

令和 3 年 8 月 25 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14888

研究課題名（和文）角質層バリア機能の克服を目指したPLGAナノ粒子の物理化学的性質の最適化

研究課題名（英文）PLGA nanoparticles with physicochemical properties suitable for overcoming the barrier function of the stratum corneum

研究代表者

竹内 一成 (Takeuchi, Issei)

東京理科大学・薬学部薬学科・講師

研究者番号：10734931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：乳酸 グリコール酸共重合体 (PLGA) とポリエチレングリコール (PEG) から成る PLGA-PEG-PLGA トリブロックコポリマーを用いた薬物含有ナノ粒子の調製に成功した。本ナノ粒子において、PEG は粒子全体に均一に分布することが確認された。また、正常なげっ歯類の皮膚およびヒト皮膚を模した人工膜を用いた皮膚透過試験の結果から、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子が表皮深部および真皮に到達することが示唆された。また乾癬モデル動物を用いた皮膚透過試験の結果から、本ナノ粒子は従来の PLGA ナノ粒子と比べて効率的に皮内に薬物を送達可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高分子を用いたナノ粒子は表面修飾や物理化学的性質の制御が比較的容易であり、広範な薬物を搭載可能であるといった多くの利点があるが、経皮投与においては、皮膚透過性が低いため一般に皮膚深部への薬物送達手段としての利用が困難である。本研究は、高分子ナノ粒子の皮膚透過性の向上に寄与するものであり、乾癬等の慢性皮膚疾患の治療だけでなく、全身性疾患の治療や経皮投与型ワクチン製剤の開発の一助になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We have succeeded in preparing drug-loaded nanoparticles using poly (DL-lactide-co-glycolide)-block-poly(ethylene glycol)-block-poly(DL-lactide-co-glycolide) triblock copolymer. It was confirmed that the nanoparticles had a uniform distribution of polyethylene glycol within the particles. From the results of skin permeability studies using normal rodent skin and artificial membranes imitating human skin, it was suggested that the nanoparticles reach the deep part of the epidermis and the dermis. The results of skin permeation tests using psoriasis model animals showed that the nanoparticles were able to deliver the drug into the skin more efficiently than conventional poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles.

研究分野：物理系薬学

キーワード：経皮DDS PLGA PEG ナノ粒子 乾癬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 乳酸 グリコール酸共重合体 (PLGA) はナノ粒子を用いたドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発に有用だが、皮膚深部への送達が困難である。

(2) 過去の研究において、平均粒子径 50 nm の PLGA ナノ粒子が開発され皮膚透過試験が実施されたが、その皮内での分布は皮膚角質層と毛包が主であり、皮膚深部では確認されなかった。

(3) 薬物の経皮吸収性と n -オクタノール/水分配係数 ($\log P$) の関係が研究されており、親油性と親水性のバランスがとれた $\log P$ 値が 2 程度の薬物が経皮投与に好適であるという報告がある。

(4) PLGA ナノ粒子は高分子ミセル等の担体に比べて剛性が高いため、細胞間隙通過時の抵抗を低減させるためには、PLGA ナノ粒子の柔軟性を向上させる必要があることが示唆されている。

これらのことから、疎水性高分子である PLGA の親水性および柔軟性を向上させることで、PLGA ナノ粒子の皮膚深部への送達が実現できると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、PLGA を用いた皮膚深部へ送達可能な新規ナノ粒子を開発するとともに、その物理化学的性質を明らかにすることである。そのために以下の研究目的を掲げた。

(1) 水溶性高分子であるポリエチレングリコール (PEG) 末端に PLGA の構造を持つ PLGA-PEG ブロックコポリマーを用いる。本高分子は PLGA の特性を有しながらも、より高い親水性および柔軟性を持つと期待されるが、ナノ粒子の基材として利用した報告は少ない。そこで、PLGA-PEG ブロックコポリマーを用いた経皮投与用ナノ粒子調製方法の確立を目指す。

(2) PLGA-PEG ナノ粒子の $\log P$ 値および柔軟性を直接測定することは困難である。そこで X 線光電子分光法を用いてナノ粒子の構造解析を行うことで、その間接的評価の実施可能性について検討する。

(3) 動物の皮膚組織やヒト皮膚を模した人工膜を使用した *ex vivo* 皮膚透過試験および疾患モデル動物を用いた *in vivo* 皮膚透過試験を実施することで、新規薬物含有ナノ粒子の経皮投与における有用性を示す。また、既存の経皮吸収促進法の利用可能性について検討する。

3. 研究の方法

(1) 皮膚細胞間隙を透過させるために、Nanoprecipitation 法と選択溶媒和法を併用して平均粒子径 50 nm 以下の薬物含有ナノ粒子製剤を調製する。また、皮膚透過経路観察のために、蛍光色素を含有させたナノ粒子も調製する。ゼータ電位・粒子径測定システムを用いてナノ粒子の平均粒子径、粒度分布およびゼータ電位を、高速液体クロマトグラフィーを用いて薬物および蛍光色素の含有量と含有効率を測定し、粒子外観は透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察する。

(2) X 線光電子分光法を用いてナノ粒子表面およびナノ粒子全体における PEG/PLGA 比を求めることで、ナノ粒子中の PEG の分布について評価する。

(3) 経皮 DDS 分野で頻用されている Franz 型拡散セルを使用した皮膚透過試験を行うことで、PLGA-PEG ナノ粒子の皮膚透過性を評価する。比較のため、ナノ粒子化していない薬物溶液および PLGA ナノ粒子に関しても同様に実験を行う。また、蛍光物質含有 PLGA-PEG ナノ粒子を用いて透過実験を行った後、その皮膚切片を共焦点レーザー顕微鏡で観察することで、皮内におけるナノ粒子の分布の確認を行う。

(4) PLGA-PEG ナノ粒子の慢性皮膚疾患治療における有用性を評価するために、疾患モデル動物の皮膚組織を用いて皮内における薬物濃度の定量を行う。また、PLGA ナノ粒子との併用で皮内への薬物送達能が向上することが知られている薬物の経皮吸収促進法のひとつであるイオントフォoresis が、PLGA-PEG ナノ粒子に与える影響について調査する。

4. 研究成果

(1) PLGA-PEG ブロックコポリマーの内、PLGA-PEG-PLGA トリブロックコポリマーを用いることで、乾癬治療薬である Cyclosporine A (CsA) を含有させた平均粒子径 30 nm のナノ粒子の調製に成功した (図 1)。本ナノ粒子の構造に関して X 線光電子分光法を用いて調査を行うと、PEG 部分が粒子全体に均一に分布していることが示された。従って、粒子内部に PEG 構造を持つため、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子は PLGA ナノ粒子と比較して粒子全体としての親水性および柔軟性が向上している可能性がある。

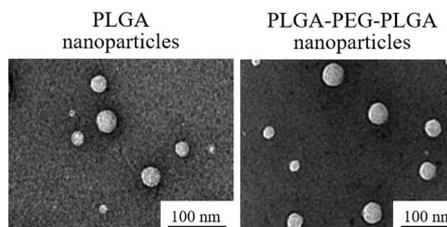


図 1. ナノ粒子の TEM 画像

(2) ラット皮膚を用いた皮膚透過試験の結果から、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子を 24 時間経皮投与した場合、PLGA ナノ粒子と比較して、皮内 CsA 濃度は 1.4 倍、累積皮膚透過 CsA 量は 1.3 倍となることが示された。また PLGA-PEG-PLGA トリブロックコポリマー中の PEG 割合を 2.4 倍とすることで、累積皮膚透過 CsA 量が更に 1.3 倍となることも確認された。ヒト皮膚を模した人工膜を用いて同様の試験を行うと、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子を投与した際の累積皮膚透過 CsA 量は、PLGA ナノ粒子と比較して 2.3 倍になることが確認された。以上のことから、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子は体毛が発達したラット皮膚だけでなく、ヒト皮膚に対する経皮投与においても有用である可能性が示された。

蛍光物質含有ナノ粒子を用いた皮膚切片画像を図 2 に示す。緑色の蛍光を有する箇所にはナノ粒子が存在するが、図からわかるように PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子においては、皮膚角質層および毛包だけでなく、毛包と毛包の間においても蛍光が見られる。このことは表皮深部および真皮層にナノ粒子が到達したことを示唆している。従って、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子は経皮投与に好適であると考えられる。

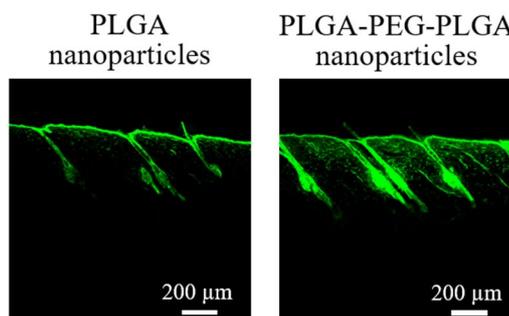


図 2. 蛍光物質含有ナノ粒子の切片画像

(3) 背部に Imiquimod (IMQ) を塗布することで作製した乾癬モデルマウスの皮膚において、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子が皮膚真皮層へ到達可能であることが、皮膚切片観察により確認された。また皮膚透過試験の結果から、LGA-PEG-PLGA ナノ粒子を投与した際の皮内 CsA 濃度は、PLGA ナノ粒子と比べて増加することが示された。

(4) ラット皮膚を用いた皮膚透過試験の結果から、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子とイオントフォレシスを併用すると、皮内薬物濃度および累積皮膚透過薬物量が増加することが明らかとなった。また薬物放出試験の結果から、イオントフォレシスがナノ粒子からの薬物放出挙動に影響を与えていることが示唆された。

以上のことから、PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子は均一な PEG 分布を持ち皮膚深部に到達可能な経皮投与に適した薬物担体であることが示された。今後は、本ナノ粒子の実用化に向けて、実際の治療実験の実施やナノ粒子の皮内滞留性の調査が必要だと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Takeuchi Issei, Kagawa Akira, Makino Kimiko	4. 巻 600
2. 論文標題 Skin permeability and transdermal delivery route of 30-nm cyclosporin A-loaded nanoparticles using PLGA-PEG-PLGA triblock copolymer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects	6. 最初と最後の頁 124866 ~ 124866
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.colsurfa.2020.124866	査読の有無 有
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6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山道 麻由奈、竹内 一成、牧野 公子
2. 発表標題 経皮浸透型PLGA-PEG-PLGAナノ粒子製剤にイオントフォレシスが与える影響
3. 学会等名 日本油化学会年会第59回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山道 麻由奈、竹内 一成、牧野 公子
2. 発表標題 経皮浸透型PLGA-PEG-PLGAナノ粒子製剤にイオントフォレシスが与える影響
3. 学会等名 東京理科大学DDSシンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内 一成、牧野 公子
2. 発表標題 ナノ粒子を用いた経皮DDS
3. 学会等名 第5回東京理科大学総合研究院再生医療とDDSの融合研究部門シンポジウム、第17回東京理科大学薬学部DDS研究センターシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 賀川 亮、山道 麻由奈、竹内 一成、牧野 公子
2. 発表標題 Cyclosporin A 含有PLGA-PEG-PLGAナノ粒子による経皮吸収促進効果と粒子透過経路の観察
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 賀川亮、竹内一成、牧野公子
2. 発表標題 PLGA-PEG-PLGA ナノ粒子による経皮吸収促進効果の検討と乾癬治療への応用
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 賀川亮、竹内一成、牧野公子
2. 発表標題 乾癬治療を目的とした経皮吸収型ナノ粒子製剤の有用性評価
3. 学会等名 第4回東京理科大学総合研究院再生医療とDDSの融合研究部門シンポジウム、第16回東京理科大学薬学部DDS研究センターシンポジウム
4. 発表年 2018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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------