

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K12109

研究課題名(和文)新規マイクロニードルと物理的透過促進法を併用したバイオ医薬品皮膚透過促進法の研究

研究課題名(英文) Skin penetration enhancement of biopharmacies (large-molecular-weight drug) by combined use of new type microneedle and physicochemical methods

研究代表者

引間 知広 (HIKIMA, TOMOHIRO)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授

研究者番号：30332852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロサイズのニードルからなるマイクロニードル(MN)の先端形状を鳥口型とした鳥口型MNは、これまでの医薬品塗布型MNに比べ、ニードル表面に塗布できる医薬品量を大幅に増加できる、医薬品を塗布した状態でも皮膚への穿刺性を損なわない、など多くの利点を示した。モデル薬物としてインスリンを用いたin vivo実験で、糖尿病ラットの血糖値を有意に下げた。また高分子量化合物の電場による皮膚透過促進メカニズムは、角質層下に存在する表皮における薬物濃度増加であることを示した。さらにMNと電場併用による薬物透過促進および透過の時間制御を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

注射剤として投与されているバイオ医薬品は、患者の生活の質(QOL)が下がるなどの欠点がある。本研究課題の成果である鳥口型MNは、分子量が大きく親水性であるバイオ医薬品(高分子量化合物)を経皮的に投与することが可能であることを示した。さらに物理的透過促進法である電場における高分子量化合物の皮膚透過促進メカニズムを一部であるが明らかにすることができた。鳥口型MNと電場を併用することで、今後、バイオ医薬品の皮膚透過促進速度の制御に可能となり、患者のQOLを改善できると期待できる。

研究成果の概要(英文)：The bird-bill microneedle (MN), which had a vertical groove in its tip, was increased the amount of coated drug in its groove using capillary attraction and was firmly inserted into the skin. The bird-bill MN coated insulin was significantly decreased the blood glucose concentration of diabetic rat in vivo. Thus, the bird-bill MN can be used for the transdermal delivery of large-molecular-weight drugs. Moreover, I revealed the condition of the skin penetration enhancement of a large-molecular-weight drug by iontophoresis (IP) and showed that the mechanism of skin penetration enhancement by IP may be to decrease the drug concentration in viable epidermis. Although synergistic effect of MN and IP for transdermal delivery of large-molecular-weight drug was not recognized under in vitro condition, the combined use of MN and IP is a promising method to enhance the skin penetration of a large-molecular-weight drug.

研究分野：医用システム

キーワード：経皮治療システム 物理的透過促進法 皮膚透過促進 時間制御 電場

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

経皮治療システム (TTS) ではマイクロニードル (MN) アレイが注目されていたが、投与量が少ない、皮膚への穿刺性が不十分であるなどの欠点が指摘されていた。さらにバイオ医薬品などの高分子量化合物はほとんど皮膚を透過しないため、治療に必要な十分な薬物を経皮投与することはできなかった。TTS では多くの皮膚透過促進技術が提案され、高分子量化合物の皮膚透過促進の可能性が示され始めていたが、皮膚透過速度の制御を達成できる技術はなかった。

### 2. 研究の目的

バイオ医薬品を TTS で投与するため、皮膚透過促進を達成する新規形状 MN を作成し、物理的透過促進法を併用する事で皮膚透過速度を制御する技術の研究および開発を行うことを目的とした。本研究課題では、MN の欠点を改善するために鳥口型 MN を考案し、皮膚透過促進速度の制御を達成するために電場に注目した。

### 3. 研究の方法

本研究課題での動物実験計画は、専門知識を有する委員から構成された九州工業大学動物実験専門部会において審査を行ない、承認を受けた。

#### (1) MN アレイの設計および作成

本研究課題では、MN アレイの設計および作成は研究分担者の伊藤が行った。MN の材料には生体適合性に優れた高分子であるポリカーボネートを使用した。作製方法としては、1つの金型から等しい品質で多量に作成できる射出成型技術を選択した。

鳥口型 MN の基本形状を図 1 に示した。針高さは  $1000\mu\text{m}$  で統一し、溝深さや溝間隔、針先端角度などを変えたニードルを設計および作成した。MN アレイ金型は、エンドミル加工による金型微細加工技術により作成した。

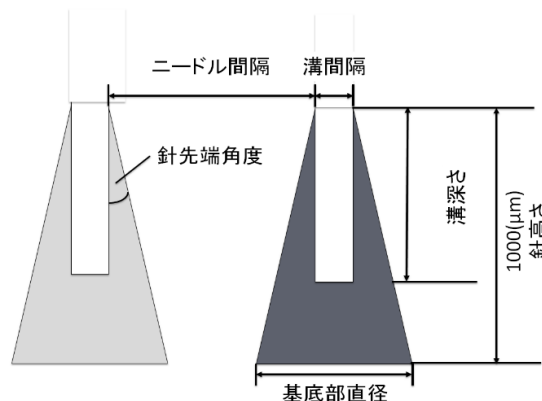


図 1 鳥口型 MN の基本形状 (断面図)

#### (2) MN アレイの皮膚穿刺性評価

試作した MN による皮膚への穿刺性評価は、ミニブタ (鹿児島ミニブタ研究センター) の皮膚を用いた *in vitro* 実験で検討した。バネ式アプリケータを使用して MN を適用した皮膚は、光干渉断層撮影法 (OCT、Wasatch Photonics 社) を用いて皮膚断面を撮影し、その画像から微細孔の深さを測定した。さらに MN 適用による微小孔の形成を評価するために、Tewameter TM300 (Courage+Khazaka 社) を使用して経表皮水分蒸散 (TEWL) 値を測定した。

#### (3) MN アレイへの薬剤塗布

基材としてメトロース® (信越化学工業株式会社)、モデル薬物としてメチレンブルーまたはインスリンを選択した。それぞれを混合してコーティング溶液を調整して MN に塗布した。

#### (4) ラットを用いた MN アレイの *in vivo* 実験

ラット (SD 系統、日本クレア株式会社) にストレプトゾトシンを腹腔内に投与して糖尿病ラットを作成した。糖尿病ラットの背部にバネ式アプリケータを使用してインスリンを塗布した鳥口型 MN を 1 分間適用した。血中グルコース濃度 (BGC) をメディセーフフィット®プロ (テルモ株式会社) を使用して経時的に測定した。

#### (5) 電場による高分子量化合物の *in vitro* 皮膚透過実験

バイオ医薬品のモデル化合物として分子量 20000 で親水性であるイソチアン酸フルオロセインデキストラン (FD-20) を用いて、*in vitro* 実験を行った。*In vitro* 実験装置には、図 2 に示した電場用改良縦型拡散セルを用いた。モデル皮膚にはヘアレスマウス (Hos:HR-1 系統、株式会社星野実験動物飼育所) 皮膚を用いた。本実験では FD-20 を含有するドナーゲルを陽極側、対照ゲルを陰極側になるように配置し、電源に接続した。電流密度は  $0.1\text{ mA/cm}^2$  となるよう設定した。また実験後の皮膚内にお

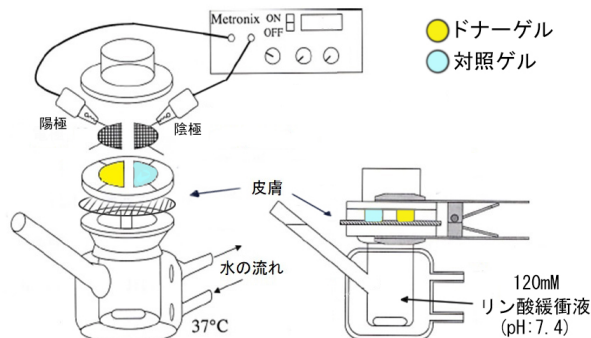


図 2 電場用改良縦型拡散セルを用いた実験模式図

るFD-20濃度も測定した。

#### (6) *In vitro*条件における鳥口型MNと電場の併用

鳥口型MNをバネ式アプリーケータにより、切り出したヘアレスマウス皮膚に適用した。皮膚を電場用改良縦型拡散セルに設置し、MNを適用した部分にFD-20含有水溶性ゲル(ドナーゲル)を載せた。ドナーゲルを陽極側に配置し、電流密度を $0.1\text{mA}/\text{cm}^2$ となるように電場を3時間適用した。

### 4. 研究成果

#### (1) 鳥口型MNの作成

試作した鳥口型MNの拡大写真を図3に示した。射出成型技術により作成した鳥口型MNは、ニードル形状が複雑にも関わらず、再現性良く作成できた。しかし実測値の設計値に対する変動係数を計算すると、針高さで $2.98 \times 10^{-2}$ 、基底部直径で $2.04 \times 10^{-2}$ 、溝深さで $2.45 \times 10^{-2}$ 、そして溝間隔で0.138となった。鳥口型MNは、複数の金型部品を組み合わせて形を形成しているため、金型部品同士に隙間ができる。この隙間を無くすための調整は今後の課題であるが、調整の目処は立っており、すぐに解決できる。

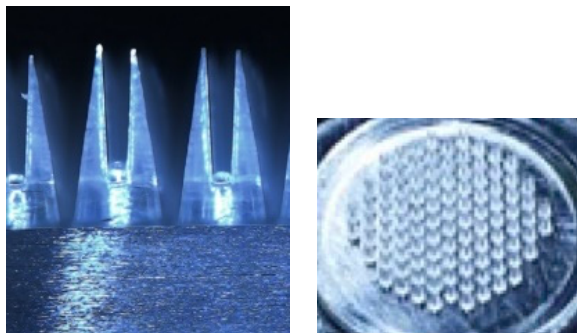


図3 鳥口型MNの拡大写真

#### (2) MNアレイの穿刺性評価

OCT画像から測定した穿刺孔深さの経時変化を図4に示した。鳥口型MN(●)と円錐型MN(◆)を適用した直後の穿刺孔深さは、それぞれ $232.1 \pm 51.3\ \mu\text{m}$ と $323.9 \pm 68.3\ \mu\text{m}$ を示し、MN適用60分後においても $150\ \mu\text{m}$ 以上の深さを維持した。角質層を含む表皮の厚さは $100 \sim 150\ \mu\text{m}$ であるため、鳥口型MNの皮膚への挿入性は十分であると言える。

さらにMN適用前後のTEWL値の経時変化を図5に示した。ここでコントロール(○)は、MNを適用しなかった皮膚におけるTEWL値を示す。鳥口型MN(●)におけるTEWL値は、適用直後に $250.6 \pm 77.7\%$ まで増加し、6時間にわたって200%を超える高い値を維持し続けた。円錐型MN(◆)では、適用直後は鳥口型MNよりも高い値となったが、6時間後では低い値になった。したがって穿刺孔深さとTEWL値の測定結果から、鳥口型MNは皮膚に微細孔を形成し、その微細孔を長時間維持するのに効果的であることが示された。

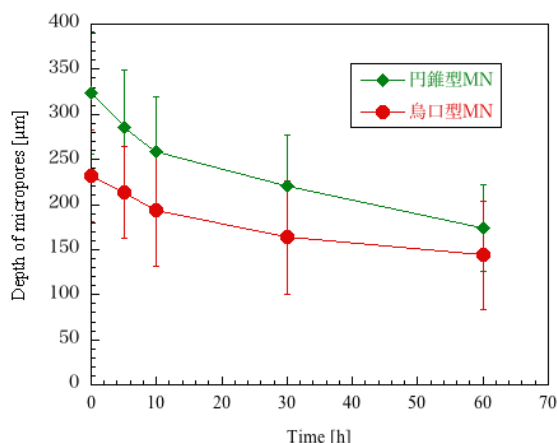


図4 皮膚穿刺孔深さの経時変化

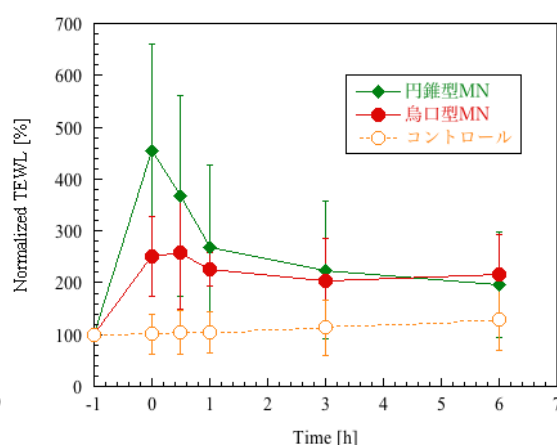


図5 TEWL値の経時変化

#### (3) MNアレイへの薬剤塗布

MNアレイへの塗布量と塗布回数を図6に示した。塗布回数を増やすとMNアレイに塗布されるコーティング溶液が増加し、最大 $3.11 \pm 0.05\text{mg}$ まで塗布することができた。さらに塗布回数を増やすと、コーティング溶液がニードル基盤にまで達してしまい、ニードルへ均一に塗布できなくなった。コーティング溶液の基材種類、基材濃度、モデル薬物の種類、そして薬物の濃度を変えるとMNへの塗布量が変化した。モデル薬物であるインスリンでは、 $0.56 \pm 0.15\text{mg}$ が最大塗布量となった。さらにコーティング溶液の条件を改善することにより、 $1.17 \pm 0.26\text{mg}$ まで増加できた。同じ条件での円錐型MNへの塗布量は $0.64 \pm 0.19\text{mg}$ であり、円錐型MNの欠点であった塗布量の少なさを、鳥口型MNが大幅に改善できることが示された。また塗布条件の最適

化でさらなる塗布量の増大も期待できる。

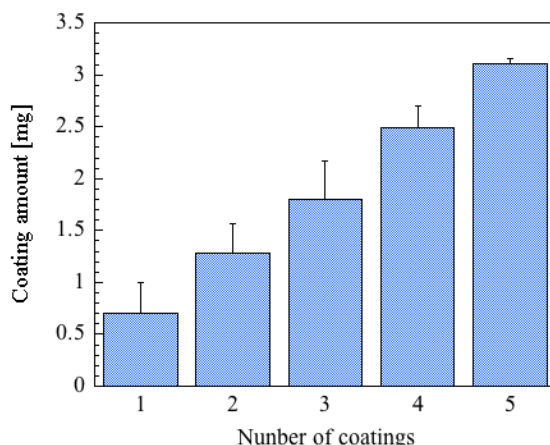


図6 鳥口型 MN における塗布回数と塗布量の関係

#### (4) 糖尿病ラットにおける血糖値変化

鳥口型 MN (●) と円錐型 MN (◆) による *in vivo* 実験結果を図 7 に示した。コーティング溶液の組成は基材が 20%濃度とインスリンが 7.5%濃度であり、MN の皮膚への適用時間は 1 分間とした。MN 適用により糖尿病ラットの BGC が有意に減少し、MN による高分子量医薬品であるインスリンの経皮送達が可能であることが分った。しかし鳥口型 MN と円錐型 MN では、BGC の経時変化に大きな違いが見られなかった。これはニードルに塗布されたインスリンが皮膚内で溶解しなかったこと、および穿刺孔深さが原因として考えられた。また円錐型 MN では針先端部分の湾曲や折損が確認できた。円錐型 MN は皮膚に適用するとニードルが折れ、その破片が皮膚内に残存する危険性があり、円錐型 MN は安全性の高い形状では無いと考える。一方で鳥口型 MN は 1 分間と言う短い適用時間で有意に BGC を低下させることができ、またニードルの折損が見られなかったことから、TTS で有効な MN として使用できることが分った。

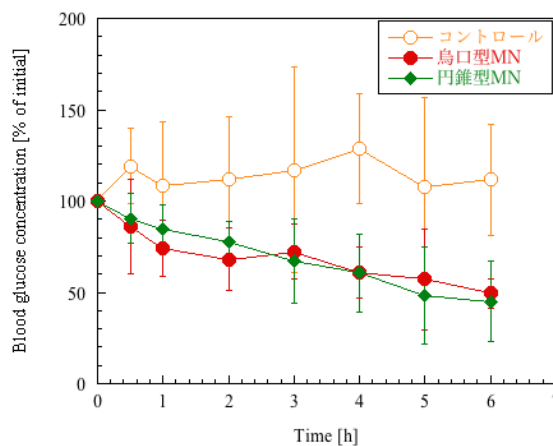


図7 鳥口型 MN と円錐型 MN による血中グルコース濃度の経時変化

#### (5) 電場による高分子化合物の *in vitro* 皮膚透過実験

分子量が 10000 以上の高分子量化合物は、電場を適用してから数時間経過しないと皮膚透過速度の上昇が起きないことが報告されていた<sup>(1)</sup>。本研究課題では、バイオ医薬品である高分子量化合物の皮膚透過促進効果の時間制御の可能性を検討することも目的としている。そこで電場適用時機を変えることで、皮膚透過挙動に影響が出るか検討した。電場適用時機を透過実験開始から 12 時間後とすると、電場適用期間中に FD-20 の皮膚透過速度が上昇することを発見した (図 8)。図中の前方適用 (■) とは実験開始 1 時間後から電場を 3 時間連続適用する条件、後方適用 (●) とは実験開始 12 時間後から電場を 3 時間連続適用する条件を言う。24 時間の実験時間中は、前方適用と後方適用ともに皮膚上に FD-20 含有親水性ゲルを載せていた。

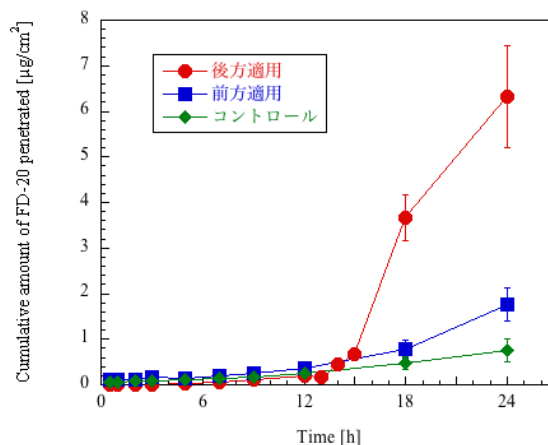


図8 電場適用時機による皮膚透過曲線の違い

## (6) 電場適用後の皮膚内薬物濃度

電場適用時機の違いで透過促進挙動が異なるメカニズムを解明できれば、高分子量化合物の皮膚透過促進制御が可能になるかもしれない。そこで皮膚内におけるFD-20濃度を測定した。電場を適用しないコントロールにおけるFD-20濃度は、FD-20含有親水性ゲルを皮膚に載せてから2時間後に58.9  $\mu\text{g/g-skin}$ となり、24時間後までほぼ一定であった。つまり受動拡散におけるFD-20の皮膚内移動において、皮膚内薬物濃度は2時間程度で定常状態に達している可能性が示された。前方適用した皮膚におけるFD-20濃度は、電場適用開始から1時間後においてコントロールの1.14倍、3時間後では2.11倍となった。後方適用における電場適用1時間後のFD-20濃度はコントロールの1.56倍、3時間後では2.23倍となった。この結果から、電場適用時機に関係なく電場適用により皮膚内FD-20濃度は増加するが、前方適用と後方適用での差が見られないことが分かった。

さらに皮膚を角質層 (stratum corneum、赤カラム) と生きた皮膚 (viable skin、青カラム) に分け、それぞれの層内におけるFD-20濃度を測定した (図9)。図中においてFとBはそれぞれ電場の前方適用と後方適用を表し、Cは電場を適用しない受動拡散での3時間後における値、3hは電場適用後3時間目における値を表している。前方適用と後方適用では共に電場により皮膚内FD-20濃度が增加するが、前方適用では角質層に、後方適用では生きた皮膚にFD-20が溶解することが分かった。この違いが電場適用時機による皮膚透過挙動の違いの原因の1つであると考えられるがさらなる検討が必要である。

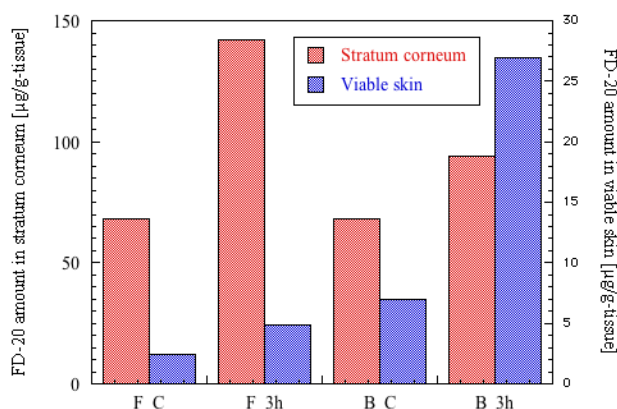


図9 角質層と生きた皮膚におけるFD-20量

## (7) *In vitro*条件における鳥口型MNと電場の併用効果

研究課題の目標であるMNと電場の併用効果について検討した。その結果を図10に示した。図中において、コントロール (▼) はMNも電場も適用しない受動拡散における透過曲線、電場 (◆) は電場のみを適用した皮膚透過曲線、MN処理 (■) はMNのみを適用した皮膚透過曲線、MN+電場 (●) はMN適用した後に電場を併用した皮膚透過曲線を表している。電場とMNそれぞれ単独での適用でも、FD-20の皮膚透過促進効果が確認できた。しかしMNと電場の併用は、MN単独と促進効果に差が見られなかった。これはMN適用方法や電場適用条件など最適化できていないことが原因である。

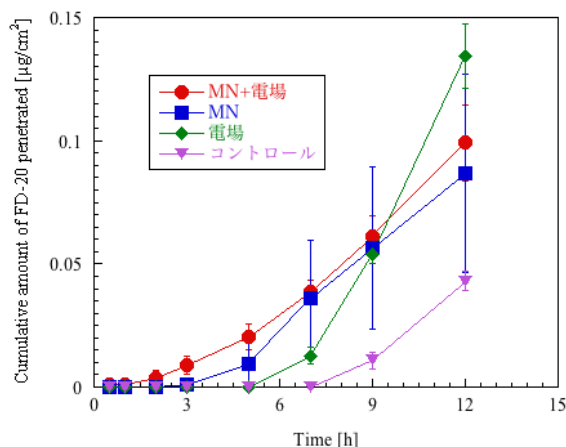


図10 MNと電場の併用効果

さらなる検討により、MNと電場による皮膚透過促進の併用効果を示す適用条件を見いだすことができると期待している。また今回の検討結果を受け、MNと電場以外の物理的透過促進技術との併用効果を確認し、バイオ医薬品をTTSで投与できる方法の検討を続けていく。

### <引用文献>

1. Tomohiro HIKIMA, Kakuji TOJO, Combined use of iontophoresis and other physical methods, Percutaneous penetration enhancers: Physical methods in penetration enhancement, Eds; Nina DRAGICEVIC-CURIC and Howard I. MAIBACH, Springer Verlag, May 2017

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 引間知広	4. 巻 41
2. 論文標題 九州工業大学におけるマイクロニードルの研究開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 三島光産技報	6. 最初と最後の頁 10-16
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 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9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 花田大知、伊藤高廣、引間知広、福田龍彌、村上直、椿浩忠、原正哉、田代康典、松尾正昭
2. 発表標題 医療用マイクロニードルの作製
3. 学会等名 2018年度精密工学会秋季大会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田一也、松島俊也、水野有希、福田龍彌、高澤香奈衣、伊藤高廣、引間知広、村上直、椿浩忠、原正哉、田代康典、松尾正昭
2. 発表標題 医療用マイクロニードルの研究
3. 学会等名 2020年度精密工学会秋季大会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shunya MATSUSHIMA, Kazuya YAMADA, Yuki MIZUNO, Tatsuya FUKUDA, Takahiro ITO, Tomohiro HIKIMA, Sunao MURAKAMI, Hiroataka TSUBAKI, Masaya HARA, Yasunori TASHIRO, Masaaki TMATUO
2. 発表標題 New shape microneedle array for medical application
3. 学会等名 18th International Conference on Precision Engineering (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuya YAMADA, Syunya MATSUSHIMA, Takahiro ITO, Kanae TAKASAWA, Tatsuya FUKUDA, Yuki MIZUNO, Tomohiro HIKIMA, Hirotada TSUBAKI, Masaya HARA, Yasunori TASHIRO, Masaaki MATSUO
2. 発表標題 Fabrication of microneedle array for medical application
3. 学会等名 18th International Conference on Precision Engineering (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水野有希, 福田龍彌, 原正哉, 田代康典, 松尾正昭, 伊藤高廣, 引間知広
2. 発表標題 新規形状のコーティング型マイクロニードルの開発
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 松島俊也, 山田一也, 福田龍彌, 水野有希, 伊藤高廣, 引間知広, 村上直, 椿浩忠, 田代康典, 原正哉, 松尾正昭
2. 発表標題 医療用マイクロニードルアレイの研究-新規形状の性能評価-
3. 学会等名 2019年度精密工学会秋季大会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 引間知広, 伊藤高廣
2. 発表標題 メディシヨナルな経皮的次世代化システムに向けて~九工大マイクロニードル研究の進捗について~
3. 学会等名 令和元年度メディシヨナルナノテク研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田一也、花田大知、伊藤高廣、引間知広、福田龍彌、村上直、椿浩忠、原正哉、田代康典、松尾正昭
2. 発表標題 医療用マイクロニードルアレイの研究
3. 学会等名 2019年度精密工学会春季大会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水口凌、水野有希、山田一也、松島俊也、田代康典、松尾正昭、伊藤高廣、引間知広
2. 発表標題 鳥口型マイクロニードルのニードル本数による経皮薬物送達促進への影響に関する研究
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 マイクロニードルアレイ	発明者 中利明、松尾正昭、 田代康典、原正哉、 伊藤高廣、引間知広	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-014454	出願年 2021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	伊藤 高廣  (ITO TAKAHIRO)  (10367401)	九州工業大学・大学院情報工学研究院・教授   (17104)	

#### 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
---------	---------