

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業
(英語) Basic Science and Platform Technology Program for Innovative Biological
Medicine

研究開発課題名： (日本語) バイオ医薬品局所徐放のための展開型ナノシート創出技術開発
(英語) Deployment type nanosheets creation technology development for
biopharmaceutical local sustained release

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 教授 阿部俊明
所属 役職 氏名： (英語) Toshiaki Abe, Professor, Graduate School of Medicine, National University
Corporation Tohoku University

実施期間： 平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 微細加工ナノシート作製技術開発
開発課題名： (英語) Development of microfabricated nanosheet fabrication technology

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東北大学 大学院工学研究科 准教授 梶 弘和
国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 助教 永井 展裕
国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 助教 山田 慎二
国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 産学官連携研究員

Zhaleh

所属 役職 氏名： (英語) Hirokazu Kaji, Associate Professor, Graduate School of Engineering, National
University Corporation Tohoku University
Nobuhiro Nagai, Assistant Professor, Graduate School of Medicine, National
University Corporation Tohoku University
Shinji Yamada, Assistant Professor, Graduate School of Medicine, National
University Corporation Tohoku University
Zhaleh KASHUKOULI NEZHAD, Industry-Government-Academia

分担研究 (日本語) 動物モデルでの評価 (眼疾患モデル)
開発課題名 : (英語) Evaluation in animal model (retinal neovascularization models)

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 教授 中澤 徹
国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 助教 山田 慎二

所属 役職 氏名 : (英語) Toru Nakazawa, Professor, Graduate School of Medicine, National
University Corporation Tohoku University
Shinji Yamada, Assistant Professor, Graduate School of Medicine, National
University Corporation Tohoku University

分担研究 (日本語) 動物モデルでの評価 (膵島細胞移植)
開発課題名 : (英語) Evaluation in animal model (transplantation of islet cells)

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東北大学 大学院医学系研究科 教授 後藤 昌史
国立大学法人東北大学 未来科学技術共同研究センター 産学官連携

研究員 猪村 梢
所属 役職 氏名 : (英語) Masafumi Goto, Professor, Graduate School of Medicine, National
University Corporation Tohoku University
Kozue Inomura, Industry-Government-Academia Collaboration, New
Industry Creation Hatchery Center, National University Corporation Tohoku
University

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

和文

西澤松彦教授（東北大学 大学院工学系研究科）、梶弘和准教授（東北大学 大学院工学系研究科）、永井展裕助手（東北大学 大学院医学系研究科）中澤徹教授（東北大学 大学院医学系研究科）、後藤昌史教授（東北大学 大学院医学系研究科）のグループとともに、バイオ医薬品局所徐放のための展開型ナノシート創出技術開発を行なっている。この技術開発により特定の組織や臓器にバイオ医薬品を有効に送達する技術開発が期待できる。このために、微細加工ナノシート作製とナノシート生体内局所展開技術開発を行い、まず眼球を標的にバイオ医薬品送達を行った。我々は、さまざまなスペースの形態に合わせて自由な展開ができる、生体分解性あるいは非分解性のナノ厚などのシート作製技術開発を長年行ってきた。宇宙構造物工学からのヒントで設計されたもので、針のような狭い空間を通過しても局所のスペースで必要に応じた展開を可能にしたもので、28年度はサイズ2mm、50 μ の厚さのシートでラット眼球を標的に確認すると、シート内に包埋されたラベルされたアルブミンは網膜色素上皮/脈絡膜/強膜に90ng (4.1 μ g/ml) 移行しており、抗VEGFの代表薬ルセンティスで換算するとルセンティスの有効濃度100ng/ml以上になると予想され、目的薬剤の徐放シート作製は90%が達成されたと考える。シートからの高分子の徐放は単純な高分子のシート内埋殖では徐放できず、コラーゲンなどの微粒子に包埋させると徐放可能であることが判明した（特許申請済）。狭い空間の代表として網膜下や結膜下腔があるが、最終的には注射針などを利用してバイオ医薬品徐放ナノシートの局所展開を縫合処置などなしに行うことを計画している。これまでの検討では、材料によっては分子非透過のものもあり、透過性のある材料との組み合わせで一方向性徐放も可能になるので、このバイオ医薬品徐放膜はさらに改善が期待できる。すでに動物実験で有効性が確認されたバイオ医薬品（抗体等）を搭載して効果を確認する予定で、現在ラットなどの小動物で利用できる抗体の検討中である。我々は、ラットあるいはマウスにレーザーを利用した網膜新生血管モデルを作製することや糖尿病網膜症モデルマウスやラットの作製はなんども行なってきた。このモデルを利用して我々の薬剤徐放膜の効果を評価する。本研究の初期より開発を進めてきた新生血管にかかわるモデル動物開発もすすみ、新生血管にかかわる新しい知見が判明しつつある。さらに我々のバイオ医薬品徐放シートは他臓器への利用も考慮できる。膵島細胞移植のために移植細胞が局所で生存できるように必要な環境作製のために、局所微小血管網の構築にも血管新生を促すバイオ医薬品の徐放も有効性が期待される。この仕事は、この領域の第一人者である後藤先生と検討を行っている。これまでのところ血管新生を促進する1つの因子として線維芽細胞増殖因子（bFGF）徐放を試みたが、bFGFの徐放に伴いコントロールと比較すると血管網の構築が確認できた。また、デバイス内にはナノグラム程度のbFGFでも徐放コントロール可能になった。

英文

We have developed development nano-sheet creation technology for sustained release of biopharmaceutical locality with Professor Matsuhiko Nishizawa (Graduate School of Engineering, Tohoku University), Associate Professor Hirokazu Kaji (Graduate School of Engineering, Tohoku University), Assistant Professor Masahiro Nagai (Graduate School of Medicine, Tohoku University) Professor Toru Nakazawa (Tohoku University Graduate School of Medicine Department), Professor Masashi Goto (Tohoku University Graduate School of Medical Sciences) group. This technology development enables technology development to effectively deliver biopharmaceuticals to specific tissues and organs. For this purpose, we have fabricated microfabricated nanosheets and developed local development technology of nanosheet in vivo, firstly delivering biopharmaceuticals targeting eyeballs. We have been developing biodegradable or non-degradable nano-thick sheets fabrication technology for many years, which can freely develop according to various space forms, but in fiscal year 28, I think that 90% has been achieved. Designed with hints from space structure engineering, even if it passes through a narrow space like a needle, it enables deployment as needed in a local space, and as a representative of a narrow space, it is a subspace or conjunctiva Utilizing the lower cavity, the local deployment of the biopharmaceutical sustained release nanosheet is finally performed without suture treatment using the injection needle or the like. In some studies so far, some materials are non-permeable to molecules, and unidirectional sustained release can be made possible in combination with a permeable material, so improvement of this biopharmaceutical sustained release film can be expected. Antibody that can be used in small animals such as rats at present is being studied because it is a policy to confirm the effect by loading biopharmaceuticals (antibodies etc.) already validated in animal experiments. We have done a lot of retinal neovascularization models using lasers in rats or mice, and we want to evaluate the effect of our drug extended release membrane using this model. Furthermore, it can be considered for use in other organs, sustained release of biopharmaceuticals that promote angiogenesis also for the construction of local microvascular network in order to prepare the environment necessary for transplanted cells to survive locally for transplantation of islet cells Efficacy is also expected, so far we have tried bFGF sustained release as a factor promoting angiogenesis, but we have become able to control sustained release even with nanograms of bFGF in the device. This work has been performed with Professor Goto who is the leading expert in this field.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 10 件）

1. Nagai N, Iwata S, Kaji H, Sampei K, Katsukura Y, Onami H, Nishizawa M, Nakazawa T, Mashima Y, and Abe T. Protective effects of sustained transscleral unoprostone delivery against retinal degeneration in S334ter rhodopsin mutant rats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016, 104(8), 1730-1737. doi: 10.1002/jbm.b.33522.
2. Nagai N, Kaji H, Nishizawa M, Nakazawa T, Abe T. Transscleral controlled delivery of geranylgeranylacetone using a polymeric device protects rat retina against light injury. *Adv Exp Med Biol*. 2016, 854, 471-7. doi: 10.1007/978-3-319-17121-0_63.
3. Kuniaki Nagamine, Shun Chihara, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, “Totally shape-conformable electrode/hydrogel composite for on-skin electrophysiological measurements” *Sens. Actuator B-Chem*. 2016, 237, 49-53. doi:10.1016/j.snb.2016.06.076
4. Yuina Abe, Kuniaki Nagamine, Mayu Nakabayashi, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, Takeshi Yamauchi, Kenshi Yamasaki, Matsuhiko Nishizawa, “Minimally-invasive transepidermal potentiometry with microneedle salt bridge” *Biomed. Microdevices* 2016, 18, 55. doi:10.1007/s10544-016-0080-0
5. L. Liu, H. Kai, K. Nagamine, Y. Ogawa, and M. Nishizawa, Porous Polymer Microneedles for Rapid Fluid Transport by Massively Parallel Microchannels, *RSC Adv.*, 2016, 6, 48630-48635.
6. Nishiguchi KM, Yokoyama Y, Fujii Y, Fujita K, Tomiyama Y, Kawasaki R, Furukawa T, Ono F, Shimozawa N, Togo M, Suzuki M, Nakazawa T. Analysis of Macular Drusen and Blood Test Results in 945 Macaca fascicularis. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164899.
7. Wang Z, Iida A, Miyake N, Nishiguchi KM, Fujita K, Nakazawa T, Alswaid A, Albalwi MA, Kim OH, Cho TJ, Lim GY, Isidor B, David A, Rustad CF, Merckoll E, Westvik J, Stattin EL, Grigelioniene G, Kou I, Nakajima M, Ohashi H, Smithson S, Matsumoto N, Nishimura G, Ikegawa S.. Axial Spondylometaphyseal Dysplasia Is Caused by C21orf2 Mutations. *PLoS ONE* 2016;11:e0150555.
8. Yasuda M, Tanaka Y, Omodaka K, Nishiguchi KM, Nakamura O, Tsuda S, Nakazawa T. Transcriptome profiling of the rat retina after optic nerve transection. *Sci Rep*. 2016;6:28736.
9. Nagai N, Koyanagi E, Izumida Y, Liu J, Katsuyama A, Kaji H, Nishizawa M, Osumi N, Kondo M, Terasaki H, Mashima Y, Nakazawa T, Abe T. Long-term protection of genetically ablated rabbit retinal degeneration by sustained transscleral Unoprostone delivery *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016, 1;57(15), 6527-6538. doi: 10.1167/iovs.16-20453.
10. Yamamoto K, Sato K, Yukita M, Yasuda M, Omodaka K, Ryu M, Fujita K, Nishiguchi KM, Machida S, Nakazawa T. The neuroprotective effect of latanoprost acts via klotho-mediated suppression of calpain activation after optic nerve transection. *J Neurochem*. 2017;140:495-508.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 近藤太郎, Zhaleh Kashkouli Nezhad, 鈴木 仁, 陳俐君, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “インジェクション可能な薬剤徐放シートの眼科領域への応用” 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 33 回研究会, 東京, 2016 年 4 月 25, 26 日 ポスター、国内

2. 鈴木 仁, 近藤太郎, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “細胞担持高分子ナノ薄膜の電気化学的マニピュレーション” 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 33 回研究会, 東京, 2016 年 4 月 25, 26 日 ポスター、国内
3. 永井展裕, 泉田泰子, 梶弘和, 勝山綾, 中澤徹, 近藤峰生, 寺崎浩子, 西澤松彦, 山田慎二, 眞島行彦, 阿部俊明「網膜色素変性モデルウサギ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 120 回日本眼科学会総会、仙台国際センター (2016 年 4 月 7 日～10 日) 口頭、国内
4. Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Aya Katsuyama, Shinji Yamada, Toru Nakazawa, Mineo Kondo, Hiroko Terasaki, Yukihiko Mashima, Toshiaki Abe “Protective Effects of Sustained Unoprostone Release Device in Rhodopsin Pro347Leu Transgenic Rabbits” 2016 ARVO annual meeting, 4017-B0195, Seattle, Washington (May 1-5, 2016) ポスター、国外
5. Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Li-Jiun Chen, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Development of self-deployment and drug release polymeric film device” 10th World Biomaterials Congress, Montreal, Canada, May 17-22, 2016. ポスター、国外
6. “Photopic shift” of rod visual pathway through overexpression of GTPase complex in murine rods, Koji M. Nishiguchi, Kate Powell, Matteo Rizzi, Kosuke Fujita, Enrico Cristante, James W. Bainbridge, Ronald Douglas, Toru Nakazawa, Alexander J. Smith, Robin R. Ali, EyeTN, 2016/6/22、口頭、国外
7. “Photopic shift” of rod visual pathway through overexpression of GTPase complex in murine rods, Koji M. Nishiguchi, Kate Powell, Matteo Rizzi, Kosuke Fujita, Enrico Cristante, James W. Bainbridge, Ronald Douglas, Toru Nakazawa, Alexander J. Smith, Robin R. Ali, EyeTN, 2016/6/22、ポスター、国外
8. 近藤太郎, Zhaleh Kashkouli Nezhad, 陳俐君, 鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “自己展開型薬剤徐放シートの眼科領域への応用” 第 32 回日本 DDS 学会学術集会, 静岡, 2016 年 6 月 30 日, 7 月 1 日 口頭、国内
9. 永井展裕, 梶弘和, 泉田泰子, 山田慎二, 中澤徹, 西澤松彦, 眞島行彦, 阿部俊明「後眼部局所持続投与を指向した薬物徐放デバイスの開発」第 32 回日本 DDS 学会学術集会、グランシップ静岡 (2016 年 6 月 30 日～7 月 1 日) 口頭、国内
10. Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Drug delivery system using injectable polymeric nanosheets” PRiME 2016, Honolulu, Hawaii, USA, Oct. 2-7, 2016. 口頭、国外
11. Jin Suzuki, Taro Kondo, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Electrochemical manipulation of living cells supported by polymeric nanosheets” PRiME 2016, Honolulu, Hawaii, USA, Oct. 2-7, 2016. 口頭、国外
12. 網膜色素変性症とドットプロットによる末梢血抗網膜抗体の測定、西口康二、横山悠、大学玲子、藤田幸輔、中澤 徹、第 70 回日本臨床眼科学会、2016/11/4、口頭、国内
13. 近藤太郎, Zhaleh Kashkouli Nezhad, 陳俐君, 鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明,

梶 弘和, “自己展開型薬剤徐放シートの網膜疾患治療への応用” 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016, 福岡国際会議場, 2016年11月21, 22日 口頭、国内

14. 遺伝性網膜変性症における血清抗リカバリン抗体の検出、西口康二、藤田幸輔、中澤 徹、第55回網膜硝子体学会、2016/12/2、口頭、国内
15. 西條早絢、永井展裕、Song Yuanhui、阿部俊明「再注入可能な持続性薬物徐放デバイスおよび再充填用インジェクタブルゲルの開発」第16回日本再生医療学会総会、仙台国際センター（2017年3月7日～9日）ポスター、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 東北大学オープンキャンパス（研究室への来場者：高校生を中心に約300名）革新的薬剤徐放システムの説明を行なった。2016/7/27-28, 国内
2. 東北大学機械系産学連携室主催研究室見学（研究室への来場者：企業関係者を中心に約30名）革新的薬剤徐放システムの説明を行なった。2016/12/19, 国内

(4) 特許出願

国際出願：PCT/JP2016/082989 (2016年11月7日)

阿部俊明、山田慎二、永井展裕、後藤昌史

“細胞移植治療用の皮下埋め込みデバイス”

国立大学法人東北大学