

|                  |  |
|------------------|--|
| Title            | 内耳ドラッグデリバリーにおける至適薬剤投与の研究   |
| Sub Title        | The study of optimal drug administration in inner ear drug delivery  |
| Author           | 稲垣, 洋三(Inagaki, Yozo)  |
| Publisher        |  |
| Publication year | 2018   |
| Jtitle           | 科学研究費補助金研究成果報告書 (2017. )   |
| Abstract         | <p>3通りの薬物投与経路(鼓室内, 腹腔内, 皮下)及び濃度の異なるヒアルロン酸を用いた際の蝸牛ラセン神経節への薬剤到達を検討することで, 内耳薬物治療に最適な投与法の確立を目指した。鼓室内投与群はばらつきが大きく, 統計学的に有意な結果は得られなかった。一方, HA抱合ルシフェリン皮下投与群は, 生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液の皮下投与群, 腹腔内投与群と比べ最高濃度到達時間, 半減期が統計学的に有意に延長し蝸牛ラセン神経節に対するHA皮下投与の持続効果が示された。ヒアルロン酸の特徴を行かした鼓室内投与法を確立できれば, 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られた。</p> <p>We measured drug delivery to the cochlear spiral ganglion using three drug administration routes and hyaluronic acid with different concentrations, and examined the optimal administration method for the inner ear. In the tympanic administration group, the variation was large, and statistically significant results could not be obtained. On the other hand, the HA-conjugated luciferin subcutaneous administration group showed a sustained effect of HA subcutaneous administration on the cochlear spiral ganglion compared with the subcutaneous administration group or the intraperitoneally administered group of luciferin solution using physiological saline as a solvent. If we could establish a tympanic administration method that characterized the characteristics of hyaluronic acid, it would be expected that a new development of an ideal and innovative inner ear treatment strategy would be expected.</p> |
| Notes            | 研究種目: 若手研究(B)<br>研究期間: 2015 ~ 2017<br>課題番号: 15K20227<br>研究分野: 耳鼻咽喉科  |
| Genre            | Research Paper   |
| URL              | <a href="http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_15K20227seika">http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_15K20227seika</a>  |

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20227

研究課題名(和文)内耳ドラッグデリバリーにおける至適薬剤投与の研究

研究課題名(英文)The Study of optimal drug administration in inner ear drug delivery

研究代表者

稲垣 洋三 (Inagaki, Yozo)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・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) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):3通りの薬物投与経路(鼓室内、腹腔内、皮下)及び濃度の異なるヒアルロン酸を用いた際の蝸牛ラセン神経節への薬剤到達を検討することで、内耳薬物治療に最適な投与方法の確立を目指した。鼓室内投与群はばらつきが大きく、統計学的に有意な結果は得られなかった。一方、HA抱合ルシフェリン皮下投与群は、生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液の皮下投与群、腹腔内投与群と比べ最高濃度到達時間、半減期が統計学的に有意に延長し蝸牛ラセン神経節に対するHA皮下投与の持続効果が示された。ヒアルロン酸の特徴を行がした鼓室内投与方法を確立できれば、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られた。

研究成果の概要(英文):We measured drug delivery to the cochlear spiral ganglion using three drug administration routes and hyaluronic acid with different concentrations, and examined the optimal administration method for the inner ear. In the tympanic administration group, the variation was large, and statistically significant results could not be obtained. On the other hand, the HA-conjugated luciferin subcutaneous administration group showed a sustained effect of HA subcutaneous administration on the cochlear spiral ganglion compared with the subcutaneous administration group or the intraperitoneally administered group of luciferin solution using physiological saline as a solvent. If we could establish a tympanic administration method that characterized the characteristics of hyaluronic acid, it would be expected that a new development of an ideal and innovative inner ear treatment strategy would be expected.

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 持続効果

## 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。

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た。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ることを確認し(Kanzaki et al 2012)、内耳ラセン神経節に対するヒアルロン酸(HA)抱合ルシフェリンの持続効果につき検討を行った(平成25年度科学研究費助成事業:若手研究(B)・25861590)。その結果、腹腔内投与と皮下投与における内耳ラセン神経節に対するHA抱合ルシフェリンの持続効果を示すデータが確認された。この研究を継続・発展させ、複数の条件でHAを用いた際の蝸

牛ラセン神経節への薬剤到達を時空間的にリアルタイムに検討することにより、内耳への効率かつ持続的な作用を有する内耳ドラッグデリバリーにおける至適薬剤投与につき検討を行った。

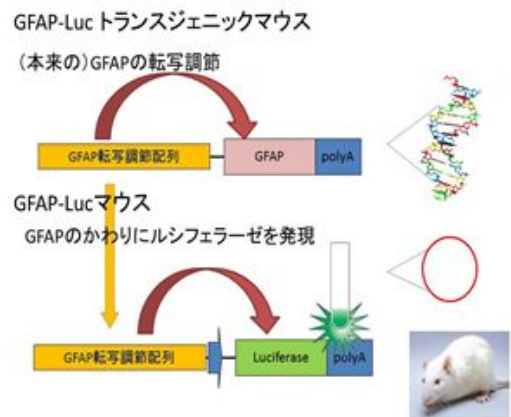
## 2. 研究の目的

内耳DDSにおいて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及び投与法を開発することを目的とする。

複数の投与経路及び濃度の異なるヒアルロン酸を用いた際の蝸牛ラセン神経節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薬物治療に最適なDDSの確立を目指す。

## 3. 研究の方法

本研究の検討に際してはGFAP-Lucトランスジェニックマウス(下図:GFAP Lucマウスにおける発光システム)と*in vivo* イメージング(IVIS®)を組み合わせたDDS評価系を用いた。



GFAP-Lucマウスでは蝸牛ラセン神経を中心に強くレポーター遺伝子が発現している。ルシフェラーゼは、器質であるルシフェリンを分解する際に化学発光を誘導する酵素である。ルシフェリンの投与を行い、ルシフェリンが内耳グリア細胞に到達するとルシフェラーゼと酵素が反応し発色する。この発色が個体の骨・皮膚を透過し超高感度発光・蛍

光 *in vivo* イメージングシステム IVIS® Imaging System で解析できるようになった。すなわち、同一個体においてリアルタイムに dynamic に *in vivo* で薬物移行を観察することが可能である。このトランスジェニックマウスを用いて、ルシフェリンの薬物動態をリアルタイムに観察する。

異なる条件下においてルシフェリンを投与し、マウスの蝸牛ラセン神経節への取り込みを酵素との反応による発光をリアルタイムで観察することにより内耳薬物動態を観察した。具体的には、下記3通りの薬物投与経路（鼓室内投与、腹腔内投与、皮下投与）から、ルシフェリンとHA抱合2群（濃度を2種類使用）と生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液群の計3群において投与を行い、内耳への薬物到達時間、濃度変化、及び消失時間を測定し、内耳DDSにおいて最適な薬物効果を有するHAハイドロゲル及び投与法を検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 鼓室内投与実験

鼓室内投与群において実験データを集積したが、他の2つの投与経路と比べデータにばらつきが大きく、統計学的に有意な結果は得られなかった。マウスの鼓室内投与は手技的に非常に細かい操作であり、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、薬剤のよるものか、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

一方、HA抱合ルシフェリン皮下投与群は、生理食塩水を溶媒としたルシフェリン溶液の皮下投与群、腹腔内投与群と比べ最高濃度到達時間、半減期が統計学的に有意に延長し蝸牛ラセン神経節に対するHA皮下投与の持続効果が示された（Inagaki et al 2016）。HA濃度による有意差は認めなかった。

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法を確立し、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られた。

#### 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2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

(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

〔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〕

慶應義塾大学医学部耳鼻咽喉科学教室研究

紹介

<http://www.ent.med.keio.ac.jp/>

## 6 . 研究組織

### (1)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

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし