

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08468

研究課題名（和文）ペプチド性薬物の鼻腔内滞留性に優れた噴霧可能なスマートゲル製剤の開発

研究課題名（英文）Development of a sprayable smart gel preparation with excellent intranasal retention ability of peptide drugs

研究代表者

橋崎 要（HASHIZAKI, Kaname）

日本大学・薬学部・准教授

研究者番号：60318459

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：近年、注射に代わる投与ルートとして経鼻投与が注目されている。しかし、水溶性で分子量の大きなペプチドやタンパク性薬物を鼻粘膜から吸収させるのは非常に困難である。本研究課題は、超分子からなるスマートゲルを利用し、噴霧投与が可能な経鼻吸収製剤の開発を目指した。紐状ミセルからなるゲルの噴霧特性を明らかにするとともに、レシチン逆紐状ミセル内に水溶性高分子を内包する新技術の開発にも成功した。また、新たな製剤基剤としてリボソーム架橋ゲルの開発にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

経鼻投与製剤の吸収改善技術に関しては、透過促進剤や酵素阻害剤などを用いた化学的アプローチが多く、基剤の物理化学的な性質と鼻粘膜との関係を考慮した製剤学的アプローチは少ない。我々は、超分子からなるスマートゲル技術に注目し、本来油に溶けない水溶性高分子をオイルゲル中に溶解する技術や新規基剤の開発に成功した。スマートゲルの経鼻投与により、種々のペプチドのほか、遺伝子なども脳内送達が可能になるものと期待され、その意義は非常に大きい。

研究成果の概要（英文）：In recent years, nasal administration has been attracting attention as an alternative administration route to injection. However, it is very difficult to absorb a water-soluble peptide or protein drug having a large molecular weight from the nasal mucosa. The purpose of this research is to develop a nasal absorption preparation that can be administered by spraying using a smart gel composed of supramolecules. As a result, we have succeeded in clarifying the spraying property of the gel consisting of wormlike micelles and developing a new technology for encapsulating a water-soluble polymer in lecithin reverse wormlike micelles. We also succeeded in developing a liposome cross-linked gel as a new formulation base.

研究分野：物理化学

キーワード：スマートゲル製剤 経鼻投与製剤 レシチン逆紐状ミセル リボソーム架橋ゲル レオロジー

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年のバイオテクノロジーの進歩により、生理活性を持つペプチドあるいはタンパク性薬物が開発されている。しかしながら、一般的にペプチドやタンパク性薬物は分子量が大きく、水溶性も高いため、経口投与すると消化管内のタンパク分解酵素により速やかに分解を受け、たとえこれを回避できたとしても消化管粘膜を透過しにくく、バイオアベイラビリティが低いことが知られている。従って、これらの薬物は経口剤にすることが難しく、そのほとんどが注射剤として開発されている。しかしながら、注射による投与は患者に苦痛を与え QOL の低下につながることから、注射に代わる非経口の経粘膜投与製剤の開発が望まれている。非経口の粘膜投与に適した剤形の 1 つに経鼻投与がある。鼻腔内に投与された製剤は、その一部が粘膜に付着し薬物の吸収を高めるが、吸収経路は薬物の種類によって異なる。ペプチド性薬物のように水溶性の高い薬物は、主として細胞間経路を通して粘膜から吸収される。鼻粘膜には他の粘膜部位と同様に、粘液バリアー、酵素バリアー、および透過バリアーといった生体防御機構が存在するため、粉末剤や液剤などの従来製剤は、鼻腔から速やかにクリアランスされてしまう。この問題を解決するために、水溶性高分子等の粘膜付着性基剤を用いた製剤が開発されているが、鼻腔の不快感や、薬物が基剤から放出され難くなるといった問題があった。

2. 研究の目的

我々は、従来の製剤（粉末剤や液剤など）では不十分であった粘膜付着性や粘膜透過性を改善するために、超分子（レシチン逆紐状ミセル、リポソーム架橋ゲル）からなるスマートゲルに注目した。レシチン逆紐状ミセル（LRW）とは、レシチン／極性物質／オイルの 3 成分系で形成されるゲル状オイル製剤で、配合薬物の皮膚透過を促進することが報告されている。また、LRW は、非常に強いチキソトロピー性を持ち、ゲルであるにもかかわらず、液体のゾルのように噴霧が可能である。さらに、LRW は油性の基剤であるため、粘膜付着性が高いことも期待される。一方、リポソーム架橋ゲルとは、部分的に疎水化した水溶性高分子でリポソームを架橋したゲルのことである。リポソーム架橋ゲルは、強いずりを加えると水溶性高分子の疎水基がリポソームから抜け落ちて粘度が急激に低下することが知られている。また、高分子の疎水部分のアンカー効果や高分子自身の粘膜付着能によって、鼻腔内滞留性の向上が期待できる。本研究は、これらのスマートゲルを最適化することで、噴霧投与が可能な経鼻吸収製剤を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 紐状ミセル製剤のスプレー噴霧条件の探索

モデル製剤として、臭化セチルトリメチルアンモニウム（CTAB）水溶液にサリチル酸ナトリウム（SA-Na）を添加して紐状ミセル溶液を調製した。CTAB 濃度ならびに SA-Na と CTAB の濃度比によりレオロジー特性を変化させた。3D ヒト鼻腔モデルに水検知剤を薄く塗り広げ、経鼻投与デバイスからの噴霧角度が 60° になるように紐状ミセルを噴霧した（図 1）。噴霧直後の様子をカメラで撮影し、製剤によって着色した部分の面積を画像解析ソフトで求め、噴霧時の広がり具合の指標とした。探索的データ分析ソフトウェアを用いて付着面積-レオロジーパラメータ間の検定を行った。

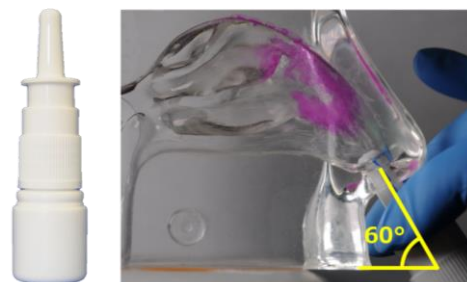


図 1 経鼻投与デバイス（左）と噴霧実験の様子（右）

(2) 超分子スマートゲル製剤の開発

① レシチン逆紐状ミセルの調製と物性評価

水溶性高分子含有 LRW の調製は、レシチン／極性物質／オイルの基本組成に水溶性高分子を加えた 4 成分系で調製した。極性物質には水、オイルには流動パラフィンまたはミリスチン酸イソプロピル、水溶性高分子にはデキストラン、オボアルブミン、ヒアルロン酸のいずれかを使用した。水溶性高分子含有 LRW は、あらかじめ調製した LRW に水溶性高分子を添加する方法（従来法）、またはレシチンと水溶性高分子の凍結乾燥物に、水とオイルを添加する方法（新規法、特願 2019-119814）の二通りで調製した。製剤の相状態は偏光顕微鏡観察により評価した。皮膚移行性は水溶性高分子含有 LRW をユカタニミニブタ皮膚（全層、角層除去）に 24 時間適用後、凍結切片を作成し、共焦点レーザー顕微鏡により観察した。なお、角層除去皮膚は鼻粘膜モデルとして用いた。

② リポソーム架橋ゲルの調製と物性評価

各種塩類との配合性に優れる非イオン性の疎水化ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HM-HPMC）を用い、リポソーム懸濁液のゲル化について検討を行った。リポソーム懸濁液は、水素添加大豆リン脂質とジセチルリン酸をモル比 10 : 1 で混合し、バンガム法を用いて調製した。リポソームと HM-HPMC の混合液は、あらかじめ調製した各ストック溶液を任意の割合で混合して調製した。混合液の物性は、レオロジー測定および小角 X 線散乱測定により評価した。

(3) 製剤の粘膜付着性の予測方法に関する予備的検討

外用剤の表面張力ならびに皮膚の表面自由エネルギーを用いた Owens-Wendt-Rabel-Kaelble (OWRK) 法に基づく計算により、各種製剤の皮膚に対する濡れ性や付着仕事を予測できるかを検討した。外用剤には、市販のローション剤および半固形製剤を用いた。

4. 研究成果

(1) 紐状ミセル製剤のスプレー噴霧条件の探索

一般に、鼻腔内滞留性に富むゲル製剤は噴霧投与が困難である。一方、界面活性剤が溶媒中で形成する紐状のミセルは、ゲル状態でも噴霧が可能であることが知られている。そこで、モデル製剤として各種紐状ミセルを用い、製剤のレオロジーパラメータと3Dヒト鼻腔モデルにおける噴霧時の広がり具合の関連性を調べた。レオロジーパラメータは、定常流粘度測定よりゼロシア一粘度、周波数依存測定より最長緩和時間、プラトー弾性率および1,000 rad/sにおける粘度を抽出した。その結果、紐状ミセルのプラトー弾性率が、製剤の鼻腔内噴霧時の広がりに関連性があることを突き止めた。

(2) 超分子スマートゲル製剤の開発

① レシチン逆紐状ミセルの調製と物性評価

投与経路にかかわらず、薬物が吸収されるには基剤中に溶解している必要がある。本来、水溶性高分子は油には溶解しないが、油性のLRW中に高濃度で溶解(可溶化)することができれば、薬物の分配係数や基剤中活量の点から、治療効果がおおいに期待できる(図2)。そこで、水溶性高分子の含有量が多いLRW製剤の製造方法について検討した。

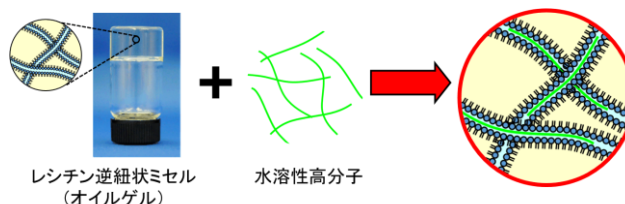


図2 LRWによる水溶性高分子の可溶化イメージ

我々は、あらかじめレシチンと水溶性高分子の凍結乾燥物を作成しておき、これに極性物質(水)とオイルを添加する方法(新規法)を開発した(特願2019-119814)。新規法で調製したLRW製剤では、水溶性高分子がLRW中に可溶化されているため透明度が高く、水溶性高分子の懸濁粒子も観察されなかった(図3)。この方法は、デキストラン、オボアルブミン、ヒアルロン酸のいずれの水溶性高分子にも適用できることがわかった。さらに、本法で作成した水溶性高分子含有LRWを各種皮膚に適用すると、従来法で調製した製剤よりも水溶性高分子の浸透が促進されることもわかった。

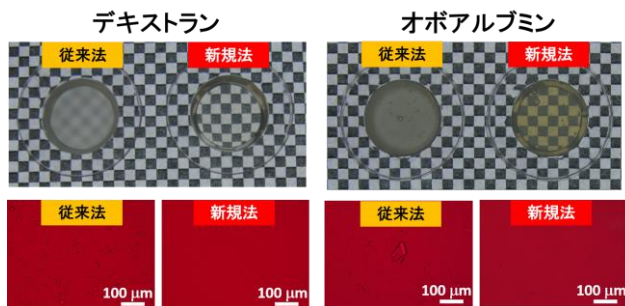


図3 従来法および新規法で調製した水溶性高分子含有LRWの透明性(上)及び偏光像(下)の比較

② リポソーム架橋ゲルの調製と物性評価

リポソーム懸濁液およびHM-HPMC水溶液は、それぞれ単独では粘度が低いが、それらを混合すると粘度が急激に上昇することがわかった。これは、HM-HPMCの疎水基がリポソーム二分子膜中に突き刺さりリポソーム同士を架橋することで、液全体に3次元ネットワーク構造が形成されるためだと考えられる(図4)。この仮説は、疎水基を持たないHPMCを用いた場合にはゲル化しないことから裏付けられた。また、リポソーム/HM-HPMC混合溶液の粘度は外力を加えると急激に減少するが、外力を除くと直ぐに元のゲル状態に戻ったことから、この反応には可逆性があることもわかった。これは、強い外力が加わるとリポソームからHM-HPMCの疎水基が抜け落ち、外力を除くと再びリポソームが架橋されるためである。HM-HPMCを用いたリポソーム架橋ゲルは、リポソームとゲルの特性を併せ持った興味深い材料であることがわかった。また、そのレオロジー特性は従来の水溶性高分子ゲル

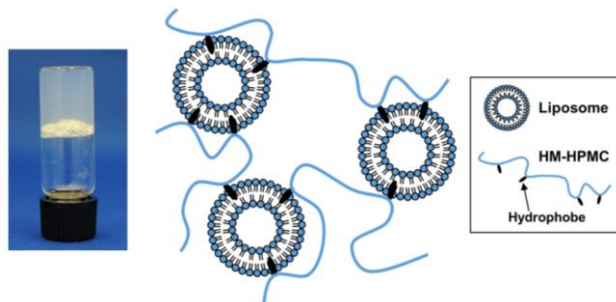


図4 リポソーム架橋ゲルの外観(左)とゲル化のメカニズム(右)

とは異なることから、新たな製剤基剤としての利用が期待される。

(3) ゲル製剤の粘膜付着性の予測方法に関する予備的検討

皮膚の表面自由エネルギーを用いて、ウェッティングエンベロープ（接触角の等値線）および付着仕事の等値線を作成することができた。ローション剤の表面張力の極性成分および分散成分をウェッティングエンベロープおよび付着仕事の等値線上にプロットすることで、皮膚に対する濡れ性や付着性を非接触で予測できることを明らかにした。

一方、固体の表面自由エネルギーは液体の表面張力のように直接測定できず、その極性成分と分散成分を求めるには、数種の液体に対する接触角の測定が必要となる。しかし、半固体に対する液体の接触角に関して合理的な測定方法は確立されていない。そこで、半固形製剤における接触角の測定方法を検討し、表面自由エネルギーの算出を試みた。その結果、接触角の経時変化をもとに液体の接触角を決定できることがわかった。これにより、半固形製剤の表面自由エネルギーの算出が可能となり、皮膚に対する付着仕事を非接触で予測できることを明らかにした。

今後は、上記スマートゲル製剤が鼻腔投与で薬物の吸収を促進するかを *in vivo* で評価する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hashizaki Kaname, Umeda Risa, Miura Motofumi, Taguchi Hiroyuki, Fujii Makiko	4. 巻 140
2. 論文標題 Preparation and Rheological Properties of Cross-linked Liposomes Using Hydroxypropylmethylcellulose Bearing a Hydrophobic Anchor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 435 ~ 441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1248/yakushi.19-00235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hashizaki Kaname, Sunaga Kohei, Oda Yusuke, Bashuda Mai, Imai Miko, Goto Yukihiro, Taguchi Hiroyuki, Saito Yoshihiro, Fujii Makiko	4. 巻 139
2. 論文標題 Prediction of Wettability and Adhesion of Lotion to Skin Based on the OWRK Method	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 635 ~ 640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1248/yakushi.18-00203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kaname Hashizaki, Hiroyuki Taguchi, Makiko Fujii	4. 巻 Vol.3 (No.4)
2. 論文標題 Possibility of Highly Viscoelastic Lecithin Reverse Wormlike Micelle as the Vehicle for Transdermal Therapeutic Application	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Accounts of Materials & Surface Research	6. 最初と最後の頁 190-198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江川知羽、近藤里紗、山口芽生、今井美湖、橋崎要、田口博之、藤井まき子
2. 発表標題 レシチン逆紐状ミセルからのオボアルブミンの皮膚移行性
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 星井勇人、池内皓亮、今井美湖、橋崎要、田口博之、藤井まき子
2. 発表標題 半固形製剤の表面自由エネルギーの測定方法の検討
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口芽生、田口なな、橋崎要、鈴木直人、金沢貴憲、田口博之、鈴木豊史、藤井まき子
2. 発表標題 鼻腔内噴霧用ゲル製剤のレオロジーパラメータを用いた最適化方法
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅田里紗、橋崎要、三浦基文、田口博之、藤井まき子
2. 発表標題 疎水化ヒドロキシプロピルメチルセルロースを用いたリポソームのゲル化
3. 学会等名 日本薬剤学会第34年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋崎要、須長航平、小田裕介、場集田麻衣、今井美湖、後藤志宏、田口博之、齋藤好廣、藤井まき子
2. 発表標題 OWRK法を用いたローション剤の皮膚に対する濡れ性および付着性の予測
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋崎要
2. 発表標題 レシチン逆紐状ミセルのユニークな製剤特性
3. 学会等名 第10回経皮投与製剤FGシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋崎要
2. 発表標題 レシチン逆紐状ミセルを利用したスマートゲル製剤の開発
3. 学会等名 信州大学CoLLIS第4回（2018年）研究討論会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋崎要、小嶋亜優香、今井美湖、田口博之、藤井まき子
2. 発表標題 デキストラン配合レシチン逆紐状ミセルの製剤特性
3. 学会等名 日本油化学会第57回年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橋崎要
2. 発表標題 レシチン逆紐状ミセルの皮膚適用製剤基剤としての可能性
3. 学会等名 第56回日本油化学会年会 界面科学部会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ゲル状組成物の製造方法及びゲル状組成物	発明者 橋崎要、藤井まき子、田口博之	権利者 日本大学
産業財産権の種類、番号 特許、2019-119814	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	藤井 まき子 (FUJII MAKIKO) (50199296)	日本大学・薬学部・教授 (32665)	
研究分担者	三浦 基文 (MIURA MOTOFUMI) (60385979)	日本大学・薬学部・准教授 (32665)	