

Title	内耳ドラッグデリバリーシステムにおけるヒアルロン酸ハイドロゲルの開発
Sub Title	Sustained effect of hyaluronic acid in subcutaneous administration to the cochlear spiral ganglion
Author	稲垣, 洋三(Inagaki, Yozo)
Publisher	
Publication year	2016
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2015.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>ヒアルロン酸を用いた徐放性薬剤による蝸牛らせん神経節へのDrug delivery systemの構築を目標とし、徐放剤の使用や投与方法による内耳薬物動態の違いを確認して蝸牛へのヒアルロン酸の徐放効果について検討した。結果、マウス背部へのヒアルロン酸抱合ルシフェリン投与は、当量の生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液の同部位への皮下投与、腹腔内投与と比べて蝸牛局所での最高濃度到達時間、半減期がともに有意に延長しており、徐放剤として極めて有用であることが示された。同時に、同実験系が内耳へのdrug deliveryの評価に有用で、簡便かつ実用的な実験系であることが示唆された。</p> <p>In the present study, we used hyaluronic acid (HA)-dispersed luciferin to image transgenic mice and to determine the effect of HA on controlled drug delivery to the cochlea. GFAP-luc mice, which express luciferase in cochlear spiral ganglion cells, were subcutaneously administered HA-luciferin (HA-sc) or luciferin dissolved in saline (NS-sc) or intraperitoneally administered luciferin dissolved in saline (NS-ip). The bioluminescence of luciferin was monitored in vivo in real time. The peak time and half-life of fluorescence emission were significantly increased in HA-sc-treated mice compared with those in NS-sc- and NS-ip-treated mice; however, significant differences were not observed in peak photon counts. We detected differences in the pharmacokinetics of luciferin in the inner ear, including its sustained release, in the presence of HA. The results indicate the clinical potential of using HA for controlled drug delivery to the cochlea.</p>
Notes	<p>研究種目：若手研究(B) 研究期間：2013～2015 課題番号：25861590 研究分野：耳鼻咽喉科</p>
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_25861590seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861590

研究課題名(和文)内耳ドラッグデリバリーシステムにおけるヒアルロン酸ハイドロゲルの開発

研究課題名(英文) Sustained effect of hyaluronic acid in subcutaneous administration to the cochlear spiral ganglion

研究代表者

稲垣 洋三 (Inagaki, Yozo)

慶應義塾大学・医学部・共同研究員

研究者番号：10445330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ヒアルロン酸を用いた徐放性薬剤による蝸牛らせん神経節へのDrug delivery systemの構築を目標とし、徐放剤の使用や投与方法による内耳薬物動態の違いを確認して蝸牛へのヒアルロン酸の徐放効果について検討した。結果、マウス背部へのヒアルロン酸抱合ルシフェリン投与は、当量の生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液の同部位への皮下投与、腹腔内投与と比べて蝸牛局所での最高濃度到達時間、半減期がともに有意に延長しており、徐放剤として極めて有用であることが示された。同時に、同実験系が内耳へのdrug deliveryの評価に有用で、簡便かつ実用的な実験系であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we used hyaluronic acid (HA)-dispersed luciferin to image transgenic mice and to determine the effect of HA on controlled drug delivery to the cochlea. GFAP-luc mice, which express luciferase in cochlear spiral ganglion cells, were subcutaneously administered HA-luciferin (HA-sc) or luciferin dissolved in saline (NS-sc) or intraperitoneally administered luciferin dissolved in saline (NS-ip). The bioluminescence of luciferin was monitored in vivo in real time. The peak time and half-life of fluorescence emission were significantly increased in HA-sc-treated mice compared with those in NS-sc- and NS-ip-treated mice; however, significant differences were not observed in peak photon counts. We detected differences in the pharmacokinetics of luciferin in the inner ear, including its sustained release, in the presence of HA. The results indicate the clinical potential of using HA for controlled drug delivery to the cochlea.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：ドラッグデリバリーシステム 内耳 ヒアルロン酸 徐放効果

1. 研究開始当初の背景

難聴は先天性、後天性ともに頻度の高い身体障害の要因であり、QOLの低下に直結する。中でも、感音難聴に関しては、有効な治療法が極めて限られている。急性感音難聴に対する第一選択は副腎皮質ステロイドの全身投与であるが、その治療効果(治癒率)は約40%と決して満足できるものではなく、その作用機序の詳細は現在も不明な状態のままである。よって、作用機序の解明とともに、新たな治療方法の研究開発が強く望まれている。そのような状況において、国内外において、薬剤の鼓室内注入療法が注目されるようになり、鼓室内投与の臨床試験が行われている。

鼓室内投与の考え方の基礎として、ドラッグデリバリーシステム(DDS)がある。DDSとは、「必要最小限の薬物を、必要な場所に、必要な時供給する」技術であり、薬理効果の向上、副作用の軽減、投与回数の低減、QOLの向上が期待される、理想的かつ革新的な治療戦略の基礎となる。内耳は微細な器官であること、中枢神経系と同様に血液内耳関門が存在することから、高濃度の薬剤を局所に持続的に作用させるDDSの確立が期待されている。

鼓室内投与のポイントとして、鼓室から耳管経由で薬剤が排出されないような、鼓室内での滞流性、徐放性の高い薬剤形態が重要である。当研究では粘弾性が自在に変えられる生体物質であるヒアルロン酸に着目した。ヒアルロン酸は、生体において主要な細胞外基質成分であり、バイオマテリアルの基礎となるムコ多糖類の一種であり、生体適合性に優れ、整形外科や眼科領域においてすでに臨床応用されている安全性の高い物質である。特徴として、高い水和性を有する粘弾性物質であり、その粘度は、ヒアルロン酸の濃度や分子量(一つ一つのヒアルロン酸の長さ)によって変化させることが可能である。ヒアルロン酸ハイドロゲルの薬物徐放効果はDDSにお

いて重要な役割を担うと考えられている。

今まで生体内の薬物動態を生きたまま体外から可視化してモニタリングすることは不可能だったが、当研究室では、*in vivo* イメージングシステム(IVIS®)と遺伝子改変マウスを用いて、生きた動物個体の内耳においてリアルタイムに薬剤到達を解析できるシステムを構築している。ルシフェリンの薬物動態を観察し、鼓室内投与と腹腔内投与では薬物動態が異なっていることを確認した(Kanzaki et al 2012)。

上記結果を踏まえ、ヒアルロン酸の特徴を行かした鼓室内投与の効果(内耳薬物動態)をIVIS®で示すことができれば、内耳DDSにおける理想的かつ革新的な内耳治療戦略の新たな展開が期待されると考えた。

2. 研究の目的

内耳DDSに最適な薬物徐放効果を有するヒアルロン酸ハイドロゲルを開発することを目的とする。検討に際しては当研究室より既報の遺伝子改変レポーターマウスと*in vivo* イメージングを組み合わせたDDS評価系を用い、複数の条件のヒアルロン酸を用いた際の蝸牛内への薬剤到達を各々につき時空間的にリアルタイムに検討することで、内耳性難聴に対する鼓室内治療に最適なDDSの確立を目指す。

3. 研究の方法

IVIS®と遺伝子改変マウスを用いて下記2つの実験を行った。

(1) 鼓室内投与実験

ルシフェリンの鼓室内投与を行い、リアルタイムで内耳薬物動態を観察した。ルシフェリンにヒアルロン酸の併用群(濃度2種類)と生理食塩水併用群の3群において、内耳への薬物到達時間、濃度変化、及び消失時間を測定した。

(2) 皮下投与、腹腔内投与実験

ルシフェリンと分子量290万のヒアルロ

ン酸生理食塩水を混合したものを皮下投与した群 (HA-sc 群)、ルシフェリンと生理食塩水を混合したものを腹腔内投与した群 (NS-ip 群)、ルシフェリンと生理食塩水を混合したものを皮下投与した群 (NS-sc 群) の 3 群でルシフェリンの内耳薬物動態を観察した。

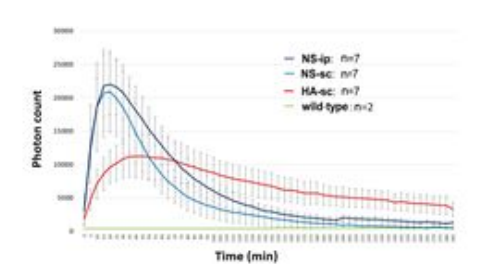
4. 研究成果

(1) 鼓室内投与実験

実験データを集積したが、実測データにばらつきが大きかった。マウスの鼓室内投与は手技的に非常に細かい操作であるため、一定の手技を完全に同一にすることが困難であった。そのため、データのばらつきが、薬剤によるものか、手技・操作による誤差であるのかの判定が困難であると判断した。

(2) 皮下投与、腹腔内投与実験

ルシフェリンと生理食塩水を混合したものを腹腔内投与した群 (NS-ip 群) では、25 分で最高ピーク光子カウントに到達したのち、光子カウントは急激に低下した。ルシフェリンと生理食塩水を混合したものを皮下投与した群 (NS-sc 群) では NS-ip 群と同様の曲線が得られ、25 分でピーク値に到達した。他方、ルシフェリンと分子量 290 万のヒアルロン酸生理食塩水を混合したものを皮下投与した群 (HA-sc 群) では 50 分でピーク値に到達した。HA-sc 群は NS-ip、NS-sc の 2 群よりピーク到達時間が統計学的に有意に延長した。さらに半減期に関しても HA-sc 群は他の 2 群より統計学的に有意に延長した。



上記結果より、マウス背部へのヒアルロン酸抱合ルシフェリン投与は、当量の生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液の同部位への皮下投与、腹腔内投与と比べて蝸牛局所での最高濃度到達時間、半減期がともに有意に延長しており、徐放剤として極めて有用であることが示された。

内耳における同実験系のようなリアルタイムな薬物動態の報告は少ない。ヒアルロン酸の内耳に対する徐放効果が初めて確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

(1) Yozo Inagaki, Masato Fujioka, Sho Kanzaki, Kotaro Watanabe, Naoki Oishi, Go Itakura, Akimasa Yasuda, Shinsuke Shibata, Masaya Nakamura, Hirotaka James Okano, Hideyuki Okano, Kaoru Ogawa

Sustained Effect of Hyaluronic Acid in Subcutaneous Administration to the Cochlear Spiral Ganglion

PLOS ONE 査読あり

Published 21 Apr 2016

DOI: 10.1371 / journal.pone.0153957

〔学会発表〕(計 6 件)

(1) 稲垣 洋三、The controlled-release effect of hyaluronic acid on drug delivery to the cochlear spiral ganglion、The 16th Japan Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery 2016 年 3 月 28~30 日、ハイアットリージェンシー東京 (東京都新宿区)

(2) 稲垣 洋三、The controlled-release effect of hyaluronic acid on drug delivery to the cochlear spiral ganglion、52nd Annual Inner Ear Biology Workshop &

Symposium

2015年9月12～15日、ローマ（イタリア）

(3)稲垣洋三、内耳 DDS におけるヒアルロン酸の徐放効果

第36回 日本炎症・再生医学会

2015年7月22日、虎ノ門ヒルズ（東京都港区）

(4)稲垣洋三、内耳 DDS におけるヒアルロン酸の徐放効果

第14回 日本再生医療学会

2015年3月19～21日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

(5)稲垣洋三、内耳 DDS におけるヒアルロン酸の徐放効果

第59回 日本聴覚医学会

2014年11月27～28日、海峡メッセ（山口県下関）

(6) 稲垣洋三、The controlled-release effect of hyaluronic acid on drug delivery to the cochlear spiral ganglion、

2014 AA0-HNSF annual meeting & OTO EXPO

2014年9月21～24日、オーランド（アメリカ）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

稲垣 洋三（Yozo Inagaki）

慶應義塾大学・医学部・共同研究員

研究者番号：10445330

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし