

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 11 相試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。エチレンオキサイドガス滅菌 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、URD 6 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（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試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試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。

デバイス規格決定ー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。

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。

特許取得のアプローチを継続する。

PMDA 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）

デバイスの医療機器としての安全性試験を行う。

GMP 基準のデバイス製造について検討を開始する。

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 年度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, Yukihiro 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, Yukihiro 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**：「ウノブロストー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