

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07140

研究課題名(和文)がん性皮膚潰瘍に対する皮膚貼付型キセロゲル製剤の開発

研究課題名(英文)Development of a xerogel preparation for cancerous skin ulcers

研究代表者

花輪 剛久(Hanawa, Takehisa)

東京理科大学・薬学部薬学科・教授

研究者番号：00302571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：“がん性皮膚潰瘍由来の浸出液と不快臭”は、患者のQOLを低下させている。本研究では、電子線照射および凍結融解法などによるハイドロゲル調製を試みた。

(1)種々の濃度のポリビニルアルコール、塩化亜鉛水溶液を混合し、電子線照射してハイドロゲルを調製した。得られた試料のゲル分率、膨潤度、引っ張り強度、薬物放出試験などについて評価し、医療材料への応用の可能性を確認することができた。(2)創傷治癒効果を有するクルクミン(CUR)の可溶化を目的としてCURを界面活性剤と混合粉碎したところ、ナノ粒子を調製できた。(3)カテキミンとキシログルカンからは口腔粘膜炎に有効なハイドロゲルを調製することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

複雑な形状を呈する“がん性皮膚潰瘍”や口腔粘膜炎に付着し、浸出液を効率よく吸収する機能と医薬品を放出する機能を併せ持つ貼付型ハイドロゲルおよびキセロゲルを電子線照射、その他の方法により調製し、実用化に向けた製剤学的検討をおこなう。本研究で用いる電子線照射法は、一般的に行われる有機溶剤に架橋剤を溶解させる化学的架橋法と異なり、製剤中に有機溶媒が存在しない安全な口腔内用製剤を調製することができる点で製剤学的な意義は大きい。また、本研究ではハイドロゲルをそのまま凍結乾燥してキセロゲルとするため、製剤中の水による細菌の繁殖などを防止できると同時に吸液量の大幅な増加が予想される。

研究成果の概要(英文)：“Leachate and unpleasant odor from cancerous skin ulcers” reduce the quality of life of patients. In this study, we attempted to prepare hydrogels by electron-beam irradiation and freeze-thaw methods.

(1) Hydrogels were prepared by mixing various concentrations of polyvinyl alcohol and zinc chloride solutions and irradiating them with electron beams. The gel fraction, degree of swelling, tensile strength, and drug release test of the obtained samples were evaluated, and the possibility of application to medical materials was confirmed. (2) For the purpose of solubilization of curcumin (CUR) with wound healing effect, CUR was mixed with surfactants and pulverized, and nanoparticles were prepared. (3) Hydrogels effective for oral mucositis could be prepared from catechins and xyloglucan.

研究分野：臨床製剤設計学

キーワード：がん性皮膚潰瘍 粘膜炎 ハイドロゲル キセロゲル 電子線照射 凍結融解

1. 研究開始当初の背景

“がん性皮膚潰瘍由来の浸出液”と“嫌気性菌由来の不快感”は、患者のQOLを低下させている：

“がん性皮膚創傷”とは皮膚に二次性局所浸潤もしくは転移・再発したがんが、皮膚を破って創傷を形成し、体表面に現れた状態と定義されている。また、がん性皮膚創傷がさらに進行し、腫瘍が壊死・自壊して形成した潰瘍は“がん性皮膚潰瘍”と呼ばれている。“がん性皮膚創傷”は転移性がんの5～10%で発生し、特に乳がんおよび頭頸部癌に多いとされている。主な臨床症状は出血、滲出液、痛み、臭いなどであり、乳房や頸部など、女性的な部位や目につきやすい場所に発生することから、ボディイメージの変容に伴う精神的ストレスも受けやすくなる。

“浸出液”は壊死した創傷から漏出する体液が主であり、水分のほか、電解質、栄養素、タンパク質、炎症性メディエータ、マトロプロテアーゼなどのタンパク分解酵素、成長因子および老廃物ならびに好中球、マクロファージ、血小板などの場合がある。

一方、潰瘍面からの独特の“不快な臭い”(がん性皮膚潰瘍臭)は、潰瘍深部の感染が主な原因であり、嫌気性菌としてはBacteroides属、Clostridium属などが知られており、これらの嫌気性菌が産出する酪酸、吉草酸、ヘキサノ酸などの揮発性短鎖脂肪酸と、腫瘍組織の壊死過程に生成するポリアミン類のプトレシン、カダベリンが臭気物質とされている。

このような“浸出液の漏出”と“不快な臭い”は表皮剥離・びらんなどの創傷周囲の皮膚変化、治癒の遅延、臭い、不快感/疼痛、感染、電解質バランスの消失、頻回なドレッシング材の交換、社会的・心理的問題、などを誘発し、患者や介護者に苦痛を与え、社会的な孤立を誘発することがあり、深刻な問題となっている。

“浸出液の漏出”と“不快な臭い”の双方に有効な製剤は開発されていない：

“浸出液の漏出”に対しては、単純ポリウレタンなどが開発され、その構造内部の空間に液体を吸収させるが、加圧により一旦吸収された浸出液が逆流することがあり、患者の着衣の妨げとなっている。一方、カルボキシメチルセルロース(CMC)繊維やアルギン酸などのドレッシング素材は液体を吸収して一旦ゲル化すると、加圧による液体の漏出は抑制される。しかし、開発段階のものが多く、汎用に至っていない。

一方、“不快な臭い”に対しては抗菌剤であるmetronidazole (MTZ)を含有するゲル剤が市販された。この製剤を患部に適用する際はガーゼ等に一旦塗布し、水分を吸収可能なパットで覆った後に患部に貼付する。本製剤はMTZを直接患部に塗布するため、“不快な臭い”を除去するには有効な方法であるが、継続的に漏出する浸出液を吸収するため、上述した外部からの加圧による吸収体からの浸出液の漏出は回避できない。

このような背景から、患部に容易に適用でき、十分な量の浸出液を吸収する機能とMTZを効率的に放出する機能を併せ持ち、かつ、容易に貼付と剥離ができる外用剤の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では複雑な形状を呈する“がん性皮膚潰瘍”に付着し、浸出液を効率よく吸収する機能と“不快な臭い”を軽減する機能を有する、また、“口腔粘膜炎”治療のために、やはり複雑な形状を呈する口腔内に貼付する“粘膜貼付型ハイドロゲルおよびキセロゲル”を電子線照射およびその他の方法により調製したハイドロゲルを新規に調製し、実用化に向けた製剤学的検討ならびに、医療機関の緩和ケアチームと共同で臨床評価をおこなうことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 電子線照射による亜鉛含有ハイドロゲルの調製

本研究では、電子線照射法を利用して塩化亜鉛 (ZnCl_2) 含有ポリビニルアルコールハイドロゲルを調製、物性を評価し、乳がん皮膚潰瘍製剤への応用の可能性について評価した。

ゲル基剤として EXCEVAL[®] (株式会社クラレ)、主薬として ZnCl_2 を使用した。EXCEVAL[®] 水溶液と ZnCl_2 溶液を種々の比率で混合した溶液を調製し、30 kGy または 50 kGy の電子線を照射することにより、ゲルを調製した。調製したゲルのゲル分率、膨潤度を算出し、ゲルの表面形態を SEM により観察した。また、クリープメータを用いてゲル強度を測定した。更に、ハイドロゲルからの ZnCl_2 の放出挙動を解析した。

(2) クルクミン含有ナノゲルの調製

混合粉碎による CUR のナノ粒子化および物性評価：

CUR と界面活性剤の一種である P188 を種々の比率で混合し、物理的混合物 (PM) を調製した。PM300mg をステンレス製粉碎ジャーにステンレス製ボールと共に充填し液体窒素下で冷却後、ミキサーミル (MM400、Retch 株式会社、Germany) を用いて粉碎し、混合粉碎物 (GM) を調製した。得られた粉末試料の物性を PXRD、DSC、FTIR により評価し、水溶液状態の物性を溶解度測定、粒子径・ゼータ電位測定により評価した。

CUR 含有アルギン酸ナノゲル (CUR-NG) 調製の最適条件の検討：

アルギン酸ナトリウム (SA) 水溶液に GM を加えた。この試料溶液に種々の濃度の塩化カルシウム水溶液を滴下しながら、超音波ホモジナイザーで超音波処理した。得られた CUR-NG の粒子径測定、および性状観察を行った。

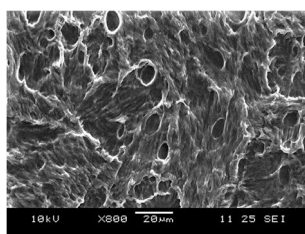
In vitro での CUR-NG の創傷治癒効果の検討：

ヒト皮膚繊維芽細胞 (NHDF 細胞) およびヒト表皮角化細胞 (HaCaT 細胞) を 10%FBS 含有 DMEM 培地で培養し、CUR-NG による NHDF 細胞、HaCaT 細胞の増殖能評価 (WST-assay)

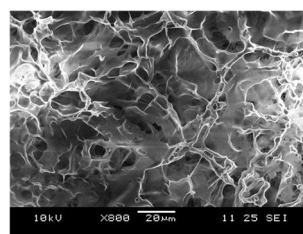
NHDF 細胞、HaCaT 細胞の移動能評価 (Scratch assay) を実施し、一定時間後に細胞の移動を撮影した。

4. 研究成果

(1) ゲル分率は ZnCl_2 含量の増加とともに低下し、照射線量が異なるゲルにおいても同様の傾向を示した (Fig.1)。最大膨潤度は、照射線量および ZnCl_2 含量の増加による変化は見られなかった。引張破断強度は ZnCl_2 を含むゲルでは弱くなり、 ZnCl_2 濃度の増加に伴い破断点までの変形距離が延長した。



(a) 10 w/v% EXCEVAL[®] 30 kGy



(b) 10 w/v% EXCEVAL[®] 50 kGy

Fig.1 SEM による形態観察画像

ZnCl_2 の放出は、試験開始 180 分以内に最大に達し、マトリックス内での拡散に依存することが明らかとなった。以上の結果より、本研究で調製したハイドロゲルは、モーズペーストに替わる新規ハイドロゲル製剤として応用可能と考える。

(2) 混合粉碎による CUR のナノ粒子化およびナノゲルの調製:

ナノ粒子の調製: PXRD 測定より、PM では CUR および P188 由来の回折ピークが認められたが、GM では CUR 結晶由来の回折ピーク強度のみ低下もしくは消失した。また、DSC 測定より、CUR 結晶の融解由来の吸熱ピーク (184.3 °C) は CUR:P188=1:1 以外の混合比率の試料では PM、GM 共に認められなかった。さらに、FT-IR 測定より、1625 cm⁻¹ に観察された CUR の C=O の伸縮振動由来のピークが GM では高波数側に 3~4 cm⁻¹ シフトした。混合比 1:7 の GM の CRU の溶解度は 7.52 μg/mL と、CUR 結晶 (11 ng/mL) と比較して約 683.6 倍増加した。試料の粒子径は、いずれの GM も単峰性の粒度分布を示し、P188 添加量の増加に伴い平均粒子径は低下する傾向を示した。最小平均粒子径は [CUR:P188=1:7 (wt:wt)] の GM において 219.4nm となり、CUR-NG の調製には本 GM を用いた (Table 1)。

Table 1. 混合粉碎物の平均粒子径

Sample	Particle Size (nm)	PDI
GM1:1	336.8±14.4	0.234±0.018
GM1:3	296.7±11.9	0.257±0.026
GM1:5	272.4±9.8	0.274±0.021
GM1:7	219.4±6.1	0.283±0.018
CUR	1661.0±91.9	0.879±0.035

CUR-NG 調製の最適条件の検討:

アルギン酸濃度 0.6%、P188 濃度 4.58mM、容量 50mL、PWM 55%、塩化カルシウム濃度 0.2wt/v% の条件において最小粒子径 (346.1 ± 5.6 nm) の NG が得られた。また蛍光顕微鏡観察により粒子の形成と粒子内部への CUR の均一な分散が認められた (Fig.2)。

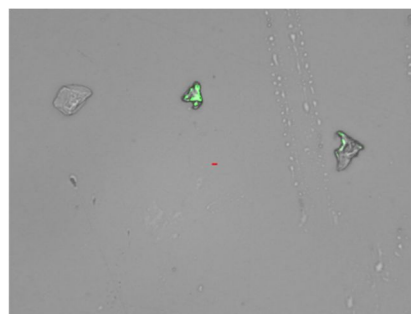


Fig.2 Fluorescence microscope image of CUR-NG

In vitro での CUR-NG の創傷治癒効果の検討:

WST-assay と Scratch assay の結果より、CUR を含む試料では NHDF 細胞の増殖と移動が促進された。特に CUR 濃度として 5、10 μM の CUR を含有する CUR-NG において増殖の促進が観察された。

以上の結果から、CUR を P188 と混合粉碎してナノ粒子化し、アルギン酸ゲルで内包した CUR-NG は、In vitro において創傷治癒効果を示すことが明らかとなった (Fig.3)。

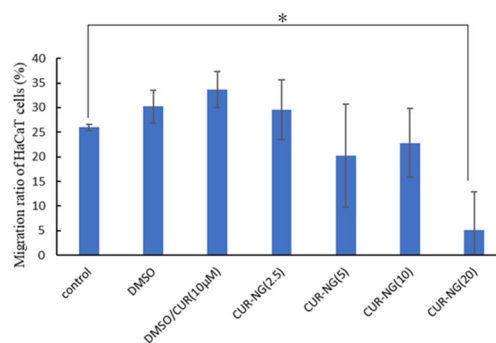


Fig.3 Migration of HaCaT Cells by various samples

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Fujisawa Chie, Hamanoue Makoto, Kawano Yayoi, Murata Daiki, Akishima-Fukasawa Yuri, Okaneyama Tetsuya, Minematsu Takeo, Sanada Hiromi, Tsuburaya Kayo, Isshiki Takuma, Mikami Tetsuo, Hanawa Takehisa, Akasaka Yoshikiyo	4. 巻 0
2. 論文標題 The Role for miR-146b-5p in the Attenuation of Dermal Fibrosis and Angiogenesis by Targeting PDGFR in Skin Wounds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2021.11.037	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 Kengo Mitsuya; Satoru Goto; Yuta Otsuka; Yayoi Kawano; Takehisa Hanawa	4. 巻 0
2. 論文標題 Saturated adsorption of lidocaine and coal tar dyes onto porous polytetrafluoroethylene	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 1914-1921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ra09086k	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 -

1. 著者名 (9) 全著者名 Aiju Endo, Atsushi Nemoto, Kazumi Hanawa, Takahiro Ishikawa, Mai Koshiisi, Yuki Maebayashi, Yohei Hasebe, Atsushi Naito, Yoshifumi Kobayashi, Katsuhiko Isobe, Yayoi Kawano, Takehisa Hanawa	4. 巻 0
2. 論文標題 Index for the appropriate vancomycin dosing in premature neonates and infants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatrics International	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.14905	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 -

1. 著者名 Yayoi Kawano, Olivier Jordan, Takehisa Hanawa, Gerrit Borchard, Viorica Patrulea	4. 巻 9
2. 論文標題 Are Antimicrobial Peptide Dendrimers an Escape from ESKAPE?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advances in Wound Care	6. 最初と最後の頁 1-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/wound.2019.1113	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 該当する

1. 著者名 Yayoi Kawano, Viorica Patrulea, Emmanuelle Sublet, Gerrit Borchard, Takuya Iyoda, Rihoko Kageyama, Asa Morita, Satoshi Seino, Hideto Yoshida, Olivier Jordan, Takehisa Hanawa	4. 巻 14
2. 論文標題 Wound healing promotion by hyaluronic acid: Effect of molecular weight on gene expression and in vivo wound closure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 301-319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph14040301	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 該当する

1. 著者名 Yayoi Kawano, Shiyang Chen, Takehisa Hanawa	4. 巻 587
2. 論文標題 Adsorption of a Poorly Water-Soluble Drug onto Porous Calcium Silicate by the Sealed Heating Method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2020.119637	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 Yayoi Kawano, Yuiko Utsunomiya, Fumiya Yokoyama, Naoko Ishii, Takehisa Hanawa	4. 巻 4
2. 論文標題 Preparation and Evaluation of Rebamipide Colloidal Nanoparticles Obtained by Cogrounding in Ternary Ground Mixtures	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Colloids and Interfaces	6. 最初と最後の頁 1-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/colloids4040043	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 N.N.S.Mai, Riko Nakai, Yayoi Kawano (Corresponding author), Takehisa Hanawa (Corresponding author)	4. 巻 8
2. 論文標題 Enhancing the Solubility of Curcumin Using a Solid Dispersion System with Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin Prepared by Grinding, Freeze-Drying, and Common Solvent Evaporation Methods	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmacy	6. 最初と最後の頁 203-216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmacy8040203	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7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 手島 涼太・大澤 重仁・河野 弥生・大塚 英典・花輪 剛久・菊池 明彦
2. 発表標題 弱塩基性創傷被覆材を志向したアルギン酸ゲルの調製と物性評価 (3) 発表区分
3. 学会等名 第11回CSJ化学フェスタ (7) 開催場所 (都市・会場名等)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takehisa Hanawa
2. 発表標題 development and Characterization of "Patient-Friendly Formulations" (3) 発表区分
3. 学会等名 International Research Network Initiative (IRNI) and International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Science (iPOPS) 2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星崎萌、河野弥生、花輪剛久
2. 発表標題 温度応答性高分子を用いた外用基剤の検討
3. 学会等名 第64回 日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村田大貴、河野弥生、岩野友香、嶋田修治、花輪剛久
2. 発表標題 褥瘡治療を目的とした温度応答性ゲル製剤の開発
3. 学会等名 第64回 日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 花輪剛久 河野弥生 花村優喜乃
2. 発表標題 ポリイオンコンプレックス形成を利用したヒアルロン酸含有創傷治療用製剤の開発
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 花輪剛久 河野弥生 仲井莉子
2. 発表標題 創傷治癒を目的としたCURナノ粒子の調製とその評価
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 成田壮秀, 河野弥生, 花輪剛久
2. 発表標題 イベルメクチン含有マイクロエマルジョンの物理化学的評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年会
4. 発表年 2020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	河野 弥生 (Kawano Yayoi) (50711660)	東京理科大学・薬学部薬学科・講師 (32660)	

6. 研究組織（つづき）

	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	田口 光正 (Taguchi Mitsumasa) (60343943)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 先端機能材料研究部・次長 (82502)	
研究分担者	廣木 章博 (Hiroki Akihiro) (10370462)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 先端機能材料研究部・主幹研究員 (82502)	
研究分担者	佐藤 光利 (Sato Mitsutoshi) (60231346)	明治薬科大学・薬学部・教授 (32684)	
研究分担者	飯嶋 哲也 (Iijima Tetsuya) (70324209)	山梨大学・大学院総合研究部・講師 (13501)	

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