

2014/5022A

別紙1

研究報告書表紙

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26年度 総括研究報告書

研究代表者 阿部 俊明

平成27(2015)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		
総括・デバイスの移植 阿部俊明	-----	1
II. 分担研究報告		
1. 動物モデルの評価と疾患レジストリー構築準備	-----	7
中澤 徹		
2. デバイスの設計・作製	-----	14
西澤松彦		
3. デバイスの調整と動物実験	-----	18
梶 弘和		
4. 動物実験計画・動物モデル解析	-----	25
永井展裕		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	30
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	36

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

本研究は、特定疾患でいまだ治療法がない網膜色素変性症の治療法開発をめざして、ウノプロストン（UNO）徐放デバイス（Unoprostone Release Device、以下 URD）の開発を行い、薬効、毒性、薬物動態について評価を実施した。UNO は動物実験で網膜保護効果が報告され、また点眼第 II 相治験でも有効な可能性が報告された。デバイスは TEGDM と PEGDM で製造し、規格化した。エチレンオキシドガス滅菌 URD の安定性を加速試験で評価し、遺伝性網膜色素変性動物（ラット、ウサギ）に対する URD の網膜変性抑制効果を確認した。12 か月間埋植試験（Non-GLP）でプラセボデバイス埋植群、未処置群対比、毒性を認めなかった。また、URD 埋植後の網膜、脈絡膜、血漿中 UNO 測定の結果、6 か月間持続的に網膜/脈絡膜へ移行していることを確認した。URD の生物学的安全性試験（医療機器 GLP）、2 週間/13 週間/24 週間埋植毒性試験（医薬品 GLP）を実施し、URD6 ヶ月埋植の非臨床 POC をほぼ取得に至った。非臨床試験の充足性と毒性試験デザインの妥当性について医薬品医療機器総合機構（PMDA）の対面助言を実施した結果、ウサギとサルの網膜内 M1 濃度データからヒトにおける眼局所暴露量を推定、URD の薬剤バーストの影響評価（GLP）、埋植 URD 摘出後のリスク評価（GLP）、URD の 9-12 か月埋植毒性試験（GLP）、サル埋植試験における黄斑機能評価、が今後の課題として残った。GMP デバイス作製のめどが立ったが、研究者、臨床研究推進センター、および企業と検討し、12 ヶ月埋植の安全性評価を確認して治験に進むことになった。

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方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。本年度はこのデバイスに 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、24 年度から開始した研究成果を基に、今年度はデバイス埋植の安全性試験などを追加し、非臨床 POC 取得を目標にする。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を含めて将来の治験開始に向けた準備を行う。

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、25 年度はデバイス規格を決定し、中国、日本、アメリカで特許取得に至り、薬物動態検討を一部行い、26 年度内に安全性試験を追加して非臨床 POC 取得することを目指す。東北大学内臨床研究推進センターと共同研究者、企業と合同で 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い、それぞれの分担項目に従い検討を開始した。25 年度は薬効の追加確認を行い、試験物の規格決定のための追加実験を行い、26 年度は本研究課題の最終目標である非臨床 POC 取得のための安全性試験などを行う。

①デバイス規格決定—24 年度からの継続（阿部、永井、西澤）：今年度内に保存状態、滅菌方法を決定し、規格を決定する。

②デバイス埋植安全性試験（GLP）：24・25 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 2 週間/13 週間/24 週間埋植毒性試験（医薬品 GLP）のデバイス移植の安全性検査を GLP 試験で行う。

③特許取得のアプローチを継続する。

④PMDA 対面助言を行う。（阿部、永井、中澤、臨床研究推進センター、企業）。

⑤デバイスの医療機器としての安全性試験を行う。

⑥GMP 基準のデバイス製造について検討を開始する。

⑦疾患レジストリーの作成について検討を開始する。

（倫理面への配慮）

26 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。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

デバイスの滅菌方法の決定が決定し、加速試験で薬剤徐放に影響のないことを確認した。このデバイスはこれまでの検討どおりデバイスは 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。また、本デバイスは 4℃で薬剤 UNO の徐放が抑えられ、37℃で至適濃度を徐放することを確認した。一方、生体内と PBS 内では徐放量に若干差がある可能性も考えられた。

デバイスの安全性 GLP 試験を行った。2 週間/13 週間/24 週間埋植毒性試験（医薬品 GLP）で行い、経過中に異常所見は見られず、網膜電図等にも異常は見られなかった。24 週間埋植試験においてヒトへの応用にヒト徐放量を上回る UNO の徐放を確保するために、デバイスの 2 個埋植を行ったが、メスウサギ 3 匹（合計 6 匹）にデバイスの 1 つが脱落していることが判明した。2 個埋植したオスウサギに脱落は見られなかった。尚最終的な病理所見の結果がまだ確定していない。

PCT 出願していた特許であるが、中国で平成 25 年 11 月に取得できたのに引き続き、26 年 6 月には米国で、11 月には日本でも取得できた。EU は現在公開中であるが、侵害特許がないことが判明したので、近い将来取得できる予定である。

平成 26 年 11 月に PMDA と対面助言を実施した。非臨床試験の充足性と毒性試験デザインの妥当性について相談したが、我々が希望するデバイスの 1 年埋植について解決しなければならないいくつかの問題点が明らかにな

った。これらは 1)ウサギとサル網膜内 M1 濃度データからヒトにおける眼局所暴露量の推定、2)URD の薬剤バーストを想定した影響の評価 (GLP)、3)埋植 URD 摘出後のリスク評価 (GLP)、4)URD の 9-12 か月埋植毒性試験 (GLP)、5)サル埋植試験における黄斑機能評価である。

デバイスの医療機器としての安全性試験を行った。細胞毒性試験、感作性試験、刺激性試験、急性毒性試験、亜急性毒性試験、遺伝毒性試験 (復帰突然変異試験 (Ames 試験) 及び染色体異常試験) を行い、細胞毒性試験の直接法において弱い毒性が推測された。Non-GLP で施行した網膜色素上皮細胞においては毒性が見られなかったために、再検予定である。

デバイス作成は企業と合同で行う予定であるが、アールテック・ウエノにはデバイス製造施設がないために、アールテック・ウエノ社が指定する GMP 施設で製造予定。

本研究の目標は非臨床 POC 取得であるが、将来の治験開始に向けて疾患レジストリー作成の準備を開始した。(中澤、阿部)

D. 考察

今年度はデバイスの規格が決定した。滅菌方法も確定しただけでなく、本デバイスは 37℃で至適濃度を徐放し、4℃では UNO の徐放がほぼ抑制されることも判明した。デバイスの保存方法に影響を与える可能性がある。

薬効については 25 年度までにはほぼ終了していると判断しているため、今年度はデバイス埋植の安全性試験、薬物動態について検討した。2 週間、13 週間、24 週間埋植毒性試験で行い、経過中に異常所見は見られず、網膜電図等にも異常は見られなかった。2 週の急性期は炎症が見られても、13 週、24 週で組織学的に強い炎症がなく、同程度の組織所見であれば、その後は同程度の経過をたどる

ことが予想される。しかし、下記するが PMDA の判断は、もしヒトへの埋植が 1 年を予定するのであれば 1 年の埋植安全性試験が必要であるとの回答であった。ウサギ GLP 試験で使用するデバイスは UNO のデバイス内容量がヒト用の約半分であり、徐放期間もヒトに予定している 1 年の半分、6 ヶ月が推測されていた。したがって、24 週間埋植試験においてヒトへの応用にヒト徐放量を上回る UNO の徐放を確保するために、デバイスの 2 個埋植を行ったが (PMDA 確認済)、メスウサギ 3 匹 (合計 6 匹) にデバイスの 1 つが脱落していることが判明した。2 個埋植したオスウサギに脱落は見られなかった。ウサギ眼球はヒト眼球に比較して特に後方に小さく、本デバイス 2 個はウサギ眼球には負担である可能性が考えられた。デバイス自体のサイズは幅 4mm、厚さ 1mm、長さ 19mm で眼球子午線方向へのデバイス挿入であるために、臨床で用いられる黄斑バックルや網膜剥離手術用のバックルより小さく、ヒト応用に関しては問題がないと推測できる。尚最終的な病理所見の結果がまだ確定していない。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 PCT 出願していた特許であるが、中国で平成 25 年 11 月に取得できたのに引き続き、今年 26 年 6 月には米国で、11 月には日本でも取得できた。EU は現在公開中であるが、侵害特許がないことが判明したので、近い将来取得できる予定である。特許の面からも将来的な戦略を考慮した対応が進行していると判断できる。

研究代表者、研究分担者、臨床研究推進センター、企業と合同で PMDA と対面助言を実施した。これは非臨床試験の充足性と毒性試験デザインの妥当性並びに将来の治験についても少し相談したものである。この結果、我々が希望するデバイスの 1 年埋植について解決しなければならないいくつかの問題点が明らかになった。上記したが、これらは 1)ウサギとサル網膜内 M1 濃度と血漿のデータからヒトにおける眼局所暴露量の推定、2)URD

の薬剤バーストを想定した影響の評価 (GLP)、3)埋植 URD 摘出後のリスク評価 (GLP)、4)URD の 9-12 か月埋植毒性試験 (GLP)、5)サル埋植試験における黄斑機能評価である。UNO の網膜内薬剤動態は点眼のそれとはまったく逆の動態を示す。すなわち点眼後は前房濃度がもっとも高く、毛様体、硝子体、網膜、脈絡膜と減少するのに対して、デバイス埋植後は脈絡膜でもっとも高濃度を示し、網膜、毛様体、硝子体と減少し、点眼でもっとも高濃度に見られた前房内では測定限界以下であった。我々のデバイスの特性が生かさせていると判断できる。これらの結果をもとに1)~5)のGLP試験を27-28年までに終了させて治験に望みたい。

PMDA との事前面談でデバイスの医療機器としての安全性評価についても言及されていたために実行した。細胞毒性試験、感作性試験、刺激性試験、急性毒性試験、亜急性毒性試験、遺伝毒性試験（復帰突然変異試験（Ames 試験）及び染色体異常試験）を行った。感作性試験、刺激性試験、急性毒性試験、亜急性毒性試験、遺伝毒性試験（復帰突然変異試験（Ames 試験）及び染色体異常試験）においては毒性が見られなかった。一方、細胞毒性試験直接法において弱い毒性が推測されたが、網膜色素上皮細胞で検査を行ったときには見られなかったために、再検討をすることになった。これらの結果はデバイス埋植安全性試験の病理結果を含めて総合的に判断する予定である。

GMP デバイス製造はアールテック・ウエノ内ではできないために、同社が指定するGMP 施設で製造する予定になった。

疾患レジストリーであるが短期間の検討では東北大学内には 200 名弱の網膜色素変性患者がいることが推測された。将来の治験と考慮するとレジストリー構築に患者リクルート範囲を広げることも考慮に入れた検討が必要になる可能性がある。

E. 結論

網膜色素変性の新しい治療法開発に向け

たデバイスの検討が進み、6ヶ月の埋植であればほぼ非臨床POCを取得できたと判断する。明確にする内容が明らかになったので、これらに速やかに対応し治験対応の準備をしたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki N, Kunikata H, Aizawa N, Abe T, Nakazawa T. Predicting Visual outcomes for macula-off rhegmatogenous retinal detachment with optical coherence tomography. *J Ophthalmol.* 2014;2014:269837.
- 2) Kunikata H, Aizawa N, Fuse N, Abe T, Nakazawa T. 25-gauge microincision vitrectomy to treat vitrectoretinal disease in glaucomatous eyes after trabeculectomy. *J Ophthalmol.* 2014;2014:306814.
- 3) 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]
- 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) 阿部俊明、今日の眼疾患の治療指針 “樹氷状網膜血管炎”
- 7) 阿部俊明、内眼炎の薬物療法の最近のトピックス、生物学的製剤をよく使用する内眼炎治療

(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) Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Episclera Implantable Device fabricated with PDMS mold-based UV curing” *BIT’s 1st Annual World Congress of Smart Materials 2015, Busan, Korea* (March 23-25, 2015)
- 2) Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Yukihiko Mashima, Nobuhiro Nagai “Polymeric Device for Transscleral Multi-drug Delivery” *BIT’s 1st Annual World Congress of Smart Materials 2015, Busan, Korea* (March 23-25, 2015)
- 3) Aya Katsuyama, Nobuhiro Nagai, Hideyuki Onami, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Fabrication of a Capsule Device using Polyethyleneglycol Dimethacrylates for Extended Release of Ranibizumab” *BIT’s 1st Annual World Congress of Smart*

Materials 2015, Busan, Korea (March 23-25, 2015)

- 4) Nobuhiro Nagai “Polymeric device for transscleral drug delivery to the posterior segment” *Asia-ARVO 2015, Yokohama, Japan* (February 16-19, 2015)
- 5) Toshiaki Abe “Age-related retinal degeneration and recent therapy” *AAA symposium, Waseda-Univ., Tokyo.*(Dec. 18, 2014)
- 6) Toshiaki Abe ”Transscleral controlled delivery of geranylgeranylacetone using a polymeric device protects rat retina against light injury” *RD2014, , Pacific Grove, California, US* (July.13-18, 2014)
- 7) Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Kaori Sampei, Satoru Iwata, Matsuhiko Nishizawa, Yukihiko Mashima, Toshiaki Abe “Controlled Transscleral Dual-drug Delivery by a Polymeric Device Reduces Light-induced Retinal Damage” *2014 ARVO annual meeting, Orlando, Florida* (May 4-8, 2014), Poster
- 8) Zhaleh Kashkouli Nezhad, Nobuhiro Nagai, Kotaro Yamamoto, Hideyuki Saya, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Protective effects of sustained clotrimazole release against light-induced retinal degeneration in rats” *2014 ARVO annual meeting, Orlando, Florida* (May 4-8, 2014), Poster
- 9) Hirokazu Kaji, Toshinori Fujie, Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe “Local Delivery of an Engineered Epithelial Monolayer by Micropatterned Polymeric Nanosheets” *2014 ARVO annual meeting, 1449, Orlando, Florida* (May 4-8, 2014)

(国内学会発表)

【口頭発表】

1. 阿部俊明 「局所薬剤徐放システム」新技術説明会 (平成 26 年 6 月 6 日)
2. 阿部俊明 「私の網膜 DDS」第 1 回北海道アカデミー (平成 26 年 8 月 28 日)
3. 阿部俊明 「よく見られる眼底後極部白色病変」宮城県北眼科医会 (平成 27 年 3 月 5 日)

4. 阿部俊明「講演会」DDS 研究会（2014 年 9 月 20 日）
5. 永井展裕、泉田泰子、梶弘和、西澤松彦、中澤徹、眞島行彦、阿部俊明：「ウノプロストン徐放デバイスの強膜上投与による眼内薬物動態と埋植毒性評価」第 36 回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2014 年 11 月 17 日-18 日）
6. 網嶋 俊一、森 好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶 弘和：「圧力負荷機構を用いた上皮細胞の力学的評価システムの開発」化学とマイクロ・ナノシステム学会第 30 回研究会、北海道大学（2014 年 10 月 2 日-3 日）Poster
7. 森好弘、藤枝俊宣、永井展裕、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「ラット眼球網膜下への細胞担持ナノシートデリバリー」第 36 回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2014 年 11 月 17 日-18 日）
8. 永井展裕、梶弘和、西澤松彦、中澤徹、眞島行彦、阿部俊明：「光硬化性樹脂を利用した網膜ドラッグデリバリーシステムの開発」第 66 回日本生物工学会大会、札幌コンベンションセンター（2014 年 9 月 9 日～11 日）
9. 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眼内への細胞送達システムの開発」第 30 回日本 DDS 学会学術集会、慶應義塾大学薬学部（2014 年 7 月 30 日～31 日）
10. 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：「光硬化性 PEG ジメタクリレートで作成した網膜 DDS の実用化に向けた開発と評価」第 30 回日本 DDS 学会学術集会、慶應義塾大学薬学部（2014 年 7 月 30 日～31 日）
11. 永井展裕、梶弘和、西澤松彦、中澤徹、阿部俊明：「経強膜持続投与デバイスに

よる網膜保護の可能性」第 118 回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム（2014 年 4 月 2 日～6 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得

1) 梶 弘和、藤枝俊宣、森 好弘、西澤松彦、阿部俊明、永井展裕
“細胞担持パターン化ナノ薄膜”

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

3) 岩瀬英治, 新保創太, 武岡真司, 藤枝俊宣, 梶 弘和, 阿部俊明
“形状制御されたナノシート及びその製造方法” 特願 2015-043990 (2015 年 3 月 5 日)

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

動物モデルの評価と疾患レジストリー構築準備

研究分担者 中澤 徹 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

ウノプロストン徐放デバイスを利用した非臨床POC取得を目的としてきた本研究は、最終段階に来ており、動物でのデバイス埋植安全性評価と治験開始を目指した疾患ライブラリーの構築準備が重要になる1年になった。下記するように動物実験は順調に行われてきており、これまでのところ急性毒性などは眼科的な評価では見られていない。時間的な制約が少しあるが病理の結果を待つのみになった。PMDAから指摘を受けた治験に向けての検討としては、バーストを想定したデバイス移植とサルを用いた薬物動態解析の検討を開始した。一方、治験開始に向けて対象疾患であり網膜色素変性患者のリクルートと眼科的評価項目について研究グループ内で話し合った。慢性の経過をたどる本疾患に対して評価すべき項目は眼科一般検査に加えて、自覚検査の代表として視野検査、視覚感度検査、他覚的検査として局所網膜電図、自発蛍光検査、光干渉断層、網膜血管径測定などが有力候補になった。

A. 研究目的

本研究期間の最終目標である非臨床POC取得に向けて、薬物動態評価やGLPデバイス埋植安全性試験の評価を行う。また、本研究終了後の治験開始に向けた疾患レジストリー構築に向けた準備を開始することが目的である。

B. 研究方法

(1) 局所薬物動態と眼科的所見の検討：本検討を行うにあたり、まずNon-GLPで薬剤局所注射（テノン嚢内高濃度UNO注射）、あるいは硝子体内注射（眼内高濃度UNO投与（6mg））による眼科的評価を行った。特に硝子体内に高濃度にUNOを投与した場合、眼圧は少なくとも4週間後まで有意に低下することが判明した。一方この硝子体濃度はテノン嚢内でデバイスから薬剤がバーストを起こしても眼内に達しない濃度であった。網膜電図による検査ではどちらの方法でも、検査期間中コントロールとの差は見られなかった。

(2) サルを用いた評価

サル用デバイスを作製しサルに移植し、眼科的評価をおこなった。この評価では特に黄斑機能について検討予定であり、現在経過観察中である。また薬物動態についても同時に検討する。

(3) レジストリー構築準備

我々研究グループは網膜色素変性患者リクルートとデバイス埋植に対する評価方法を検討した。これまでの文献を検討し、慢性に経過する網膜色素変性に対してどのような評価方法が適切か、現在進行中の治験等も参考にしながら考察した。

C. 研究結果

(1) 高濃度として使用したUNOは6mgであるが、これはヒト用デバイスに包埋される全UNO量であり、これを硝子体内に投与すると、少なくとも4週間は眼圧が有意に低下することが判明した。しかし、網膜電図に有意差は見られなかった。テノン嚢下に直接注入した場合眼内投与と同様に眼圧の

有意な低下が見られたが、その値は軽度であった。網膜電図にコントロールとの差は見られなかった。

(2) 細胞培養

サル用のデバイスを作製した。必要と同じ徐放量 (10-12マイクログラム/日) を持つように調整できた。本デバイスをいサル上耳側居膜上に固定し、現在経過観察中である。サルの検討については、PMDAとの相談により27年度以降にも追加検討する可能性がある。

(3) レジストリー構築準備

我々研究グループは網膜色素変性患者リクルートとデバイス埋殖に対する評価方法を検討した。これまでの文献を検討し、慢性に経過する網膜色素変性に対してどのような評価方法が適切か、現在進行中の治験等も参考にしながら考察した。その結果以下のような項目を現時点では評価項目として考えている。全身検査や眼科一般検査以外に主要な項目は自覚的検査項目としてmicroperimetry (MP-3)、Humphrey static perimetry (10-2)、Goldmann perimetryが候補として考えられ、他覚的検査所見としてはOptic coherence tomography (OCT)、Autofluorescence imaging、Focal electroretinography (fERG)、Field ERG、Pattern electroretinography、Multifocal electroretinography等があげられる。

D. 考察

非臨床POC取得目指した今回の研究で、本分担者は最終的な動物実験の眼科的評価と本研究成果を利用して近い将来行われる予定の治験に対する検討を行った。また、サルを用いた黄斑機能解析や薬物動態も解析中であり、よりヒト眼球に近い状態で評価できると考えられる。治験開始までにレジストリー構築は必須であり、評価項目は引き続き検討予定とする。

E. 結論

デバイスの全身毒性と眼局所毒性がない

ことがGLP試験で明らかになった。疾患レジストリー構築の方向性が決定した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yukita M, Machida S, Nishiguchi KM, Tsuda S, Yokoyama Y, Yasuda M, Maruyama K, Nakazawa T. Molecular, anatomical and functional changes in the retinal ganglion cells after optic nerve crush in mice. *Doc Ophthalmol* 2015 ;130:149-56.
2. Kunikata H, Aizawa N, Kudo M, Mugikura S, Nitta F, Morimoto R, Iwakura Y, Ono Y, Satoh F, Takahashi H, Ito S, Takahashi S, Nakazawa T. Relationship of ocular microcirculation, measured by laser speckle flowgraphy, and silent brain infarction in primary aldosteronism. *PLoS One* 2015; 10: e0117452.
3. Takada N, Omodaka K, Nakazawa T. Regional susceptibility of the optic disc to retinal nerve fiber layer thinning in different optic disc types of eyes with normal tension glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2015;43:291-3.
4. Omodaka K, Yabana T, Takada N, Nakazawa T. Regional correlation of macular areas and visual acuity in patients with open angle glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2015 ;43:279-82.
5. Yokoyama Y, Tanito M, Nitta K, Katai M, Kitaoka Y, Omodaka K, Tsuda S, Nakagawa T, Nakazawa T. Stereoscopic analysis of optic nerve head parameters in primary open angle glaucoma: the glaucoma stereo analysis study. *PLoS One* 2014; 9: e99138.
6. Yokoyama Y, Maruyama K, Yamamoto K, Omodaka K, Yasuda M, Himori N, Ryu M, Nishiguchi KM, Nakazawa T. The role of calpain in an in vivo model of oxidative stress-induced retinal ganglion cell damage. *Biochem Biophys Res*

- Commun* 2014;451:510-5.
7. Yasuda M, Tanaka Y, Ryu M, Tsuda S, Nakazawa T. RNA sequence reveals mouse retinal transcriptome changes early after axonal injury. *PLoS One* 2014; **9**: e93258.
 8. Aizawa N, Kunikata H, Yokoyama Y, Nakazawa T. Correlation between optic disc microcirculation in glaucoma measured with laser speckle flowgraphy and fluorescein angiography, and the correlation with mean deviation. *Clin Experiment Ophthalmol*, 2014 ;42:293-4.
 9. Doi H, Kunikata H, Kato K, Nakazawa T. Ophthalmologic Examinations in Areas of Miyagi Prefecture Affected by the Great East Japan Earthquake. *JAMA Ophthalmol* 2014;132:874-6.
 10. Aizawa N, Nitta F, Kunikata H, Sugiyama T, Ikeda T, Araie M, Nakazawa T. Laser speckle and hydrogen gas clearance measurements of optic nerve circulation in albino and pigmented rabbits with or without optic disc atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:7991-6.
 11. Aizawa N, Kunikata H, Shiga Y, Yokoyama Y, Omodaka K, Nakazawa T. Correlation between structure/function and optic disc microcirculation in myopic glaucoma, measured with laser speckle flowgraphy. *BMC Ophthalmol* 2014; **14**: 113.
 12. Aizawa N, Kunikata H, Omodaka K, Nakazawa T. Optic disc microcirculation in superior segmental optic hypoplasia assessed with laser speckle flowgraphy. *Clin Experiment Ophthalmol* 2014; **42**:702-4.
 13. Aizawa N, Kunikata H, Nitta F, Nakazawa T. The relationship between laser speckle flowgraphy-measured optic disc microcirculation and postoperative visual recovery in rhegmatogenous retinal detachment. *Acta Ophthalmol* 2014. **42**:702-4
 14. Yamamoto K, Maruyama K, Himori N, Omodaka K, Yokoyama Y, Shiga Y, Morin R, Nakazawa T. The novel Rho kinase (ROCK) inhibitor K-115: a new candidate drug for neuroprotective treatment in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; **55**: 7126-36.
 15. Tsuda S, Kunikata H, Shimura M, Aizawa N, Omodaka K, Shiga Y, Yasuda M, Yokoyama Y, Nakazawa T. Pulse-Waveform Analysis of Normal Population using Laser Speckle Flowgraphy. *Curr Eye Res* 2014.;**39**:1207-15.
 16. Tanaka Y, Tsuda S, Kunikata H, Sato J, Kokubun T, Yasuda M, Nishiguchi KM, Inada T, Nakazawa T. Profiles of Extracellular miRNAs in the Aqueous Humor of Glaucoma Patients Assessed with a Microarray System. *Sci Rep* 2014; **4**: 5089.
 17. Takayama S, Shiga Y, Kokubun T, Konno H, Himori N, Ryu M, Numata T, Kaneko S, Kuroda H, Tanaka J, Kanemura S, Ishii T, Yaegashi N, Nakazawa T. The traditional kampō medicine tokishakuyakusan increases ocular blood flow in healthy subjects. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; **2014**: 586857.
 18. Suzuki N, Kunikata H, Aizawa N, Abe T, Nakazawa T. Predicting visual outcomes for macula-off rhegmatogenous retinal detachment with optical coherence tomography. *J Ophthalmol* 2014; **26**:9837.
 19. Shiga Y, Sato M, Maruyama K, Takayama S, Omodaka K, Himori N, Kunikata H, Nakazawa T. Assessment of Short-Term Changes in Optic Nerve Head Hemodynamics in Hyperoxic Conditions with Laser Speckle Flowgraphy. *Curr Eye Res* 2014: 1-8.
 20. Omodaka K, Yokoyama Y, Shiga Y, Inoue M, Takahashi S, Tsuda S, Maruyama K, Nakazawa T. Topographical Correlation Between Macular Layer Thickness and Clockwise Circumpapillary Retinal Nerve Fiber Layer Sectors in Patients with Normal Tension Glaucoma. *Curr Eye Res* 2014: 1-8.
 21. Omodaka K, Takada N, Takahashi H, Nakazawa T. Regional structural vulnerability of the macula in patients with normal tension glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2014. **43**:89-90
 22. Omodaka K, Nishiguchi KM, Yasuda

- M, Tanaka Y, Sato K, Nakamura O, Maruyama K, **Nakazawa T**. Neuroprotective effect against axonal damage-induced retinal ganglion cell death in apolipoprotein E-deficient mice through the suppression of kainate receptor signaling. *Brain Res* 2014;1586:203-12
23. Omodaka K, Kurimoto T, Nakamura O, Sato K, Yasuda M, Tanaka Y, Himori N, Yokoyama Y, **Nakazawa T**. Artemin augments survival and axon regeneration in axotomized retinal ganglion cells. *J Neurosci Res* 2014. **92**:1637-46
 24. Nitta F, Kunikata H, Aizawa N, Omodaka K, Shiga Y, Yasuda M, **Nakazawa T**. The effect of intravitreal bevacizumab on ocular blood flow in diabetic retinopathy and branch retinal vein occlusion as measured by laser speckle flowgraphy. *Clin Ophthalmol* 2014; **8**: 1119-27.
 25. Maekawa S, Shiga Y, Kawasaki R, **Nakazawa T**. Usefulness of novel laser speckle flowgraphy-derived variables of the large vessel area in the optic nerve head in normal tension glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2014;42:887-9
 26. Kobayashi W, Kunikata H, Omodaka K, Togashi K, Ryu M, Akiba M, Takeuchi G, Yuasa T, **Nakazawa T**. Correlation of optic nerve microcirculation with papillomacular bundle structure in treatment naive normal tension glaucoma. *J Ophthalmol* 2014; **2014**: 468908.
 27. Himori N, Maruyama K, Yamamoto K, Yasuda M, Ryu M, Omodaka K, Shiga Y, Tanaka Y, **Nakazawa T**. Critical neuroprotective roles of heme oxygenase-1 induction against axonal injury-induced retinal ganglion cell death. *J Neurosci Res* 2014 ;**92**:1134-42
2. 学会発表
(国際学会発表)
 1. **Nakazawa T**. The Current Status of Neuroprotection in the Treatment of Glaucoma. World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 2. Maruyama K, Inaba T, Kunikata H, **Nakazawa T**. Vitreous fluid sample analysis is high diagnostic value same as bronchial alveolar lavage fluid for sarcoidosis. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 3. Himori N, Maruyama K, Taguchi K, Yamamoto M, **Nakazawa T**. Critical neuroprotective roles of heme oxygenase-1 induction against axonal injury-induced retinal ganglion cell death. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 4. Tanaka Y, Tsuda S, Kokubun T, Kunikata H, **Nakazawa T**. Detection of Glaucoma-Related Circulating miRNAs in Aqueous Humor with a Microarray System. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 5. Yabana T, Omodaka K, Togashi K, Yuasa T, **Nakazawa T**. Correlation between average vessel area measured with OCT and glaucoma severity. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 6. Ryu M, Yokoyama Y, Yamamoto K, Himori N, **Nakazawa T**. Activation of calpain and oxidative stress in axonal damage-induced retinal ganglion cell death. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 7. Nitta F, Kunikata H, Aizawa N, Abe T, **Nakazawa T**. The effect of intravitreal ranibizumab on ocular blood flow in age-related macular degeneration ,measured with laser speckle flowgraphy. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology

- (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
8. Onami H, Kunikata H, Abe T, **Nakazawa T**. Short-term outcomes of aflibercept for neovascular age-related macular degeneration in eyes previously treated with ranibizumab. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 9. Shiga Y, Iwase A, Kato K, Yasui T, **Nakazawa T**. Waveform analysis of ocular blood flow in preperietic glaucoma. World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 10. Tsuda S, Tanaka Y, Kunikata H, Hanaoka K, **Nakazawa T**. In Vivo Imaging of Hypoxic Retinal Tissue in a Retinal Artery Occlusion Model with Bioactive Fluorescence Probe. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 11. Yukita M, Omodaka K, Maruyama K, Machida S, **Nakazawa T**. Early electrophysiological andmolecular biological investigation of axotomized rat retinas. World Ophthalmology Congress (WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 12. Aizawa N, Kunikta H, Tsuda S, Ryu M, **Nakazawa T**. Effect of topical prostaglandin analogues on optic nerve head blood flow in preperimetric glaucoma. World Ophthalmology Congress (WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 13. Shimizu A, Nihori T, Maruyama K, Fuse N, **Nakazawa T**. A exploration of novel glaucoma gene using next-generation sequencing. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 14. Yokoyama Y, Omodaka K, Matsumoto A, Akiba M, **Nakazawa T**. Reproducibility of swept-source optical coherence tomography parameters of the optic nerve head. World Ophthalmology Congress (WOC) 2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 15. Yasuda M, Tanaka Y, Tsuda S, **Nakazawa T**. Assessment of retinal transcriptome changes early after axonal injury with RNA sequencing. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 16. Omodaka K, Shiga Y, Tsuda S, Yokoyama Y, **Nakazawa T**. Regional vulnerability of macular structure in patients with normal tension glaucoma. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 17. Takahashi M, Takahashi H, Shiga Y, Iwase A, **Nakazawa T**. Waveform analysis for blood flow of optic nerve head in patients with open angle glaucoma. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 18. Konno H, Omodaka K, Yokoyama Y, Maruyama K, **Nakazawa T**. Setting the Visual Field sectors based on the test points which were detected progression using the guided progression analysis software of standard automated perimetry. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 19. Kokubun T, Tsuda S, Yasuda M, Kunikata H, **Nakazawa T**. Association of Proinflammatory Cytokines in Aqueous Humor with the Bleb Structure and Function after Trabeculectomy in Eyes with Glaucoma. World Ophthalmology Congress(WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6
 20. Takada N, Omodaka K, **Nakazawa T**. Optic disc morphology and regional suscep

tibility to circumpapillary retinal nerve fiber layer atrophy in normal tension glaucoma. World Ophthalmology Congress (WOC)2014 , 29th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO)2014 ,Tokyo, Japan, 2014/4/2-6

21. Shiga Y, Maruyama K, Sato M, Takayama S, Kunikata H, **Nakazawa T** Effect of systemic hyperoxia on optic nerve head blood flow in normal subjects, as measured by laser speckle. ARVO 2014 Orlando, USA 2014/5/4-8
22. Yukita M, Machida S, Omodaka K, Maruyama K, **Nakazawa T**, Brimonidine Enhances Electrophysiological Activity of Retinal Ganglion Cells through Trk-PI3K Pathway.. ARVO 2014 Orlando, USA 2014/5/4-8
23. Omodaka K, Shiga Y, Tsuda S, Yokoyama Y, **Nakazawa T**, Topographical correlation between macular layer thickness and clockwise circumpapillary retinal nerve fiber layer in patients with normal tension glaucoma. ARVO 2014 Orlando, USA 2014/5/4-8
24. Maruyama K, Keino H, Yamamoto K, Moritoh S, **Nakazawa T** Prevention of Experimental Autoimmune Uveities by Inhibition of the Cyclooxygenase-2-Linked Pathway in a Rodent Model. ARVO 2014 Orlando, USA 2014/5/4-8
25. **Toru Nakazawa**: Comprehensive analysis of early retinal transcription changes following optic nerve crush. Glaucoma Research Society Meeting Jackson Hole, USA 2014/8/27-30
26. Koji Nishiguchi, Kosuke Fujita, Satoru Tsuda, Yusuke Fujii, Kotaro Yamamoto, Kota Sato, Masayuki Yasuda, **Toru Nakazawa**: In vivo imaging of stress responses in retinal ganglion cells using AA V2-mediated delivery of pathway-specific promoter driven reporters . Asia ARVO, Yokohama, 2015/2/16-2/19
27. Yusuke Fujii, Koji Nishiguchi, Toshinori Furukawa, Fumiko Ono, Nobuhiro Shimozawa, Mutsumi Togo, Michihiro Suzuki, **Toru Nakazawa**: The result of an analysis of fundus photos taken from 1,443 monkeys at Tsukuba Primate Research

Center during 2011-2013. Asia ARVO, Yokohama 2015/2/16-2/19

(国内学会発表)

1. 中澤 徹：失明ゼロを目指して. 第118回 日本眼科学会総会、東京 2014/4/2-6
 2. 高橋秀肇、志賀由己浩、面高宗子、高橋麻衣、相澤奈帆子、國方彦志、中澤徹：レーザースペックル眼底血流検査による血流動態が緑内障に与える影響. 第118回 日本眼科学会総会、東京 2014/4/2-6
 3. 雪田昌克、面高宗子、町田繁樹、丸山和一、中澤徹：Brimonidineによるラット網膜神経節細胞のNeuroactivation. 第118回 日本眼科学会総会、東京 2014/4/2-6
 4. 佐藤茉莉華、竹下孝之、城田祐子、前川重人、中澤徹：感染との鑑別に苦慮し、臨床経過から極限型Wegener肉芽腫と診断した一例. 第67回 日本臨床眼科学会、東京 2014/11/13-11/16
 5. 今留尚人、國方彦志、浅野俊一郎、**中澤徹**：糖尿病黄斑浮腫に対するトリアムシノロンアセトニド局所投与の効果比較. 第67回 日本臨床眼科学会、東京 2014/11/13-11/16
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許
 1. 中澤徹：蛍光測定装置および蛍光測定方法 整理番号WO13P013SZ 受付番号51400928048 提出日 2014/4/30
 2. 中澤徹：血流障害の治療方法、治療装置および治療システム整理番号 040A2262A1 提出日 2014/04/3
 3. 中澤徹：眼底解析装置及び眼底観察装置 発明整理番号 P20140150 提出日2014/7/22
 4. 中澤徹：眼底解析装置及び眼底観察装置 発明整理番号 P20140151 提出日2014/7/22
 5. 中澤徹：眼底解析装置及び眼底観察装置 発明整理番号 14P00058 特願2014-1

82326 提出日2014/09/08

6. 中澤徹: 仮)神経保護材 発明整理番号
P20140261提出日 2014/10/31
7. 中澤徹: 眼内移行性の高い眼疾患治療
用ナノ粒子製剤発明整理番号 P20140
284特願2015-006212出願日2014/1/15

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（URD）にエチレンオキサイドガスを実施し、6か月間加速保存後の徐放性、薬剤含量を評価した。その結果、コントロール（加速なし）と比較して徐放性、含量に変化はなかった。埋植後のデバイス中のUNO含量を測定した。その結果、埋植期間とUNO含量に相関がみられ、埋植中持続的にUNOが放出されて含量が低下していることが示唆された。

A. 研究目的

医薬品・医療機器開発において滅菌法の選択とデバイスの安定性は重要である。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く、また電子線やガンマ線はウノプロストンを分解する可能性が示唆されたため、エチレンオキサイドガス（EOG）を選択し、滅菌後デバイスを加速条件で保存した後の徐放性とUNO含量を評価した。

B. 研究方法

(1) 加速試験用デバイスの作製

ヒト用PDMS鋳型（ $\varnothing 22\text{mm}$ 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 μL ）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 $^{\circ}\text{C}$ /40%、4時間

(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 $^{\circ}\text{C}$ 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) 加速試験

デバイスを恒温恒湿機に入れて、40 $^{\circ}\text{C}$ /75%で保管した。1か月後、3か月後、6か月後に取り出し、上記に記載の方法で含量、徐放性を評価した。

C. 研究結果

(1) 加速試験後の徐放性

加速前デバイスと比較して、徐放性に大きな変化はなかった（図1）。

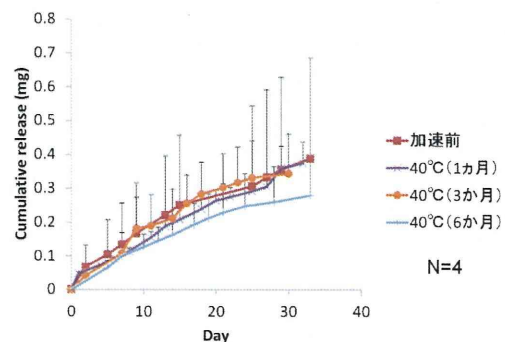


図1. 加速試験後のUNO徐放性

(2) UNO含量

加速前デバイスと比較して、UNO含量に大きな変化はなかった (図2)。

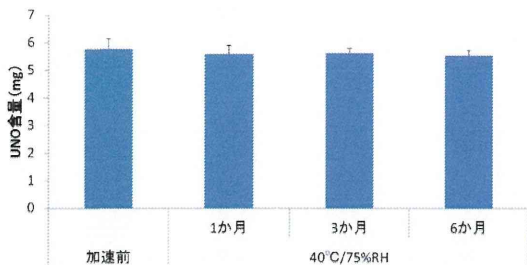


図2. 加速試験後のUNO含量

(3) 摘出デバイスのUNO含量

ウサギ用URD (含量2.85mg) を正常ウサギに2週 (N=12), 13週 (N=12), 24週 (N=22) 間埋植後にデバイスを摘出し、UNO含量を測定した (図3)。その結果、埋植期間が長いほどUNO含量は低下していた。またUNO含量低下と埋植期間に高い相関性が見られた。

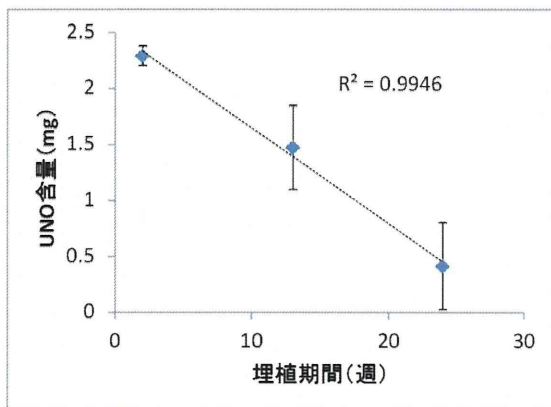


図3.

D. 考察

6か月間加速試験後においてもURDの徐放性や含量に影響はなく、6か月間の保存が可能であることがわかった。また、摘出URDの含量は埋植期間とともに低下しており、埋植中に持続的にUNOが放出されていることが示唆された。

E. 結論

EOG滅菌デバイスは6か月間の保存が可能であることがわかった。また、埋植中にUNOは持続的に放出されていることが示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. **Nobuhiro Nagai**, Hirokazu Kaji, Hideyuki Onami, Yuki Katsukura, Yumi Ishikawa, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Kaori Sampei, Satoru Iwata, Shuntaro Ito, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Noriko Osumi, Yukihiro Mashima, Toshiaki Abe. "A Platform for Controlled Dual-Drug Delivery to the Retina: Protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats" *Advanced Healthcare Materials*, 3(10), 1555-1560 (2014).
2. **Nobuhiro Nagai**, Hirokazu Kaji, Hideyuki Onami, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Noriko Osumi, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe. "A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye" *Acta Biomaterialia*, 10, 680-687 (2014).
3. Toshinori Fujie, Yoshihiro Mori, Shuntaro Ito, Matsuhiko Nishizawa, Hojae Bae, **Nobuhiro Nagai**, Hideyuki Onami, Toshiaki Abe, Ali Khademhosseini, Hirokazu Kaji. "Micropatterned Polymeric Nanosheets for Local Delivery of an Engineered Epithelial Monolayer" *Advanced Materials*, 26(11), 1699-1705 (2014).

(2) 学会発表

(国際学会発表)

1. **Nobuhiro Nagai**, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe "Episclera Implantable Device fabricated with PDMS mold-based UV curing" BIT's 1st Annual W

- orld Congress of Smart Materials 2015, Busan, Korea (March 23-25, 2015)
2. Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, Matsuhiro Nishizawa, Toru Nakazawa, Yukihiko Mashima, **Nobuhiro Nagai** “Polymeric Device for Transscleral Multi-drug Delivery” BIT’s 1st Annual World Congress of Smart Materials 2015, Busan, Korea (March 23-25, 2015)
 3. Aya Katsuyama, **Nobuhiro Nagai**, Hideyuki Onami, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Fabrication of a Capsule Device using Polyethyleneglycol Dimethacrylates for Extended Release of Ranibizumab” BIT’s 1st Annual World Congress of Smart Materials 2015, Busan, Korea (March 23-25, 2015)
 4. **Nobuhiro Nagai** “Polymeric device for transscleral drug delivery to the posterior segment” Asia-Arvo 2015, Yokohama, Japan (February 16-19, 2015)
 5. Hirokazu Kaji, Yoshinori Fujie, Yoshihiro Mori, **Nobuhiro Nagai**, Khademhosseini Ali, Toshiaki Abe “Cell delivery system using micropatterned polymeric nanosheets” Society for biomaterials, 2014 annual meeting, Denver, Colorado (April 16-19, 2014)
 6. **Nobuhiro Nagai**, Hirokazu Kaji, Zahleh Kashkouli Nezhad, Kaori Sampei, Satoru Iwata, Matsuhiko Nishizawa, Yukihiko Mashima, Toshiaki Abe “Controlled Transscleral Dual-drug Delivery by a Polymeric Device Reduces Light-induced Retinal Damage” 2014 ARVO annual meeting, 446, Orlando, Florida (May 4-8, 2014)
 7. Zahleh Kashkouli Nezhad, **Nobuhiro Nagai**, Kotaro Yamamoto, Hideyuki Saya, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Protective effects of sustained clotrimazole release against light-induced retinal degeneration in rats” 2014 ARVO annual meeting, 483, Orlando, Florida (May 4-8, 2014)
 8. Hirokazu Kaji, Toshinori Fujie, **Nobuhiro Nagai**, Toshiaki Abe “Local Delivery of an Engineered Epithelial Monolayer by Micropatterned Polym

eric Nanosheets” 2014 ARVO annual meeting, 1449, Orlando, Florida (May 4-8, 2014)

(国内学会発表)

1. **永井展裕**、泉田泰子、梶弘和、西澤松彦、中澤徹、眞島行彦、阿部俊明：「ウノプロストン徐放デバイスの強膜上投与による眼内薬物動態と埋植毒性評価」第36回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2014年11月17日-18日）Oral
2. 網嶋 俊一、森 好弘、藤枝俊宣、**永井展裕**、西澤松彦、阿部俊明、梶 弘和：「圧力負荷機構を用いた上皮細胞の力学的評価システムの開発」化学とマイクロ・ナノシステム学会第30回研究会、北海道大学（2014年10月2日-3日）Poster
3. 森好弘、藤枝俊宣、**永井展裕**、西澤松彦、阿部俊明、梶弘和：「ラット眼球網膜下への細胞担持ナノシートデリバリー」第36回バイオマテリアル学会大会、タワーホール船堀（2014年11月17日-18日）Poster
4. **永井展裕**、梶弘和、西澤松彦、中澤徹、眞島行彦、阿部俊明：「光硬化性樹脂を利用した網膜ドラッグデリバリーシステムの開発」第66回日本生物工学会大会、札幌コンベンションセンター（2014年9月9日～11日）
5. 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眼内への細胞送達システムの開発」第30回日本 DDS 学会学術集会、慶應義塾大学薬学部（2014年7月30日～31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：「光硬化性 PEG ジメタクリレートで作成した網膜 DDS の実用化に向けた開発と評価」第30回日本 DDS 学会学術集会、慶應義塾大学薬学部（2014年7月30日～31日）
7. **永井展裕**、梶弘和、西澤松彦、中澤徹、阿部俊明：「経強膜持続投与デバイスによる網膜保護の可能性」第118回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム（2014年4月2日～6日）Symposium

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

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

デバイスの調整と動物実験

研究分担者 梶 弘和 東北大学大学院工学系研究科 准教授

研究要旨

ウノプロストン徐放デバイス（URD）の規格化と埋植毒性試験（Non-GLP）、およびURDのバーストを想定したバーストURD埋植毒性試験（Non-GLP）を評価した。URDは動物実験に使用するウサギ用、サル用のURDを作成し規格化した。ウサギ用URDの正常ウサギ埋植毒性試験では、54週間埋植中の網膜電図（ERG）、局所ERG、光干渉断層計（OCT）による網膜機能と網膜組織の評価を実施した結果、54週間の埋植中に毒性が認められないことを確認した。また、URDの徐放膜（カバー）をなくしたバーストURDの埋植毒性試験では、眼圧は低値を示すものの、ERGとOCTで異常は認められず、毒性は認めなかった。これらの結果を考慮し、治験での使用を想定したヒト用URDを規格化した。

A. 研究目的

GLP試験および治験で使用するためにデバイスの規格化を検討する。また規格化したデバイスでGLP試験を実施するに当たり、予備試験として54週間の埋植毒性試験（Non-GLP）とバーストデバイスの埋植毒性試験（Non-GLP）を検討した。

B. 研究方法

(1) デバイスサイズの規格化

ウサギ眼球とサル眼球の平均的サイズからデバイスの長さ、幅、厚み、曲率直径、リザーバー容積、徐放面積を下記の通り設定した。

ウサギ用

長さ：10mm

幅：3.6mm

厚さ：0.7mm

曲率直径：12mm

リザーバー容積：5.7 μ L

徐放面積：11.55cm²

サル用

長さ：17mm

幅：4.4mm

厚さ：1mm

曲率直径：18mm

リザーバー容積：12 μ L

徐放面積：17.3cm²

(2) デバイス調製方法の規格化

下記の方法をStandard operation procedure (SOP) とした。

準備

試薬は室温に戻してから使用する。UV強度を毎回調整する。

試薬

- Polyethylene glycol dimethacrylate (PEG DM)：新中村化学工業（NK 14G）
Lot No. 0701S
- Triethylene glycol dimethacrylate (TEG DM)：新中村化学工業（NK 3G）
Lot No. 0606S
- 2-Hydroxy-2-methylpropiophenone (HMP)：東京化成工業（H0991）
Lot No. B055H-ML
- ウノプロストン（UNO）
Lot No. DB0018
- UV照射機の照射強度（UVメータ測定値）11.6mW/m²

100%PEGDMプレポリマー（P100）の調製
1) 15mLのプラスチック容器にPEGDMをマイクロマンを使って正確に5mL採取する。