

201324105A

別紙1

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

網膜色素変性治療をめざした経強膜ウノプロストン
徐放法の開発に関する研究

平成25年度 総括研究報告書

研究代表者 阿部 俊明

平成26（2014）年 5月

研究報告書目次

目 次

I. 総括研究報告		
網膜色素変性治療をめざした経強膜ウノプロストン徐放法の開発に関する研究	-----	1
阿部俊明		
II. 分担研究報告		
1. ウノプロストン徐放デバイスの滅菌法と安定性に関する研究	-----	6
西澤松彦		
2. ウノプロストン徐放デバイスの薬理効果に関する研究	-----	10
永井展裕		
3. ウノプロストン徐放デバイスの毒性に関する研究	-----	15
大波英之		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	18
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	22

研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）研究事業）
（総括）研究報告書

ウノプロストンの徐放と薬効評価に関する研究

研究代表者 阿部 俊明 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

我々は分子量にかかわらず初期バーストなしに安全性が高く、長期間、網膜に薬剤徐放可能なデバイスを開発した。今回はこのデバイスに緑内障薬として点眼で使用されているウノプロストン（UNO）を組み込み、網膜色素変性治療の非臨床 POC 取得を目指す。まず 24 年度に網膜光障害と遺伝性網膜変性ラット（S334ter ラット）での効果を確認したが、25 年度は大型動物としてウサギを利用してヒトに使用するものに近い形のデバイスの確認をするとともに、網膜変性ウサギに対する効果も確認した。まずデバイス移植後 1、4、8、28 日、3、6 カ月後のウサギ眼を摘出し、網膜と血漿から LC/MS/MS で UNO 含有量を測定した結果、6 カ月後でも UNO 活性体の網膜内量が測定でき、点眼 2 時間後より多い量が持続的に網膜で確認できた。また血漿中の最大量はむしろ点眼より低い傾向であった。さらに 24 週間正常ウサギに UNO 持続徐放デバイスを移植したが、網膜には網膜電図と OCT で異常は見られなかった。このデバイスは EOG ガス滅菌、電子線、 γ 線いずれも滅菌が可能で、滅菌後の UNO 徐放量に変化はなかったが、電子線、 γ 線ではデバイス色に変化が見られたので EOG ガス滅菌を選択することとした。37°C で目的量が徐放されるが、4°C では全く徐放されなかった。PMDA には 2 回相談に行き、また今年度はサイトビジットで評価も受けた。

阿部俊明

東北大学大学院医学系研究科
教授

A. 研究目的

失明疾患の上位は網膜疾患が占める。網膜疾患は高齢者に多いため、超高齢化社会を迎えた日本では有効な治療法のない難治性網膜疾患が更に増加すると考えられる。近年、血管新生を伴う網膜疾患に対し薬剤の硝子体内注射が有効であることが判明し、網膜疾患も薬剤治療の対象に考えられるようになった。しかし、頻回な硝子体内（眼内）注射は合併症や眼に注射を受け続けることの負担などが問題となっている。仮に有効な薬剤が発見されても慢性の経過をとる網膜疾患に対して現状の眼内投与法では実用化が難しい。点眼では網膜に薬物が十分に移行しないため網膜への薬剤徐放の工夫がこれ

まで報告されてきたが、実用的なものはない。一方我々は分子量にかかわらず初期バーストなしに長期間、網膜に薬剤徐放可能なデバイスを開発した。デバイス移植は眼内ではなく結膜下（強膜上）であるため安全性も高く、問題が生じた場合はすぐに摘出できる。高齢者は点眼を忘れがちであるなどの問題点も解決し、適切な薬剤さえあれば様々な網膜疾患や眼疾患以外にも利用できる利点がある。特許公開中であり今回はこのデバイスに BK チャンネル活性化による網膜保護の可能性が報告された緑内障薬ウノプロストン（UNO）をデバイス化して、強膜上から安全に持続的に徐放し網膜色素変性の進行抑制を目指す。網膜色素変性は厚生省特定疾患に指定されている難治性網膜疾患でいまだ治療法がないオーファン病であるが企業アライアンスで非臨床 POC 取得し、治験開始をめざす。

B. 研究方法

全体計画として 24 年度は毒性・局所刺激試験、ADME（吸収・分布・代謝）試験を開始し網膜変性動物モデルで効果を確認し、デバイス規格を決定する。25 年度以降は 24 年度の継続をして 26 年度内に非臨床 POC 取得し、27 年度は医師（企業）治験を開始することを目指す。東北大学内臨床研究推進センターと拠点内専門家、治験センター、倫理委員会、PMDA より評価を受ける。まず 24 年度は研究機関、分担機関は企業、臨床研究推進センター内プロジェクトマネージャーと研究全体の打ち合わせを行った。25 年度は当初の予定通り 24 年度の継続と非臨床 POC 取得のための実験を継続する。

①デバイス規格決—24 年度からの継続（阿部、永井、西澤）：デバイスからのウノプロストンの徐放量等はほぼ決定しているが、歩留まりを 100%にできる条件を探すとともに、保存状態、滅菌方法を決定する。

②毒性試験、局所刺激試験：24 年度にこれらの一部は Non-GLP であるが外部委託でおこなった。今年度は長期間のデバイス移植を行い、眼科学的検査を行うが、特に網膜機能（網膜電図（ERG））と形態（光干渉断層計（OCT））で網膜への副作用の可能性を確認する。

③24 年度は網膜変性抑制の薬効は光障害網膜変性と遺伝子変異網膜変性モデル（S334terSD ラット）で検討したが、今年度は大型動物として遺伝性網膜変性ウサギ（ロドプシンの変異（Pro347Leu））を利用して保護効果を確認する。網膜変性の機序はそれぞれ異なると考えられる。

④眼球や網膜構造が小動物とは異なる大型動物として遺伝性網膜変性ウサギでの検討を予定し、本デバイスのヒトへの効能確認に近づける。（阿部、永井、大浪）。

⑤網膜変性ウサギにウノプロストン徐放デバイスを移植したのちの網膜内の遺伝子発現の変化を一部の遺伝子で検討する。

（倫理面への配慮）

24 年度内にヒトへの応用はないが動物実験に関しては、研究機関内の承認手続きを経てから国立大学法人東北大学における動物実験等に関する規定、ならびに動物の愛護及び管理に関する法律を遵守して厳格に動物実験を行う。27 年度以降に治験を検討する

ようになった場合は東北大学内にある臨床研究推進センター内の専門家（病態・規制・臨床開発の専門家）と相談しながら速やかに開発に着手できる。デバイスは最終的に GMP 基準に乗っ取って作成され使用される予定。

C. 研究結果

25 年度はデバイスの大まかな規格決定を行い、UNO 徐放と温度の関係、滅菌方法の決定を行った。大型のウサギを利用してヒトに応用するデバイスの規格決定の準備を行い、長期ウノプロストン徐放による正常網膜への影響について眼科的検討を行った。さらに遺伝性網膜変性ウサギを利用してデバイスから徐放される UNO の網膜変性抑制効果を確認した。

①デバイスの大まかな規格決定（阿部、永井、西澤）：24 年度の検討でデバイスの歩留まり率 100%の作製条件は、デバイスは TEG100%、薬剤徐放膜・薬剤ペレット化は PEG/TEG40% でウノプロストン濃度は最大 500mg/ml と考えられた。今年度は保存と滅菌の検討を加えた。PBS 中保存では 37℃で目的の濃度の薬剤徐放が確認できた。23℃保存ではわずかな徐放が見られたが、4℃保存でデバイスからの徐放はほぼ見られなかった。蛋白質なしの PBS 中では温度の上昇とともに徐放速度が変

化するのが判明した。保存は室温以下が望ましいと考えられる。一方、デバイスの滅菌は EOG ガス滅菌、電子線、 γ 線を試みたが、いずれでも滅菌が可能であった。しかし、電子線、 γ 線はデバイスの色に変化が見られたために EOG ガス滅菌が最適と判断された。また、どの滅菌方法を使用しても滅菌後の UNO 徐放量は非滅菌に比較して変化はなかった。

②デバイスはヒト用デバイス前段階として大型動物であるウサギを利用して移植を行った。まずウサギ網膜でのウノプロストンの濃度測定を行った。24年度は1週間後まで網膜内にウノプロストンが徐放されているのが確認されたが、今年度は3ヶ月移植時点での網膜内でのウノプロストン濃度が測定できた。6ug/日徐放デバイス移植3か月の時点でのウノプロストン濃度はそれ以前に測定した網膜内濃度よりも減少していたが、ウノプロストン点眼2時間後と同レベル以上の濃度が維持されていた。

正常ウサギに同デバイスを移植後6カ月まで経過観察したが、網膜電図と光干渉断層計(OCT)に移植眼との差は見られなかった。その他の眼科的検査でもデバイス非移植眼との差は見られなかった。

③次に遺伝性網膜変性ウサギに6ug/日徐放デバイス移植を行った後に網膜電図とOCTで経過観察を行った。生後5週のラットに移植後3ヶ月の経過観察であったが(網膜変性早期)、網膜電図では錐体細胞機能も杆体細胞機能も非移植眼に比較して有意に網膜電図機能の低下がおさえられていることが判明した。この時点ではOCTでは差は見られなかった。

④網膜変性ウサギにデバイス移植後1週間でウサギから眼球を摘出し網膜からRNAを抽出した後にRT-PCRを行った。その結果デバイス移植網膜内では非移植変性網膜よりも錐体細胞内色素遺伝子(Green pigment)の発現が有意に多いことが推測された。またBKチャンネルの構成分子の1

つである beta2 subunit 遺伝子発現が非移植眼に比較して有意に多いことが推測された。

D. 考察

デバイスの保存方法と滅菌方法が決定し、デバイスの大まかな規格が決定したと言える。また、25年度の経過から考察すると、UNOを網膜に送達できれば、遺伝性網膜変性の進行を遅らせる可能性があることを示すことができたと考えられる。またデバイス移植は、高齢者は点眼を忘れることや、点眼などができない人への対応もできアドヒアランス向上につながるものが予測される。今後はGLPあるいはGMPレベルのデバイスの作製のために新たに企業と契約が必要になる可能性がある。非臨床POC取得のために、さらにこれらのデバイスの作製とその移植によるADMEの確認、長期の効果についての確認、PMDAへの申請が重要になると考えられる。

UNOは抗緑内障薬であるが、BKチャンネル活性化による神経保護が動物実験で報告されたために、本薬剤をうまく網膜に作用させることができれば、様々な網膜疾患や神経疾患に適応できると考える。実際に中枢神経障害モデルでBKチャンネルの活性化による神経保護が報告されている。本来点眼で使用されてきた本薬剤は、従来の点眼では十分な量の薬剤を網膜に到達させるのはなかなか困難で、また点眼ができない人がいることや、忘れるなどの問題点も指摘されてきたが、これらの問題を改善できるだけでなく、失明疾患の大部分を占める網膜疾患の新しい治療法になる可能性がある。すなわち本デバイスを使用してこれまで難治性と言われた網膜疾患の治療の選択肢が増え失明予防に貢献できる。また、汎用性のある本デバイスは抗がん剤を含め様々な薬剤の持続徐放が可能のために本研究の先には様々な疾患を対象と考えられる。まず疾患数は少ないが治療法のない網膜色素変性患者で効果を確

認し、他疾患にも本デバイスの適応を広げる。本研究は創薬プロセスの革新に眼科領域から取り組むことにもなり、行政施策にも貢献できると考える。

E. 結論

我々のデバイスは本来薬剤が持つ効果を局所で有効・安全に使用でき、これまで治療法のなかった網膜色素変性の新しい治療法開発になりえると改めて考えられた。すなわち本研究は創薬プロセスの革新に眼科領域から取り組むことに成功していると言え、行政施策にも貢献できると考える。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kunikata H, Aizawa N, Abe T and Nakazawa T. Toric intraocular lens implantation with posterior capsulotomy during 25-gauge microincision vitrectomy. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. in press.
- 2) Nagai N, Kaji H, Onami H, Katsukura Y, Ishikawa Y, Nezhad ZK, Sampei K, Iwata S, Ito S, Nishizawa M, Nakazawa T, Osumi N, Mashima Y, Abe T. A Platform for Controlled Dual-Drug Delivery to the Retina: Protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats. *Adv Healthc Mater*. 2014 Apr 19. doi: 10.1002/adhm.201400114. [Epub ahead of print]
- 3) Abe T, Tokita-Ishikawa Y, Onami H, Katsukura Y, Kaji H, Nishizawa M, Nagai N. Intrasccleral Transplantation of a Collagen Sheet with Cultured Brain-Derived Neurotrophic Factor Expressing Cells Partially Rescues the Retina from Damage due to Acute High Intraocular Pressure. *Advances in Experimental Medicine and Biology* Volume 801, 837-843. 2014
- 4) Nagai N, Kaji K, Onami H, Ishikawa Y, Nishizawa M, Osumi N, Nakazawa T, and Abe T, A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye. *Acta Biomaterialia* 10:680-687 2014.
- 5) Fujie T, Mori Y, Ito S, Nishizawa M, Bae H, Nagai N, Onami H, Abe T, Khademhosseini A, Kaji H. Micropatterned Polymeric Nanosheets for Local Delivery of an Engineered Epithelial Monolayer. *Adv Mater*, Volume 26, Issue 11, pages 1699–1705, March 19, 2014.
- 6) Kunikata H, Yasuda M, Aizawa N, Tanaka Y, Abe T, Nakazawa T. Intraocular concentrations of cytokines and chemokines in rhegmatogenous retinal detachment and the effect of intravitreal triamcinolone acetonide. *Am J Ophthalmol*; 155: 1028-37 e1. 2013.
- 7) Kunikata H, Aizawa N, Meguro Y, Abe T, Nakazawa T. Combined 25-gauge microincision vitrectomy and toric intraocular lens implantation with posterior capsulotomy. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*; 44: 145-54. 2013.
- 8) Onami H, Nagai N, Kaji H, Nishizawa M, Sato Y, Osumi N, Nakazawa T, Abe T. Transscleral sustained vasohibin-1 delivery by a novel device suppressed experimentally-induced choroidal neovascularization. *PLoS One*. 8(3): e58580.2013.
- 9) 阿部俊明、眼科臨床薬理各論 2. 内眼炎(ぶどう膜炎) 眼内炎症 ウイルス性ぶどう膜炎(急性網膜壊死、サイトメガロウイルス網膜炎)、臨床眼科 67 :

157-161 : 2013.

- 10) 雪田昌克、國方彦志、小林航、小林直樹、阿部俊明、中澤徹：角膜染血を伴う硝子体出血に広角観察システム併用 25G手術が奏功した一例. 臨床眼科. ISSN 0370-5579 (Print) ISSN 1882-1308 (Online) 67 卷 8 号 (2013.08) P.1331-1336 (ISID:1410104864) 2013.
- 11) 萱場寛子、阿部俊明、國方彦志、新田文彦、中澤徹:無光覚に陥った加齢黄斑変性の背景に関する検討. 眼科臨床紀要 6(9) : 729-733, 2013.
- 12) 浅野俊一郎、阿部俊明、國方彦志、今留尚人、高橋麻衣、中澤徹：発症 16 年後に僚眼に再発した急性網膜壊死の 1 例. 臨床眼科 67(5):663-667, 2013.

(書籍)

- 1) Toshiaki Abe * Nobuhiro Nagai , Chapter 2 Neuroprotection for age-related macular degeneration (AMD) and retinal pigmentary degeneration 2.1 Neuroprotection for photoreceptors, Neuroprotection and Regeneration for Retinal Diseases, Editors: Toru Nakazawa, Yasushi Kitaoka, Takayuki Harada, ISBN 978-4-431-54964-2. in press.

2. 学会発表

(国際学会発表)

- 1) Nagai N, Kaji H, Onami H, Yamada T, Katsukura Y, Ishikawa Y, Nishizawa M, Mashima Y, Abe T. “Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Photoreceptor Cell Death in S334ter Rhodopsin Mutant Rats” 2013 ARVO annual meeting, Seattle, Washington (May 5-9, 2013)
- 2) Nagai N, Kaji H, Onami H, Yamada T, Katsukura Y, Ishikawa Y, Nishizawa M, Mashima Y, Abe T.

“Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Photoreceptor Cell Death in S334ter Rhodopsin Mutant Rats” 2013 ARVO annual meeting, Seattle, Washington (May 5-9, 2013

(国内学会発表)

【口頭発表】

- 1) 永井展裕、梶弘和、大浪英之、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、眞島行彦、中澤徹、阿部俊明：ウノプロストン徐放デバイスの作製と網膜保護の効果、第 117 回日本眼科学会総会（東京）2013/04/04-04/07.
- 2) 橋本清香、丸山和一、國方彦志、阿部俊明、中澤徹：Vogt・小柳・原田病と類似した APMPE の 2 例、第 67 回日本臨床眼科学会 横浜 2013/10/31-11/3.

【ポスター発表】

- 1) 山田絵里香、新田文彦、國方彦志、阿部俊明、中澤徹：25 ゲージ硝子体手術後に発症し、治療に苦慮した彼硫黄斑変性の一例、第 67 回日本臨床眼科学会 横浜 2013/10/31-11/3.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

- 1) 中澤徹、阿部俊明、永井展裕 “網膜保護薬剤” 国立大学法人東北大学 P20130112 (平成25年7月11日)
- 2) Sustained drug delivery system 発明者 Toshiaki Abe, Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Takeaki Kawashima, Matsuhiko Nishizawa, Koji Nishida, 2013/6/4 特許庁 US 申請番号 13/909,313

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）研究事業）
（分担）研究報告書

ウノプロストン徐放デバイスの滅菌法と安定性に関する研究

研究分担者 西澤松彦 東北大学大学院工学研究科 教授

研究要旨

ウノプロストン徐放デバイスの滅菌法として、エチレンオキシドガス（EOG）、電子線、ガンマ線の3種類を実施し、滅菌後の性状、徐放性、薬剤含量、無菌性を評価した。その結果、いずれの滅菌法においても、未滅菌デバイスと比較して徐放性に変化はなかった。電子線と γ 線滅菌後は、デバイスが赤味を帯びる変色が認められた。 γ 線滅菌後は薬剤含量の低下が見られた。EOG滅菌はいずれの評価においても問題がなかったため、EOG滅菌がデバイスの滅菌法として適切と結論した。リン酸バッファー中で4℃、25℃、37℃、42℃で保存中の徐放性を評価した結果、25℃以下では徐放を認めず、42℃では徐放が早くなる傾向が見られた。EOG滅菌後、乾燥状態で25℃/60%および40℃/75%の条件で1か月、3か月保管後の性状、徐放性、薬剤含量、無菌性を評価した結果、3か月保存でも各項目に影響は見られなかった。

A. 研究目的

医薬品・医療機器開発において滅菌法の選択は重要である。熱に対する安定性を考慮するとオートクレーブ等の加熱滅菌は適用が難しいため、エチレンオキシドガス（EOG）、電子線、ガンマ線の3種類を検討することとした。EOGの滅菌条件は、EO濃度480mg/L以上で40℃/40%の条件下、4時間暴露する。デバイス内にガスが行き届かない場合は内部が滅菌できない可能性がある。電子線の滅菌条件は、照射量22kGyである。電子線によってウノプロストンが分解する可能性やデバイス基材が劣化、変色する可能性がある。 γ 線の滅菌条件は、照射量25kGyである。電子線と同様にウノプロストンや基材の劣化、変色の可能性がある。滅菌後のウノプロストン含量、徐放性、性状、無菌性を評価し、適切な滅菌法の選択を検討した。また、デバイスの安定性として、保存温度の影響、加速試験後のウノプロストン含量、徐放性、性状、無菌性を評価した。

B. 研究方法

(1) デバイスの作製

ヒト用PDMS鋳型（ ϕ 22mm曲率/21mm長）でTEGDMリザーバーを作成し、500mg/mlのウノプロストン/P40混合ポリマーをリザーバー内にキャスト（12 μ L）して、P40ポリマーでカバーした。（P40：40%PEGDM＋60%TEGDM）

(2) 滅菌法の検討

デバイスを滅菌用バッグに入れて下記の条件で滅菌を実施した。

EOG：480mg/L、40℃/40%、4時間

電子線：22kGy

γ 線：25kGy

(3) ウノプロストン含量測定

滅菌後デバイスを粉々した後、ガラスバイアルに入れて、アセトニトリルを正確に10mL加えた。超音波処理を3時間行って、UNOを抽出した。高速液体クロマトグラフィ（HPLC）でウノプロストン濃度の測定を

行った。

(4) 徐放性の測定

滅菌後のデバイスをリン酸バッファー (PBS) 1.5mL 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、HPLC で PBS 中のウノプロストン濃度を定量した。

(5) 性状

デバイスの色、欠けの有無などを目視で確認した。

(6) 無菌性

滅菌後のデバイスの無菌性評価を日本食品分析センターに依頼した。

(7) 保存温度の影響

デバイスを PBS 1.5mL に浸漬し、4°C、25°C、37°C、42°C でインキュベートした。定期的に PBS を回収し、HPLC で PBS 中のウノプロストン濃度を定量した。

(8) 加速試験

デバイスを恒温恒湿機に入れて、25°C /60%、および40°C/75% で保管した。1か月後、3か月後に取り出し、上記に記載の方法で性状、含量、徐放性、無菌性を評価した。

C. 研究結果

(1) 滅菌後の性状

EOG滅菌では、未滅菌と比較して色の変化はなかったが、EB滅菌、γ線滅菌ではデバイスがピンク色に変色していた (図1)。



図1. 滅菌後のデバイスの写真

(2) 滅菌後の含量

電子線滅菌、EOG滅菌では含量低下がほとんどなく、γ線滅菌では若干の含量低下が見られる結果であった。

(3) 滅菌後の徐放性

未滅菌デバイスと比較して、徐放性に大きな変化はなかった (図2)。

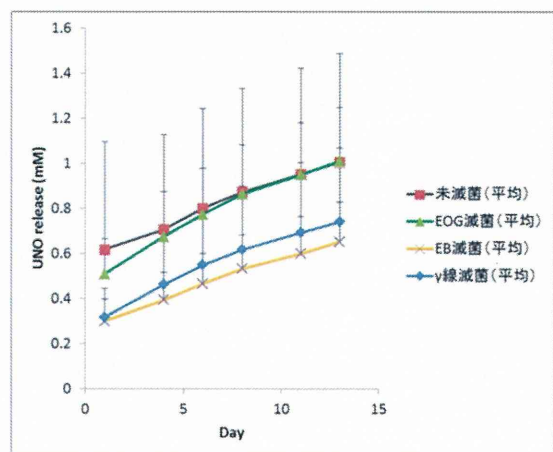


図2. 滅菌後デバイスのウノプロストン徐放性

(4) 無菌性

いずれの滅菌法でも微生物の増殖を認めない結果であった

(5) 保存温度の影響

保存温度4°Cでは徐放が認めなかった。4°Cから37°Cに戻すと徐放が元に戻った。さらに4°Cに戻すと徐放が認められず、37°Cに戻すとやや徐放量は低下したが元に戻った。

42°Cでは37°Cよりも徐放量が多くなった。以上より、温度と徐放速度に相関性があることがわかった。25°Cでは4°Cと同様にほとんど放出を認めないため、室温保存も可能と考えられた。

(6) 加速試験の影響

1か月および3か月加速試験後のEOG滅菌デバイスは、性状、含量、徐放性、無菌性い

ずれも問題なかった。

D. 考察

電子線、ガンマ線滅菌は強いエネルギー負荷がデバイスにかかるため、ウノプロストン含量の低下や性状の変化が認められた。一方、EOG滅菌では全ての項目で問題が認められなかった。EOGガスの浸透不足によるデバイス内部の無菌性が懸念されたが、問題なかった。

E. 結論

デバイスの滅菌法としてEOG滅菌が適当と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nagai N, Kaji H, Onami H, Ishikawa Y, **Nishizawa N**, Osumi N, Nakazawa T, Abe T. “A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye” *Acta Biomaterialia*, 10, 680-687 (2014).
2. Nagai N, Kaji H, Onami H, Katsukura Y, Ishikawa Y, Zhaleh KNezhad, Sampei K, Iwata S, Ito S, **Nishizawa M**, Nakazawa T, Osumi N, Mashima Y, Abe T. ”A Platform for Controlled Dual-Drug Delivery to the Retina: Protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats” *Advanced Healthcare Materials*, in press, DOI:10.1002/adhm.201400114 (2014).
3. Onami H, Nagai N, Kaji H, **Nishizawa M**, Sato Y, Osumi N, Nakazawa T, Abe T. “Transscleral sustained vasohibin-1 delivery by a novel device suppressed experimentally induced choroidal neovascularization” *PLoS ONE*, 8(3), e58580, (2013).

2. 学会発表

(国際学会発表)

1. Nagai N, Kaji H, Onami H, Yamada T, Katsukura Y, Ishikawa Y, **Nishizawa M**, Mashima Y, Abe T “Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Photoreceptor Cell Death in S334ter Rhodopsin Mutant Rats” 2013 ARVO annual meeting, Seattle, Washington (May 5-9, 2013)

(国内学会発表)

1. 梶弘和、藤枝俊宣、伊藤俊太郎、森好弘、永井展裕、**西澤松彦**、阿部俊明：「眼科領域におけるマイクロ・ナノ技術応用」日本機械学会：第 26 回バイオエンジニアリング講演会、東北大学（2014 年 1 月 11 日-12 日）
2. 梶弘和、藤枝俊宣、伊藤俊太郎、永井展裕、長峰邦明、**西澤松彦**、阿部俊明：「マイクロ流体デバイスを用いる眼底組織培養モデルの開発」日本動物実験代替法学会第 26 回大会、京都テルサ（2013 年 12 月 19 日-21 日）
3. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、**西澤松彦**、阿部俊明、梶弘和：「ナノシートを用いる細胞送達システムの開発」化学とマイクロ・ナノシステム学会第 28 回研究会、イーグレ姫路（2013 年 12 月 5 日-6 日）
4. 網嶋俊一、伊藤俊太郎、藤枝俊宣、永井展裕、**西澤松彦**、阿部俊明、梶弘和：「バルジ試験器機構を利用した上皮細胞への力学的負荷システムの開発」化学とマイクロ・ナノシステム学会第 28 回研究会、イーグレ姫路（2013 年 12 月 5 日-6 日）
5. 梶弘和、藤枝俊宣、森好弘、永井展裕、**西澤松彦**、阿部俊明：「高分子ナノ薄膜を用いる細胞送達システムの開発」化学工学会細胞アッセイ研究会シンポジウム：細胞アッセイ技術の現状と将来、東

京大学 (2013年11月25日)

6. 永井展裕、梶弘和、岩田悟、泉田泰子、西澤松彦、眞島行彦、阿部俊明：「経強膜ウノプロストン徐放デバイスの作製と網膜保護」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀 (2013年11月25日-26日)
7. 岩田悟、永井展裕、泉田泰子、梶弘和、西澤松彦、眞島行彦、阿部俊明：「光硬化性生体材料によるウノプロストン徐放デバイスの作製と In vitro 薬効評価」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀 (2013年11月25日-26日)
8. Zhaleh KNezhad, Nagai N, Yamamoto K, Saya H, Kaji H, Nishizawa M, Nakazawa T, Abe T：「Protective effects of sustained clotrimazole release against light-induced retinal degeneration in rats」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀 (2013年11月25日-26日)
9. 伊藤俊太郎、綱島俊一、藤枝俊宣、永井展裕、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「眼底組織モデル構築に向けたマイクロ流路デバイスの開発」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀 (2013年11月25日-26日)
10. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「ナノシートを用いる細胞送達システムの開発」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀 (2013年11月25日-26日)
11. 伊藤俊太郎、綱島俊一、藤枝俊宣、永井展裕、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「バルジ試験機構を用いた網膜色素上皮細胞評価システムの構築」電気学会：バイオ・マイクロシステム研究会、東京大学 (2013年10月8日)、
12. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「自己支持性ナ

ノシートによる細胞輸送システムの開発」電気学会：バイオ・マイクロシステム研究会、東京大学 (2013年10月8日)

13. 永井展裕、梶弘和、小柳恵理、勝山綾、西澤松彦、眞島行彦、阿部俊明：「網膜変性モデル動物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29回日本 DDS 学会学術集会、京都テルサ (2013年7月4日-5日)
14. 梶弘和、森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明：「自己支持性ナノ薄膜を用いた細胞デリバリー療法の開発」第29回日本 DDS 学会学術集会、京都テルサ (2013年7月4日-5日)
15. Zhaleh KNezhad, Nagai N, Yamamoto K, Saya H, Kaji H, Nishizawa M, Nakazawa T, Abe T：「Protective effects of Clotrimazole against oxidative stress-induced cell death in RGC-5 cells and preparation of controlled release device」第29回日本 DDS 学会学術集会、京都テルサ (2013年7月4日-5日)
16. 永井展裕、梶弘和、大浪英之、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、眞島行彦、中澤徹、阿部俊明：「ウノプロストン徐放デバイスの作製と網膜保護効果」第117回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム (2013年4月4日-7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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）研究事業）
（分担）研究報告書

ウノプロストン徐放デバイスの薬理効果に関する研究

研究分担者 永井 展裕 東北大学大学院医学系研究科 助教

研究要旨

臨床に使用するものに近い形のデバイスの確認をするために、網膜変性ウサギに対する薬理効果を確認することを目的とした。デバイス移植後のウサギ眼を摘出し、網膜と血漿からLC/MS/MSでウノプロストン (UNO) 含有量を測定した結果、6か月後でもUNOの代謝物 (M1体) が網膜内で検出され、点眼2時間後よりも多い量が持続的に網膜組織で確認できた。また血漿中の最大量は点眼より低い傾向であった。網膜変性ウサギに移植後の網膜電図による網膜機能の評価を行った結果、6か月にわたってプラセボデバイス対比、UNO徐放デバイスでは有意な網膜機能低下の抑制を認めた。

A. 研究目的

臨床に使用するものに近い形のデバイスの確認をするために、網膜変性ウサギに対する薬理効果を確認することを目的とした。使用するウサギは近藤（名古屋大学）らにより開発された網膜変性ウサギで、ヒト網膜変性患者で報告された視細胞に発現するロドプシンの変異 (Pro347Leu) を持つ。その網膜変性過程は近藤らにより詳細に報告されている（参考文献：Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50:1371- 1377）。この網膜変性ウサギにUNO徐放デバイスを移植して網膜保護効果を確認する。また、正常ウサギにUNO徐放デバイスを移植して、移植6か月までの眼内動態をLC/MS/MSによるUNO代謝物 (M1体) の定量によって評価した。

B. 研究方法

(1) デバイスの作製

ウサギ用の薬物リザーバーの形状をCADで設計し、CAM切削加工機でアクリル板に切削した。アクリル板にポリジメチルシロキサン (PDMS) をキャストし

鋳型を転写した。PDMS鋳型にトリエチレングリコールジメタクリレート (TEGDM) 1mlに硬化剤10 μ lを混合したプレポリマーを流しUV架橋して作製した。作成したリザーバーのサイズは外径、幅4.4mm×長さ10mm×厚さ1mm、でウサギ眼球の曲率に合わせた形状を持っている。薬剤充填部容量は5.7 μ Lである。徐放制御システムとして、ポリエチレングリコールジメタクリレート (PEGDM) 1mlに硬化剤 10 μ lを混合したPEGDMプレポリマーに、TEGDMを混合したものを使用した。リザーバーにUNOを40%PEGDM/ 60%TEGDM (P40) でペレット化したものを充填後、薬剤上にP40をキャストし、UV架橋によって薬剤をカバーしてデバイスを作製した。

(2) デバイス移植

UNO徐放デバイスをウサギ上鼻側強膜上に移植して、網膜機能を経時的に評価した。デバイス移植は上直筋に4-0糸で制御糸をかけ、眼球を下方回旋させ12時付近の球結膜を露出した。眼科剪刀を用いて、約4×4mmの鍵状球結膜切開を作製し、セッシを用い

てデバイスを球結膜と強膜の間に挿入した。デバイスの位置は先端が眼球赤道部から視神経の間とし、7-0縫合糸で強膜の上に固定した。デバイス固定後、球結膜の切開部を9-0縫合糸にて縫合した。クラビット点眼液を1~2点眼後タリビット眼軟膏を点入した。網膜機能測定は網膜電図（ERG）、網膜組織の評価は光干渉断層計（OCT）を使用した。ウサギは組織構造は髄翼を持つなど、ヒトと違うことが知られているが、杆体機能と錐体機能の両方がERGで評価可能で、眼球の大きさはヒトに近いので、実用に近い評価が可能と推測できる。

（3）ERG

1時間暗順応した後、暗室下でミドリンP点眼で散瞳した。ウサギ眼球に角膜電極（Mayo）を当てて固定し、-3.577、-2.577、-1.577、-0.577、0.477 (log cd*s/m²) の光刺激でRod（杆体細胞） ERGを測定した。

1時間明順応後、通常の照明下でミドリンP点眼で散瞳した。ウサギ眼球に角膜電極（Mayo）を当てて固定し、-1.000、-0.050、0.950、1.477、2.000 (log cd*s/m²) の光刺激でCone（錐体細胞） ERGを測定した。

（4）OCT

ミドリンP点眼で散瞳した。ウサギ眼球にコンタクトレンズ（ユニコン）を装着後、OCT（RS-3000 Advance、ニデック）の黄斑ラインモードで測定した。Inner limiting membrane（ILM）からRetinal pigment epithelium（RPE）までの厚みを網膜全層に渡って測定（1000点）し平均化した。

（5）正常ウサギ

日本白色ウサギ（2kg）にデバイスを移植した。移植後、血漿と眼球を摘出した。眼球から網膜を分画し、凍結後、新日本科学薬物代謝分析センターでLC/MS/MSによってウノプロトン濃度を測定した。

（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）網膜変性ウサギ

生後5週目の網膜変性ウサギに対する移植では、移植12週目までUNO徐放による網膜変性の抑制効果が見られた。生後38週の網膜変性ウサギに対する移植では、移植24週目までUNO徐放による網膜変性の抑制効果が見られた。24週後では統計的に有意にUNO徐放デバイス移植にa波の低下抑制効果が見られた。OCTによる網膜の厚み評価の結果、有意な差を認めることはできなかった。

（2）正常ウサギ眼内動態

図1に網膜内UNO濃度の測定結果を示す。点眼後30分で網膜内UNO代謝物濃度が平均16.8ng/gで最大値を示した。一方、UNO徐放デバイスでは2, 4, 8日目で持続的にUNO代謝物が検出でき、8日目で最大値の54.7ng/gを示した。

図2に血漿中UNO濃度の測定結果を示す。

血漿中の濃度は点眼後30分で最大を示し、その値は13.0ng/mlであった。一方、UNO徐放デバイスでは、4日目に最大を示し、その値は8.39ng/mlであった。

UNO徐放デバイスでは点眼より55倍高いAUC（area under the blood concentration-time curve、血中濃度-時間曲線下面積）の値を示し、血漿よりも網膜への移行が高いことがわかった。移植3か月後においては22.6ng/g、移植6か月後においても1.27ng/gのUNO代謝物が検出できた。



図1. 網膜内UNO濃度の結果

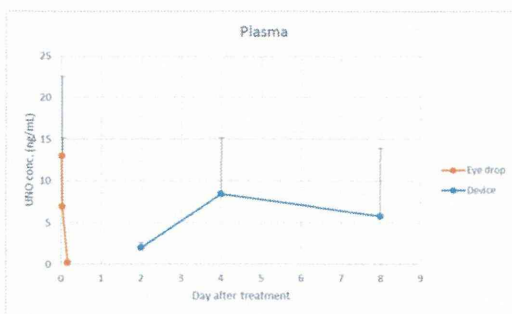


図2. 血漿中UNO濃度の結果

D. 考察

UNO徐放デバイスは6か月にわたって、ウサギ網膜内にUNOを持続的に送達することがわかった。点眼と比較して血中への移行が少ないため、眼局所にUNOを送達できている可能性が示された。また、網膜変性ウサギに対する移植では、6か月にわかって遺伝性の網膜変性を抑制することが示唆された。また、変性が初期の個体（5週齢）や後期の個体（38週齢）のいずれにおいても保護効果を示した。また、Cone（錐体細胞）由来のa波のERG信号が有意に維持されていたことは、視覚の維持に対する効果が期待できる。また、このウサギはヒトの網膜色素変性症のモデルとなっており、ヒトに対する網膜変性抑制効果が期待できる。

E. 結論

UNO徐放デバイスの6か月にわたる眼内

動態と網膜変性ウサギに対する薬理効果を評価した。今後は治験に使用できるデバイスのGMP製造を計画し、早期の臨床試験を目指す。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. **Nagai N**, Kaji H, Onami H, Ishikawa Y, Nishizawa M, Osumi N, Nakazawa T, Abe T. "A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye" *Acta Biomaterialia*, 10, 680-687 (2014).
2. **Nagai N**, Kaji H, Onami H, Katsukura Y, Ishikawa Y, Zhaleh KNEzhad, Sampei K, Iwata S, Ito S, Nishizawa M, Nakazawa T, Osumi N, Mashima Y, Abe T. "A Platform for Controlled Dual-Drug Delivery to the Retina: Protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats" *Advanced Healthcare Materials*, in press, DOI:10.1002/adhm.201400114 (2014).
3. Onami H,[†] **Nagai N**,[†] Kaji H, Nishizawa M, Sato Y, Osumi N, Nakazawa T, Abe T. "Transscleral sustained vasohibin-1 delivery by a novel device suppressed experimentally induced choroidal neovascularization" *PLoS ONE*, 8(3), e58580, (2013).

2. 学会発表

(国際学会発表)

1. **Nagai N**, Kaji H, Onami H, Yamada T, Katsukura Y, Ishikawa Y, Nishizawa M, Mashima Y, Abe T "Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Photoreceptor Cell Death in S334ter Rhodopsin Mutant Rats" 2013 ARVO annual meeting, Seattle, Washington (May 5-9, 2013)

(国内学会発表)

1. 梶弘和、藤枝俊宣、伊藤俊太郎、森好弘、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明：「眼科領域におけるマイクロ・ナノ技術応用」日本機械学会：第26回バイオエンジニアリング講演会、東北大学（2014年1月11日-12日）
2. 梶弘和、藤枝俊宣、伊藤俊太郎、永井展裕、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明：「マイクロ流体デバイスを用いる眼底組織培養モデルの開発」日本動物実験代替法学会第26回大会、京都テルサ（2013年12月19日-21日）
3. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「ナノシートを用いる細胞送達システムの開発」化学とマイクロ・ナノシステム学会第28回研究会、イーグレ姫路（2013年12月5日-6日）
4. 綱嶋俊一、伊藤俊太郎、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「バルジ試験器機構を利用した上皮細胞への力学的負荷システムの開発」化学とマイクロ・ナノシステム学会第28回研究会、イーグレ姫路（2013年12月5日-6日）
5. 梶弘和、藤枝俊宣、森好弘、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明：「高分子ナノ薄膜を用いる細胞送達システムの開発」化学工学会細胞アッセイ研究会シンポジウム：細胞アッセイ技術の現状と将来、東京大学（2013年11月25日）
6. 永井展裕、梶弘和、岩田悟、泉田泰子、西澤松彦、眞島行彦、阿部俊明：「経強膜ウノプロストン徐放デバイスの作製と網膜保護」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2013年11月25日-26日）
7. 岩田悟、永井展裕、泉田泰子、梶弘和、西澤松彦、眞島行彦、阿部俊明：「光硬化性生体材料によるウノプロストン徐放デバイスの作製と In vitro 薬効評価」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2013年11月25日-26日）
8. Zhaleh KNezhad、Nagai N、Yamamoto K、Saya H、Kaji H、Nishizawa M、Nakazawa To、Abe T：「Protective effects of sustained clotrimazole release against light-induced retinal degeneration in rats」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2013年11月25日-26日）
9. 伊藤俊太郎、綱嶋俊一、藤枝俊宣、永井展裕、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「眼底組織モデル構築に向けたマイクロ流路デバイスの開発」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2013年11月25日-26日）
10. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「ナノシートを用いる細胞送達システムの開発」第35回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2013年11月25日-26日）
11. 伊藤俊太郎、綱嶋俊一、藤枝俊宣、永井展裕、長峰邦明、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「バルジ試験機構を用いた網膜色素上皮細胞評価システムの構築」電気学会：バイオ・マイクロシステム研究会、東京大学（2013年10月8日）
12. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「自己支持性ナノシートによる細胞輸送システムの開発」電気学会：バイオ・マイクロシステム研究会、東京大学（2013年10月8日）
13. 永井展裕、梶弘和、小柳恵理、勝山綾、西澤松彦、眞島行彦、阿部俊明：「網膜変性モデル動物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29回日本 DDS 学会学術集会、京都テルサ（2013年7月4日-5日）
14. 梶弘和、森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明：「自己支持性ナノ薄膜を用いた細胞デリバリー療法の開

発」第29回日本DDS学会学術集会、
京都テルサ（2013年7月4日-5日）

15. Zhaleh KNezhad、**Nagai N**、Yamamoto K、
Saya H、Kaji H、Nishizawa M、Nakazawa
T、Abe T：「Protective effects of
Clotrimazole against oxidative
stress-induced cell death in RGC-5 cells
and preparation of controlled release
device」第29回日本DDS学会学術集会、
京都テルサ（2013年7月4日-5日）
16. **永井展裕**、梶弘和、大浪英之、山田琢也、
勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、眞島行
彦、中澤徹、阿部俊明：「ウノプロスト
ン徐放デバイスの作製と網膜保護効果」
第117回日本眼科学会総会、東京国際フ
ォーラム（2013年4月4日-7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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）研究事業）
（分担）研究報告書

ウノプロストン徐放デバイスの毒性に関する研究

研究分担者 大浪 英之 東北大学大学院医学系研究科 助教

研究要旨

ウノプロストン徐放デバイスの毒性評価を実施した。デバイスからのモノマー溶出試験の結果、ポリエチレングリコールジメタクリレート（PEGDM）の溶出はゼロであった。また、トリエチレングリコールジメタクリレート（TEGDM）の溶出は 0.45 ± 0.25 ($\mu\text{g/ml}$) を認めた後、その後の溶出はゼロであった。硬化剤 2-hydroxy-2-methyl propiophenone の溶出は 0.22 ± 0.09 ($\mu\text{g/ml}$) を認めた後、その後はゼロであった。各モノマーの細胞毒性濃度を評価した結果、PEGDMはRGC-5に対して 0.391mg/ml 以上、RPE-Jに対して 0.781mg/ml 以上で有意に毒性を示した。TEGDMはRGC-5に対して 0.195mg/ml 以上、RPE-Jに対して 0.391mg/ml 以上で有意に毒性を示した。硬化剤はRGC-5に対して 0.391mg/ml 以上、RPE-Jに対して 0.391mg/ml 以上で有意に毒性を示した。以上からPEGDMは溶出がないため毒性は無視でき、TEGDMと硬化剤は毒性示す濃度の400分の1以下の量しか溶出していないため、一度洗浄すれば毒性は全く無視できると考えられる。またデバイスのウサギ28日間留置では全身毒性は認められなかった。留置局所の結膜ではデバイス留置の影響はごくわずかであった。デバイス留置の影響に加えて徐放薬物の結膜への影響が示唆されたが、軽微と考えられた。

A. 研究目的

ウノプロストン徐放デバイスの医薬品・医療機器としての毒性試験として、デバイスの基材となるポリエチレングリコールジメタクリレート（PEGDM）、トリエチレングリコールジメタクリレート（TEGDM）、硬化剤2-hydroxy-2-methyl propiophenoneの溶出性を評価した。また各基材の毒性評価として、ラット網膜神経節細胞株（RGC-5）とラット網膜色素上皮細胞（RPE-J）を用いた細胞培養を検討した。また、ウサギ結膜下にデバイスを28日間埋植後の眼科学的検査を実施し、眼毒性試験を行った。

B. 研究方法

(1) デバイスからもモノマー溶出性
ヒト用デバイス ($\phi 22/21\text{mm}$, 500mg/ml , 6mg UNO) を作成し、PBS 1.5ml に浸漬し (37°C)、定期的にPBSを回収し、

新しいPBSでインキュベートした。回収したPBSをアセトニトリルと等量混合し、HPLCでPEGDM、TEGDM、硬化剤の溶出濃度を測定した。

(2) 細胞培養

- ①細胞播種 (96-well culture plates (BM equipment Co.) at a density of 1×10^4 cells/cm²)
- ②培養 (RGC-5 : DMEM, 48h, 37°C , RPE-J : DMEM, 48h, 33°C)
- ③モノマー添加 (PEGDM, TEGDM, 硬化剤を所定濃度混合したDMEMで培養, 24 h)
- ④細胞数測定 (CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS, Promega)を用いて、吸光度を用いて測定)

(3) ウサギ眼毒性試験

UNO徐放デバイスの非臨床試験の一環として、薬物徐放デバイスをウサギの球結膜下に28日間留置する眼毒性試験を行っ

た。URD-0 (0 μ g/day)、URD-1 (1 μ g/day)、URD-11 (11 μ g/day)、を結膜下に留置する群に加えて、切開及び縫合のみを行うSham群を設定した。各群とも4例とした。

C. 研究結果

(1) デバイスからもモノマー溶出性

PEGDMは初日からまったく溶出を認めなかった。TEGDMと硬化剤は1日目に溶出を認めたが、その後は溶出を認めなかった。最大溶出量はPEGDMはゼロ、TEGDMは0.45 \pm 0.25 (μ g/ml)、硬化剤は0.22 \pm 0.09 (μ g/ml)であった。

(2) 細胞培養

結果を図1に示す。PEGDMはRGC-5に対して、0.391mg/ml以上、RPE-Jに対して0.781mg/ml以上で有意に毒性を示した。TEGDMはRGC-5に対して、0.195mg/ml以上、RPE-Jに対して0.391mg/ml以上で有意に毒性を示した。硬化剤はRGC-5に対して、0.391mg/ml以上、RPE-Jに対して0.391mg/ml以上で有意に毒性を示した。

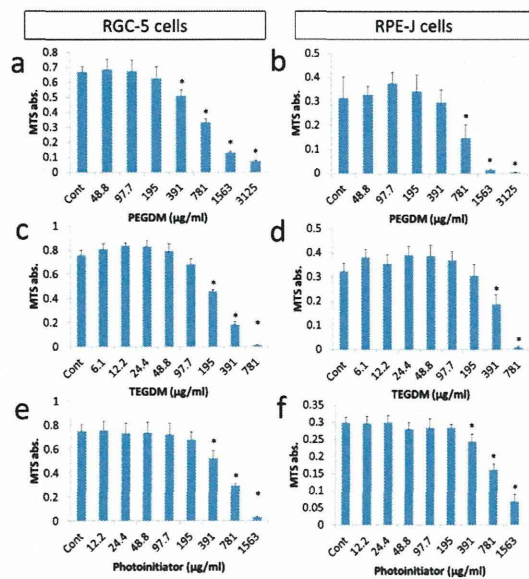


図1. PEGDM (a, b)、TEGDM (c, d)、硬化剤 (e, f) の細胞毒性

(3) ウサギ眼毒性試験

一般状態、体重、摂餌量、剖検及び器官重量では、URD-0 (0 μ g/day)、URD-1 (1 μ g/day) 群及びURD-11 (11 μ g/day) 群とも異常は認められなかった。

眼科学的検査では、前眼部刺激症状において、Sham群に留置後1週まで、URD-0 (0 μ g/day) 群及びURD-1 (1 μ g/day) 群に留置後2週まで、結膜の発赤など変化が認められた。一方、URD-11 (11 μ g/day) 群では、留置後3週以降も一部の例で結膜の発赤が認められた。しかし、点眼 (評点10点以上、以前に評価されたもの) に比較して軽微 (評点0-2) であった。また、眼圧の変化は見られなかった。

D. 考察

PEGDMは溶出がないため毒性は無視できると考えた。TEGDMは細胞毒性を示す濃度の433分の1の濃度がデバイスから1日目だけ溶出する。硬化剤は細胞毒性を示す濃度の1777分の1の濃度がデバイスから1日目だけ溶出する。以上から溶出モノマーの毒性は非常に低く、一度洗浄すれば全く無視できると考えられた。

薬物徐放デバイスのウサギ球結膜下28日間留置は、URD-11 (11 μ g/day) においても全身毒性は認められなかった。一方、留置局所の結膜では、デバイス留置の影響はごくわずかであった。URD-1 (1 μ g/day) 留置の影響は、デバイスのみ留置した場合と変わらなかった。URD-11 (11 μ g/day) 留置は、デバイス留置の影響に加えて徐放薬物の結膜への影響が示唆されたが、軽微と考えられた。

E. 結論

基材からのモノマー毒性はほぼ無視できると考えられる。また、ウサギ眼毒性試験ではデバイスの全身毒性と眼局所毒性がないことがわかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nagai N, Kaji H, **Onami H**, Ishikawa Y, Nishizawa M, Osumi N, Nakazawa T, aki Abe T. "A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye" Acta Biomaterialia, 10, 680-687 (2014).
2. Nagai N, Kaji H, **Onami H**, Katsukura Y, Ishikawa Y, Zhaleh KNezhad, Sampei K, Iwata S, Ito S, Nishizawa M, Nakazawa T, Osumi N, Mashima Y, Abe T. "A Platform for Controlled Dual-Drug Delivery to the Retina: Protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats" Advanced Healthcare Materials, in press, DOI:10.1002/adhm.201400114 (2014).

2. 学会発表

(国際学会発表)

1. Nagai N, Kaji H, **Onami H**, Yamada T, Katsukura Y, Ishikawa Y, Nishizawa M, Mashima Y, Abe T "Protective Effects of Transscleral Drug Delivery Device Against Photoreceptor Cell Death in S334ter Rhodopsin Mutant Rats" 2013 ARVO annual meeting, Seattle, Washington (May 5-9, 2013)

(国内学会発表)

1. 永井展裕、梶弘和、**大浪英之**、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、西澤松彦、眞島行彦、中澤徹、阿部俊明：「ウノプロストン徐放デバイスの作製と網膜保護効果」第117回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム（2013年4月4日-7日）

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

なし

研究成果の刊行に関する一覧表（阿部 俊明）

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
Nagai N, Kaji H, Onami H, Katsukura Y, Ishikawa Y, Nezhad ZK, Sampei K, Iwata S, Ito S, Nishizawa M, Nakazawa T, Osumi N, Mashima Y, <u>Abe T</u>	A Platform for Controlled Dual-Drug Delivery to the Retina: Protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats	Adv Healthc Mater	doi: 10.1002/adhm.201400114. [Epub ahead of print]		2014
Abe T, Tokita-Ishikawa Y, Onami H, Katsukura Y, Kaji H, Nishizawa M, Nagai N	Intrascleral Transplantation of a Collagen Sheet with Cultured Brain-Derived Neurotrophic Factor Expressing Cells Partially Rescues the Retina from Damage due to Acute High Intraocular Pressure. Retinal Degenerative Diseases	Advances in Experimental Medicine and Biology	Volume 801	837-843	2014
Nagai N, Kaji H, Onami H, Ishikawa Y, Nishizawa M, Osumi N, Nakazawa T, <u>Abe T</u> .	A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye	Acta Biomater	10	680-7	2014
Kunikata H, Aizawa N, Meguro Y, <u>Abe T</u> , Nakazawa T.	Combined 25-gauge microincision vitrectomy and toric intraocular lens implantation with posterior capsulotomy.	Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina	44	145-54	2013
Kunikata H, Yasuda M, Aizawa N, Tanaka Y, <u>Abe T</u> , Nakazawa T	Intraocular concentrations of cytokines and chemokines in rhegmatogenous retinal detachment and the effect of intravitreal triamcinolone acetate	Am J Ophthalmol	155	1028-37	2013