

- 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 susceptibility 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 AAV2-mediated delivery of pathway-specific promoter driven reporters . Asia ARVO、横浜 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、横浜 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18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2014-182326 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

本分担研究は、ウサギ眼強膜上に移植可能なサイズのデバイスの設計とデバイスの構造評価を目的とした。CAD-CAMによる微細加工法によって、デザイン自由度の高いデバイス設計が可能である。H24はこの微細加工法を用いて薬物リザーバーの鋳型をポリジメチルシロキサンを鋳型基材として作成した。鋳型上にDDS基材のトリエチレングリコールジメタクリレートキャストし、UV照射で重合してリザーバーを作製した。その結果、ウサギ眼強膜上に縫合固定しやすい形状を複数デザインし、移植性を改善した。H25は、ウノプロストン（UNO）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UNO含量が若干低下した。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。H26は、EOG滅菌したUNO徐放デバイスの6か月間加速保存（40℃/75%）後の徐放性、UNO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

本課題の目的は、失明疾患の上位を占める網膜疾患の治療デバイスとして、強膜上に置くだけの低侵襲な方法で移植できる経強膜ドラッグデリバリーシステム（DDS）を作製し、ウノプロストン（UNO）を任意の速度で徐放できるDDSデバイスを開発することである。本研究は分担研究として、デバイスの設計および構造評価を目的とした。

本研究のデバイスは微細加工（Microfabrication）法を用いて光硬化性樹脂をカプセル型に成形することを特徴としている。我々は過去に微細加工法によってマイクロ流路を作製し、細胞と細胞のイン

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

この微細加工機を用いてデバイスの鋳型を作製し、光硬化性樹脂をキャストして光重合して薬物カプセルを作製する手法を過去に報告した（Biomaterials, 32, 1950-1956, 2011）。光硬化性樹脂として、ポリエチレング

リコールジメタクリレート (Polyethyleneglycol dimethacrylate ; PEGDM) を使用した。これは歯科材料として利用されている生体材料であり、生体親和性が高いことが報告されている (Acta Biomaterialia, 2, 1-8, 2006、Tissue Eng, 12(6), 1663-1673, 2006)。デバイスは汎用性と移植性、さらに徐放特性を考慮して、リザーバー、薬物ペレット、徐放膜からなるリザーバー型カプセルとした。徐放膜を介することによって、一時的に薬物が大量放出されるバースト現象を抑えることが可能である。また、分子量の短いTerythylene glycol dimethacrylate (TEGDM) をリザーバー用樹脂に用いると、薬物はこのリザーバーを通過できないため、徐放膜側から一方向性に薬物を放出することが可能である。H24はウサギ眼強膜上に移植可能なデバイスの設計および評価を行った。

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、EOG濃度480mg/L以上で40°C/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UNO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UNOや基材の劣化、変色の可能性がある。そこでH25、H26は、滅菌後のUNO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UNO含量、徐放性、性状、無菌性を評価した。

B. 研究方法

H24研究

(1) リザーバー用鋳型の作製

デバイスはリザーバー、薬物ペレット、徐放膜から構成される。まずリザーバーの鋳型

を設計した。リザーバー形状をCADでデザインし、PMT.Co.の微細加工機MC-2 microを用いてCAM (Computer aided manufacturing) によってアクリル板にリザーバー形状を切削した。リザーバーデザインの特徴として、移植する際にピンセットで持つための取っ手と、強膜上に縫合固定するための糸を引っ掛けるための溝、ウサギ眼球局面にフィットする曲がり形状、を重点的に検討した。

切削したアクリル板をフルオロシアンでコートした。このコートは次の作業で基材と鋳型を剥がしやすくするために処理した。このアクリル板鋳型にポリジメチルシロキサン (PDMS) をキャストし60°Cで30分加熱した硬化させた。このPDMS鋳型をフルオロシアンでコートしPDMS鋳型とした。このPDMS鋳型に別のPDMSをキャストし60°C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とした。この最終鋳型に、TEGDM 1mlに2-Hydroxy-2-methyl-propio phenone (硬化促進剤) 10μlを混合したプレポリマーをキャストし、UV架橋 (10mW/cm²、3min [浜松ホトニクス、LC8]) して硬化させた。最終鋳型からTEGDMリザーバーを剥がして完成した。

(2) 薬物の充填

薬物の充填量はデバイス形状によるが、今回の検討で最大充填できる量は20μLであった。薬物をPEGDM/TEGDMプレポリマーに懸濁し、上述の方法で作成したりザーバーにキャストし、30秒UV照射 (10mW/cm²) してペレット化した。

(3) 徐放膜の作製

リザーバーに薬物を充填した後に、徐放膜となるPEGDM/TEGDMプレポリマーをペレット側に滴下し、ガラス板を乗せて、3分間UV照射 (10mW/cm²) してリザーバーをシールした。Phosphate-buffered saline (PBS) で余分なPEGDM./TEGDMモノマーを洗浄した。

(4) 薬剤リークの評価

デバイスのシール面の密着性を評価するために、PBSにデバイスを浸漬し、薬剤徐放性

を評価した。薬剤として、UNOと同等の分子量を持つフルオレセインを用いた。定期的にPBSを交換し、PBS中の蛍光強度を蛍光プレートリーダーで測定した。

H25-26研究

(1) デバイスの作製

ヒト用PDMS鋳型 (Ø22mm曲率/21mm長) でTEGDMリザーバーを作成し、500mg/mlのUNO/P40混合ポリマーをリザーバー内にキャスト (12µL) 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°C/40%、4時間

電子線: 22kGy

γ線: 25kGy

(3) UNO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UNO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UNO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UNO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、6か月後に取り出し、上記に記載の方法で性状、UNO含量、徐放性、無菌性を評価した。

(倫理面への配慮)

該当なし。

C. 研究結果

H24研究

(1) デバイスの作製

プロトタイプのリザーバーサイズは、リザーバー壁面の強度と薬物充填量を考慮し、幅4.4mm×長さ12mm×厚み1.6mm、薬剤充填量を20µLとした。ウサギ眼のサイズを考慮し、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、ウサギ眼の直径2センチと仮定し、直径2センチの球にフィットする曲がり形状を付与した。また、縫合糸でデバイスを固定するために、リザーバー前眼部側に穴を1つと、リザーバー側面に4つの溝を設けた。他の分担研究で行われたウサギ眼への移植実験の結果、ウサギ眼球運動への影響はなかったが、デバイス移植性と縫合性を改善する必要が指摘された。そこで改善型リザーバーでは、幅と長さは変更せず、厚みを1mmに変更した。また、縫合の際に穴は必要がないことがわかり、4つの溝だけを残した。また、デバイスの先端および後端を流線型にし、デバイス移植時に後眼部側へなめらかに挿入できるデザインに変更した。他の分担研究で行われたウサギ眼への移植実験の結果、移植性は改善された。一方で、トランスジェニック網膜色素変性ウサギを用いる実験では、ウサギが5週齢で体が小さく眼球径も小さいため、仔ウサギ専用にデバイスを設計しなおした。

仔ウサギの眼球径は約1.5センチと推定されたため、これに合わせた曲がり形状を付与した。また、デバイスの長さを10mmに短縮し、幅を3.6mmに縮小し、厚みを0.7mmに薄くし

た。他の分担研究で行われたウサギ眼への移植実験の結果、移植性は改善された。以上より、ウサギの週齢（眼球径）に合わせた複数のデバイスデザインを構築した。

(2) 薬剤リークの評価

フルオレセインを充填したデバイスをPBSに浸漬し、徐放量を蛍光プレートリーダーで測定した。初期のデバイスでは数%の確率で薬剤リークが発生した。これはリザーバーとカバーの密着不良と推定し、リザーバーのPEGDM/TEGDMとカバーのPEGDM/TEGDMが最終的に重合して密着するデバイス調製方法を検討した。その結果、リザーバーのUV照射時間を短くし（初期検討では3分、改善後は30秒）、リザーバー中にある程度PEGDM/TEGDMモノマーを残すことによって、カバーの際のUV照射でカバー中のPEGDM/TEGDMと重合し、密着が改善することを見出した。この方法によって、徐放期間1か月以上においても、リーク率が0%のデバイスの作製が可能になった。

H25-26研究

(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UNO含量

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

(3) 滅菌後のUNO徐放性

未滅菌デバイスと比較して、UNO徐放性に大きな変化はなかった（図2）。

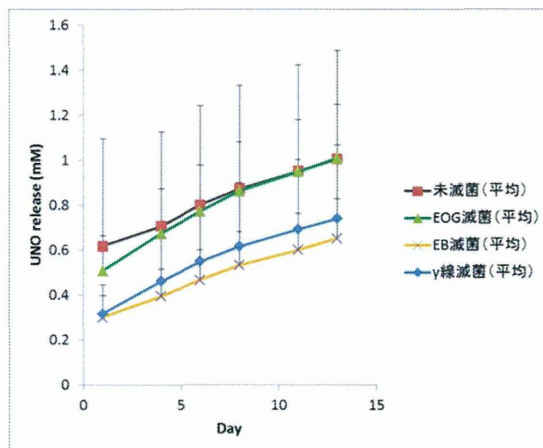


図2. 滅菌後デバイスのUNO徐放性

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

42℃では37℃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℃では4℃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、3か月、6か月後加速試験後のEOG滅菌デバイスは、性状、徐放性（図3）、UNO含量（図4）、無菌性いずれも問題なかった。

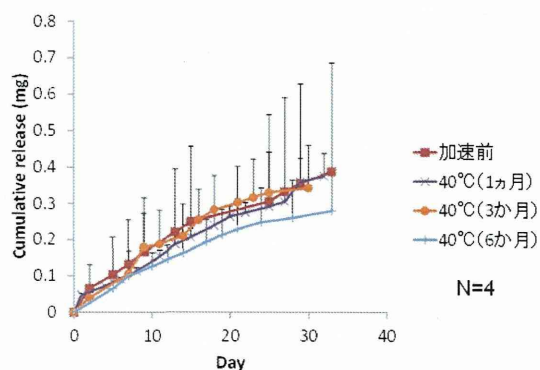


図3. 加速試験後のUNO徐放性

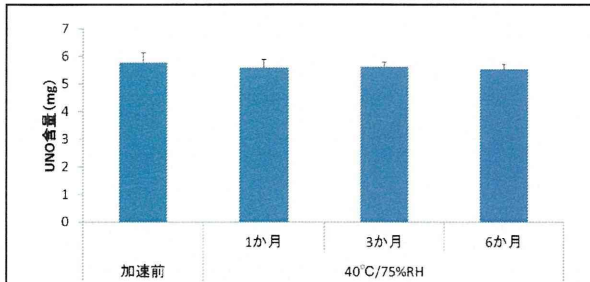


図 4. 加速試験後のUNO含量

(7) 摘出デバイスのUNO含量

ウサギ用デバイス (UNO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 5)。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。

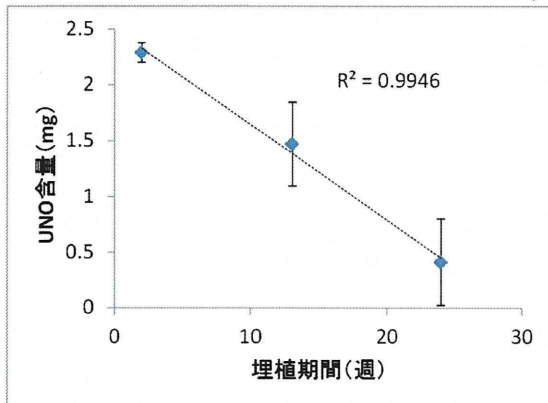


図 5. 摘出後デバイスのUNO含量

D. 考察

H24はウサギ眼強膜上に移植可能なデバイスの設計とリーク評価を行った。他の分担研究の移植評価ではウサギ眼強膜上への移植後、炎症や眼内への副作用の報告はない。本デバイスは、トランスジェニック網膜変性ウサギへの移植を前提として検討した。プロトタイプは完成し、UNOの経強膜投与による網膜保護効果の検討が進むと期待できる。

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が、我々のデバイスは非生分

解性のPEGDMを用いたカプセル型デバイスである。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るため、薬剤導体制御性に課題がある。一方我々のデバイスは徐放膜を介した徐放メカニズムである。これは徐放膜のナノレベルのPEGDMポリマーメッシュによって薬物の拡散が制御され、バーストを抑制して薬物を一定放出することが可能である。また、リザーバーは薬剤非透過性であるため、強膜側 (網膜側) に一方向に薬剤が効率よく徐放される。

徐放膜でシールするカプセルは、シール面からの薬物リークに注意する必要があるが、デバイス調製条件を改善した結果、1か月以上の長期にわたってリークは見られず、移植中に突然のバーストが起こることはないと考えられる。

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、UNO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。

6か月間加速試験後においてもUNO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、摘出デバイスのUNO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

ウサギ眼に移植可能なデバイスを開発した。ウサギ週齢 (眼球径) に合わせた複数のデバイスをデザインした。CAD-CAMによる微細加工法はデザインの自由度が高く、より移植性や徐放特性に優れたデバイスデザインが可能であると期待できる。また、デバイスの滅菌法としてEOG滅菌が適切と考えられた。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 Baee, 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).
4. Toshiaki Abe, Yumi Tokita-Ishikawa, Hideyuki Onami, Yuki Katsukura, Hirokazu Kaji, **Matsuhiko Nishizawa**, Nobuhiro Nagai. "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" *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 801, 837-843 (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 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. 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, 446, Orlando, Florida (May 4-8, 2014)
4. Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Hideyuki Onami, Takuya Yamada, Yuki Katsukura, Yumi Ishikawa, **Matsuhiko Nishizawa**, Yukihiro Mashima, Toshiaki Abe "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)
5. Hirokazu Kaji, **Nobuhiro Nagai**, Takuya Yamada, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe "An implantable drug delivery device for treating retinal disorders" IEEE-EMBS Micro and Nanoengineering in Medicine Conference, Hawaii (Dec 3-7, 2012)
6. Hirokazu Kaji, Nobuhiro Nagai, Takuya Yamada, **Matsuhiko Nishizawa**, Toshiaki Abe "A controlled-release capsule device for transscleral drug delivery to the retina" Proceedings of μ TAS 2012 Conference, Okinawa, Japan (Oct 28-Nov 1, 2012)
7. Hirokazu Kaji, Syuntaro Ito, Nobuhiro Nagai, Kuniaki Nagamine, **Matsuhiko Nishizawa**, Toshiaki Abe "Development of a cell-based model of the retina within a microfluidic device" Symposium on New Technology for Cell-based Drug Assay, Tokyo, Japan (Dec 10, 2012)

8. 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)
9. Hideyuki Onami, Nobuhiro Nagai, Ryosuke Wakusawa, Hirokazu Kaji, Takuya Yamada, Yumi Ishikawa, **Matsuhiko Nishizawa**, Yasufumi Sato, Toru Nakazawa, and Toshiaki Abe “Suppression of Rat Choroidal Neovascularization by Transscleral Vasohibin-1 Delivery Device” *2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida* (May 6-10, 2012)

(国内学会発表)

1. 永井展裕、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. 綱嶋 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
8. 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）
9. 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）
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」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）
11. 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）
12. 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)
13. 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)
 14. 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)
 15. Zhaleh Kashkouli Nezhad, Nagai Nobuhiro, Yamamoto Kotaro, Saya Hideyuki, Kaji Hirokazu, Nishizawa Matsuhiko, Nakazawa Toru, Abe Toshiaki : 「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)
 16. 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)
 17. 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)
 18. 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)、
 19. 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)
 20. 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)
 21. 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)
 22. Zhaleh Kashkouli Nezhad, Nagai Nobuhiro, Yamamoto Kotaro, Saya Hideyuki, Kaji Hirokazu, Nishizawa Matsuhiko, Nakazawa Toru, Abe Toshiaki : 「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)
 23. 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)
 24. 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)
 25. 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)
 26. 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）

27. 藤枝俊宣、森好弘、伊藤俊太郎、西澤松彦、永井展裕、阿部俊明、Khademhosseini Ali、梶弘和：「マイクロパターン化高分子ナノシートを用いた細胞デリバリー担体の開発」第 42 回医用高分子シンポジウム、産業技術総合研究所 臨海副都心センター（2012 年 7 月 29 日-30 日）
28. 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）
29. 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）
30. 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）
31. 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）
32. 大浪英之、永井展裕、梶弘和、西澤松彦、涌沢亮介、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明：「経強膜 vasohibin 徐放デバイスによるラット脈絡膜新生血管抑制」第 116 回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム（2012 年 4 月 5 日～8 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし
- E. 結論
- F. 健康危険情報
該当なし

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

動物実験によるデバイスの評価に関する研究

研究分担者 梶 弘和 東北大学大学院工学研究科 准教授

研究要旨

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した。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、サル眼球、ヒト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

ヒト用

長さ：19mm

幅：4.4mm

厚さ：1mm

曲率直径：21mm

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 (TEGDM) : 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/cm²

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。
- 2) 上記のPEGDMに、マイクロマンを使ってHMPを正確に100 μ L添加する。
- 3) 蓋をしっかりと閉めて20回転倒混和する。
- 4) 蓋をゆるめてデシケーターに入れて減圧度0.08MPaで10分脱気する。

100%TEGDMプレポリマー (T100) の調製

- 5) 15mLのプラスチック容器にTEGDMをマイクロマンを使って正確に10mL採取する。
- 6) 上記のTEGDMに、マイクロマンを使ってHMPを正確に200 μ L添加する。
- 7) 蓋をしっかりと閉めて20回転倒混和する。
- 8) 蓋をゆるめてデシケーターに入れて減圧度0.08MPaで10分脱気する。

40%PEGDM/60%TEGDMプレポリマー (P40) の調製

- 9) 15mLのプラスチック容器にP100をマイクロマンを使って正確に0.8mL採取する。
- 10) 上記のP100に、マイクロマンを使ってT100を正確に1.2mL添加する。
- 11) 蓋をしっかりと閉めて20回転倒混和する。
- 12) 蓋をゆるめてデシケーターに入れて減圧度0.08MPaで10分脱気する。

ウノプロストン含有P40 (UNO-P40) の調製

13) 5mlのエッペンチューブにウノプロストンを正確に300mgを採取する(測定記録貼付すること)。

14) 上記のウノプロストンにP40をマイクロマンで正確に300 μ L添加する。

15) ボルテックスミキサーで5分以上 攪拌する。

16) エアダスターでリザーバー用鋳型の埃を飛ばす

17) リザーバー用鋳型にT100を50 μ Lキャストする。

18) エアダスターで埃を飛ばした凸鋳型を泡が入らないようにリザーバー用鋳型に慎重に乗せる。

19) 40秒間 UV照射する。

20) 鋳型から慎重にリザーバーを取り、大きなバリをハサミで切り取る。鋳型は70%エタノールで拭く。

UNO-P40の充填

21) リザーバーの薬剤充填部位に、UNO-P40を正確にウサギ用は5.7 μ L、サル用は12 μ Lキャストする。

22) 40秒間 UV照射する。

リザーバーのカバー

23) 薬剤充填部位にP40を正確にウサギ用は3 μ L、サル用は10 μ Lキャストする。

24) エアダスターで埃を飛ばしたカバー用鋳型をP40上に泡が入らないように慎重に乗せる。

25) デバイスをピンセットで優しく押しつけて鋳型に密着させる。

26) 240秒間 UV照射する。

27) 鋳型からデバイスを外す。鋳型は70%エタノールで拭く。

バリ取りと拭き取り

28) 70%エタノールでデバイスのPEGDM/TEGDM残渣をふき取る。

29) 小さなバリを電動ヤスリで研磨する。

30) 70%エタノールでデバイスの研磨残渣をふき取る。

(3) UNO徐放量の測定

デバイスを1%Tween80水溶液 (PS80) 1.5mLに浸漬 (37 $^{\circ}$ C) し静置し、2日おきにPS80を

全回収し、新しいPS80 1.5mLを入れて再静置をする。サンプルは測定まで-30℃で保存する。測定は高速液体クロマトグラフィー (HPLC、島津、Prominence) で実施した。

(4) UNO含量の測定

デバイスを乳鉢で粉々にすりつぶし、アセトニトリルでUNOを抽出した。UNO量をHPLCで測定した。

(5) バーストURDの作製

ウサギに埋植可能な最大サイズでUNO含量はサルや治験で使用するものと同じ量になるように、下記のサイズのリザーバーを作成した。

バーストURD用

長さ：12mm

幅：4.4mm

厚さ：1mm

曲率直径：12mm

リザーバー容積：12 μ L

徐放面積：17.3cm²

(6) 埋植試験

URDおよびバーストURDを上鼻側強膜上に移植した。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4×4 mmの鍵状球結膜切開を作製し、セッシン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。

(7) 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。

局所ERGはKOWA ER-80を使用した。刺激は30cd/m²で実施した。

(8) 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。

(9) 眼圧測定

トノベッド (アイケア) で測定を行った。4回測定を行い、その平均値を眼圧とした。

(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) デバイスの規格化

規格化した方法で作成したウサギ用URD、サル用URD、ヒト用URDの徐放性はそれぞれ、約10 μ g/day、約12 μ g/day、約12 μ g/dayとなった。また、UNO含量はウサギ用は2.85mg、サル用とヒト用は6mgと規格化した。

(2) ERG (URD54週間埋植試験)

図1に54週間埋植中のCone-ERG (0.950log cd*s/m²)、およびRod-ERG (1.477log cd*s/m²) の振幅値平均を示す。URD埋植群、Placebo、埋植群、未処置群の3群間でいずれの時点においても有意差を認めなかった。眼圧は埋植54週目において群間で有意な差は見られなかった。

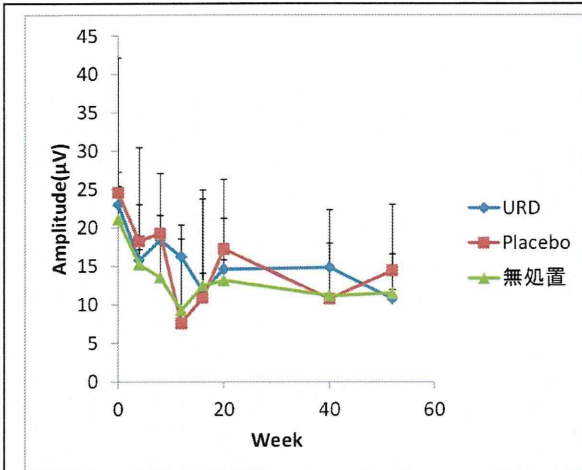


図 1 - 1 . Cone-ERG a波

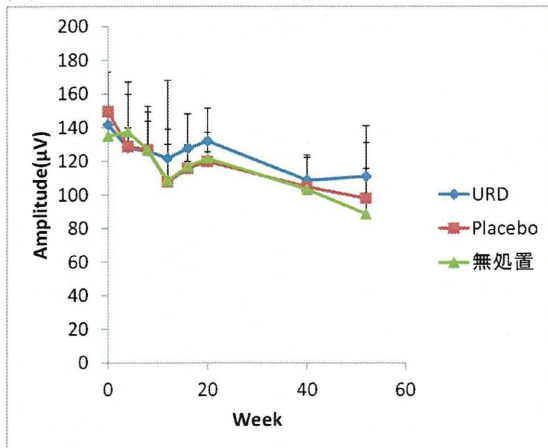


図 1 - 2 . Cone-ERG b波

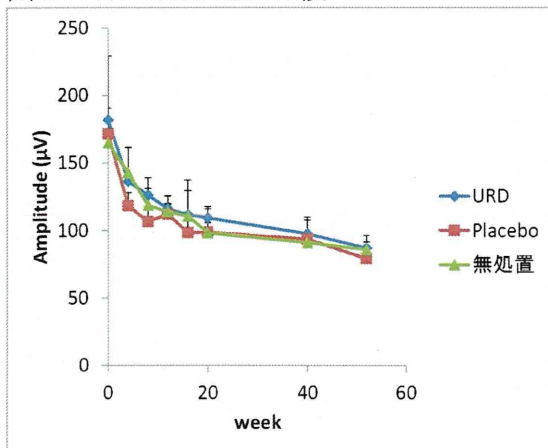


図 1 - 3 . Rod-ERG a波

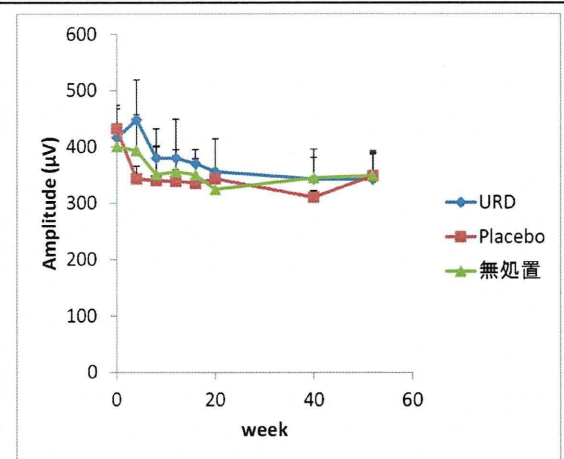


図 1 - 4 . Rod-ERG b波

(3) 局所ERG (URD埋植54週間試験)

埋植8週目に局所ERGを実施した。URD埋植眼のデバイス埋植部位(上鼻側)と非埋植部位(上耳側)をそれぞれ測定した結果(図2)、振幅値の平均値に有意差はなく、デバイス埋植部位局所の網膜機能低下はないことが確認された。

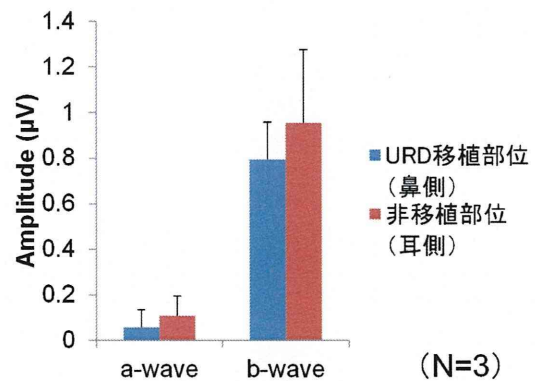


図 2 . 局所ERGの振幅値

(4) OCT (URD埋植54週間試験)

埋植54週目にOCTを実施した。デバイス埋植部位の上鼻側と非埋植部の下耳側の網膜断層像を取得し、網膜層厚みの平均値を測定した結果(図3)、いずれの部位においてもURD埋植群、Placebo、埋植群、未処置群の3群間でいずれの時点においても有意差を認めなかった。

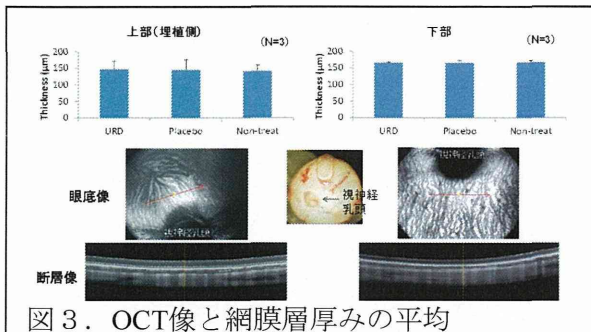


図3. OCT像と網膜層厚みの平均

(5) バーストURD埋植毒性

バーストURDの徐放特性を図4に示す。約3週間、約160 $\mu\text{g/day}$ でバースト徐放が続く、その後は含量の低下とともに徐放性は低下した。7週目以降はサル(ヒト)用規格化URDの12 $\mu\text{g/day}$ を下回った。

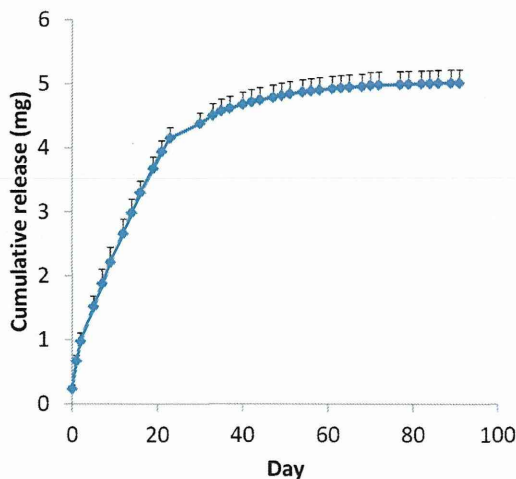


図4. バーストURDのUNO徐放性

(6) ERG (バーストURD埋植試験)

図5に12週間埋植中のCone-ERG (1.477log $\text{cd}^*\text{s/m}^2$)、およびRod-ERG (1.477log $\text{cd}^*\text{s/m}^2$)の振幅値平均を示す。その結果、バーストURD埋植群とプラセボ埋植群で有意な差は認められなかった。

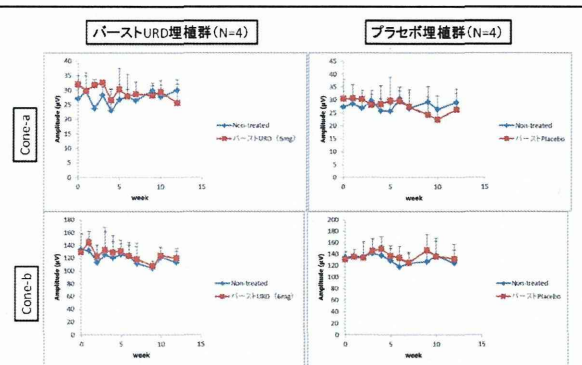


図5-1. Cone-ERG

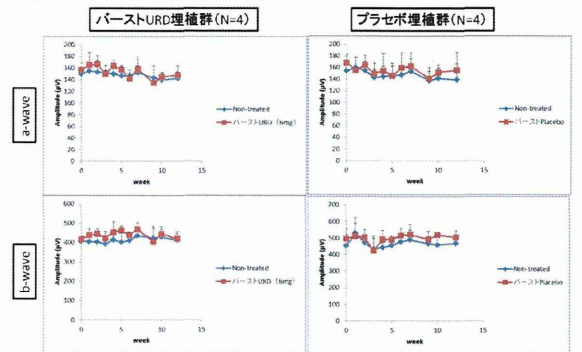


図5-2. Rod-ERG

D. 考察

規格化URDで正常ウサギに対する埋植毒性を実施した結果、54週間埋植中にERG振幅値や網膜層厚みに変化はなく、埋植に伴う毒性はないと考えられた。プラセボ埋植においても同様の結果であり、デバイスからの溶出物やデバイス自体の眼周囲組織に対する物理的影響はなかった、もしくは小さかったと推定される。バーストURD埋植では規格化URDの約13倍の投与量となっていたが、毒性は認められなかった。埋植中にデバイスに不具合が生じてバーストした場合でも安全性が担保されると示唆される。

E. 結論

UNO徐放デバイスを規格化し、眼毒性評価を行った。SDラットおよび白色ウサギのいずれにおいても、デバイス移植に伴う網膜機能の低下は認められず、また移植部位周辺に炎症や眼内への副作用はなく、局所毒性は低いことが示唆された。また、本デバイスは点眼

と同程度の薬効濃度を持続的に網膜へ投与できる可能性が示された。また、基材からのモノマー毒性はほぼ無視できると考えられた。また、54週間のURDの埋植毒性はないと考えられた。さらに、万が一バーストした場合でも毒性はないと考えられた。

F. 健康危険情報
該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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, Yukihiko 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 "Episcleral Implantable Device fabricated with PDMS m-

old-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. **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)
4. 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, 446, Orlando, Florida* (May 4-8, 2014)
5. **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)
6. Nobuhiro Nagai, **Hirokazu Kaji**, Hideyuki Onami, Takuya Yamada, Yuki Katsukura, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Yukihiko Mashima, Toshiaki Abe "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)
7. **Hirokazu Kaji**, Nobuhiro Nagai, Takuya Yamada, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe "An implantable drug

delivery device for treating retinal disorders” IEEE-EMBS Micro- and Nanoengineering in Medicine Conference, Hawaii (Dec 3-7, 2012)

8. **Hirokazu Kaji**, Nobuhiro Nagai, Takuya Yamada, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “A controlled-release capsule device for transscleral drug delivery to the retina” Proceedings of μ TAS 2012 Conference, Okinawa, Japan (Oct 28-Nov 1, 2012)
9. **Hirokazu Kaji**, Syuntaro Ito, Nobuhiro Nagai, Kuniaki Nagamine, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “Development of a cell-based model of the retina within a microfluidic device” Symposium on New Technology for Cell-based Drug Assay, Tokyo, Japan (Dec 10, 2012)
10. 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)
11. Hideyuki Onami, Nobuhiro Nagai, Ryosuke Wakusawa, **Hirokazu Kaji**, Takuya Yamada, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Yasufumi Sato, Toru Nakazawa, and Toshiaki Abe “Suppression of Rat Choroidal Neovascularization by Transscleral Vasohibin-1 Delivery Device” *2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida* (May 6-10, 2012)
12. 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)
13. Hideyuki Onami, Nobuhiro Nagai, Ryosuke Wakusawa, **Hirokazu Kaji**, Takuya

a Yamada, Yumi Ishikawa, Matsuhiko Nishizawa, Yasufumi Sato, Toru Nakazawa, and Toshiaki Abe “Suppression of Rat Choroidal Neovascularization by Transscleral Vasohibin-1 Delivery Device” *2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida* (May 6-10, 2012)

(国内学会発表)

1. 永井展裕、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）
2. 綱嶋俊一、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）
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）
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)
8. 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)
 9. 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)
 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」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)
 11. 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)
 12. 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)
 13. 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)
 14. 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)
 15. Zhaleh Kashkouli Nezhad, Nagai Nobuhiro, Yamamoto Kotaro, Saya Hideyuki, Kaji Hirokazu, Nishizawa Matsuhiko, Nakazawa Toru, Abe Toshiaki：「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)
 16. 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)
 17. 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)
 18. 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：「バルジ試験器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)
 19. 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)
 20. 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)
 21. 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)
 22. Zhaleh Kashkouli Nezhad, Nagai Nobuhiro,

- Yamamoto Kotaro, Saya Hideyuki, **Kaji Hirokazu**, Nishizawa Matsuhiko, Nakazawa Toru, Abe Toshiaki : 「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)
23. 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)
24. 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)
25. 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)
26. 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)
27. 藤枝俊宣、森好弘、伊藤俊太郎、西澤松彦、永井展裕、阿部俊明、Khademhosseini Ali、**梶弘和** : 「マイクロパターン化高分子ナノシートを用いた細胞デリバリー担体の開発」第 42 回医用高分子シンポジウム、産業技術総合研究所 臨海副都心センター (2012 年 7 月 29 日-30 日)
28. 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)
29. 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)
30. 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)
31. 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)
32. 大浪英之、永井展裕、**梶弘和**、西澤松彦、涌沢亮介、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明 : 「経強膜vasohibin徐放デバイスによるラット脈絡膜新生血管抑制」第116回日本眼科学会総会、東京国際フォーラム (2012 年4月5日~8日)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし