含む標準液 (PBS) を測定し、各試薬のピーク位置を確認した。サンプルPBSのピーク強度からデバイスから溶出したモノマー濃度を定量した。

#### (11) 細胞毒性実験

細胞培養培地 (DMEM) にPEGDM、TEGDM、効果促進剤を混合し、希釈系列を作製した。RGC5およびラット網膜色素上皮細胞株 (RPEJ) を $0.25 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ で96ウェルプレートに播種し、2日間培養した (37度)。上述の各モノマー混合培地 (FBS 10% for RGC5 or FBS 4% for RPEJ, 4.5mM Glucose) に交換し24時間培養した。MTS法 (Promega) によって細胞数を測定した。

#### (12) UNO眼内移行性の検討

UNO徐放デバイスとして、カバーなしのデバイスを移植しUNO眼内移行性の関係性を評価した。移植1,3,6,10日目に動物を過剰麻酔で安楽死後、血液と眼球を摘出した。血液は遠心して血しょうをサンプリングした。眼球は前房水を採取後、角膜、水晶体、硝子体、網膜、脈絡膜、強膜に分離し、網膜、脈絡膜のホモジネートをLC/MS/MS測定に供した。測定は共同研究者のアルテックウエノ社で実施された。

#### (13) 統計学的解析

測定結果はエクセル統計2012を用いて、One-way ANOVA with Tukey testによる有意差検定を行った。95%の信頼度 ( $p < 0.05$ ) のときに統計学的に有意差があると判断した。



(倫理面への配慮)

動物実験操作は、ARVOの眼科研究の動物使用に関する声明のガイドラインに従い、東北大学大学院医学系研究科の動物管理委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

### (1) UNO徐放性

UNOをP40ペレットでリザーバーに充填し、様々なPEGDM比率を有する徐放膜 (P60、P40、P20、P0) でカバーしたデバイスを作製し、PBSに浸漬してHPLCにより薬物放出量を定量した。カバーなしの条件では、最初の数日で80%以上が放出されていたが、カバー群では、カバー中のPEGDM比率に応じて徐放速度が変化していた。すなわち、PEGDMの比率が多いほど (P60>P40>P20>P0) 放出が早かった。また、P0カバーでは放出はほとんど確認されなかった。

以上より、カバーのPEGDM/TEGDM組成を変えることで、UNOの徐放性を制御できることがわかった。

### (2) EDVとUNOの薬効評価 (In vitro細胞培養)

UNOの細胞保護効果をRGC5の低酸素・低栄養負荷培養で検討を行った。その結果、OD負荷におけるRGC5に対して、UNOが50  $\mu$ Mから300  $\mu$ Mを添加したときにDose-dependentに細胞数 (MTS吸光度) の維持が認められた。特に300  $\mu$ Mで極大を示した。一方、400  $\mu$ M以上では保護効果を認めなかった。また、CoCl<sub>2</sub>負荷、OGD負荷では、UNOの細胞保護効果は認めなかった。

一方でEDVはCoCl<sub>2</sub>負荷、OGD負荷で細胞保護効果を認めた。それぞれ0.15から1.2

mMの範囲で保護効果を認めた。ただしOD負荷では細胞保護は認めなかった。

OD負荷において、EDVとUNOを同時に添加した場合、下記のUNO/EDVの濃度の組みで相乗効果的に細胞保護効果を認めた。UNO 100  $\mu$ M+EDV 18.75  $\mu$ M - 75  $\mu$ M、UNO 200  $\mu$ M+EDV 75  $\mu$ M、UNO 300  $\mu$ M+EDV 18.75  $\mu$ M - 37.5  $\mu$ M。

次に細胞保護効果のメカニズムとして、細胞死関連シグナル (p38、MAPK) のリン酸化レベルをウェスタンブロット法で評価した。その結果、負荷培養によってp38のリン酸化レベルは上昇したが、UNOおよびEDV添加によってp38のリン酸化が抑制されることがわかった。また、負荷培養によってMAPKのリン酸化レベルは下降するが、UNOおよびEDV添加によってMAPKのリン酸化が上昇することがわかった。また、EDV+UNOの同時添加 (UNO 300  $\mu$ M+EDV 18.75  $\mu$ M - 37.5  $\mu$ M) によって上述の変化に相乗的な効果が見られた。

また、負荷培養後のROS産生量をTaliによって評価した。TaliによってROS標識した細胞のROS-Positive細胞とROS-Negative細胞の比率を測定することが可能である。負荷培養によってROS-positive細胞は約80%を示したが、UNO添加によってROS-positive細胞は約30%に低下することがわかった。また、EDV添加はROS産生を約60%まで低下させた。EDV+UNOの同時添加 (UNO 300  $\mu$ M+EDV 18.75  $\mu$ M - 37.5  $\mu$ M) はUNOシングル添加と同程度にROSを低下させていた。

### (3) デバイスの移植

デバイスの移植性に問題はなかった。移植後のデバイスはマイルドなFibrosisで覆わ

れていたが、周辺組織への著名な炎症や眼内への副作用は認められなかった。デバイス除去後の強膜はネクロシス等の異常は全く見られなかった。

#### (4) 網膜光障害モデル実験

カバー条件の異なるUNOデバイスをラット強膜上に移植し1週間後に光障害を行った後、暗順応4日後にERG検査を行った。コントロールのPBS-DDSでは、光障害によってa波、b波ともに7割以上低下した。一方、UNO-DDSでは、UNO放出の多いカバーのデバイスで有意に波形値の低下が抑制されていた。また、UNO放出の少ないカバーのデバイスでは波形値低下の抑制は見られなかった。以上より、UNOシングル徐放デバイスは網膜光障害に対して保護効果があり、その効果はUNOの放出条件と関係があることが示唆された。

次にEDV/UNOマルチ徐放デバイスをラット強膜上に移植し1週間後に光障害を行った後、暗順応4日後にERG検査を行った。各薬剤をP60とP40でペレット化し、4種の組み合わせ（EDV-P40/UNO-P40、EDV-P60/UNO-P40、EDV-P40/UNO-P60、EDV-P60/UNO-P60）を移植した。その結果、EDV-P60/UNO-P40の条件が最も網膜電図の振幅値の維持が高かった。次にシングルDDS（EDV-P60、UNO-P40）と比較をした結果、マルチDDSは各シングルDDS対比有意に網膜電図の振幅値が維持されていた。

#### (5) ウサギ眼用デバイスの作製

ウサギ眼用デバイス作成として、まず基本骨格となるリザーバーのデザインを検討した。臨床医（分担研究者：阿部俊明）の

意見を参考に、眼球表面に密着する形状、薬剤が後眼部へ届く形状、強膜上に縫合固定しやすい形状、デバイス周囲組織を傷つけない形状、誰にでも移植しやすい形状を検討した。その結果、先および後端部は流線型とし、デバイス全体に角がないデザインを設計した。また、後端部の厚みはスロープのように徐々に薄くなる形状とした。これはデバイス挿入部位周辺部（前眼部、結膜）への刺激をできるだけ少なくするためである。長さはウサギ（2kg）眼の直径が約2センチと仮定した結果、12mmが適当であると判断した。強膜上に固定する方法はデバイスが移植後に移動することを防ぐために重要な課題である。デバイス後端部に穴を1つ設け、縫合糸を通して強膜に縫合する方法を検討したが、1点の縫合点ではデバイス先端が動くことと、デバイス先端が浮いてしまう課題があった。そこでデバイス側面に溝を4つ（片側2個）設け、縫合糸を引っ掛けて4点で縫合する形状にした結果、デバイスの移動と先端部の浮きが解消された。

#### (6) SEMによる構造評価

移植後のデバイス表面構造の評価を行った。5か月間ウサギ眼強膜上に移植されていたデバイスは、見た目には分解している様子はなく、移植前と全く同じ状態であった。SEMで表面を観察した結果、わずかに小さなクレーター構造が見られたが、デバイス構造に影響を与えるものではなく、デバイス基材の生分解はほとんど起こっていないことがわかった。徐放膜によるシール断面は、徐放膜のPEGDMとリザーバーのPEGDMが一体化し、隙間なく埋められており、薬

剤のリークの可能性は低いと考えられた。

(7) デバイス中の残存モノマー量および細胞毒性

デバイスから溶出するモノマー量を測定した。その結果、浸漬2時間後に溶出量が最大を示し、1週間後には未検出となった。最大溶出濃度はPEGDM 54.3ng/ml、TEGDM 504.1 ng/ml、効果促進剤 0.04ng/mlであった。

モノマーを含む培地で細胞毒性を評価した結果、PEGDMはRGC5に対して391  $\mu$ g/ml以上、RPEJに対しては781  $\mu$ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。同様にTEGDMはRGC5に対して195  $\mu$ g/ml以上、RPEJに対しては391  $\mu$ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。同様に効果促進剤はRGC5に対して391  $\mu$ g/ml以上、RPEJに対しては391  $\mu$ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。

(8) UNO眼内移行性

今回はカバーなしのデバイスを予備試験的に移植し、網膜へのUNO移行を評価した。その結果、網膜および脈絡膜において点眼対比10倍以上のUNOが検出された。一方で血しょう中には点眼対比数分の1の量しか検出できなかった。また、前房水ではUNOをほとんど検出できなかった。さらに反対眼では網膜等すべての組織でUNOをほとんど検出できなかった。これらの結果は、本デバイスを利用することで、全身への移行を抑制し、網膜に局所的にUNOを送達していることを示唆している。また、このような状況が10日目まで持続しており、本デバイスの徐放持続性が示唆された。

D. 考察

本研究は、デバイス中の薬物ペレットおよびカバー（徐放膜）のPEGDM/TEGDM比率を変えることによって、UNOやEDVを異なる任意の速度でリリースできることを示した。また、UNO/EDVマルチ徐放デバイスは網膜光障害ラットに対して相乗効果的に網膜保護効果を示すことが示唆された。この相乗効果はIn vitro網膜細胞培養でも確認することができた。

UNOの薬理作用については不明な点が多いが、最近になってイオンチャネル開口の作用が報告され、Caイオンの細胞内濃度を下げることによって細胞死を抑制することが示唆されている。本研究において、UNOは細胞死マーカーであるp38のリン酸化を抑制し、さらに細胞障害性を有するROSの産生も抑制をしていた。今回の研究において網膜細胞内のCaイオン濃度については不明であったが、イオンチャネル開口による細胞関連シグナルの抑制が網膜保護効果に寄与している可能性がある。Caイオン濃度の測定は今後の課題の1つである。

EDVは既報の通り、フリーラジカルスカベンジャーとして活性酸素等に代表されるROSを抑制する作用がある。本研究でもEDVはROSの産生を抑制していた。また、細胞培養の結果では、CoCl<sub>2</sub>負荷とOGD負荷に対して保護効果を認めており、OD負荷に対してのみ作用するUNOとは異なるメカニズムが推定された。この異なる作用がEDVとUNOの同時添加による相乗効果に寄与している可能性がある。

網膜光障害モデルでデバイスの網膜保護エビデンスを得ることができたが、光障害は急性の網膜障害モデルであり、慢性経過と辿る網膜疾患のモデルとして適切でない

という指摘はあるため、今後はトランスジェニック網膜色素変性ラット（RCSラット、S334terラット）を用いて、デバイスのエビデンスを確立していく必要がある。ウサギを用いた研究では、デバイスから放出された薬剤が網膜へ十分に移行しており、さらにデバイス自体の毒性はIn vitroとIn vivoの両面で問題ないことが示唆されている。ウサギ眼はヒト眼に近い大きさを持つため、今回のデバイスの微修正で前臨床試験となるサルへの移植を検討し、数年後には臨床治験に応用できるように検討を進めている。

本デバイスは一度の投与で複数薬物を持続投与できる可能性を示した。今回は最も薬剤が放出されるデバイスで予備検討を行ったが、今後はカバーデバイスで徐放量を適切に制御し、点眼投与と同等レベルの網膜移行性を持続的に投与できるか検討する予定である。反対眼への薬物移行や前眼部、全身への移行が点眼と比較して低いことは、今回のデバイスの構造的特徴を反映している。すなわち、薬物非透過リザーバーを用いて、結膜側への薬物吸収を抑制し、強膜側へ局所的に徐放する構造が、今回の局所的な薬物移行に寄与したと考えている。本デバイスを使用することで複数薬剤の点眼や静脈投与の反復投与の必要がなくなり、かつ全身性の副作用を抑えることができる可能性が期待できる。

#### E. 結論

EDVとUNOをマルチ徐放するデバイスを作製し、網膜光障害モデルラットで網膜保護効果を確認した。また、ウサギへの移植で、デバイスの局所毒性は認められず、網膜への局所的薬物移行が確認できた。本デ

バイスは反復投与の必要がない、複数薬剤持続投与デバイスとしての応用が期待できる。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Hideyuki Onami, **Nobuhiro Nagai**, Shigeki Machida, Norihiro Kumasaka, Ryosuke Wakusawa, Yumi Ishikawa, Hikaru Sonoda, Yasufumi Sato, Toshiaki Abe. “Reduction of laser-induced choroidal neovascularization by intravitreal vasohibin-1 in monkey eyes” RETINA The Journal of Retinal and Vitreous Diseases, 32(6), 1204-1213 (2012).
- ② Yumi Ishikawa, **Nobuhiro Nagai**, Hideyuki Onami, Norihiro Kumasaka, Ryosuke Wakusawa, Hikaru Sonoda, Yasufumi Sato, Toshiaki Abe. “Vasohibin-1 and retinal pigment epithelium” Adv Exp Med Biol, 723, 305-310 (2012).

##### 2. 学会発表

(国際学会発表)

- ① Toshiaki Abe, Yumi Ishikawa, Hideyuki Onami, Yuki Katsukura, **Nobuhiro Nagai** “Intra-scleral transplantation of collagen sheet with cultured brain-derived neurotrophic factor expressing cells partially rescued the retina from the damage of acute high intraocular pressure” RD2012 XV International Symposium on Retinal Degeneration, Bad Gögging, Bavaria

a, Germany (July 16-21, 2012)

- ② **Nobuhiro Nagai**, Hideyuki Onami, Hirokazu Kaji, Takuya Yamada, Yuki Katsukura, Machiko Sato, Yumi Ishikawa, Toru Nakazawa, Matsuhiko Nishizawa, and Toshiaki Abe “Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Light-induced Retinal Damage in Rats” 2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida (May 6-10, 2012)
- ③ Hideyuki Onami, **Nobuhiro Nagai**, Ryo-suke Wakusawa, Hirokazu Kaji, Takuya Yamada, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Yasufumi Sato, Toru Nakazawa, and Toshiaki Abe “Suppression of Rat Choroidal Neovascularization by Transscleral Vasohibin-1 Delivery Device” 2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida (May 6-10, 2012)

(国内学会発表)

- ① **永井展裕**：「薬剤徐放デバイスの作製と経強膜投与による網膜保護」第5回RRM (Retina Research Meeting)、東京医療センター (2012年12月8日)
- ② **永井展裕**、大浪英之、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、阿部俊明：「経強膜マルチドラッグ徐放デバイスの作製と網膜保護効果の検討」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2012、仙台国際センター (2012年11月26-27日)
- ③ 伊藤俊太郎、**永井展裕**、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「マイクロ流路デバイスを用いる眼底組織培養モデルの開発」日本バイオマテリアル

学会シンポジウム2012、仙台国際センター (2012年11月26-27日)

- ④ **永井展裕**、大浪英之、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、阿部俊明：「薬物徐放デバイスの作製と網膜光障害モデルに対する網膜保護効果の検討」第32回日本眼薬理学会学術集会、ピアザ淡海 (2012年9月15日～16日)
- ⑤ **永井展裕**、大浪英之、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、阿部俊明：「網膜光障害モデルに対する経強膜DDSの網膜保護効果」第28回日本DDS学会学術集会、札幌コンベンションセンター (2012年7月4日～5日)
- ⑥ 大浪英之、**永井展裕**、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、西澤松彦、中澤徹、阿部俊明：「プロテインドラッグ眼内徐放デバイスによる加齢黄斑変性治療の試み」第28回日本DDS学会学術集会、札幌コンベンションセンター (2012年7月4日～5日)
- ⑦ 大浪英之、**永井展裕**、梶弘和、西澤松彦、涌沢亮介、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明：「分子徐放デバイス作製と網膜保護」第63回東北臨床超微形態懇話会、東北大学医学部 (2012年6月28日)
- ⑧ **永井展裕**：「経強膜ドラッグデリバリーによる網膜保護の試み」2011年度視覚先端医療学講座報告会 (2012年4月9日) 招待講演
- ⑨ **永井展裕**、大浪英之、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、佐藤真智子、中澤徹、西澤松彦、阿部俊明：「網膜光障害モデルに対する経強膜ドラッグデリバリーデバイスの網膜保護効果」第116回日

本眼科学会総会、東京国際フォーラム  
(2012年4月5日～8日)

- ⑩ 大浪英之、永井展裕、梶弘和、西澤松彦、涌沢亮介、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明：「経強膜vasohibin徐放デバイスによるラット脈絡膜新生血管抑制」第16回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム (2012年4月5日～8日)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3.その他

1. 永井展裕：「細胞製剤技術の現状と実用化の課題」DDS 技術の実用化手法、231-235、技術情報協会 (2013年3月29日発刊)

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）  
（分担）研究報告書

デバイスの設計と構造評価に関する研究

研究分担者 梶弘和 東北大学大学院工学研究科 准教授

研究要旨

本研究の目的は、網膜疾患治療デバイスとして、強膜上に置くだけの低侵襲な方法で移植できる経強膜ドラッグデリバリーシステム（DDS）を作製し、さらに多剤併用療法に対応するために複数の薬物を徐放できるマルチDDSを開発することである。本分担研究は、ウサギ眼強膜上に移植可能なサイズのデバイスの設計とデバイスの構造評価、およびデバイスの細胞毒性評価を目的とした。ウサギ眼強膜上の移植に適切な形状をCADでデザインし、CAM微細加工装置によってデバイスを作製した。ウサギ眼強膜上に移植後のデバイス表面構造を電子顕微鏡で評価した。その結果、ウサギ用デバイスは長期間移植後も移植部位から移動することなく固定されており、顕微鏡観察の結果、デバイス表面は分解しておらず、形状を維持していることを確認した。また、デバイス中に残存するモノマー量と細胞毒性を評価した結果、デバイス中に残存するモノマー量は細胞毒性を示す量の1万分の1以下であり、1週間後にはWash outされて未検出であったため、長期的な細胞毒性はないと考えられた。

A. 研究目的

本課題の目的は、失明疾患の上位を占める網膜疾患の治療デバイスとして、強膜上に置くだけの低侵襲な方法で移植できる経強膜ドラッグデリバリーシステム（DDS）を作製し、多剤併用療法に対応するために、複数の薬物を任意の速度で徐放できるマルチDDSデバイスを開発することである。本研究は分担研究として、ウサギ眼用デバイスの設計および構造評価を目的とした。

本研究のデバイスは微細加工（Microfabrication）法を用いて光硬化性樹脂をカプセル型に成形することを特徴としている。我々

は過去に微細加工法によってマイクロ流路を作製し、細胞と細胞のインタラクションを評価する培養系を確立してきた（Biomicrofluidics, 5(2), 22214, 2011、Adv Mater, 22(46), 5276-5281, 2010、Lab Chip, 10(18), 2374-2379, 2010）。微細加工に使用する切削機械（MC-2 micro、PMT.Co）はマイクロニードルによってマイクロオーダーでアクリル板等の鋳型に流路を掘ることができる。CAD（Computer aided design）によって自由に切削できるため、カプセルや球など自由にデザインすることができる。

この微細加工機を用いてデバイスの鋳型

を作製し、光硬化性樹脂をキャストして光重合して薬物カプセルを作製する手法を過去に報告した (Biomaterials, 32, 1950-1956, 2011)。光硬化性樹脂として、ポリエチレングリコールジメタクリレート (Polyethylene glycol dimethacrylate ; PEGDM) を使用した。これは歯科材料として利用されている生体材料であり、生体親和性が高いことが報告されている (Acta Biomaterialia, 2, 1-8, 2006, Tissue Eng, 12(6), 1663-1673, 2006)。デバイスは汎用性と移植性、さらに徐放特性を考慮して、リザーバー、薬物ペレット、徐放膜からなるリザーバー型カプセルとした。徐放膜を介することによって、一時的に薬物が大量放出されるバースト現象を抑えることが可能である。また、分子量の短いPEGDM (Tetraethylene glycol dimethacrylate ; TEGDM) をリザーバー用樹脂に用いると、薬物はこのリザーバーを通過できないため、徐放膜側から一方向性に薬物を放出することが可能である。

過去に報告した箱側カプセル (4mm×4mm×2mm) はウサギ眼に移植可能であったが、形状が板状であったためウサギ眼曲面との密着が悪く、徐放薬剤が効率よく強膜へ浸透しない点が課題としてあった。そこでウサギ眼曲面にぴったりと密着するようにデバイスに曲がりを持たせるデザインを検討した。また、移植後のデバイスを電子顕微鏡で観察し、デバイスの分解・崩壊が起きているか構造評価を行った。また、デバイス中に残存するモノマーの定量と細胞毒性を評価した。

## B. 研究方法

### (1) リザーバー用鋳型の作製

デバイスはリザーバー、薬物ペレット、徐放膜から構成される。まずリザーバーの鋳型を設計した。ウサギ用デバイスの形状として、幅4.4mm×長さ12mm×厚さ1mm、薬物充填量12 $\mu$ LのリザーバーをAuto CADでデザインした。PMT.Co.の微細加工機MC-2 microに上記のCADデータをロードし、CAM (Computer aided manufacturing) によってアクリル板 (10cm×10cm×5mm) にリザーバー形状を切削した。

形状の特徴として、デバイスを移植に持ちやすくするためにグリップ (長さ3mm) と、強膜上に縫合するために糸を通すための穴 (直径0.4mm) もしくは糸を引っ掛ける溝 (4つ) を設計した。

次にこのアクリル板をフルオロシアンでコートした。このコートは次の作業で基材と鋳型を剥がしやすくするために処理した。このアクリル板鋳型にポリジメチルシロキサン (PDMS) をキャストし60 $^{\circ}$ Cで30分加熱して硬化させた。このPDMS鋳型をフルオロシアンでコートしPDMS鋳型とした。このPDMS鋳型に別のPDMSをキャストし60 $^{\circ}$ Cで30分加熱して硬化させた。このPDMS鋳型をリザーバーを作製するための最終鋳型とした。この最終鋳型に、TEGDM 1mlに2-Hydroxy-2-methyl-propiophenone (硬化促進剤) 10 $\mu$ lを混合したプレポリマーをキャストし、UV架橋 (10mW/cm<sup>2</sup>, 3min [浜松ホトニクス, LC8]) して硬化させた。最終鋳型からTEGDMリザーバーを剥がして完成した。

### (2) 薬物ペレットの充填とカバー

Phosphate-buffered saline (PBS)をPEGDM/TEGDM=40%/60% (P40) プレポリマーに混合し、上述のリザーバーに12 $\mu$ Lをキャス



トし、90秒UV照射 (25mW/cm<sup>2</sup>) してペレット化した。徐放膜となるPEGDM/TEGDM混合プレポリマー (P40) をペレット側に滴下し、ガラス板を乗せて、3分間UV照射 (10/cm<sup>2</sup>) してリザーバーをシールした。Phosphate-buffered saline (PBS) で余分なPEGDM./TEGDMモノマーを洗浄した。

#### (4) 電子顕微鏡観察 (SEM)

他の分担研究で実施された移植後のデバイスをPBSでよく洗浄した後、臨界点乾燥機 (HCP-2、日立工機) で乾燥し、イオンコーター (L350S-C、Anelva) でPtスパッタリングした。5-20kVでSEM観察 (VE-9800、Keyence) を行った。

#### (5) デバイス中モノマー残存の定量

作成したデバイスをPBSに浸漬し、定期的にPBSを新しいものに交換した。回収したPBSを高速液体クロマトグラフィー (HPLC、Prominence、島津) で測定した。あらかじめ、PEGDM、TEGDM、硬化促進剤を含む標準液 (PBS) を測定し、各試薬のピーク位置を確認した。サンプルPBSのピーク強度からデバイスから溶出したモノマー濃度を定量した。

#### (6) 細胞毒性実験

細胞培養培地 (DMEM) にPEGDM、TEGDM、効果促進剤を混合し、希釈系列を作製した。

ラット網膜神経節細胞株 (RGC5) およびラット網膜色素上皮細胞株 (RPEJ) を $0.25 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>で96ウェルプレートに播種し、2日間培養した (37度)。上述の各モノマー混合培地 (FBS 10% for RGC5 or FBS 4%

for RPEJ、4.5mM Glucose) に交換し24時間培養した。MTS法 (Promega) によって細胞数を測定した。

(倫理面への配慮)

該当なし。

### C. 研究結果

#### (1) デバイスの作製

ウサギ眼用デバイス作成として、まず基本骨格となるリザーバーのデザインを検討した。臨床医 (分担研究者: 阿部俊明) の意見を参考に、眼球表面に密着する形状、薬剤が後眼部へ届く形状、強膜上に縫合固定しやすい形状、デバイス周囲組織を傷つけない形状、誰にでも移植しやすい形状を検討した。その結果、先および後端部は流線型とし、デバイス全体に角がないデザインを設計した。また、後端部の厚みはスロープのように徐々に薄くなる形状とした。これはデバイス挿入部位周辺部 (前眼部、結膜) への刺激をできるだけ少なくするためである。長さはウサギ (2kg) 眼の直径が約2センチと仮定した結果、12mmが適当であると判断した。強膜上に固定する方法はデバイスが移植後に移動することを防ぐために重要な課題である。デバイス後端部に穴を1つ設け、縫合糸を通して強膜に縫合する方法を検討したが、1点の縫合点ではデバイス先端が動くことと、デバイス先端が浮いてしまう課題があった。そこでデバイス側面に溝を4つ (片側2個) 設け、縫合糸を引っ掛けて4点で縫合する形状にした結果、デバイスの移動と先端部の浮きが解消された。

## (2) SEMによる構造評価

移植後のデバイス表面構造の評価を行った。5か月間ウサギ眼強膜上に移植されていたデバイスは、見た目には分解している様子はなく、移植前と全く同じ状態であった。SEMで表面を観察した結果、わずかに小さなクレター構造が見られたが、デバイス構造に影響を与えるものではなく、デバイス基材の生分解はほとんど起こっていないことがわかった。徐放膜によるシール断面は、徐放膜のPEGDMとリザーバーのPEGDMが一体化し、隙間なく埋められており、薬剤のリークの可能性は低いと考えられた。

## (3) デバイス中の残存モノマー量および細胞毒性

デバイスから溶出するモノマー量を測定した。その結果、浸漬2時間後に溶出量が最大を示し、1週間後には未検出となった。最大溶出濃度はPEGDM 54.3ng/ml、TEGDM 504.1 ng/ml、効果促進剤 0.04ng/mlであった。

モノマーを含む培地で細胞毒性を評価した結果、PEGDMはRGC5に対して391  $\mu$ g/ml以上、RPEJに対しては781  $\mu$ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。同様にTEGDMはRGC5に対して195  $\mu$ g/ml以上、RPEJに対しては391  $\mu$ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。同様に効果促進剤はRGC5に対して391  $\mu$ g/ml以上、RPEJに対しては391  $\mu$ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。

## D. 考察

本研究はウサギ眼強膜上に移植可能なデバイスの設計と移植後のデバイス構造評価を行った。分担研究の移植評価ではウサギ眼強膜上への移植後、炎症や眼内への副作

用の報告はない。ウサギ眼はヒト眼の大きさに近いため、形状の微修正でヒト眼に応用可能と期待できる。

ラット眼は体積が小さいため、薬物の眼内移行の評価が検討できないため、ウサギ眼で薬物の眼内移行性を評価する予定である。また、前臨床試験となるサルへの移植では、本デバイスを用いて行う予定である。

移植後のデバイスは移植前とほとんど変化のない表面構造であり、デバイスの分解・崩壊はなく、長期間の移植に耐えることが期待できる。また結合組織の付着が少なく、生体不活性 (Bioinert) を維持していた。PEGDMおよびTEGDMはBioinert材料として、すでに歯科材料として臨床応用されており、医療材料としても適合が期待できる。

デバイス中にはわずかな未反応モノマーと効果促進剤が残っていたが、これは細胞毒性を示す濃度の1万分の1以下であり、また1週間後にWash outされ未検出となるため、残存モノマーによる細胞毒性は長期的に問題ないと考えられた。

## E. 結論

ウサギ眼に移植可能なデバイスを開発した。CAD-CAMによる微細加工法はデザインの自由度が高く、より移植性や徐放特性に優れたデバイスデザインが可能であると期待できる。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

1. 論文発表  
なし

## 2. 学会発表

(国際学会発表)

- ① Nobuhiro Nagai, Hideyuki Onami, **Hirokazu Kaji**, Takuya Yamada, Yuki Katsukura, Machiko Sato, Yumi Ishikawa, Toru Nakazawa, Matsuhiko Nishizawa, and Toshiaki Abe “Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Light-induced Retinal Damage in Rats” 2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida (May 6-10, 2012)
- ② Hideyuki Onami, Nobuhiro Nagai, Ryosuke Wakusawa, **Hirokazu Kaji**, Takuya Yamada, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Yasufumi Sato, Toru Nakazawa, and Toshiaki Abe “Suppression of Rat Choroidal Neovascularization by Transscleral Vasohibin-1 Delivery Device” 2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida (May 6-10, 2012)

(国内学会発表)

- ① 永井展裕、大浪英之、**梶弘和**、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、阿部俊明：「経強膜マルチドラッグ徐放デバイスの作製と網膜保護効果の検討」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2012、仙台国際センター（2012年11月26-27日）
- ② 伊藤俊太郎、永井展裕、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明、**梶弘和**：「マイクロ流路デバイスを用いる眼底組織培養モデルの開発」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2012、仙台国際センター（2012年11月26-27日）
- ③ 永井展裕、大浪英之、**梶弘和**、山田琢

也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、阿部俊明：「薬物徐放デバイスの作製と網膜光障害モデルに対する網膜保護効果の検討」第32回日本眼薬理学会学術集会、ピアザ淡海（2012年9月15日～16日）

- ④ 永井展裕、大浪英之、**梶弘和**、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、阿部俊明：「網膜光障害モデルに対する経強膜DDSの網膜保護効果」第28回日本DDS学会学術集会、札幌コンベンションセンター（2012年7月4日～5日）
- ⑤ 大浪英之、永井展裕、**梶弘和**、山田琢也、勝倉由樹、西澤松彦、中澤徹、阿部俊明：「プロテインドラッグ眼内徐放デバイスによる加齢黄斑変性治療の試み」第28回日本DDS学会学術集会、札幌コンベンションセンター（2012年7月4日～5日）
- ⑥ 大浪英之、永井展裕、**梶弘和**、西澤松彦、涌沢亮介、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明：「分子徐放デバイス作製と網膜保護」第63回東北臨床超微形態懇話会、東北大学医学部（2012年6月28日）
- ⑦ 永井展裕、大浪英之、**梶弘和**、山田琢也、勝倉由樹、佐藤真智子、中澤徹、西澤松彦、阿部俊明：「網膜光障害モデルに対する経強膜ドラッグデリバリーデバイスの網膜保護効果」第116回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム（2012年4月5日～8日）
- ⑧ 大浪英之、永井展裕、**梶弘和**、西澤松彦、涌沢亮介、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明：「経強膜vasohibin徐放デバイスによるラット脈絡膜新生血管抑制」第116回日本眼科学会総会、東京国際フォ

ーラム (2012年4月5日～8日)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3.その他

なし