

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460234

研究課題名(和文) 進行性乳癌の癌性皮膚潰瘍に対する皮膚貼付型ハイドロゲルの開発

研究課題名(英文) Development of hydrogel for treating the cancerous skin ulcer of progressive breast cancer.

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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：【背景・目的】進行性乳癌の癌性皮膚潰瘍の寛解を目的とし、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)水溶液に電子線を照射したハイドロゲルを調製した。

【結果・考察】ゲル分率はPAAcの添加量に応じて高くなった。塩基性条件では、HPMC/PAAcゲルはHPMC単体よりも膨潤度が高くなった。これは、PAAcのカルボキシル基が解離したことによる静電反発による可能性が考えられた。強度はPAAcを添加することで変化が生じた。ゲルからの薬物放出率に差は認められず、いずれも非Fick型の挙動を示した。これらの結果より、新規高分子の添加によりHPMCゲルの吸水能の向上が認められた。

研究成果の概要(英文)：In order to development the hydrogel for treating the cancerous skin ulcer of progressive breast cancer. The aqueous solution of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and poly acrylic acid (PAAc) was irradiated by electron beam in dose of 30 kGy and then HPMC/PAAc hydrogel was prepared. The concentration of HPMC and PAAc was 20% and 1-5%, respectively. To assess the effect of the addition effect of PAAc, gel fraction, gel swollen degree, gel strength test, drug release ratio and diffusion process were evaluated. Gel fraction was higher increased within increase in response to the added amount of PAAc. In the basic conditions, HPMC/PAAc gel became higher swollen degree than HPMC alone. By adding PAAc, gel strength was changed. Drug release was confirmed and drug release ratio of every hydrogel was over than 70% in the basic condition. The diffusion process from all hydrogels showed a non-Fickian diffusion.

研究分野：臨床製剤設計学

キーワード：ハイドロゲル 電子線 進行性乳癌 皮膚潰瘍 メトロニダゾール

1. 研究開始当初の背景

進行性乳がんのがん性皮膚潰瘍は浸出液の漏出や悪臭を生じる。臨床において、浸出液の漏出には吸水性を持つハイドロコロイド剤が用いられているが水分保持が不可能であること、また、悪臭にはメトロナダゾール軟膏を塗布するが、清拭時に出血や痛みを生じるという問題があり、効果的な製剤は開発されていない。

2. 研究の目的

本研究ではヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) 溶液に電子線を照射して作製したゲルには吸水性や保水性、薬物放出能があることを報告している。HPMC ゲルの吸水性を利用することで浸出液の漏出に対処し、臭気を軽減する薬物をハイドロゲルから放出することでがん性悪臭が軽減できると考えられ、HPMC ゲルはがん性皮膚潰瘍に対する有用な製剤になると期待できる。しかし、HPMC ゲルはハイドロコロイド剤よりも吸水力が低く、臨床への応用が難しい。そこで本研究では、HPMC ゲルの吸水力の向上を目的として新たに機能性高分子を添加した。また、新規高分子添加に伴うゲル分率、膨潤度、強度、薬物放出率への影響について検討した。

3. 研究の方法

3.1 試薬

モデル薬物としてメトロナダゾール (MTZ: ナカライテスク株式会社)、ゲルの基材としてヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC: メトローズ 90SH-4000、信越化学)、ポリアクリル酸 (PAAc: Mv:1, 250,000、SIGMA-ALDRICH) を用いた。

3.2 ゲルの調製

なんこう練太郎 (株式会社 THINKY) を用い、HPMC と PAAc を種々の濃度で、回転数 2000 rpm で粉体が消失するまで混練した (表 1)。混練後、ペースト状の試料をポリエチレン製フィルムで挟み、厚さ 2 mm になるようプレスし、電子線 (30 kGy、2 MeV、2 mA) を照射してゲルを調製した。

Table 1 Component of this hydrogel

HPMC(wt%)	PAAc(wt%)	Load(kGy)
20	0	30
	1	30
	2	30
	5	30

3.3 物性評価

1) ゲル分率の測定

調製したゲルを 35°C の恒温乾燥機中で 24 時間乾燥した。乾燥させたゲルを 80 mL の精製水中に入れ、96 時間洗浄を行った。洗浄後のゲルを 35°C の恒温乾燥機中で 24 時間乾燥させ、ゲルの重量を測定した。ゲル分率は以下の式 (a) で算出した。

ゲル分率 (%) = (洗浄後の乾燥ハイドロゲル /

洗浄前の乾燥ハイドロゲル) × 100... (a)

2) 膨潤度の測定

洗浄後ゲルの重量を測定し (W_0)、このゲルを ①精製水 ②HEPES pH7.4 ③HEPES pH7.7 ④HEPES pH8.2 の膨潤溶液に含浸した。浸出液の pH 条件下で測定を行うためモデルとして HEPES を用いた。48 時間後 (W_t) における重量を測定し、膨潤度を下記の式 (b) より算出した。

膨潤度 = $(W_t - W_0) / W_0$... (b)

3) 強度の測定

ゲルの強度は、クリープメータ (RE2-33005C、株式会社山電) を用いて測定した。洗浄後ゲルを各膨潤溶液で 48 時間膨潤させ、厚みを測定した。測定後、直径 3 mm のプランジャーを用い、0.5 mm/秒の速度で歪みをかけ、ゲルを破断した。破断点における荷重を測定し、その値を強度 (Pa) とした。

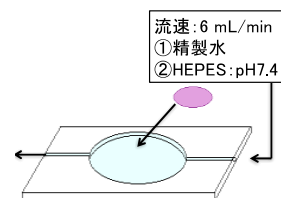
4) 薬物放出率の測定

a) MTZ 含有ゲルの作製

サンプル管に入った 10 mL の 0.1% MTZ 水溶液に洗浄後ゲルを含浸させ、24 時間静置し、35°C で 24 時間乾燥させて作製した。MTZ の含有量は、24 時間静置後の膨潤状態のゲル重量とサンプル管内の残液濃度から算出した。

b) 薬物放出率の測定

薬物放出試験装置を作成した (Scheme 1)。放出装置は中央部を創傷部位に見立て、右側



Scheme 1 薬物放出試験装置

から溶液を流すことで、浸出液の漏出をモデル化することができる。また、左側から溶液を採取することでゲルからの薬物放出量を測定できる。放出装置に MTZ 含有ゲルを設置した。まず、放出装置に放出溶液 ①精製水 ②HEPES pH7.4 を毎分 6 mL で流し、溶液を各時間 (W_t 分: 0、3、5、10、15、30、60、90、120、180) に採取し、HPLC を用いて濃度を算出し薬物放出率を測定した。薬物放出率は下記の式 (c) より算出した。

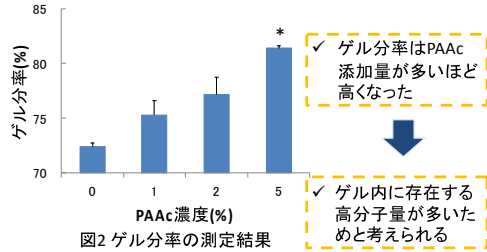
薬物放出率 (%) = (W_t までの累計薬物放出量 / MTZ 含有量) × 100... (c)

薬物放出挙動は、Korsmeyer-Peppas の経験則¹⁾を用いて解析を行った。

4. 研究成果

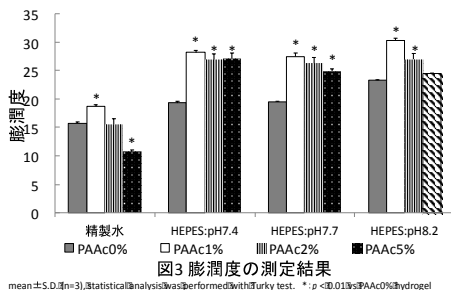
1) ゲル分率の測定

ゲル分率の結果を示す(図 2)。ゲルは高分子である PAAc を添加することで高くなるのが分かった。PAAc を 2%、5%添加したゲルは、HPMC を添加していないゲルよりも有意にゲル分率が高くなった。これは PAAc を添加したことでゲル内の高分子量が増加したためと考えられる。



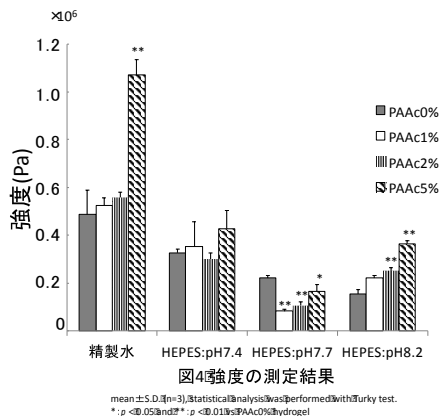
2) 膨潤度の測定

膨潤度の結果を示す(図 3)。精製水条件下では PAAc1%のゲルは PAAc を添加していないゲルよりも膨潤度は有意に向上した。PAAc2%ゲルは膨潤度に差はみられなかった。また、PAAc5%ゲルは添加していないゲルよりも膨潤度が有意に低下した。HEPES pH7.4 及び pH7.7 の条件下では、PAAc を添加したゲルは添加していないゲルよりも膨潤度は有意に向上した。HEPES pH8.2 のゲルでは PAAc1%と 2%のゲルは添加していないゲルよりも膨潤度は有意に向上した。一方で、PAAc5%では有意に低下した。塩基性条件下では、PAAc 由来のカルボキシル基が解離したことにより、静電反発が生じた結果、膨潤したと考えられる。



3) 強度の測定

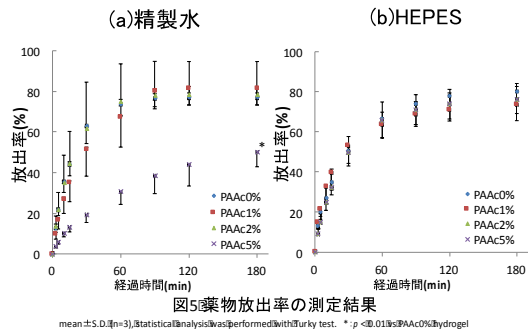
強度の結果を示す(図 4)。精製水条件下で



は、PAAc5%のみ、有意に強度が向上した。pH7.4 条件下では有意な差はみられなかった。pH7.7 条件下では全てのゲルに有意な差がみられた。pH8.2 条件下では 2%、5%に有意な差がみられた。膨潤度が高いハイドロゲルは強度が低下する傾向が見られたことから、今後は膨潤度との関係性を検討する必要がある。

4) 薬物放出率の測定

薬物放出率結果を示す(図 5)。精製水条件下においては、PAAc5%のみ薬物放出率が有意に低下した(図 5-a)。HEPES pH7.4 条件下では、薬物放出率に差はみられなかった(図 5-a)。



Korsmeyer-Peppas のプロットおよび薬物放出挙動の解析結果(表 3)から、いずれのハイドロゲルからの薬物放出は非 Fick 型を示した。精製水条件下では PAAc5%の薬物

Fick 型		非 Fick 型	
0	5	0	5
0.00	0.00	0.59	0.01
0.00	0.00	0.01	0.01
0.00	0.00	0.01	0.01
0.00	0.00	0.01	0.01

放出率が有意に低下した。PAAc5%のゲルは他のゲルよりも膨潤度が低く、ゲル内に存在する水分量が少ない。したがって、ゲル内の MTZ が十分に溶解せず放出率は低下したことが考えられた。

本研究は、がん性悪臭に苦しんでいるがん性皮膚潰瘍の患者を対象にした「患者にやさしい製剤の開発」を目標としている。この製剤が開発されることで患者の QOL が向上し、積極的ながん性皮膚潰瘍の治療への介入が期待できると考える。

<引用文献>

1) Philip L. Ritger, Nikolaos A. Peppas(1987) A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLITE RELEASE II . FICKIAN AND ANOMALOUS RELEASE FROM SWELLABLE DEVICES *Journal of Controlled Release*, 5 (1987) 37-42

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 8 件)

- ① Kawano, Y., Ishii, N., Shimizu, Y., and Hanawa, T., Development and characterization of a suspension containing nanoparticulated rebamipide for a mouth wash for stomatitis, *J. Pharm. Sci. Tech. Jpn.*, 77(2), 104-115 (2017). (査読あり)
- ② Miyajima, A., Hirota, T., Tashiro, M., Noguchi, W., Kawano, Y., Hanawa, T., Kigure, A., Anata, T., Yamamoto, Y., Yuasa, N., Koshino, M., Shiraiishi, Y., Yuzawa, K., Akagi, K., Yoshimasu, T., Makigami, K., and Komoda, M. Pharmacokinetics of ivermectin applied topically by whole-body bathing method in healthy volunteers, *J. Dermatol.*(2016).DOI:10.1111/1346-8138.13628 (査読あり)
- ③ Kawano, Y., Imamura, A., Nakamura, T., Akaishi, M., Satoh, M., and Hanawa, T., Development and characterization of oral spray for stomatitis containing irsogladine maleate, *Chem. Pharm. Bull.*, 64(12), 1659-1665 (2016). (査読あり)
- ④ Satoh, M., Kamada, A., Saito, M., Akaishi, M., Imamura, A., Kawano, Y., and Hanawa, T., Healing effects of irsogladine maleate on acetic acid-induced oral stomatitis in 5-fluorouracil-treated and -untreated syrian golden hamsters, *Research & Reviews in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 18-22 (2016). (査読あり)
- ⑤ Ishii, N., Kawano, Y., Suzuki, M., Komoda, M., Makino, K., and Hanawa, T., Effects of a camostat mesilate gargle on stomatitis caused by molecular target therapy: A case report, *Japanese Journal of Pharmaceutical Palliative Care and Sciences*, 9(3), 87-91 (2016). (査読あり)
- ⑥ 河野弥生、佐藤光利、花輪剛久、大学から発信する Evidence-based hospital formulation (EBHF), *医療薬学*, 42, 492-498 (2016). (査読あり)
- ⑦ 河野弥生、花輪剛久、医療現場のニーズを考慮した院内製剤の研究開発, *薬剤学*, 76(4), 217-223, (2016). (査読あり)
- ⑧ Kawano, Y., Sasatsu, M., Mizutani, A., Hirose, K., Hanawa, T. (Corresponding Author), and Onishi, H., Preparation and evaluation of stomatitis film using xyloglucan containing loperamide, *Chem. Pharm. Bull.*, 64(6), 1-6, (2016). (査読あり)

[学会発表] (計 3 件)

- ① Poloxamer407, 188 混合物の温度応答性

ゲル基剤への応用、高橋 里奈、河野 弥生、花輪 剛久、日本薬剤学会第 32 年会、2017 年 5 月 13 日、大宮、大宮ソニックシティ。

- ② ポリ塩化ビニルの温度応答性薬物担体への応用、瀬谷 翼、河野 弥生、花輪 剛久、日本薬剤学会第 32 年会、2017 年 5 月 11 日、大宮、大宮ソニックシティ。
- ③ 患者に優しい製剤の開発ーポリビニルアルコール系樹脂 (Exceval) のハイドロゲル製剤への応用ー、儘田 大、河野 弥生、大山 智子、廣木 章博、田口 光正、花輪 剛久、日本薬学会第 137 年会、2017 年 3 月 25 日、仙台、仙台国際会議場。

[その他]

ホームページ等

<http://www.rs.tus.ac.jp/hanawa-lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

花輪剛久 (Hanawa Takehisa)
東京理科大学・薬学部・教授
研究者番号：00302571

(2) 研究分担者

河野弥生 (Kawano Yayoi)
東京理科大学・薬学部・助教
研究者番号：50711660

研究分担者

飯嶋哲也 (Iijima Tetsuya)
山梨大学・医学部・講師
研究者番号：70324209

研究分担者

吉澤一巳 (Yopshizawa Kazumi)
東京理科大学・薬学部・講師
研究者番号：00711532

研究分担者

田口光正 (Taguchi Mitsumasa)
高崎量子応用研究所・
先端機能機材研究部・上席研究員
研究者番号：60343943

研究分担者

廣木章博 (Hiroki Akihiro)
高崎量子応用研究所・
先端機能機材研究部・主幹研究員
研究者番号：10370462