

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

本研究では、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（URD）を開発し、非臨床 POC 取得のために薬効、毒性、薬物動態、安全性試験等を行った。平成 24 年度は、網膜光障害と遺伝性網膜変性ラットでの効果について確認した。さらに薬剤の眼内移行がウサギ網膜で確認され、血漿中の最大量はむしろ点眼より低いことが判明した。25 年度は網膜変性ウサギでもデバイス移植の有効性を確認した。動物モデルはいずれも網膜変性原因が異なるが、コントロールに比較して有意に網膜保護効果が見られた。網膜内薬剤濃度も引きつづき継続され、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。12 か月間埋植試験（Non-GLP）でデバイス埋植群は未処置群対比で毒性を認めなかった。デバイス滅菌方法も検討し、エチレンオキサイドガス滅菌（EOG）を最適と判断した。26 年度は EOG 滅菌 URD の安定性を加速試験で評価し、規格化した。特許も取得した。URD の生物学的安全性試験、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。PMDA と対面助言を実施した結果、これまでのデータからヒトにおける眼局所暴露量を推定し、薬剤バーストの影響評価、URD 摘出後のリスク評価、12 か月埋植毒性試験を GLP で行い、黄斑機能も評価することが今後の課題として残った。GMP デバイス作製のめども立ったので、残った問題点を解決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と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。また、現状の点眼方法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、報告してきた（Acta Biomaterialia 10:680, 2014, Adv Healthc Mater. 3:1555, 2014, PLoS One. 2013;8:e58580, Biomaterials;32:1950, 2011）。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。

一方、緑内障薬ウノプロストン（UNO）は、動物実験において BK チャンネル活性化による網膜保護効果があることが報告され、点眼でも網膜保護効果の可能性が報告された。

したがって、本研究期間中にこの UNO を

デバイス化して、網膜色素変性治療法開発に向けて非臨床 POC 取得することを目標にしてきた。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り対象人数は限られるが、本デバイスで目標が達成できれば様々な眼疾患に適応できる可能性がある。また、このデバイスが薬剤徐放医療機器としても使用可能なことが判明すれば、様々な組織に利用できるようになる可能性がある。

B. 研究方法

研究期間全体を通して、まずデバイスの規格決定の検討をしながら、薬効を評価し、安全性にむけた必要な研究・解析・評価を行い、PMDA と相談しながら非臨床 POC 取得にむけた検討を行った。まず、研究機関、分担機関、臨床研究推進センターは企業と研究全体の打ち合わせを行って以下の検討を計画し実行した。

24 年度は薬効と薬物動態の評価を開始した。薬効は最初に動物モデルの多いラットを用いて、遺伝性網膜変性や網膜光障害モデルで評価し、薬物動態は点眼の資料もある正常ウサギを利用した。同時にデバイス規格決定に関しては歩留まり率、デバイス滅菌法等の検討から開始した。

25 年度はまず non-GLP での ADME やデバイスの移植方法、短期薬物動態、局所安全性試験を行い、GLP 試験のための検討を開始し、24 年度から継続をしていた長期の薬効をウサギ網膜変性モデルで評価した。

26 年度は非臨床 POC 取得めざし、デバイス埋殖の安全性試験 (2W, 13W, 24W) を GLP で実施した。研究グループは臨床研究推進センターと企業と合同で PMDA と事前面談を行い、26 年 11 月には対面助言を行い、今後の方向性が決定した。以上の内容を以下に列挙する。

1. デバイス規格決定 (24 - 26 年度; 阿部、永井、西澤、梶): デバイスからのウノプロストンの徐放量を決定し、歩度まりを 100%

にできる条件を探し、滅菌方法を決定した。さらに耐久性試験については加速試験で検討した。さらに眼球や網膜構造が動物間で異なり、それぞれに合わせたデバイスを作製し検討に利用した。

2. 薬効試験 (24-25 年度; 阿部、永井、梶、中澤): 生化学検査、組織学的検査、網膜機能測定 (網膜電図; ERG) などで評価した。1) 培養細胞を利用した効果の確認、2) ラット網膜光障害モデルを用いた網膜変性抑制の薬効確認、同様に 3) 遺伝子変異網膜変性モデル (S334terSD ラット)、4) 網膜変性ウサギモデル (ロドプシンの変異 (Pro347Leu)) で検討した。網膜変性の機序はいずれも異なると考えられる。最終的には組織検査を行ったが、経過は光干渉断層形 (OCT) と ERG で経時的に検討した。また、5) 網膜内 BK チャンネル局在や、6) UNO 投与後の遺伝子発現なども正常ウサギで検討した。

3. デバイス埋殖安全性試験、局所刺激試験 (25-26 年度; 阿部、永井、梶): これらの一部は外部委託になったが、まず 1) nonGLP で行われ、その結果を基に 2) GLP 試験が実行された。

4. 薬物動態検討 (24-26 年度; 阿部、中澤、永井、梶): 1) 正常ウサギを利用した短期間の UNO の眼内動態を検討した。同時に血漿内 UNO も測定し、全身への分布と眼内の分布の比較を行った。2) 長期の眼内分布も確認した。ウサギに関しては点眼によるデータが企業 (アールテック・ウエノ) から入手できたために、これらは UNO 点眼によるデータとも比較した。3) これらの検討はデバイス規格後も行った。4) サルを用いても眼内薬物動態を検討中である。

5. 毒性試験、ADME (吸収・分布・代謝) 試験 (24-26 年度; 阿部、永井、梶): デバイスの医療機器としての安全性試験を行う。

6 . 特許 (24-26 年度 ; 阿部、西澤、永井、梶) : 臨床研究センター、東北テクノアーチ (東北大学の特許取得等を取り扱う組織) と相談しながら、外部委託も行いグローバルな取得のアプローチを継続した。

7 . PMDA 事前面談、対面助言 : (24-26 年度 ; 阿部、中澤、永井、臨床研究推進センター、企業)

8 . GMP デバイス製造 (26 年度 ; 阿部、西澤、梶、永井、企業) : GMP 準拠デバイス製造について検討を開始する。

9 . 疾患レジストリー構築 (26 年度 ; 中澤、阿部、臨床研究推進センター、企業) レジストリー作成について検討を開始する。

(倫理面への配慮)

今回の研究機関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と相談しながら速やかに開発に着手できる。尚上記したが、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になっている。

C . 研究結果

1 . デバイス規格決定 (24 - 26 年度 ; 阿部、永井、西澤、梶) : このデバイスは、これまでの検討で歩度まりを 100% にできる条件として Triethylene glycol dimethacrylate (TEGDM) 100%、薬剤徐放膜・薬剤ペレット化は Polyethylene glycol dimethacrylate (PEGDM) / TEGDM 40% でウノプロストン濃度は最大 500mg/ml と考えられた。デバイスからのウノプロストンの徐放量は 12 ± 2 マイクログラム/日と決定した。デバイスのサイズ

はヒト用で厚さ 1mm、幅 4mm、長さ 19mm と決定した。このデバイスは縫合糸が固定できる縫合溝もデザインしてある。動物用 (ラット、ウサギ、サル) はそれぞれの種の眼球に適した大きさに調整した。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。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。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。さらに耐久性試験については加速試験で検討した。この加速試験 (1,3,6 ヶ月、40℃、湿度 75%) では薬剤徐放に影響のないことを確認した。

また、本デバイスは 4 週で薬剤 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。

2 . 薬効評価であるが、1) まず UNO の細胞保護効果を培養細胞 (RPEJ) の低酸素・低栄養負荷培養で検討した。細胞増殖検査 (MTS) で検討すると、どちらの細胞も濃度依存性に細胞保護効果が見られた。この時、活性酸素 (ROS) 濃度測定を行うと有意に ROS 産生が抑制されていた。

2) 網膜光障害モデルでの検討 : ERG、組織学的検査、アポトーシス検査で UNO 徐放デバイス移植は非治療群や UNO 非徐放デバイス移植群と比較して有意に網膜保護効果が確認された。すなわち、UNO デバイス移植では有意に ERG 振幅の低下が抑制されていた。また、ERG 後に摘出した眼球の組織標本を評価した結果、UNO デバイス群では ONL 厚みがコントロールと比較して有意に維持されていた。この結果は経過中に OCT で確認できた結果と一致した。また、TUNEL 染色の結果、UNO デバイス移植群では、TUNEL-positive (アポトーシス) 細胞数が有意に少なかった。

3) 遺伝性網膜障害 (S334ter ラット) での網膜保護効果 : 光障害モデルと同様の評価項目で検討した。移植後 4 週まで毎週 ERG を

測定したが、UNO 徐放デバイス移植群は非治療群や UNO 非徐放デバイス移植群と比較して有意に網膜保護効果が確認できた。すなわち 1 週、4 週後ともに、未処置群と比較して UNO デバイス移植群は有意に ERG 振幅値が維持されていた。また、UNO 硝子体注射群も ERG 振幅が維持されていた。一方、点眼群では保護効果は認めなかった。

4) 遺伝性網膜変性ウサギ(ロドプシンの変異(Pro347Leu))の解析: 網膜変性ウサギに 10 ± 2 ug/日徐放デバイス移植を行った後に ERG 検査と OCT で経過観察を行った。生後 5 週のウサギにデバイス移植後 12 週の経過観察(網膜変性早期移植群)と、生後 40 週と網膜変性が進行してからデバイス移植を行い 50 週間の経過観察を行った(網膜変性後期移植群)。早期群の検討では、ERG で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振幅の低下が抑制されていることが判明した。網膜変性が進行してから移植した群では類似した結果になったが、OCT 検査では移植 12 週後で網膜厚が有意に維持されている部位があることが判明した。ERG で振幅がコントロールより低下したり、OCT で網膜厚が薄くなる例は見られなかった。デバイス移植後 4 W で実施したマイクロアレイ検査では相互関係検査を行うと、p53、p73 に夜発現調節、Bcl2 family シグナルなどアポトーシスを抑制しているパスウェイが上位にあることが判明した。

3. デバイス埋植安全性試験を行った。強膜上から UNO を徐放することによる網膜への影響を確認した。まず正常 SD ラットへの移植では移植 4 週間目まで定期的に網膜電図(ERG)を評価した。ERG 以外に、組織学的検査(光干渉断層)で確認した。その結果、未処理群やプラセボデバイス移植群と比較して、UNO 徐放デバイス群では ERG の a,b 波振幅値や潜時に変化はなく、形態的にも差はなく、網膜機能の変化はないと推定された。大型動物として点眼の資料もあるウサギでの評価も行った。まず規格決定前は non-GLP 試験でデバイス

移植の可能性を探りながら安全性試験を行い、移植方法も決定した。本見当では URD-0 ($0 \mu\text{g/day}$)、URD-1 ($1 \mu\text{g/day}$) 群及び URD-11 ($11 \mu\text{g/day}$) 群の 3 群で検討したが、前眼部刺激症状において、Sham 群に留置後 1 週まで、URD-0 ($0 \mu\text{g/day}$) 群及び URD-1 ($1 \mu\text{g/day}$) 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 ($11 \mu\text{g/day}$) 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、点眼に比較して軽微(評点 0-2)であった。また、この検討では眼圧の変化は見られなかった。また URD のウサギ球結膜下 28 日間留置は、URD-11 ($11 \mu\text{g/day}$) においても全身毒性は認められなかった。

さらに、デバイス規格決定後は 2 週間/13 週間/24 週間埋植毒性試験(医薬品 GLP)を行った。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(詳細は後述)、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。

4. 薬物動態については、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検討した。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、25 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。26 年度は 6 ヶ月後も網膜内に徐放が確認できた。 10 ± 2 ug/日徐放デバイス移植 6 か月の時点でのウノプロストン濃度は 3 ヶ月時点で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 4 時間後と同レベル以上の濃度が維持されていた。詳細は後述するが(分担者の項)するが、ウサギデバイスの規格をヒト用に合わせると UNO の内容量は 2.85mg となり、これは規格後ヒト用デバイスの 6mg に比較して約半分にな

る。ヒト用は1年徐放を考慮しているが、ウサギ用はデバイス内 UNO 内容量が少ない分6か月時点で3か月時点に比較して減少すると推測される。実際にヒトと同じ規格を持ったデバイスでサルに移植して比較すると(現在解析中であるが)3か月時点より6か月時点の方が網膜内 UNO 濃度が高いことが判明している。点眼と比較して脈絡膜、網膜内濃度が高く、逆に点眼で高濃度を示した前房は測定限界以下であった。AUC を評価した結果、URD 移植では24週まで点眼対比約12倍高く、URD 移植眼では網膜内で持続的にウノプロストン濃度が高いことが推定された。脈絡膜、血漿、眼房水中のウノプロストン濃度を測定した結果、脈絡膜中では点眼対比約5倍のウノプロストンが測定された。また血漿へのウノプロストンの移行は少ないことが推定された(点眼対比0.27倍)。これらのデータは規格化以前のデータも含まれ、詳細な数値については、研究分担者の項目を参照していただきたい。

現在はサルについても薬剤移行を検討している。

5 .デバイスの医療機器としての安全性試験として、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)(以上GLP試験)を行った。その結果感作性試験、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)において異常は見られなかった。しかし、細胞毒性試験の直説法において弱い細胞毒性が見られた。V79細胞をもちいたものであるが、網膜色素上皮細胞株RPEJを用いて検討した時には見られない結果であった。デバイス埋植試験でも問題がこれまでのところ見られていないために、追加検討を予定している。

6 .平成22年8月に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、

26年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。

7 .平成24年5月29日、平成24年8月22日、平成26年1月8日、平成26年8月14日にPMDAと事前面談を行い、評価・指示を頂き、平成26年11月に対面助言を実施した。対面助言では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)ウサギとサルの網膜内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。

8 .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施設で製造予定になった。

9 .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。

D . 考察

研究期間全体を通して、デバイスの規格決定、薬効評価、埋植安全性試験等の必要な研究・解析・評価を行い、PMDAと相談しながら、6か月埋植についてはほぼ非臨床POC取得に至ったことで本来の目的を達成できたと思われる。これらの成果は研究機関、分担機関、企業、臨床研究推進センターと研究全体の打ち合わせを行って、POによるサイトビジットなどで適切なお助言・ご指摘をいただいた結果であり、関係した皆様に深く感謝したい。

デバイスの規格の決定であるが、本デバイ

スは特徴として、これまでのところほとんどの薬剤が徐放可能であったために、薬剤ごとの検討を行えば、それぞれの薬剤徐放デバイスの規格決定を行う道筋ができたと思われる。滅菌方法も確定したが、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もある程度めどがついた。厚さ1mm、幅4mm、長さ19mmというヒト用サイズのデバイスであるが、デバイスカーブを日本人平均眼軸長(24mm)に合わせて固定した。デバイスは子午線方向に挿入され、デバイス後方端が眼球赤道部に固定される予定であるが、デバイスの固定部位の変更でデバイス前方端は位置が調整可能である。基本的にはデバイス前端が黄斑部に位置する予定である。この形状は黄斑バククルに似ているが、デバイスはそれよりも薄く眼球運動障害などのスペース占拠病巣は作らないと考えられる。デバイスの眼球への密着程度により、薬剤の眼内分布への差がある可能性については明らかではない。これまでの検討では薬剤の眼内分布には明らかな差はないと考えられる。

薬効は培養細胞で検討後に、ラット、ウサギを用いて検討した。ラットは網膜光障害モデル、遺伝性網膜変性モデル、また種を変えたウサギでも遺伝性網膜変性モデルを検討した。これらの検討で有効であると判断されたが、治験をはじめると同時に、臨床的な検討だけで患者の選択を行うか、遺伝子解析も行って対象を絞るのか、これからよく検討する必要があると思われる。遺伝子解析を組み込む場合、網膜色素変性は複数の候補遺伝子(100個以上)があることが知られている。UNOは特定の遺伝子を対象にするのではなく、BKチャンネルを利用した神経網膜保護を目的にする薬剤であり、この特性をうまく生かすには特定遺伝子に固執する必要はないかもしれない。また、網膜変性ウサギでは変性早期(生後5週)と変性が進行してから(生後40週)も検討したが、ともに有効であると判断できた。変性が進行してから有効である可能性がある事実は、治験開始

にあたり非常に有意義であると判断される。すなわち、今回のUNO徐放デバイス移植は治験を行う場合、慢性疾患である網膜色素変性が進行してから行うことになる予定である。評価は網膜電図(ERG)と光干渉断層(OCT)で行ったが、それぞれの検査は機能評価、形態評価に優れており、購入したOCTは経時的に形態評価ができ非常に有効に使用できた。組織学的評価はラットまで終了したが、網膜厚は有意に維持されTUNEL検査でも視細胞死の抑制が確認できた。デバイス移植後4週で実施したマイクロアレイ検査ではアポトーシスを制御しているパスイエイが上位にランクしたことは薬効を考える上で意義がある。動物実験では文献的な考察からも有効であると判断した。また、網膜変性の原因が違うそれぞれについて有効であること、ウサギを用いた検討では錐体・杆体両方の機能を長期間評価できたことは有意義であった。

デバイス埋植の安全性試験であるが、non-GLPで行った試験では、URD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(URD-0)を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。GLPで行った2週間、13週間、24週間埋植毒性試験では、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。また、同時にデバイス抜去後の安全性試験も行う必要があると助言をいただいた。ウサギのデバイス埋植安全性試験で使用したデバイスは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(1日の徐放量はほぼ同じ)。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(2 個埋植は理論上ヒト用デバイスの徐放量を上回り、この検討方法は PMDA にも確認済)。これはオスメスそれぞれ 6 匹ずつ施行した。この過程で、メスウサギ 6 匹中 3 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。オスメスの違いについては不明であるが、脱落はデバイスの 1 個埋植では見られないことであった。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。1 年のデバイス 2 個埋植を行うことになった場合には、事前によく検討してから行いたい。

上記したが、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ククルや網膜剥離手術用のバククルより小さく、ヒト応用に関しては問題がないと推測している。

URD の徐放能を *in vitro* と *in vivo* で比較検討したが、*in vitro* の検討で徐放性が遅くなり始める点とほぼ一致して、*in vivo* で使用して取り出したデバイス内のウノプロストン残量の変化が減少(徐放量が減少)していることが判明した。すなわち、デバイス内 UNO 量が減少するに従い徐々に徐放速度が減少する。また、徐放性の低下に伴って、網膜内ウノプロストン濃度が低下傾向にあることが推定された(詳細は分担研究者の項目を参照)。従って、*in vitro* と同じ放出性が *in vivo* でも維持されて、網膜に薬剤が移行していると推定される。デバイス規格化後にも UNO の局所動態も検討した。この結果によると、類似した動態を示すもののウサギの場合、移植直後の眼内分布量は低く、3 ヶ月目にピークを示し、6 ヶ月後まで徐々に低下することは同様であった。この違いはデバイスの規格化によるものと推測でき、現在検討中のサルでも同様の傾向があるために、デバイスから徐放された UNO は徐々に眼内に徐放され、ウサギ(2.85mgUNO/デバイス)の場合は 3 ヶ月をピークに徐放が終了する 6 ヶ月

まで徐々に減少し、ヒト用(6mgUNO/デバイス)の場合は、その約 2 倍の 6 ヶ月をピークに 12 ヶ月に向かって徐々に減少するものと推測した。これはサルを用いて現在継続確認中である。

また、URD の UNO 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した。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、脈絡膜、網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。網膜疾患(後眼部疾患)を対象にしたいという我々のデバイスの特性が活かしていると判断できる。

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、企業は合同で複数回に渡り PMDA と事前面談を行ってきたが、最終的に平成 26 年 11 月に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)ウサギとサルの網膜内 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、3)埋植 URD 摘出後のリスク評価、4)URD の 9-12 か月埋植毒性試験を GLP で行い、5)サル埋植試験における黄斑機能評価をすることであり、27 - 28 年度に終了させる。12 か月埋植を GLP 試験は全体で約 18 か月を必要とし、年度をまたぐ検討になるが是非実行して治験に望みたい。

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。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、この試験では V79 細胞を用いたときのみに見られるために、現在多方面から再検査を考慮している。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。治験開始については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に望みたい。

F . 健康危険情報 なし

G . 研究発表

1. 論文発表

【平成 24 年度】

- 1) 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 choroïdal neovascularization. PLoS One. 2013;8(3):e58580
- 2) Ahmed Y Shanab, Toru Nakazawa,

Morin Ryu, Yuji Tanaka, Noriko Himori, Keiko Taguchi, Masayuki Yasuda, Ryo Watanabe, Jiro Takano; Saido Takaomi, Naoko Minegishi; Toshio Miyata, Toshiaki Abe, Masayuki, Yamamoto, Metabolic stress response implicated in diabetic retinopathy: the role of calpain, and the therapeutic impact of calpain inhibitor. Neurobiol Dis. 2012 Dec; 48(3):556-67.

- 3) Hiroshi Kunikata, Masayuki Yasuda, Naoko Aizawa, Yuji Tanaka, Toshiaki Abe, and Toru Nakazawa. Intraocular Concentrations of Cytokines and Chemokines in Rhegmatogenous Retinal Detachment and the Effect of Intravitreal Triamcinolone Acetonide ” AJO, 2013 Jun; 155(6):1028-1037.
- 4) Aizawa N, Kunikata H, Abe T, Nakazawa T. Efficacy of combined 25-gauge microincision vitrectomy, intraocular lens implantation, and posterior capsulotomy. J Cataract Refract Surg. 2012 Sep; 38(9):1602-7.
- 5) Kobayashi W, Abe T, Tamai H, Nakazawa T. Choroidal excavation with polypoidal choroidal vasculopathy: a case report. Clin Ophthalmol. 2012; 6: 1373-6. Epub 2012 Aug 27.
- 6) Hideyuki Onami, Nobuhiro Nagai, Shigeaki Machida, Norihiro Kumasaka, Ryosuke Wakusawa, Yumi Ishikawa, Hikaru Sonoda, Yasufumi Sato, Toshiaki Abe. “Reduction of laser-induced choroidal neovascularization by intravitreal vasohibin-1 in monkey eyes” Retina. 2012 Jun;32(6):1204-13
- 7) Yumi Tokita-Ishikawa, Nobuhiro Nagai, Hideyuki Onami, Norihiro Kumasaka, Hikaru Sonoda, Tomoaki Takakura, Yasufumi Sato, Toshiaki Abe. “Vasohibin and retinal pigment epithelium” Adv Exp Med Biol, 723, 305-310 (2012)
- 8) 浅野俊一郎、阿部俊明、國方彦志、今留尚人、高橋麻衣、中澤徹：右眼に急性網膜壊死を発症した 16 年後に左眼にも発症した 1

例 .

- 9) 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 . 2013 . 印刷中
- 10) 相澤奈帆子、國方彦志、岡村知世子、阿部俊明、中澤徹：25G 硝子体手術中の脈絡膜剥離 . 眼科臨床紀要 5 (8) : 792-796, 2012.8.
- 11) 金澤紘子、國方彦志、安田正幸、新田文彦、鬼怒川次郎、阿部俊明、中澤徹：特発性黄斑円孔に対する硝子体手術成績とトリアムシノロンアセトニドの効果 . 臨床眼科 66(8): 1219-1224, 2012.8.
- 12) 黄斑円孔術後に発症した脈絡膜新生血管の一例 伊藤梓、國方彦志、阿部俊明、安田正幸、中澤徹 眼科臨床紀要 2012:5(9)855-859.

【平成 25 年度】

- 1) Abe T, Tokita-Ishikawa Y, Onami H, Katsukura Y, Kaji H, Nishizawa M, Nagai N. Intrasceral 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.
- 2) 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 acetate. *Am J Ophthalmol*; **155**: 1028-37 e1. 2013.
- 3) 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.

- 4) 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.
- 5) 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 .
- 6) 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.
- 7) 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.

【平成 26 年度】

- 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 vitreoretinal 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: P

protective Effects against Light-Induced Retinal Damage in Rats. *Adv Healthc Mater.*3(10), 1555-1560. 2014 Apr 19. doi: 10.1002/adhm.201400114.

- 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, 191-204, Editors: Toru Nakazawa, Yasushi Kitaoka, Takayuki Harada, ISBN 978-4-431-54964-2.
2. 学会発表
【平成24年度】
(国際学会発表)
1) Hirokazu Kaji, Nobuhiro Nagai, Takuya Yamada, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe. An Implantable D

rug Delivery Device for Treating Retinal Disorders. 2012 IEEE-EMBS Micro and Nanotechnology in Medicine Conference

- 2) Toshiaki Abe, Yumi Tokita-Ishikawa, Hideyuki Onami, Yuki Katsukura, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Nobuhiro Nagai. : Intra-scleral transplantation of collagen sheet with cultured brain-derived neurotrophic factor expressing cells partially rescued the retina from the damage of acute high intraocular pressure. XVth International Symposium on Retinal Degeneration. July 16-21, 2012. Bad Gögging, Bavaria, Germany
- 3) 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.
- 4) Hideyuki Onami, Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe. Suppression of Rat Choroidal Neovascularization by Transscleral Vasohibin-1 Delivery Device. 2012 ARVO annual meeting, Fort Lauderdale, Florida.

(国内学会発表)

- 1) 相澤奈帆子、國方彦志、新田文彦、阿部俊明、中澤徹 トロピカミド・フェニレフリン塩酸塩点眼による眼底血流への影響 日本網膜硝子体学会 2012/11/30
- 2) 高橋秀肇、阿部俊明、國方彦志、中澤徹 ぶどう膜炎を合併したMPPEから増殖性硝子体網膜症に至った1例 日本網膜硝子体学会 2012/11/30
- 3) 前川重人、阿部俊明、國方彦志、中澤徹 急性網膜壊死52眼に対する硝子体硝子体手術後成績 日本網膜硝子体学会 2012/11/30
- 4) 新田文彦、國方彦志、阿部俊明、中澤徹 ペガプタニブ硝子体投与の眼循環血流

に与える影響 日本網膜硝子体学会
2012/11/30

- 5) 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 日本網膜硝子体学会 2012/11/30
- 6) 新田文彦、國方彦志、阿部俊明、中澤徹 糖尿病黄斑浮腫におけるトリアムシノロン後部テノン嚢下注射前後の眼血流変化の検討 日本臨床眼科学会 2012/10/25
- 7) 相澤奈帆子、國方彦志、目黒泰彦、阿部俊明、中澤徹 2.5 G 小切開硝子体手術での後嚢切開併施トーリック眼内レンズ挿入術の有用性 日本臨床眼科学会 2012/10/25
- 8) 國方彦志、相澤奈帆子、布施昇男、阿部俊明、中澤徹 線維柱帯切除後眼に対する 2.5 G 硝子体手術 日本臨床眼科学会 2012/10/25
- 9) 雪田昌克、國方彦志、小林航、阿部俊明、中澤徹 強い角膜血染混濁を伴う硝子体出血に広角観察系 25 G 手術が奏功した一例 日本臨床眼科学会 2012/10/25
- 10) 浅野俊一郎、今留尚人、大友孝昭、阿部俊明、中澤徹 右眼に ARN を発症した 16 年後に左眼にも発症した 1 例 日本臨床眼科学会 2012/10/25
- 11) 阿部俊明：加齢と眼～眼の病気を知りましょう～ 市民公開講座 NTT 病院 2012/7/25
- 12) 大浪英之、永井展裕、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、西澤松彦、中澤徹、阿部俊明 プロテインドラッグ眼内徐放デバイスによる加齢黄斑変性治療の試み 日本 DDS 学会 2012/7/4-5
- 13) 永井展裕、大浪英之、梶弘和、山田琢也、勝倉由樹、小柳恵理、中澤徹、西澤松彦、阿部俊明 網膜光障害モデルに対する経強膜 DDS の網膜保護効果 日本 DDS 学会 2012/7/4-5
- 14) 大浪英之、永井展裕、梶弘和、西澤松彦、佐藤靖史、中澤徹、阿部俊明 分

子徐放デバイスと神経保護 東北臨床超微形懇話会

- 15) 阿部俊明：加齢黄斑変性の予防と治療 元気健康フェア 2012/4/29
- 16) 大浪英之、永井展裕、梶弘和、西澤松彦、涌澤亮介、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 2012/4/5-8
- 17) 新田文彦、國方彦志、永富良一、牛凱軍、玉井洋、相澤奈帆子、志賀由己浩、阿部俊明、中澤徹 健常人でのレーザースペックル（無散瞳タイプ）の眼循環血流の波形解析と年齢の検討 第 116 回日本眼科学会総会 2012/4/5-8

【平成 25 年度】

（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） 20

13/04/04-04/07.

- 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 APMPPE 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班変性の一例、第 67 回日本臨床眼科学会 横浜 2013/10/31-11/3.

【平成 26 年度】

(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)
- 1) 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)
- 2) Nobuhiro Nagai “Polymeric device for transscleral drug delivery to the posterior segment” *Asia-ARVO 2015, Yokohama, Japan* (February 16-19, 2015)
- 3) **Toshiaki Abe** “Age-related retinal degeneration and recent therapy” *AAA symposium, Waseda-Univ., Tokyo.*(Dec. 18. 2014)
- 4) **Toshiaki Abe** “Transscleral controlled d

elivery of geranylgeranylacetone using a polymeric device protects rat retina against light injury” *RD2014*, Pacific Grove, California, US (July.13-18, 2014)

- 5) 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
- 6) 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
- 7) Hirokazu Kaji, Toshinori Fujie, Nobuhiro Nagai, **Toshiaki Abe** “Local Delivery of an Engineered Epithelial Monolayer by Micropatterned Polymeric Nanosheets” *2014 ARVO annual meeting, 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)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

【平成 24 年度】

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

【平成 25 年度】

1. 特許
- 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

【平成26年度】

1. 特許

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” 国立大学法人東北大学 特願2013-137253(2013年6月28日) 特許PCT/JP2014/67852 (PCT出願日: 2014/06/27)

2) 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” 国立大学法人東北大学 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