

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：31602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590195

研究課題名(和文)個別化薬物療法を指向とした電気刺激的経皮吸収型薬物送達メディカルデバイスの開発

研究課題名(英文)Development of Skin Absorption Style Drugs Delivery Medical Device for Order Maid Drug Medicine

研究代表者

柏木 良友(Kashiwagi, Yoshitomo)

奥羽大学・薬学部・教授

研究者番号：50204384

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：インスリンを経皮投与型イオントフォトレシスの薬物リザーバー電極に固定し、グルコースセンサを組み合わせ血中のグルコース濃度を経時的にモニタリングを行いながら、インスリンを電気的に放出制御させることができた。さらに、経皮投与型イオントフォトレシスとグルコースセンサとの一元化を図り、センサが治療閾の電流を感知したときに、インスリンを電気的に放出制御し、コントロールド・リリースのオートメーション化に成功した。とりわけ糖尿病疾患の患者の血糖値である100～200mg/dLの範囲内できめ細やかな薬物放出を実現でき、個人個人の対応した個別化薬物療法へ対応できた。

研究成果の概要(英文)：This research passed be stimulative electricity and produced the skin absorption style drugs delivery Medical device. While fix to the drugs reservoir electrode of skin administration style iontophoresis through insulin and combine a glucose sensor and giving monitoring to a target when through the glucose density in blood control that discharges insulin electrically is produced. Furthermore, it passes and discharge and control insulin electrically, when intends the unification between skin administration style iontophoresis and glucose sensor and a sensor perceived the current of threshold and succeeded in the automation of controlled release. It is the blood sugar level of the patient of an especially diabetes disease I decide it within 100-200 mg/dl able to materialize a delicate drugs discharge and able to correspond to the individualization drug therapy that a private individual corresponded.

研究分野：物理薬剤学

科研費の分科・細目：医療系薬学

キーワード：オーダーメイド医療 ドラッグデリバリーシステム 経皮吸収 電気化学 放出制御

1. 研究開始当初の背景

近年、薬物の過剰投与および副作用を抑制して、より安全に、効果的に薬物投与を行う手段としてドラッグ・デリバリー・システム(薬物送達システム、DDS)の研究が活発に行われている。特に最近のDDSの展開は、薬物がどこに送達されるかだけでなく、必要最小限の薬物を、必要な場所に、必要なときに供給され、患者に対して大きなベネフィットをもたらすことを目指している。このことを考えると、メディカルデバイスなどを応用したDDSが有効であり、その開発が急務である。そこで近年では、近未来の薬物送達を目指し、マイクロエレクトロニクス・メカニカルシステム(MEMS)に関連した取り組みが始められている。また最近、米国では進歩的な薬物送達システムの需要の結果として、身体のあらゆる部分を綿密に調査し、健康な組織を冒さず、しかも全身を循環できる薬物送達を目指し、毎年200億ドルの予算が計上されていることから(*Nature*, 392, 5 (1998))、この分野に対する研究の関心の高さが伺える。

効果的なDDSを開発するために、刺激応答型薬物放出システムが有用である。とりわけ、電気刺激による薬物放出が制御できるシステムは近未来型薬物送達システムとして期待が大きい。いまだ有効なシステムは実現していない。また、これまでも、pH変化、熱、浸透圧、光刺激などにより薬物放出を制御するシステムがいくつか提案されてきたが、一長一短があり効果的な薬物放出の実現には至っていない。このような状況からこのような状況から、電気信号(電位や電流)を効果的に化学変化(薬物の放出)へと変換する新しい方法の開発が必要である。電気信号による薬物放出に関する報告は、1983年にL. L. Millerら(*J. Am. Chem. Soc.*, 105, 5271 (1983)) : ドーパミンを固定化させた高分子を電極表面に被覆し、電極反応によるドーパミン放出)、1985年に相沢ら(*Chem. Lett.*, 1985, 179) : グルタミン酸を導電性高分子であるポリピロール内に担持させ、電気パルスシュミレーションによるグルタミン酸放出)、1997年に高野ら(*Denki Kagaku*, 65, 330 (1997)) : スルホニウム塩をピロールに化学結合させ電解重合により電極表面に被覆し、電極反応による放出)国内外合わせても3グループのみが電気信号による薬物放出に関する基礎研究を行っている程度である。そこで本研究では、電極と薬物固定化膜を組み合わせ薬物放出制御が可能な電気刺激薬物放出制御システムを構築し、さらにそれらに電流(電位)検出型のバイオセンサを組み込むことにより、治療薬物のオートメーション・コントロール・リリースによる個別化薬物療法を可能にする全く新しいシステム提案することができる。

2. 研究の目的

電気信号は、システムを制御するためには

理想的な媒体であり、電気刺激により薬物放出が可能な薬物固定化材料の開発とその基板電極への固定化法の工程の確立が成功するならば操作性に優れた理想的なDDSとなり得る。また、メディカルデバイスにバイオセンサを組み込むことで、センサが治療域の電流を感知したとき治療薬を電氣的に放出制御させ、電気刺激薬物放出システムと生体センサとが一元化され、薬物のコントロール・リリースのオートメーション化を可能にし、個別化薬物療法への応用が可能となる。

本研究では、まず電気信号(電子授受)により薬物放出が可能な薬物固定化材料の創成とその基板電極への固定化方法を確立する。次いで、微弱な電気信号により薬物放出制御が可能な経皮吸収型薬物送達システムを構築する。さらにこの電気刺激薬物放出システムに電流(電位)検出型バイオセンサ、とりわけ今日生活習慣病として大きな問題となっている糖尿病、脂質異常症、痛風などの各疾患の治療を目的として、グルコースセンサ、コレステロールセンサ、尿酸センサ等を組み込み、治療薬物のコントロール・リリースのオートメーション化の可能性を検討し、各疾患を有する患者への適用が可能であることを明らかにする。また、ネットワーク用基地局(パソコン)に送信する近距離無線プロセッサやインターネットを介して治療薬の注入制御を行うプロセッサ等を装備した分析制御部を製作し、薬剤投与の自動化の可能性をも明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、まず電気信号(電子授受)により薬物放出が可能なインテリジェント・マテリアルの創成とその基板電極への固定化方法を確立する。次いで、微弱な電気信号により薬物の放出制御が可能なリザーバーを有する経皮投与型イオンフォレーゼシステムを構築する。さらにこの電気刺激薬物放出システムに、病変やその予兆を感知することが可能な電流(電位)検出型バイオセンサを組み込み、薬物のコントロール・リリースのオートメーション化の可能性を検討し、電気刺激的経皮吸収型薬物送達メディカルデバイスを作製する。

電気刺激により応答するインテリジェント・マテリアルの創製と治療薬物の固定化
直接電極反応により薬物放出機能を有する材料の創製

炭素-硫黄、炭素-窒素結合は直接電極反応により開裂する。このことを利用するため、電解重合可能なピロール、チオフェン等に放出薬物を炭素-硫黄、炭素-窒素結合により導入する。また、直接高分子の枝分かれ官能基を利用して放出薬物を同様に導入する。

間接電極反応により薬物放出機能を有する材料の創製

ピオローゲン等の電子移動メディエーターはアミド基およびエステル基をカルボン

酸とアミンあるいはカルボン酸とアルコールに還元する。このことを利用するため、基盤となる高分子あるいはそのモノマー担体の枝分かれ官能基に放出薬物をアミドおよびエステル結合により導入する。

電子移動メディエーター - 放出薬物複合材料の創製

ピオローゲンはピピリジニウム塩である還元されることにより対イオンが放出される。このことを利用するため、ピオローゲンの対イオンに放出薬物を用いた電子移動メディエーター - 放出薬物複合体を創製する。

高分子交互累積法による治療薬物の固定化

陽電荷をもった高分子と陰電荷を持った高分子を混ぜ合わせることで、水に不溶性ポリイオンコンプレックスができる。このポリイオンコンプレックスに治療薬物、酵素および DNA のような電荷を持ったものを安定に取り込み固定化させる。特に最近、遺伝子治療が注目されていることから金電極表面に自己組織化法により PEG-PLL-SH、DNA、siRNA 等を固定し、ジスルフィド結合により架橋化し、標的細胞内で濃度が高いグルタチオンによってジスルフィド結合を解離させ、細胞内に PEG-PLL-SH、DNA、siRNA 等の取り込みを可能にさせる。

電気信号による薬物の放出制御

定電位法による固定化薬物の放出

放出薬物の結合部位の酸化あるいは還元電位および電子移動メディエーターの酸化あるいは還元電位で電位を印加するため、固定されている薬物は一気に放出される。また、ピオローゲンは異なる電位で2電子還元を受けるところから、1電子目と2電子目の還元を受ける部位に異なった放出薬物固定することにより、電位制御により2種類の薬物を別々に放出することが可能になる。

定電流法による固定化薬物の放出

電流を一定にすることから、印可電位が徐々に上昇する。よって、薬物の結合部位への電位の印可も徐々に起こることから、薬物は徐放化される。

経皮投与型イオントフォトレゼシステム

放出薬物を固定化した基板電極を薬物リザーバー電極とし、もう一方のリザーバー電極を皮膚からの内因性イオンを抽出可能な生理食塩液で充填した対極槽とし、これら二つのリザーバー電極をつなげて皮膚に貼付し、定電流または定電圧により薬物の放出制御を検討する。その際、皮膚に電流を流すとコンデンサー部分に電気がたまり皮膚は分極し、特に高度の分極では皮膚障害性の引き金になる。この分極現象はマイクロ秒のオーダーで引き起こされるので、パルス脱分極型のイオントフォトレゼシステムを開発することにより、皮膚にたまった電気を生体外に流す工夫を施す。その際、薬物放出部分にはアレルギーに配したシリコンの無痛針を利用す

る。これは患者が長時間に亘ってこのメディカルデバイスを着用するため、薬物放出時における痛みによるストレスを無くすよう配慮する。

電気刺激的経皮吸収型薬物送達メディカルデバイスを作製

まず治療薬物としてインスリンを固定した経皮投与型イオントフォトレゼは、電流(電位)検出型はバイオセンサであるグルコースセンサを組み合わせ、血中のグルコース濃度を経時的にモニタリングを行いながら、インスリンを電氣的に放出制御させる。次いで電気刺激薬物放出システムとグルコースセンサとの一元化を図り、センサが治療閾の電流を感知したときに、インスリンを電氣的に放出制御させ、コントロールド・リリースのオートメーション化を目指す。とりわけ糖尿病疾患の患者の血糖値である 100 ~ 200mg/dL の範囲内できめ細やかな薬物放出を実現させ、個人個人の対応した個別化薬物療法への対応を図る。また、グルコースセンサ以外にもコレステロールセンサ、尿酸センサ等の他のバイオセンサを組み込み、糖尿病、脂質異常症、痛風などの複数の疾患を有する患者への対応が可能なものとする。

上記の結果をもとに、僻地患者への対応可能なインテリジェント・メディカルデバイスの製作を検討する。すなわち、薬物放出制御を行うプロセッサ、バイオセンサにより血糖値、コレステロール値、尿酸値を分析処理するプロセッサに、家と病院をつなぐネットワーク用基地局(パソコン)に送信する近距離無線プロセッサやインターネットを介してホームドクターからの指示に従って治療薬の注入制御を行うプロセッサ等を装備したインテリジェント・メディカルデバイスを製作し、臨床応用に試みる。

4. 研究成果

電極との直接反応により薬物を放出することが可能な素子は、基板電極上にナフィオンを被覆した後、表面キャスト法によりカチオン性薬物を静電的相互作用を利用し基板上に固定化することにより作製できた。一方、間接電気反応型の素子は、放出薬物を対イオンとして持つピピリジニウム塩を置換したピロール誘導体を創製し、電気化学的重合反応により基板上へ固定化することにより作製できた。これら作製された何れの素子においても定電位電解法では、印加電位を制御することにより、固定されている薬物の放出量を徐放制御できた。一方、定電流電解法では設定電位を制御することにより、固定されている薬物の放出量を徐放制御できた。さらに、設定電流を微小化することにより、固定されている薬物の放出開始を遅延化できた。この成果をもとに、微弱な電気信号により薬物放出制御が可能な経皮吸収型薬物送達システムを構築することができた。さらにこの電気刺激薬物放出システムに電流(電位)検出型バイオ

センサ、とりわけ今日生活習慣病として大きな問題となっている糖尿病の治療を目的として、グルコースセンサを組み込み、インスリンのコントロール・リリースのオートメーション化の可能性を示した。また、脂質異常症、痛風などの各疾患の治療を目的として、コレステロールセンサ、尿酸センサ等を組み込み、治療薬物のコントロール・リリースのオートメーション化の可能性であったことから、各疾患を有する患者への適用が可能であることを明らかとなった。

微弱な電気信号により薬物放出制御が可能な経皮投与型イオンフォトレゼシステムを構築と電気刺激的経皮吸収型薬物送達メディカルデバイスを作製した。すなわち経皮投与型イオンフォトレゼシステムとして、放出薬物であるインスリンを固定化した基板電極を薬物リザーバー電極とし、もう一方のリザーバー電極を皮膚からの内因性イオンを抽出可能な生理食塩液で充填した対極槽とし、これら二つのリザーバー電極をつなげて皮膚に貼付し、定電流または定電圧により薬物の放出制御することが出来た。その際、皮膚に電流を流すとコンデンサー部分に電気がたまり皮膚は分極し、特に高度の分極では皮膚障害性の引き金となるため、パルス脱分極型のイオンフォトレゼ装置を開発し、皮膚にたまった電気を生体外に流す工夫を施したことにより、皮膚障害を回避できた。また、薬物放出部分にはアレー状に配したシリコンの無痛針を採用し、薬物放出時における痛みによるストレスを無くすよう配慮した。定電流では印可電位が徐々に上昇し、インスリンの徐放化が確認された。一方、定電圧では設定電圧を制御することにより、インスリン放出の遅延化が確認された。

さらに、電気刺激的経皮吸収型薬物送達メディカルデバイスを作製した。インスリンを上記の経皮投与型イオンフォトレゼシステムの薬物リザーバー電極に固定し、グルコースセンサを組み合わせ血中のグルコース濃度を経時的にモニタリングを行いながら、インスリンを電氣的に放出制御させることができた。次いで、経皮投与型イオンフォトレゼシステムとグルコースセンサとの一元化を図り、センサが治療閾の電流を感知したときに、インスリンを電氣的に放出制御し、コントロール・リリースのオートメーション化に成功した。とりわけ糖尿病疾患の患者の血糖値である 100~200mg/dL の範囲内できめ細やかな薬物放出を実現でき、個人個人の対応した個別化薬物療法へ対応できた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- (1) Tetsuo Osa, Yoshitomo Kashiwagi, Tetsuya, Ono, Futoshi Kurashima, and Uichi Akiba,

Design and Preparation of Chemically Modified Electrodes for Selective Organic Electro- Preparative Synthesis, *Int. J. Soc. Mater. Eng. Resour.*, 20, 49-53 (2014).

- (2) Shigehiro Takahashi, Yu Aikawa, Tomoaki Kubo, Tetsuya Ono, Yoshitomo Kashiwagi, and Jun-ichi Anzai, Electrochemical decomposition of layer-by-layer thin films composed of TEMPO-modified poly(acrylic acid) and poly(ethyleneimine), *Colloid Polym. Sci.*, 771-776, 292 (2014).
- (3) Yoshitomo Kashiwagi, Yumiko Takamori, Kentaro Yoshida, and Tetsuya Ono, Electrocatalytic Oxidation of Amines on a Mediator-Modified Electrode by Electrochemical Copolymerization of Nitroxyl Radical Precursor Containing Pyrrole Side Chain and Bithiophene, *Electroanalysis*, 25, 2575-2577 (2013).
- (4) Yoshitomo Kashiwagi, Makiko Tsunoda, and Tetsuya Ono, Voltammetric Behavior of Mediator Modified Electrode by Electrochemical Copolymerization of Nitroxyl Radical Precursor Containing Pyrrole Side Chain and Thiophenes, *Heterocycles*, 82, 2517-2524 (2011).

〔学会発表〕(計 22 件)

- (1) 佐藤くるみ、小野哲也、吉田健太郎、柏木良友、電解重合法により作製した TEMPO 修飾グラフェン電極の電極反応挙動、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本
- (2) 小笠原陵、小野哲也、吉田健太郎、柏木良友、重合単量体構造設計によるメディエーター修飾電極作製の効率化、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本
- (3) 猪股佳、吉田健太郎、小野哲也、柏木良友、グラフェン表面に修飾した単分子膜の pKa 挙動、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本
- (4) 太田遥香、吉田健太郎、小野哲也、柏木良友、ポリスチレン粒子と PNIAm 共重合体を用いた交互累積膜の pH 応答および温度応答性、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本
- (5) 高橋成周、清水星来、相川優、小野哲也・柏木良友、安斉順一、FITC-BSA 封入電気応答交互累積膜ミクロカプセルの電気化学応答、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 28 日、熊本
- (6) Tetsuo Osa, Yoshitomo Kashiwagi, Tetsuya, Ono, Futoshi Kurashima, and Uichi Akiba, Design and Preparation of Chemically Modified Electrodes for Selective Organic Electro- Preparative Synthesis, ICMR2013 AKITA, Nov. 21, 2013, Akita.
- (7) 太田遥香、及川大地、吉田健太郎、小野哲也、柏木良友、ポリスチレン粒子を用

- いた交互累積膜の調整および pH 応答、第 52 回日本薬学会東北支部大会、2013 年 10 月 20 日、仙台
- (8) 小笠原陵、東条直樹、小野哲也、吉田健太郎、柏木良友、重合単量体構造設計によるメディエーター修飾電極作製の効率化、第 52 回日本薬学会東北支部大会、2013 年 10 月 20 日、仙台
- (9) 相川優、高橋成周、工藤智貴、森弘毅、小野哲也・柏木良友、安斉順一、電気応答交互累積膜を利用した 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphinetetrasulfonic acid の放出制御、第 52 回日本薬学会東北支部大会、2013 年 10 月 20 日、仙台
- (10) 小野哲也、小笠原陵、佐藤くるみ、吉田健太郎、柏木良友、電解重合法を利用したメディエーター修飾電極作製の効率化、第 43 回複素環化学討論会、2013 年 10 月 18 日、岐阜
- (11) 小野哲也、東条直樹、吉田健太郎、柏木良友、電解重合法により作製した TEMPO 修飾電極の電極反応挙動、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 29 日、横浜
- (12) 吉田健太郎、及川大地、内田貴博、小野哲也、柏木良友、ポリスチレン粒子を用いた凝集体及びマイクロカプセルの調製、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 29 日、横浜
- (13) 内田貴博、吉田健太郎、小野哲也、柏木良友、ポリスチレン粒子を用いた交互累積膜及びマイクロカプセルの調製、第 51 回日本薬学会東北支部大会、2012 年 10 月 7 日、青森
- (14) 岡島裕史、小野哲也、吉田健太郎、柏木良友、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極を用いた電解触媒酸化反応、第 51 回日本薬学会東北支部大会、2012 年 10 月 7 日、青森
- (15) 相川優、高橋成周、工藤智貴、小野哲也・柏木良友、安斉順一、TEMPO 含有電気応答マイクロカプセルの調製、第 51 回日本薬学会東北支部大会、2012 年 10 月 7 日、青森
- (16) 高橋成周、相川優、工藤智貴、小野哲也・柏木良友、安斉順一、TEMPO 含有電気応答マイクロカプセルの作製と電気化学応答、第 51 回日本薬学会東北支部大会、2012 年 10 月 7 日、青森
- (17) 相川優、高橋成周、工藤智貴、小野哲也・柏木良友、安斉順一、交互累積膜法を用いた電気応答マイクロカプセルの作製と電気化学応答、みちのく分析科学シンポジウム 2012、2012 年 7 月 21 日、米沢
- (18) 吉田健太郎、内田貴博、小野哲也、柏木良友、ナノ粒子を用いた交互累積膜の調製、みちのく分析科学シンポジウム 2012、2012 年 7 月 21 日、米沢
- (19) 小野哲也、岡島裕史、吉田健太郎、柏木

- 良友、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極を用いた電解触媒酸化反応と電極の再利用性、日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日、札幌
- (20) 高橋成周、工藤智貴、小野哲也、柏木良友、安斉順一、交互累積膜法を用いた電気応答マイクロカプセルの調製、日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日、札幌
- (21) 岡島裕史、小野哲也、吉田健太郎、柏木良友、電解重合法により作製したニトロキシラジカル置換ピロール固定化電極を用いた電解触媒酸化反応と電極の再利用性、第 41 回複素環化学討論会、2011 年 10 月 20 日、熊本
- (22) 吉田健太郎、内田貴博、小野哲也、柏木良友、ポリスチレン粒子を用いた交互累積膜とマイクロカプセルの調製、みちのく分析科学シンポジウム 2011、2011 年 7 月 23 日、山形

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏木 良友 (KASHIWAGI YOSHITOMO)

奥羽大学・薬学部・教授

研究者番号：50204384