

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18779

研究課題名（和文）超音波を用いたポリフェノール配合マイクロニードル薬剤投与の高速化

研究課題名（英文）Accelerated polyphenol-containing microneedle drug delivery using ultrasound

研究代表者

倉科 佑太（Kurashina, Yuta）

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：40801535

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：皮膚を介した薬剤の投与方法の確立は、高分子医薬品などの経口投与が困難な薬剤にとって必須の研究である。その方法の一つとして、マイクロニードルを用いた投与方法が考案されてきた。しかし、一般的に普及している方法は薬剤投与に拡散現象を用いて実施するものが主であり、その投与効率に課題があった。そこで、本研究では高分子のマイクロニードルに圧電素子を積載し、皮膚に穿刺した後に超音波を照射することでその投与効率を高めることを目的とした。その結果、ブタ皮膚に蛍光試薬を投与する効率が向上することを明らかとすることができた。今後は、マイクロニードルの材料や超音波条件などを検討していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではマイクロニードルに超音波を照射することで、投与効率に及ぼす効果について検討を実施した。皮膚界面では、固体と液体が混在した状態であり、さらに皮膚とマイクロニードルが接していることから、超音波により生じる効果について解析などで評価することは困難である。そのため、本研究により実験的に確かめることで、その効果の有効性を確かめることができ、マイクロニードルの新たな選択肢を示すことができた。また、マイクロニードルは美容以外の目的でほとんど実用化が実施されておらず、こうした知見はマイクロニードルの有効な幅を広げる知見につながり、今後の薬剤送達分野の発展に寄与できると期待する。

研究成果の概要（英文）：Establishing a method of administering drugs through the skin is essential for drugs such as macromolecular drugs that are difficult to administer orally. As a method, a microneedle-based administration method has been devised. However, the most commonly used method is based on the diffusion phenomenon for drug administration due to its inefficiency. In this study, high-performance polymer micro-needles equipped with a piezoelectric element were punctured into the skin and irradiated with ultrasound to improve the efficiency of drug administration. As a result, the efficiency of fluorescent drug administration into porcine skin was improved. In the future, the materials of the microneedles and ultrasound conditions will be improved.

研究分野：マイクロ・ナノ工学

キーワード：超音波 高分子医薬品 薬剤送達 経皮投与 マイクロニードル

1. 研究開始当初の背景  
 注射に代わる経皮薬剤投与方法として、マイクロニードルがある。この中で、すでに実用化されている技術に針自体を薬針とする溶解型マイクロニードルがある。溶解型マイクロニードルは加工が容易である一方で、薬剤投与に拡散現象を用いるために薬剤浸透が遅いことや浸透量が少ないといった問題点から、美容目的にのみ開発が行われており治療や予防を目的とした医療には実用化されていない (図 1a)。一方で、倉科はこれまでに効率的に超音波を皮膚に照射することでナノメディシンを経皮投与する研究に従事しており、bFGF などの生体高分子を皮下に投与することに成功した。これらの研究を通じて、生体高分子が皮膚深くに浸透できることは明らかとした (Kurashina *et al.*, *Ultrasound Med Biol* 2022) が、超音波での投与可能な量は少なく生体バリアである角質を突破するためのハードルは高い (図 1b)。

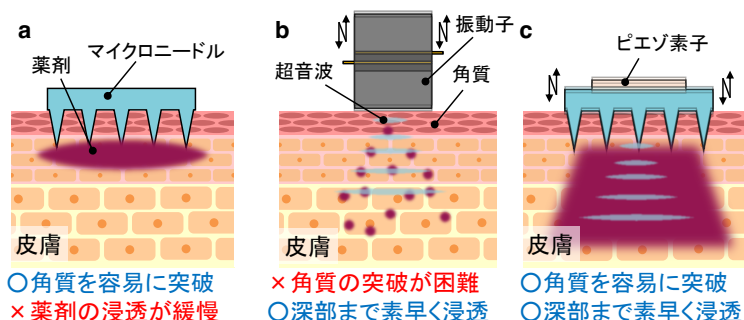


図1 経皮薬物投与方法. (a)マイクロニードル, (b)超音波, (c)提案手法(マイクロニードル+超音波).

2. 研究の目的

以上の背景を鑑みて、本研究では確実に角質を突破して、薬剤を迅速に深く浸透させる手法としてマイクロニードルと超音波をハイブリッドした新たな経皮投与方法を構築する (図 1c) ことを目的とする。その際、マイクロニードルおよび超音波の特性を相乗的に高めた効果的なデバイスを開発する。具体的には、ポリビニルアルコール (PVA) で製作したマイクロニードルにピエゾ素子を装着することで、マイクロニードルを皮膚に貼付した際に超音波を付与できる仕組みを構築する。本メカニズムは、皮膚貼付時にマイクロニードルに超音波を照射 (図 2) することで、マイクロニードルの先端 (薬針) が超音波により発生するキャビテーションで破壊されて、薬剤の溶解を加速させる。

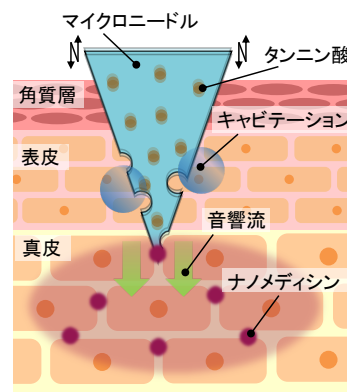


図2 本手法に期待する薬剤送達の状態.

3. 研究の方法

マイクロニードルに対して超音波を照射する上で振動子とニードルを密着させることは、振動効率を上昇させる上で重要な要素の一つである。そこで、振動子とマイクロニードルを接着させるために二種類の作製方法を実施した。一つ目は、振動子をマイクロニードルの中に埋める方法であり、まずマイクロニードルの型の外側に振動子が入るスペースを設けた。そして、振動子の中に入れて、その上から振動子が浸るように PVA を型に流し込んだ。もう一つの方法では、先にマイクロニードルを製作し、その後 PVA をマイクロニードルと PZT (チタン酸ジルコン酸鉛の圧電素子) の間に流して、接着した。その際、容易に剥がれることを防ぐため、四隅にツメで覆いつつ接着を行なった。ニードルの成形と PZT との接着を同時に実施する前者の方法では、乾燥後にひび割れが発生して、マイクロニードルをうまく成形することが困難であった。そのため、後者のマイクロニードルを先に生成して、接着する形状で製作

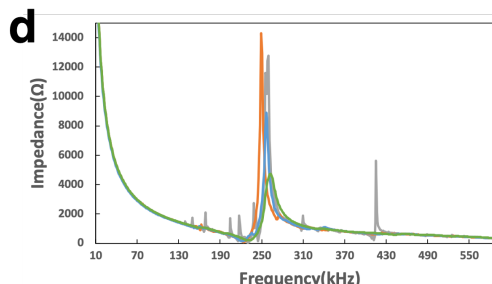
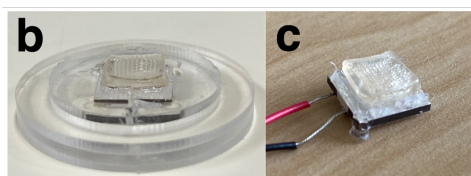
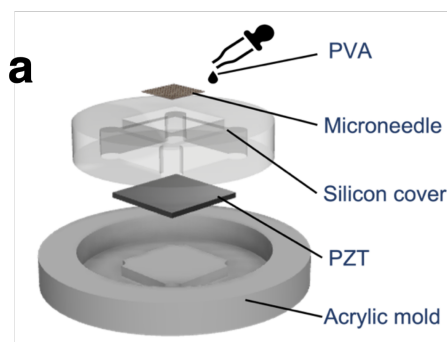


図3 PZT付きマイクロニードルの概要. (a) マイクロニードルをPZTに接着するための構成. (b) マイクロニードルへのPZTの接着と, (c) 製作したPZT接着型マイクロニードル. (d) 製作したマイクロニードルのPZTの共振点測定結果.

することとした。この製作したマイクロニードルを用いてブタ皮に薬剤モデルの投与を行い、その投与量の評価を実施した。なお、薬剤モデルとして Cyanine5 (Cy5) を使用した。

#### 4. 研究成果

アクリル鋳型とシリコーンゴムカバーを用いて PZT に PVA 製のマイクロニードルを接着した (図 3a)。室温で自然乾燥させることで縮むことを防ぎ (図 3b)、型から外したあとにも安定して接着していることを確認した (図 3c)。複数個、製作したデバイスが安定した共振周波数を有しているかを確認するため、インピーダンスアナライザーにより、インピーダンスと位相を測定した (図 3d、インピーダンスのみ表示)。その結果、デバイスによりインピーダンスの値に差はあるものの、それぞれのデバイスが概ね同じ 250 kHz 付近で共振周波数を有していることを確認した。また、振動子の表面をレーザドップラー振動計により測定し、その際の電流と対応させることで、各デバイスで振動する振幅と電流との関係性を明らかとした。

本実験では、ブタ皮膚にマイクロニードルを穿刺して、投与された薬剤モデルを測定して、評価した。具体的には、蛍光色素の Cy5 を薬剤モデルとして塗布したマイクロニードルをブタ皮膚に穿刺し、超音波照射後に照射部位の周囲を切り取った。切り取った患部をホモジナイザーで粉碎し、液状化した。この溶液の吸光度を測定することで、マイクロニードルと超音波照射による薬剤投与方法の定量評価を実施した。

マイクロニードルを用いた経皮薬物送達は、マイクロニードル自体にかかる圧力もその効果に寄与する要因の一つとなりうる。そのため本実験では、一定条件で実験を実施するために、マイクロニードルにかかる荷重を均等にする必要があるであった。そこで、マイクロニードルの穿刺時の荷重を測定するデバイスを作製した (図 4a)。デジタルフォースゲージを取り付ける治具を 3D プリンターにより作製し、z ステージに接続して、ブタ皮膚に穿刺する際には鉛直方向の動きのみに制限した。穿刺の際は、フォースゲージがおよそ 30 N となるように設定した。なお、投与する薬剤モデルの Cy5 は 10 mg/mL となるように製作したストックソリューションを PBS に溶解して、濃度が  $2.5 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$  となるように用意した。また、ブタ皮膚を冷凍庫から取り出し、ペトリ皿上で PBS 溶液に浸して 1 時間解凍した。解凍後、ハサミで毛を短くカットし、最後にバリカンで毛を短く整えたのちに、マイクロニードルを穿刺した。その後、5 mm 径の生検トレパンで穿刺部位を切り取った。切り取ったブタ皮膚をマイクロチューブに入れ、ハサミで細かく砕き、PBS を加えて、ホモジナイザーで粉碎して、溶解した。その後、マイクロチューブを遠心分離器により遠心分離し、残ったブタ皮膚の不純物を沈殿させた。上澄みを採取し、0.45  $\mu\text{L}$  フィルターを用いて濾過したのち、96 ウェルプレートに溶液を添加して、吸光度を測定した (図 5)。マイクロニードルのみを穿刺して投与した条件 (MN) とマイクロニードルと超音波を組み合わせる照射した条件 (MN&U) について、Cy5 の濃度を算出した。その結果、MN&U により投与したのちの溶液濃度 (3.73  $\mu\text{g/mL}$ ) はマイクロニードル単体のみを穿刺 (MN) した溶液濃度 (2.85  $\mu\text{g/mL}$ ) と比較して 1.3 倍の超音波の投与効率を達成した。投与効率が向上した要因として、超音波による皮膚内でのキャビテーションの発生や音響流などが影響していると示唆できる結果を得られた。本研究からは、マイクロニードルと超音波との融合が薬剤の投与に及ぼす影響について知見を得ることができた。一方で、マイクロニードルと超音波の親和性については、生体組織に及ぼす影響を考慮しつつ、検討していく余地を残しており、特に超音波の強度やキャビテーションの発生についての状態を観察することが今後必要であり、有効な超音波条件の抽出や、マイクロニードルの形状・硬さ・濡れ性など合わせて、さらなる検討を実施する必要がある。加えて、ポリフェノールとのアジュバンド効果について確かめるためには、さらに様々な薬剤との組み合わせで薬剤投与を検討していく必要があり、今後このような実験を実施していく予定である。

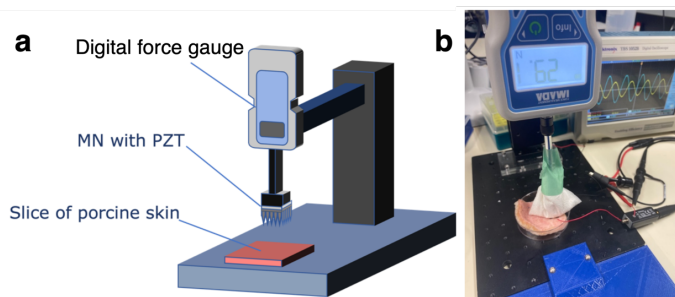


図4 PZT付きマイクロニードルの皮膚への穿刺。(a)荷重測定デバイス、(2)ブタ皮膚への穿刺の様子。

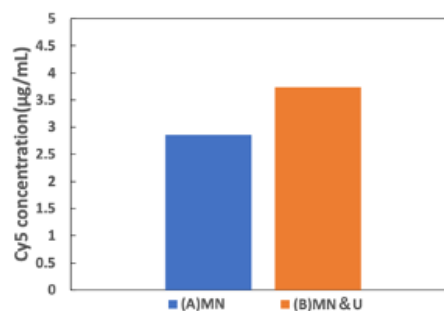


図5 PZT付きマイクロニードルの効果の検討。マイクロニードル(MN)と、超音波とマイクロニードルの複合(MN&U)を用いて実施。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Xie Xue, Kurashina Yuta, Matsui Makoto, Nomoto Takahiro, Itoh Munenari, Okano Hiroataka J., Nakamura Kentaro, Nishiyama Nobuhiro, Kitamoto Yoshitaka	4. 巻 75
2. 論文標題 Transdermal delivery of bFGF with sonophoresis facilitated by chitosan nanocarriers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Drug Delivery Science and Technology	6. 最初と最後の頁 103675 ~ 103675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jddst.2022.103675	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 倉科佑太
2. 発表標題 超音波アクチュエータを活用したバイオメディカルデバイスの開発
3. 学会等名 精密加工学会 春季大会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉科佑太, XueXie, 松井誠, 野本貴大, 伊藤宗成, 岡野ジェイムス洋尚, 中村健太郎, 西山伸宏, 北本仁孝
2. 発表標題 ハイドロゲルナノカプセルを用いた生体高分子の超音波経皮徐放
3. 学会等名 日本機械学会 Dynamics and Design Conference 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉科佑太
2. 発表標題 超音波を用いたナノ薬剤投与システムの開発
3. 学会等名 日本音響学会第151回
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	本田 雄士  (Honda Yuto)  (90907742)	東京工業大学・科学技術創成研究院・助教   (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------