

別紙 1

総合研究報告書表紙

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 23 年度～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 永井 展裕

平成 25（2013）年 5 月

総合研究報告書目次

目 次	
I. 総合研究報告	
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. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 18
III. 研究成果の刊行物・別刷	----- 19

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。H23 年度は網膜保護が期待される臨床薬物の geranylgeranylacetone（GGA）と edaravone（EDV）をシングル DDS 化し、網膜障害モデルラットに移植して薬効を評価した。その結果、いずれの薬物においても網膜保護効果が確認された。また、3 種類の蛍光色素を充填した DDS をラット眼に移植し眼内移行性を評価した結果、各色素が徐放特性と一致して網膜へ移行していることを確認した。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 EDV と UNO のマルチ DDS 化を検討した。その結果、UNO は EDV や GGA と同様にデバイス基材の 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網膜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。またデバイス自体の眼局所毒性は小さいことがモノマー溶出試験と細胞毒性実験から示唆された。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、多剤持続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ィルス性網膜炎の治療で使われていた抗炎症剤の眼内インプラント (Vitrasert、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Ocusept (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網膜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、非生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 (PCT/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H23年度に、モデルドラッグとして3種類の蛍光色素を用いて、多剤動態制御性を検討した。次に臨床薬物としてEdaravone (EDV) とGeranylgeranylacetone (GGA) をシングル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。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 Pharmacol, 79, 119-125, 2011）。GGAは胃炎治療薬として利用されているHeat shock protein誘導剤（セルベックス）である。最近、光障害モデル、緑内障モデル、虚血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：J Neurosci, 25, 2396-2404, 2005、緑内障：Invest Ophthalmol Vis Res, 44, 1982-1992, 2003、虚血：Mol Vis, 13, 1601-1607, 2007）。これらはいずれも全身投与で行われている。

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、EDVとUNOをマルチDDS化し、網膜光障害モデルに対する相乗効果的な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チャネルを活性化することで細胞内Ca²⁺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（Biochimica et Biophysica Acta, 1768, 1083-1092, 2007）。また最近、UNOは網膜色素変性を抑制する可能性が第2相臨床試験で報告され、2013年3月に第3相臨床試験が開始されている。これは毎日2回の点眼によって投与されている。

臨床的にはEDV、GGA、UNOはいずれも全身投与か点眼によって検討されている。しかし上述のようにこれらの方法では全身への薬剤移行があるため、網膜局所への薬剤移行が悪く十分な薬効が得られないと考えられる。また、毎日これらの面倒な投与をしなければならない。そこでこれら薬剤を我々のデバイスで徐放化し、経強膜持続投与によって網膜保護効果を示すか検討することを目的とした。また、これら薬剤を同時に徐放するマルチDDSを作製し、臨床では一般的になりつつある多剤併用療法のように相乗効果を示すか検討した。また、デバイスの眼局所への毒性や眼球形状にあった適切なデバイス形状を検討した。本研究は検討項目として、下記の内容を検討した。

- (1) ラット眼、ウサギ眼用デバイスの作製
- (2) EDV、GGA、UNOシングル徐放条件検討
- (3) In vitro細胞培養によるEDV、GGA、UNOの薬効評価
- (4) EDV、GGA、UNOシングル徐放デバイスの網膜光障害モデルに対する網膜保護効果

- (5) UNO/EDVマルチ徐放デバイスの網膜光障害モデルに対する網膜保護効果
- (6) デバイスの眼局所毒性評価
- (7) 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 (10 cm×10 cm×5 mm)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℃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℃で30分加熱して硬化させた。このPDMS鋳型をリザーバー作製の最終鋳型Cとした。このPDMS鋳型Cに、TEGDM 1mlに2-Hydroxy-2-methyl-propiophenone (硬化促進剤) 10 μ lを混合したプレポリマーをキャストし、UV架橋 (10 mW/cm², 3 min [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、ラット眼用が内径、縦1.5mm×横1.5 mm×高さ0.6 mm、薬剤充填部容量は1.2 μ l, in vitro徐放測定用が内径、縦7 mm×横7 mm×高さ2 mm、薬剤充填部容量は9 μ lである。ウサギ眼用は幅4.4 mm×長さ12 mm×厚さ1 mm、薬物充填量12 μ 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鋳型にキャストしてUV硬化 (10 mW/cm², 1.5 min)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1.5 mm×横1.5 mm×高さ0.6 mmで作製した。

蛍光色素としてFluorescein (FL、WAKO)、Rhodamine B (Rho、WAKO)、4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI、WAKO)を使用した。これらの色素は励起波長が重複しないため、個別に評価可能である。薬物としてEdaravone (EDV、WAKO)、Geranylgeranylacetone (GGA、エーザイ(株)から譲渡)、Unoprostone isopropyl (UNO、アールテック・ウエノ(株)から譲渡)を使用した。PEGDM/TEGDMペレットに蛍光色素は50 mg/ml、薬物は250 mg/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。

蛍光色素ペレットを各色3分の1に切って、各色1個ずつをリザーバー内に詰めた。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。シングルDDSの場合は、ペレット1個をそのままリザーバーに詰めた。

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

一を滴下し、ガラス板でカバーした後、UV硬化 (10 mW/cm^2 , 3 min [浜松ホトニクス、LC8]) して作成した。この条件で徐放膜の厚みは約 $100 \mu\text{m}$ 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) 1 mL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。蛍光色素サンプルは、回収したPBSを蛍光プレートリーダー (TECAN、Thermo) で測定し、あらかじめ測定しておいたスタンダード曲線から、蛍光色素の濃度を算出した。薬物の場合は、回収したPBSにアセトニトリルを 1 : 1 で混合し、 $0.45 \mu\text{m}$ 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、GGA、UNOの検量線を作製し、薬物濃度を計算した。

(3) EDV、GGA、UNOの薬効検討 (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 $0.25 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ で96ウェルプレートに播種し、2日間培養した (37°C)。UNOを0から $500 \mu\text{M}$ で含有した培地 (DMEM、FBS 10%、 4.5 mM Glucose) で1日間培養した。低酸素・低栄養負荷として、Cobalt chloride (CoCl_2 , $200 \mu\text{M}$) を含む培地でNormoxia ($20\% \text{ O}_2$) で培養する条件、低酸素インキュベーター ($2\% \text{ O}_2$) で 2.8 mM Glucoseを含む培地で培養する条件 (OD、

Oxygen deprivation) および 0 mM 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。薬物はこれらの培地に0から $2000 \mu\text{M}$ で含有するように調整した。薬物は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、EDV/UNO同時添加の実験では、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 250 g の雄のSDラットを使用した。 1.5 kg から 2.5 kg 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 (90 mg/kg) とキシラジン塩酸塩 (10 mg/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) 徐放薬物のIn vivo定量

ラット眼強膜上に蛍光色素デバイス移植後、1、2、4週目に麻酔の過剰投与および頸椎脱臼によりラットを安楽死し、眼球を摘出した。余分な結膜や筋などを除去し、デバイスを取り外した。角膜、水晶体、硝子体を除去してアイカップを作製し、網膜を慎重に剥がして回収した。残ったアイカップの強膜から網膜色素上皮/脈絡膜をピンセットで慎重に剥がして回収した。残った組織は強膜として回収した。回収した網膜(RE)と網膜色素上皮/脈絡膜/強膜(R/C/S)を1%Triton X-100を含有するPBS 200 μ Lに入れ、超音波破碎機で4℃でホモジナイズした。ホモジネートを5000 gで10分遠心し、上清100 μ Lを回収し、蛍光プレートリーダー(フルオロアセント、Thermo)で測定した。検量線から各色素の濃度を算出した。

(7) 蛍光色素移行性の組織学的評価

蛍光色素デバイス移植後、1、2、4週目に麻酔の過剰投与および頸椎脱臼によりラットを安楽死し、眼球を摘出した。余分な結膜や筋などを除去し、デバイスを取り外し、同部強膜に目印として10-0ナイロンを縫合した。OCTコンパウンドに目印が側面に来るように浸漬し、液体窒素で凍結した。凍結ブロックをクライオスタットで約10 μ mに薄切し凍結切片を作成した。上記切片を蛍光顕微鏡(model FW4000,ver. 1.2.1;Leica

Microsystems)で観察した。

(8) 網膜光障害モデル

薬物徐放デバイスを移植後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℃、8000 Lux)。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。光照射後、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(ラット:2 mmベースカーブ、ウサギ:7.8 mm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 (1000 cds/m², 3 msec)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の移植、および未移植の動物を使用した。

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。EDVとUNOのマルチ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。

(9) 光障害後の組織学的評価

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を作製し、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 β -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。

(10) 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。5-20 kVでSEM観察 (VE-9800、Keyence) を行った。

(11) デバイス中モノマー残存の定量

PBSを充填したデバイスを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。

(12) 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 0.25×10^4 cells/cm²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, 4.5 mM 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。

(13) 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ウサギ眼強膜上に移植し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ールテックウエノ社で実施された。

(14) 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) デバイスの作製

ラット眼用のデバイスは、ラット強膜上に移植可能でかつ薬物を有効濃度で充填できるように設計した。また、移植する際にセッシで持ちやすいようにグリップを設けた。さらに強膜上に固定できるように縫合用の穴を1個設けた。予備検討でデバイスのサイズを検討した結果、リザーバー壁面の強度と薬物充填量を考慮し、外径：2 mm × 2 mm × 1 mm、内径：1.5 mm × 1.5 mm × 0.6 mmのリザーバーとした。外径については、有効濃度を徐放するための薬物充填量として、1 μL以上が必要であり、ラット眼のサイズも考慮し、薬物ができるだけ充填できる最大のサイズとして決定された。またこの外径において、これより内径の大きいリザーバーとした場合、リザーバー壁面が薄くなり、割れる等の強度不足が懸念された。

リザーバー内にペレットを詰める本研究のコンセプトは、マルチDDSを可能にする。すなわち、薬物ペレットを小サイズに分割して、様々な薬物を詰めることが可能である。本研究では、薬物ペレットを3等分に切り刻み、3種類の異なる薬物を詰める検討を行った結果、容易にマルチDDS化することができた。各ペレットのサイズや徐放性は自由に変更できるため、薬物の種類や量に対応しやすい汎用性の高いデバイスとなっている。

In vitro徐放試験用にサイズの大きいデバイスを作製した。これは薬物の定量に行った高速液体クロマトグラフィーの検出限界を考慮した結果である。すなわち、ラット用の小型デバイスでは、徐放薬物が検出限

界以下のため定量が困難であったため、徐放試験用に別設計とした。

ウサギ眼用デバイスは将来的にヒトへの応用を見据えて、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（2 kg）眼の直径が約2センチと仮定した結果、12 mm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) 蛍光色素のIn vitro徐放性

デバイスは、徐放膜を2種類の異なるPEGDM比率のカバー条件で作製した。また、ペレットは、DAPIのPEGDM比率は一定に固定し、FLとRhoのPEGDM比率を2種類の異なるPEGDM比率で作製した。DAPIの放出量を基準にFLとRhoの徐放曲線を見ると、P

EGDM比率の異なるFLペレット、Rhoペレットを詰めると、そのPEGDM比率に応じて各色素の放出量を独立に制御できることがわかった。すなわち、DAPIの放出を一定にしながらFLの放出を早くしてRhoの放出を遅くするデバイスや、逆にRhoの放出を早くしてFLの放出を遅くするデバイスを作製することができた。また、放出を抑制するPEGDM比率の徐放膜にすると、各色素の徐放制御性は維持しながら、デバイスからの全体の放出量を約3分の1に抑制することができた。

以上より、ペレット中のPEGDM/TEGDM組成と徐放膜中のPEGDM/TEGDM組成の組合せによって、様々に3種類の薬物の徐放性を制御することが示唆された。

(3) 薬物のIn vitro徐放性

薬物 (EDV、GGA、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。また、薬物の違いによって同じカバー条件でも徐放速度が異なった。これは薬物の水溶性・脂溶性等の物理化学的性質の違いによるものと考えられる。

以上より、カバーのPEGDM/TEGDM組成を変えることで、薬物の徐放性を制御することがわかった。

(4) 薬物の薬効評価 (In vitro細胞培養)

薬物 (EDV、GGA、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 μ Mから300 μ 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 μ Mで極大を示した。一方、400 μ M以上では保護効果を認めなかった。また、CoCL₂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CoCL₂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。GGAはCoCL₂負荷で0.3から30 μ Mで保護効果を認めた。

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 μ M + EDV 18.75 μ M - 75 μ M、UNO 200 μ M + EDV 75 μ M、UNO 300 μ M + EDV 18.75 μ M - 37.5 μ M。

次に細胞保護効果のメカニズムとして、EDVとUNOを添加した場合の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 μ M + EDV 18.75 μ M - 3

7.5 μ 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 μ M + EDV 18.75 μ M – 37.5 μ M) はUNOシングル添加と同程度にROSを低下させていた。

(5) 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。

(6) 蛍光色素のIn vivo徐放性

徐放された蛍光色素の眼内への移行性を、組織中の蛍光強度測定と凍結切片観察から評価した。蛍光カメラでデバイスが移植された眼球を観察した結果、デバイス内のFLが蛍光を発していることが観察された。また、デバイスを除去後、強膜上に蛍光が観察され、デバイスから蛍光色素が徐放されていることが確認できた。また、結膜側では蛍光が観察されず、強膜側に一方向に蛍光色素が徐放されていることを確認した。

次に、デバイス移植 1、2、4 週目に眼球を摘出し、網膜 (RE) と強膜/RPE/脈絡膜 (R/C/S) に分けてホモジネートの蛍光強度

を測定した。この実験では、FLの放出量を一定にして、RhoとDAPIの放出量を独立制御した2種類のデバイス間でその徐放性の差を見た。まずFLについては常に一定の徐放性にしたため、デバイス間の差はなかった。Rhoの放出が早いデバイスでは、各組織において蛍光強度が高め傾向を示した。一方、DAPIの放出が早いデバイスでは、R/C/SにおいてDAPIの蛍光強度が高め傾向を示したがREでは差が小さかった。

以上より、各色素の徐放特性に対応して眼内へ移行する色素量が変化することが示唆された。

(7) 網膜光障害モデル実験

カバー条件の異なるEDV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、EDV-DDSでは、EDV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、EDV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。UNOデバイスについてもEDVと同様の結果を得た。

GGAデバイスをラット強膜上に移植し1週と4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。PBS-DDSおよび未処理群では光障害によってa波、b波ともに7割以上低下していた。一方、GGAデバイス群では、波形値の低下が有意に抑制されていた。この抑制効果は移植1週と4週目で確認できた。しかし、抑制効果は4週目の方が小さかった。以上より、GGAデバイスは移植4週にわたってGGAを徐放し、網膜光障

害に対して網膜保護効果を示すことが示唆された。

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。

（8）光障害後の組織学的評価

ERG測定後7日目の網膜組織評価を行った。HE染色標本の網膜外顆粒層（ONL）厚みを顕微鏡観察で評価した。その結果、デバイス移植部位周辺部位において、コントロールデバイスと比較して有意にONL厚みが維持されていた。また、EDV/UNOマルチ徐放デバイス群ではシングル徐放デバイス群よりも厚みが維持されており、網膜全体にわたって厚みが維持傾向であった。

網膜保護の考察として、網膜の細胞死関連シグナルの発現を評価した。その結果、コントロールデバイス移植群ではp38のリン酸化が上昇し、MAPKのリン酸化は変化がなかった。一方、薬物デバイス移植群では、p38のリン酸化が減少しており、MAPKのリン酸化が上昇していた。また、EDV/UNOマルチ徐放デバイスでは、シングルデバイスと比較して、p38のリン酸化の減少がより低く、MAPKのリン酸化の上昇がより高い傾向にあった。

（9）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。

（10）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 54.3 ng/ml、TEGDM 504.1 ng/ml、効果促進剤 0.04 ng/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 μ g/ml以上、RPEJに対しては781 μ 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 μ g/ml以上、RPEJに対しては391 μ 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 μ g/ml以上、RPEJに対しては391 μ g/ml以上で細胞数の減少を認めた。

（11）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、複数の臨床薬物（EDV、GGA、UNO）を異なる任意の速度で徐放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 vit ro網膜細胞培養でも確認することができた。経強膜マルチDDSで網膜を保護する動物実験エビデンスを報告した例はなく、現時点では最初の報告である。

過去に報告されている経強膜DDSは生分解性ポリマーを使ったシンプルなタブレットタイプが多い。しかし、生分解型DDSは放出初期にDDS表面から薬物が一気に溶け出る初期バーストと、放出の最後にDDSが一気に崩壊するファイナルバーストがあり、薬物動態制御に課題があった。我々のデバイスは、非分解性のPEGDMとTEGDMを利用した、リザーバー/薬物ペレット/徐放膜の3つからなるカプセルとなっており、徐放

膜から薬物が一定放出されるため、初期バーストやファイナルバーストがなく、薬物動態制御に優れている。また、我々のデバイスのもう1つの利点として、結膜血流による薬物吸収を抑制し、強膜側に一方向に薬物を効率よく徐放できる点がある。過去に報告されているデバイスは、薬物徐放の方向性がなく結膜側など全方向に薬物が放出されるため、約9割が結膜に吸収され、強膜側に浸透する薬物量が制限されていた。我々のデバイスはリザーバーが薬物非透過性のTEGDM 100%で作製しているため、結膜側に薬物が放出されない仕組みになっている。以上より、過去の経強膜DDSの課題としてあった、薬物動態制御と結膜薬物吸収を改善したデバイスの作製に成功した。

本デバイスの大きな特徴は、複数の薬物をそれぞれ異なる速度で徐放できることである。網膜疾患は多因子関与の病態が多く、1種類の薬物では治療が困難なことが多い。例えば緑内障では、眼圧降下剤として2種類以上の薬剤を併用することが多くなってきた。加齢黄斑変性症では脈絡膜新生血管を抑制する抗VEGF抗体投与治療が大きな成果をあげているが、副作用やノンレスポonderが多く、血管新生抑制に加えて網膜神経を保護する神経保護因子の同時投与が重要になってくる可能性がある。本研究のデバイスを用いれば、臨床で行われている多剤併用治療を持続デバイス化できる可能性がある。

蛍光色素のIn vivo徐放性検討は、色素（薬物）の性質によって網膜への移行性が異なるという重要な結果を示唆していた。すなわち、Rhoは徐放特性と一致して網膜への移行が多くなっていたが、DAPIでは徐放

特性が異なるにも関わらず、網膜への移行量に差がなかった。過去の検討で、強膜から浸透していく薬物は網膜色素上皮（RPE）バリアでストックされ、ここを通過した薬物が網膜へ移行するメカニズムが示唆されている。RhoとDAPIの結果の差は、このRPEバリアの通過性に関係している可能性がある。従って、薬物の性質（水溶性、脂溶性、電荷など）によっては、網膜への移行性が変化することを示唆している。RPEでストックされることを考慮すると、網膜下のRPEや脈絡膜で起こる病態、たとえば脈絡膜新生血管や、視細胞のアポトーシスの抑制に対して、経強膜DDSが有効に働く可能性がある。

薬物徐放デバイスを利用した光障害モデル実験では、徐放膜条件によって保護効果が異なる結果を示した。これはある徐放膜条件において、網膜保護に働く有効濃度を放出していたことを示唆している。また、放出量の少ない徐放膜では保護効果が小さかったことから、徐放膜条件によって薬物のIn vivo徐放が制御されていたことを示唆している。また、GGAデバイスの実験では、移植4週目においても保護効果があった。これは、毎日点眼が必要であった病態に対して、デバイスの移植によって毎日の点眼が必要なくなることを示唆している。点眼は面倒で忘れるなど服薬コンプライアンスの問題もあり、本デバイスを用いれば長期間点眼の必要がなくなり、かつ誰が使用しても同じ効果が得られる便利でユニバーサルなデバイスとしての利用が期待できる。

GGAはHeat shock protein（HSP）誘導の薬理作用があり、経強膜的に徐放されたGGAが網膜色素上皮あるいは網膜に到達し、こ

れら組織中のHSPを亢進して網膜保護作用を示していると考えられる。予備的な検討ではデバイス移植後のラットの網膜色素上皮のHSPが上昇している結果を得ており、その結果誘導されるThioredoxinのような網膜保護サイトカインが網膜へ分泌され保護効果を示している可能性がある。

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、CoCl₂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のマルチ徐放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、慢性経過を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移行していた。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。また、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という結果は、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。

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た。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。

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、デバイスの眼局所毒性は認められず、また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 Takeaki Kawashima, **Nobuhiro Nagai**, Hirokazu Kaji, Norihiro Kumasaka, Hideyuki Onami, Yumi Ishikawa, Noriko Osumi, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe. “A scalable controlled-release device for transscleral drug delivery to the retina” *Biomaterials*, 32(7), 1950-1956 (2011)
- ② 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).
- ③ 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 **Nobuhiro Nagai**, Toshiaki Abe “Transscleral Sustained Drug Delivery by Novel Device” BIT’s 1st Annual Symposium of Drug Delivery System (SDDS-2011), Shenzhen, China (Nov 3-5, 2011)
- ② **Nobuhiro Nagai**, Takeaki Kawashima,

Hirokazu Kaji, Hideyuki Onami, Norihiro Kumasaka, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “Evaluation of Ocular Tissue Distribution of Drugs Delivered Transsclerally From A Non-biodegradable Polymeric Capsule Device” 2011 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida (May 1-5, 2011)

- ③ Toshiaki Abe, Hideyuki Onami, **Nobuhiro Nagai**, Norihiro Kumasaka, Ryosuke Wakusawa, Yumi Ishikawa, Shigeki Machida, Hikaru Sonoda, Yasufumi Sato “Suppression of Choroidal Neovascularization By Vasohibin-1 in Monkey Eyes” 2011 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida (May 1-5, 2011)
- ④ 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, Germany (July 16-21, 2012)
- ⑤ **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)
- ⑥ Hideyuki Onami, **Nobuhiro Nagai**, Ryosuke

Wakusawa, Hirokazu Kaji, Takuya Yamada, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Yasufumi Sato, Toru Nakazawa, and Toshiaki Abe “Suppression of Retinal 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、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DDSの網膜保護効果」第33回日本バイオマテリアル学会大会、京都テルサ（2011年11月21日～22日）
- ② **永井展裕**、大浪英之、梶弘和、山田琢也、佐藤真智子、西澤松彦、阿部俊明：「網膜保護用のマルチドラッグデリバリーシステムの作製」第33回日本バイオマテリアル学会大会、京都テルサ（2011年11月21日～22日）
- ③ **永井展裕**：「経強膜ドラッグデリバリーシステムによる網膜保護」2011年度厚生労働省研究班キックオフミーティング、東北大学医学部（2011年8月25日）
- ④ **永井展裕**：「網膜光障害モデルに対する経強膜DDSの網膜保護効果」2010年度東北大学視覚先端医療学講座報告会、勝山館（2011年7月15日）
- ⑤ **永井展裕**、熊坂典浩、大浪英之、川島丈明、梶弘和、西澤松彦、阿部俊明：「経強膜ドラッグデリバリーシステムによる網膜神経保護の試み」第27回日本DDS学会学術集会、東京大学本郷キャンパス（2011年6月9日～10日）

- ⑥ 永井展裕、川島文明、梶弘和、熊坂典浩、大浪英之、西澤松彦、阿部俊明：「多剤動態制御性に優れたマルチドラッグデリバリーシステムの作製」第27回日本DDS学会学術集会、東京大学本郷キャンパス（2011年6月9日～10日）
- ⑦ 大浪英之、永井展裕、熊坂典浩、石川有美、涌沢亮介、佐藤靖史、阿部俊明：「サル脈絡膜新生血管モデルに対するバソヒビンの抑制効果」第115回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム（2011年5月12日～15日）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）
- ⑧ 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）
- ⑨ 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）
- ⑩ 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）
- ⑪ 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）
- ⑫ 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）
- ⑬ 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）
- ⑭ 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
- ⑮ 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）
- ⑯ 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

(日米欧に国際出願中)

「持続性ドラッグデリバリーシステム」阿部俊明、永井展裕、梶弘和、川島文明、西澤松彦、西田幸二、日本特許出願番号：特願2011-527664、米国特許出願番号：13/398,051、欧州特許出願番号：10809937.5

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）

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
永井展裕	バイオ・生物製剤への応用に向けたDDS技術の動向と実用化の可能性「細胞製剤技術の現状と実用化の課題」	技術情報協会	DDS製剤の開発・評価と実用化手法	技術情報協会	日本	2013	231-235

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takeaki Kawashima, Nobuhiro Nagai , Hirokazu Kajiwara, Norihiro Kumasaka, Hideyuki Onami, Yumi Ishikawa, Noriko Osumi, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe.	“A scalable controlled-release device for transcleral drug delivery to the retina”	Biomaterials	32(7)	1950-1956	2011
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
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