

北里大学大学院獣医学系研究科

博士課程学位論文審査の結果と最終試験の成績

2022年2月18日

学位論文題目

抗緑内障点眼薬であるチモロールマレイン酸塩に対するドラッグデリバリーシステムの応用に関する研究

氏名	喜多 瑞樹	所属	獣医学専攻	獣医内科学
----	-------	----	-------	-------

審査委員	主査	北里大学	教授	岡野 昇三
------	----	------	----	-------



	副査	北里大学	教授	工藤 上
--	----	------	----	------



	副査	北里大学	教授	折野 宏一
--	----	------	----	-------



	副査	大阪府立大学	教授	長谷川 貴史
--	----	--------	----	--------



審査の結果

合格

最終試験の成績

優

北里大学大学院獣医学系研究科

博士課程学位論文審査の結果と最終試験の成績

2022年2月18日

学位論文題目

抗緑内障点眼薬であるチモロールマレイン酸塩に対するドラッグデリバリーシステムの応用に関する研究

氏名	喜多 瑞樹	所属	獣医学専攻 獣医内科学
----	-------	----	-------------

審査委員	主査	北里大学	教授	岡野 昇三	印
------	----	------	----	-------	---

	副査	北里大学	教授	工藤 上	印
--	----	------	----	------	---

	副査	北里大学	教授	折野 宏一	印
--	----	------	----	-------	---

	副査	大阪府立大学	教授	長谷川 貴史	印
--	----	--------	----	--------	---

審査の結果	_____	最終試験の成績	_____
-------	-------	---------	-------

論文審査の要旨および担当者

学位申請者	喜多 瑞樹 (DV18003 獣医内科学)			
学位論文題目	抗緑内障点眼薬であるチモロールマレイン酸塩に対するドラッグデリバリーシステムの応用に関する研究			
担当者	主査	北里大学	教授	岡野 昇三
	副査	北里大学	教授	工藤 上
	副査	北里大学	教授	折野 宏一
	副査	大阪府立大学	教授	長谷川 貴史



論文審査の要旨

緑内障は、網膜神経節細胞とその軸索の不可逆的変性を共通の病態とする眼疾患である。エビデンスを伴った唯一の緑内障治療法は、ヒト、イヌともに、点眼療法を主とした眼圧下降による視神経の物理的障害の抑制であり、交感神経β受容体遮断薬、縮瞳薬、炭酸脱水酵素阻害薬、プロスタグランジン関連薬などが単独あるいは併用して用いられる。これらのうちプロスタグランジン関連薬は、原発緑内障に対する第一選択薬であるが、血液房水関門の破綻に起因する起炎作用を有し、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障に対しては使用禁忌である。対して交感神経β受容体遮断薬の一つであるチモロールマレイン酸塩 (TM) は、血液房水関門の破綻を誘発せず、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障を含む多くの病態の緑内障に使用可能である。しかし、TM は、イヌでは眼圧下降作用が十分に

なく、さらに徐脈や血圧低下、気管支喘息などの全身副作用を誘発あるいは増悪させうる欠点もある。

近年、薬剤の生物学的利用能の改善を目的としたドラッグデリバリーシステム（DDS）が着目されており、眼科領域にも応用されつつある。その一つであるナノキャリア配合剤は、既存薬剤にナノキャリアを配合することで容易に作成可能であり、通常の点眼薬と同様に使用可能であると考えられ、他の DDS 製剤にはない利点がある。ナノキャリアの一つに、水酸化マグネシウム（MH）があり、ナノ粒子化 MH（nMH）を点眼することで、角膜上皮細胞間隙が拡張し、配合薬剤の眼内移行性が向上する。本薬剤を TM に応用することで、TM の副作用を増大させることなく眼圧下降作用を増大させ、nMH 配合 TM（nMH・TM）が、新たなイヌの抗緑内障点眼薬なる可能性がある。本研究は、nMH・TM のイヌの緑内障治療への応用を目指し、イヌの緑内障に関する基礎的データの収集と、健常犬を用いた nMH・TM の有効性の評価を行った。

第 1 章 北里大学附属動物病院で緑内障と診断されたイヌに対する回顧的研究

本研究ではイヌの緑内障に関する基礎的データの収集を目的に、2007 年 7 月～2012 年 12 月までに北里大学附属動物病院に来院したイヌの眼科初診症例を対象とした回顧的研究を実施した。その結果、全 840 眼のうち、41 眼（4.9%）が緑内障に罹患しており、その病態の内訳は、22 眼（53.7%）がぶどう膜炎を伴う続発緑内障、18 眼（43.9%）が原発緑内障、1 眼（2.4%）が水晶体前方脱臼を伴う続発緑内障であった。また、全 840 眼のうち、141 眼（16.8%）が来院時に視覚を喪失していた。その原因疾患は、網膜変性症が 59 眼（41.8%）、緑内障が 32 眼（22.9%）、

ぶどう膜炎が 17 眼 (12.1%)、網膜剥離が 6 眼 (4.3%)、その他が 27 眼 (19.1%) であった。本研究から、イヌの緑内障の最も一般的な病態は、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障であることが確認された。また緑内障は、イヌの視覚喪失の原因疾患として大きな割合を占め、イヌの視覚保持率の改善のためには、優れた眼圧下降作用を有する抗緑内障点眼薬の実用化が必要であると考えられた。

第 2 章 健常犬に対し nMH-TM を単回投与した際の眼圧下降作用の検証

5 日間の馴化を終えた健常ビーグル犬 5 頭 (2.1 ± 0.6 歳齢、 11.1 ± 0.7 kg) に対し、片眼に生理的食塩水 (Saline)、TM、0.01% または 0.1% nMH-TM 配合剤 (それぞれ 0.01% nMH-TM、0.1% nMH-TM) のうち 1 種を単回投与し、12 時間後まで継続的に眼圧、瞳孔径、心拍数、血圧を測定した。7 日間以上の休薬ののち、新たな薬剤を用いて同様の実験を繰り返した。その結果、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群は、Saline 群と比較し有意に眼圧が下降した。TM 群は、Saline 群と比較し有意な眼圧下降を示さなかった。TM 群、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群はいずれも、Saline 群と比較し有意な縮瞳、徐脈作用が確認されたが、これら 3 つの薬剤群間に有意差は認められなかった。すべての薬剤群で血圧の有意な変化は認められなかった。

本研究から、0.01% ならびに 0.1% nMH は、TM の全身副作用を増大させることなく眼圧下降作用を増大させることが明らかとなった。

第 3 章 健常犬に対し nMH-TM を 1 日 2 回連続投与した際の眼圧下降作用の 検証

5 日間の馴化を終えた健常ビーグル犬 5 頭 (1.6 ± 0.1 歳齢、 11.4 ± 0.7 kg) に対し、実験 1 日目 (D1) ~ D5 までは、ベースラインの設定のため薬剤を投与せず、D6~D12 は、Saline、TM、0.01% nMH-TM、0.1% nMH-TM のうち 1 種を、片眼に対し 1 日 2 回 (午前 9 時、午後 9 時) 投与した。28 日間以上の休薬ののち、新たな薬剤を用いて同様の実験を繰り返した。眼圧、瞳孔径、心拍数、血圧は 1 日 3 回 (午前 9 時、午後 3 時、午後 9 時) 測定し、3 回の測定値の平均を日中平均値とした。その結果、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群は、Saline 群、TM 群と比較し有意に日中平均眼圧が下降した。TM 群は、Saline 群と比較し有意な日中平均眼圧下降を示さなかった。TM 群、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群はいずれも、Saline 群と比較し有意な日中平均瞳孔径、心拍数の低下が確認されたが、これら 3 つの薬剤群間に有意な差は認められなかった。すべての薬剤群で日中平均血圧の有意な変化は認められなかった。

本研究から、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM を 1 日 2 回点眼投与することで、深刻な眼局所あるいは全身副作用を生じさせることなく、健常犬の日中平均眼圧を低値に維持可能であることが明らかとなった。

第 1 章より、イヌの緑内障の最も一般的な病態は、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障であり、緑内障はイヌの視覚喪失の原因疾患として大きな割合を占めることが明らかとなった。第 2 章ならびに第 3 章から、nMH は健常犬において、TM の全身副作用を増大させることなく眼圧下降作用を増大させ、1 日 2 回の点眼により日中平均眼圧を低値に維持可能であることが明らかとなった。以上より、nMH-TM は健常犬の眼圧下降薬として有効であることが示された。本成果は、新たなイヌの抗緑内障点眼薬

の実用化に貢献することが期待される。

本研究成果は、緑内障治療の研究に欠かすことのできない知見であり、臨床獣医学特に小動物臨床の発展に大いに寄与するものと考えられ、高く評価される。よって、本論文は博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認め、審査員一同は合格と判定した。

論文審査の要旨および担当者

学位申請者	喜多 瑞樹 (DV18003 獣医内科学)			
学位論文題目	抗緑内障点眼薬であるチモロールマレイン酸塩に対するドラッグデリバリーシステムの応用に関する研究			
担当者	主査	北里大学	教授	岡野 昇三 (印)
	副査	北里大学	教授	工藤 上 (印)
	副査	北里大学	教授	折野 宏一 (印)
	副査	大阪府立大学	教授	長谷川 貴史 (印)

論文審査の要旨

緑内障は、網膜神経節細胞とその軸索の不可逆的変性を共通の病態とする眼疾患である。エビデンスを伴った唯一の緑内障治療法は、ヒト、イヌともに、点眼療法を主とした眼圧下降による視神経の物理的障害の抑制であり、交感神経 β 受容体遮断薬、縮瞳薬、炭酸脱水酵素阻害薬、プロスタグランジン関連薬などが単独あるいは併用して用いられる。これらのうちプロスタグランジン関連薬は、原発緑内障に対する第一選択薬であるが、血液房水関門の破綻に起因する起炎作用を有し、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障に対しては使用禁忌である。対して交感神経 β 受容体遮断薬の一つであるチモロールマレイン酸塩(TM)は、血液房水関門の破綻を誘発せず、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障を含む多くの病態の緑内障に使用可能である。しかし、TMは、イヌでは眼圧下降作用が十分に

なく、さらに徐脈や血圧低下、気管支喘息などの全身副作用を誘発あるいは増悪させる欠点もある。

近年、薬剤の生物学的利用能の改善を目的としたドラッグデリバリーシステム（DDS）が着目されており、眼科領域にも応用されつつある。その一つであるナノキャリア配合剤は、既存薬剤にナノキャリアを配合することで容易に作成可能であり、通常の点眼薬と同様に使用可能であると考えられ、他の DDS 製剤にはない利点がある。ナノキャリアの一つに、水酸化マグネシウム（MH）があり、ナノ粒子化 MH（nMH）を点眼することで、角膜上皮細胞間隙が拡張し、配合薬剤の眼内移行性が向上する。本薬剤を TM に応用することで、TM の副作用を増大させることなく眼圧下降作用を増大させ、nMH 配合 TM（nMH-TM）が、新たなイヌの抗緑内障点眼薬なる可能性がある。本研究は、nMH-TM のイヌの緑内障治療への応用を目指し、イヌの緑内障に関する基礎的データの収集と、健常犬を用いた nMH-TM の有効性の評価を行った。

第 1 章 北里大学附属動物病院で緑内障と診断されたイヌに対する回顧的研究

本研究ではイヌの緑内障に関する基礎的データの収集を目的に、2007 年 7 月～2012 年 12 月までに北里大学附属動物病院に来院したイヌの眼科初診症例を対象とした回顧的研究を実施した。その結果、全 840 眼のうち、41 眼（4.9%）が緑内障に罹患しており、その病態の内訳は、22 眼（53.7%）がぶどう膜炎を伴う続発緑内障、18 眼（43.9%）が原発緑内障、1 眼（2.4%）が水晶体前方脱臼を伴う続発緑内障であった。また、全 840 眼のうち、141 眼（16.8%）が来院時に視覚を喪失していた。その原因疾患は、網膜変性症が 59 眼（41.8%）、緑内障が 32 眼（22.9%）、

ぶどう膜炎が 17 眼 (12.1%)、網膜剥離が 6 眼 (4.3%)、その他が 27 眼 (19.1%) であった。本研究から、イヌの緑内障の最も一般的な病態は、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障であることが確認された。また緑内障は、イヌの視覚喪失の原因疾患として大きな割合を占め、イヌの視覚保持率の改善のためには、優れた眼圧下降作用を有する抗緑内障点眼薬の実用化が必要であると考えられた。

第 2 章 健常犬に対し nMH-TM を単回投与した際の眼圧下降作用の検証

5 日間の馴化を終えた健常ビーグル犬 5 頭 (2.1 ± 0.6 歳齢、 11.1 ± 0.7 kg) に対し、片眼に生理的食塩水 (Saline)、TM、0.01% または 0.1% nMH-TM 配合剤 (それぞれ 0.01% nMH-TM、0.1% nMH-TM) のうち 1 種を単回投与し、12 時間後まで継時的に眼圧、瞳孔径、心拍数、血圧を測定した。7 日間以上の休薬ののち、新たな薬剤を用いて同様の実験を繰り返した。その結果、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群は、Saline 群と比較し有意に眼圧が下降した。TM 群は、Saline 群と比較し有意な眼圧下降を示さなかった。TM 群、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群はいずれも、Saline 群と比較し有意な縮瞳、徐脈作用が確認されたが、これら 3 つの薬剤群間に有意差は認められなかった。すべての薬剤群で血圧の有意な変化は認められなかった。

本研究から、0.01% ならびに 0.1% nMH は、TM の全身副作用を増大させることなく眼圧下降作用を増大させることが明らかとなった。

第 3 章 健常犬に対し nMH-TM を 1 日 2 回連続投与した際の眼圧下降作用の 検証

5 日間の馴化を終えた健常ビーグル犬 5 頭 (1.6 ± 0.1 歳齢、 11.4 ± 0.7 kg) に対し、実験 1 日目 (D1) ~ D5 までは、ベースラインの設定のため薬剤を投与せず、D6~D12 は、Saline、TM、0.01% nMH-TM、0.1% nMH-TM のうち 1 種を、片眼に対し 1 日 2 回 (午前 9 時、午後 9 時) 投与した。28 日間以上の休薬ののち、新たな薬剤を用いて同様の実験を繰り返した。眼圧、瞳孔径、心拍数、血圧は 1 日 3 回 (午前 9 時、午後 3 時、午後 9 時) 測定し、3 回の測定値の平均を日中平均値とした。その結果、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群は、Saline 群、TM 群と比較し有意に日中平均眼圧が下降した。TM 群は、Saline 群と比較し有意な日中平均眼圧下降を示さなかった。TM 群、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM 群はいずれも、Saline 群と比較し有意な日中平均瞳孔径、心拍数の低下が確認されたが、これら 3 つの薬剤群間に有意な差は認められなかった。すべての薬剤群で日中平均血圧の有意な変化は認められなかった。

本研究から、0.01% ならびに 0.1% nMH-TM を 1 日 2 回点眼投与することで、深刻な眼局所あるいは全身副作用を生じさせることなく、健常犬の日中平均眼圧を低値に維持可能であることが明らかとなった。

第 1 章より、イヌの緑内障の最も一般的な病態は、ぶどう膜炎を伴う続発緑内障であり、緑内障はイヌの視覚喪失の原因疾患として大きな割合を占めることが明らかとなった。第 2 章ならびに第 3 章から、nMH は健常犬において、TM の全身副作用を増大させることなく眼圧下降作用を増大させ、1 日 2 回の点眼により日中平均眼圧を低値に維持可能であることが明らかとなった。以上より、nMH-TM は健常犬の眼圧下降薬として有効であることが示された。本成果は、新たなイヌの抗緑内障点眼薬

の実用化に貢献することが期待される。

本研究成果は、緑内障治療の研究に欠かすことのできない知見であり、臨床獣医学特に小動物臨床の発展に大いに寄与するものと考えられ、高く評価される。よって、本論文は博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認め、審査員一同は合格と判定した。