

平成２７年度戦略的基盤技術高度化支援事業

「生分解樹脂製マイクロニードルアレイのディスプレイ型装着技術の開発」

研究開発成果等報告書

平成２８年　５月

担当局

四国局

補助事業者

公益財団法人かがわ産業支援財団

目 次

第1章 研究開発の概要

1－1 研究開発の背景・研究目的及び目標

1－2 研究体制

1－3 成果概要

1－4 当該研究開発の連絡窓口

第2章 本論

第3章 全体総括

3－1 研究成果総括

3－2 知財

3－3 対外発表

3－4 今後の事業化に向けた取組み

研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

(研究開発の背景)

世界規模での高齢化による疾病構造の変化に伴って、ガン、認知症、骨粗鬆症など治療に対する満足度の低い疾病領域における開発ニーズが増加している。そして、技術の進歩により疾病に対する遺伝子レベルの理解や分類が成されるようになり、効果の高い治療への関心が高まっている。

その役割を担っているのがバイオ医薬品である。バイオ医薬品とは、バイオテクノロジーを用いて製造される医薬品で、遺伝子組換え技術や細胞培養技術により生産されるタンパク質や抗体医薬品、核酸医薬品などである。ガン、糖尿病、C型肝炎や慢性腎不全のような多くの慢性病だけでなく、血友病、ファブリー病、発育不全、多発性硬化症及びクローン病などのまれな病気も対象となり、世界中で3億5千万人以上の患者へ利益をもたらしている。バイオ医薬品は、世界の医薬品売上高上位品を占め、経年的にも増加傾向であり、その市場は、9兆円（2010年）から21兆円（2015年予測）に大きく伸長している（図1）。

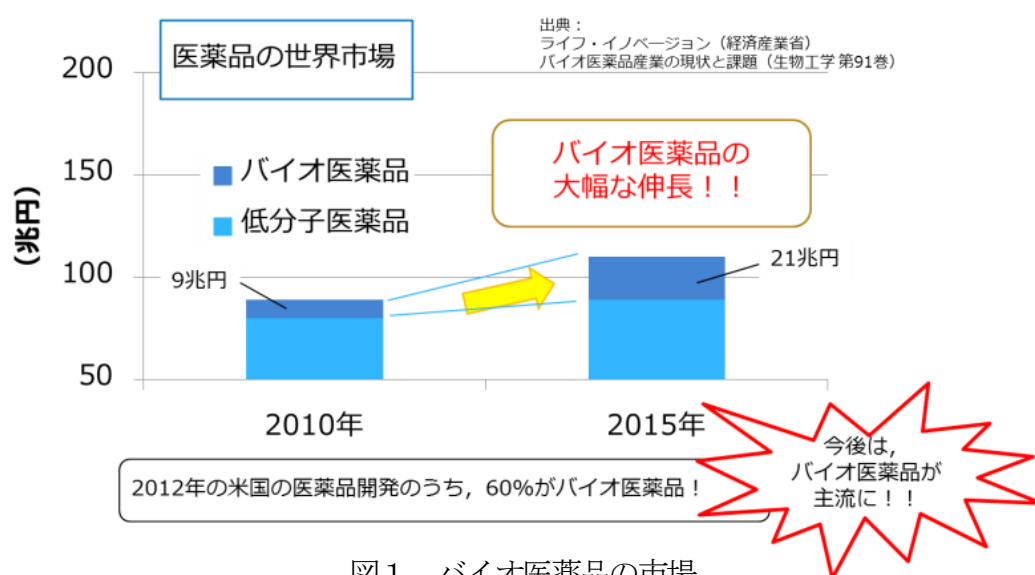


図1 バイオ医薬品の市場

しかしバイオ医薬品は、口から投与（経口投与）するとその成分の多くが消化管で分解され効果が殆ど得られない。皮膚から投与（経皮投与）した場合では、皮膚のバリア機能により高分子であるバイオ医薬品はほとんど吸収されない。そのため、投与方法は注射を介して薬剤を投与する方法が主流になっている。一方、注射による投与は患者に対する侵襲性（生体を傷つけること）が大きいいため、ノンコンプライアンス（投与方法が規則正しく守られない）な状況となりやすい。そこで、新しい投与技術(DDS)として、低侵襲性の薬剤投与技術の開発、強いてはコンプライアンスが良好（投与方法が規則正しく守られる）な薬剤投与技術が求められている。

このように注射に代わるコンプライアンスの良好な薬剤投与技術が望まれているなか、川下企業は、当該需要者の状況を鑑み、安全で信頼性の高い高分子医薬品の投与技術に資する研究開発の一つとして経皮吸収用のマイクロニードルの研究を進めている。

マイクロニードルとは、高さ数百 μm の微小針である。一般的には数百本のマイクロニードルを規則的に配列したアレイを皮膚内へ挿入して使用する。マイクロニードルを使用すると、皮膚のバリア機能を持つ角質層を突き破る為、バリア性は崩れ、薬物を体内へ吸収させることが可能となる。またマイクロニードルは、細くて短い為に、痛みを感じる事がなく、注射に代わる投与方法として、世界中が注目し、研究が進められている。

しかし、マイクロニードルは非常に細い為に、単に皮膚に押し付けただけでは、その押し込み方法によっては、マイクロニードルが曲がり、皮膚内に挿入されなくなる。(図2)。

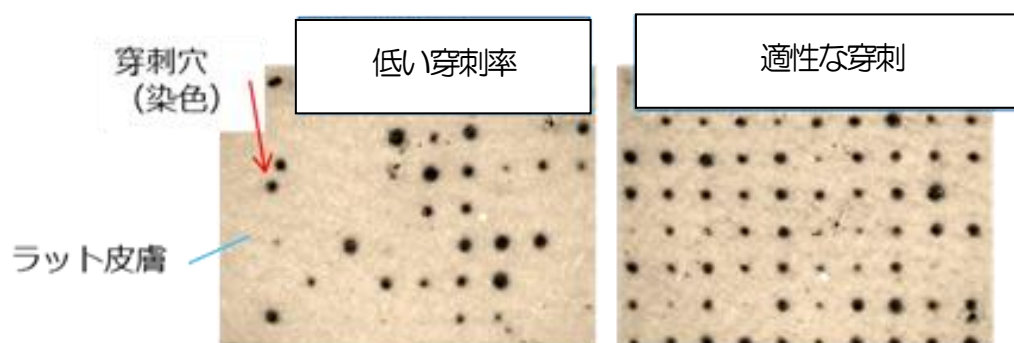


図2 挿入率の違い

そこで、競合各社は、マイクロニードルの研究と共に挿入技術についても研究を進めている。また、世界の主流である金属製のマイクロニードルは、折れによる皮膚内への金属の残存の危険性が問題とされている。そこで近年、万一皮膚内で折れても安全性の高い生分解性樹脂を原料にした特殊なマイクロニードルが開発されている。しかし、手で押し込むだけで投与するには、熟練された技術が必要とされ、熟練された技術を必要としない高い信頼性の挿入技術が求められている。

安全性のもう一つの観点としては、器具のディスポーザブル（使い捨て）が挙げられる。マイクロニードルを安全に高い信頼性で皮膚内に挿入するには、挿入器具が必要とされるが、皮膚内に挿入する際には、挿入器具による感染の危険性がある。安全に挿入するためには、挿入器具のディスポーザブル化も必須であり、低コストであることが必要である。

さらに、幼児から高齢者まで性別、部位などを問わずに高い信頼性でマイクロニードルを挿入できることが求められている。

しかし、世界におけるマイクロニードルを皮膚内に挿入するための技術の研究については、

マイクロニードルを皮膚内へ挿入させるために、バネなどの動的機構を使用した大型で複雑な機構を採用した方法が主流であり、マイクロニードルや皮膚に強い衝撃を与えるばかりでなくコストも高い。生分解樹脂製マイクロニードルにおけるディスポーザブルで手で押し込むだけの緩和な挿入技術を目指している川下企業のニーズに応えることはできない(図3)。

そこで、生分解樹脂製マイクロニードルの挿入技術として、年齢、性別、部位などを問わずに高い信頼性で挿入（皮膚への実装）できるディスポーザブルな挿入技術が求められている。

また、マイクロニードルによる薬剤投与技術の開発が世界中で進められているなか、川下企業は、世界初のマイクロニードル製品の上市に向け研究開発を進め、競争は非常に激化している。米国の ZOSANO 社は、臨床試験に進んだものの現在進行していない。国内においては、臨床研究に留まっている。そして、マイクロニードルによる新しい薬剤投与の実現には、マイクロニードルの形状及び製造技術のみならず、薬剤の塗布技術およびマイクロニードルの挿入技術などの各開発課題があり、それぞれの複合技術としての完成が待たれている。

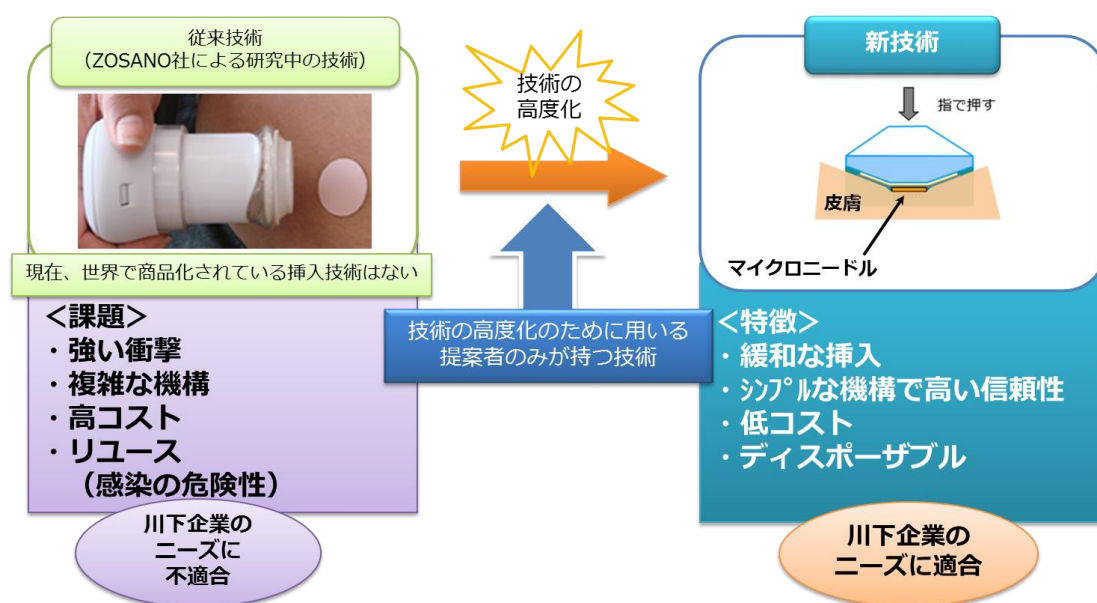


図3 従来技術と新技術の比較

(目的)

川下企業は、バイオ医薬品の新しい投与技術（DDS ドラッグ・デリバリー・システム）としてマイクロニードルでの安全で信頼性の高い投与を検討している。そして生体への安全性の観点から、生分解樹脂製マイクロニードルを手で押し込み投与することを想定しているが、現状は、皮膚へ挿入するために熟練された技術が必要となっており、熟練された技術を必要としなくても高い信頼性で挿入できる技術、及び感染防御の観点から、ディスポーザブル（使い捨て）が求められている。さらに、幼児から高齢者まで広い範囲で投与できる技術を求めている。

そこで、バイオ医薬品の新しい投与技術として、年齢、性別、部位などを問わずに高い信頼性で挿入できるディスポーザブルな挿入技術の高度化を目的とする。

(目標)

従来の大型で複雑な機構により金属製のマイクロニードルを挿入する装置の代替えとして、生分解樹脂製のマイクロニードルアレイを安全で高い信頼性で人体へ挿入するための技術開発における高度化目標を次の通りとする。

【1】 年齢、性別、部位を問わずに皮膚内へ挿入可能とする挿入技術の開発への対応

- 1) 基本機構を選定
- 2) 再現性がみられること

【2】 皮膚内に高い信頼性で挿入可能な技術の開発への対応

- 1) 基本機構を選定
- 2) 正確に作動すること

【3】 ディスポーザブル化のためのコンパクト技術の開発への対応

コストダウンの為にシンプル化及び小型化を図り、ディスポーザブルとする。

【4】 皮膚内への挿入性（効果）の評価

評価法を確立し、その評価法を用い、試作した挿入器具を用いマイクロニードルが皮膚内へ挿入されること

【5】 サンプル製造検討

- 1) プロトタイプを選定する。
- 2) 材料、成形方法、形状などを検討し、サンプル製造方法に目途をつける。

1－2 研究体制

(研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者)

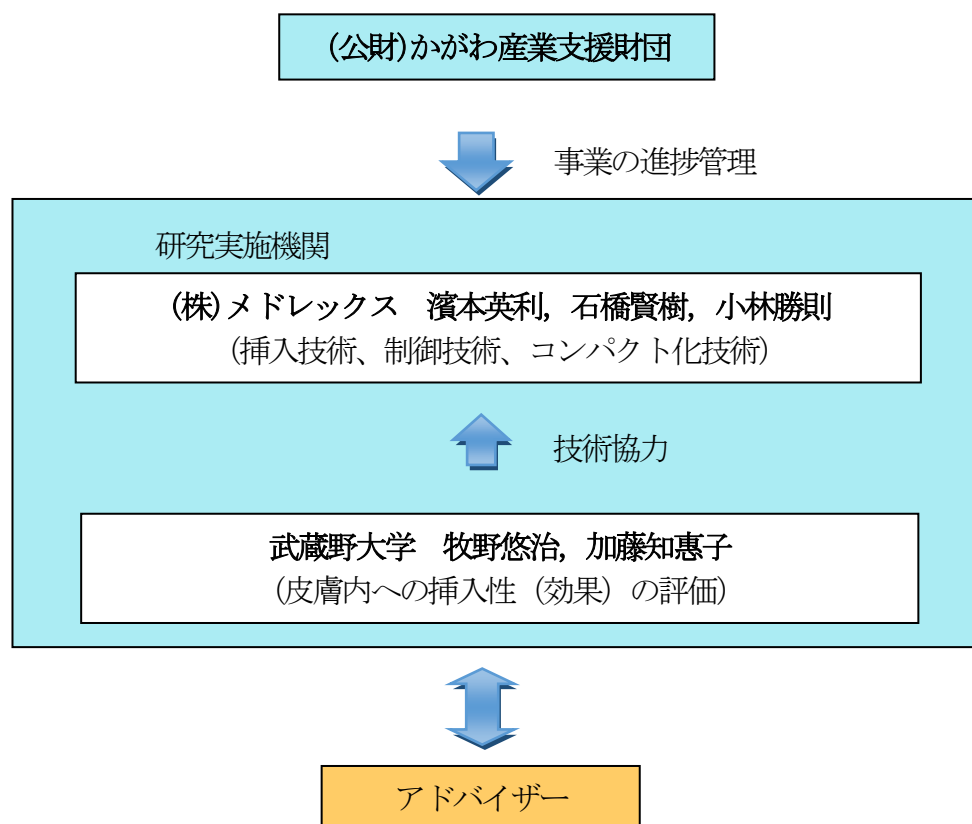


図4 体制図

1－3 成果概要

バイオ医薬品の新しい投与技術として、年齢、性別、部位などを問わずに高い信頼性で挿入できるディスポーザブルな挿入技術の高度化として、「年齢、性別、部位を問わずに皮膚内へ挿入可能とする挿入技術の開発」、「皮膚内に高い信頼性で挿入可能な技術の開発」及びディスポーザブルを想定した「コンパクト化」、また「穿刺性の評価法」について研究開発を実施した。

その成果として、挿入性技術では、操作方法によらずマイクロニードルが皮膚に対して高い信頼性で挿入する技術を完成することができ、コンパクト化も達成できた。

さらに、川下企業から追加要望として「マイクロニードルの多本数化（現状の数倍）」、「カートリッジ化」が出され、追加要望についても研究を実施し、多本数化のための弱い応力で穿刺できるシステムやカートリッジシステムを完成された。

また、世界で初めてX線 μ CTを利用した穿刺深度解析法により穿刺状態を鮮明な3D画像を得ることができ、その画像より穿刺深度を計測、評価する評価方法を確立することができた。

さらに、ミニブタを用いた穿刺性評価試験では、X線 μ CTを利用した穿刺深度解析法により、

十分な挿入性を確認することもできた。

1－4 当該研究開発の連絡窓口

株式会社メドレックス

研究部 小林勝則

Tel: 0879-23-3071

Fax: 0879-23-3072

E-mail : k-kobayashi@medrx.co.jp

第2章 本論

マイクロニードルは非常に細い為に、単に皮膚に押し付けただけでは、その押し込み方法によっては、マイクロニードルが曲がり、皮膚内に挿入されなくなる。本事業では、ディスポーザブルにも対応できるようにシンプルな機構として、手で押し込む技術を開発する。

そのために、生分解樹脂製のマイクロニードルアレイを安全で高い信頼性で人体へ挿入するための技術開発における5つの高度化目標を立て、それぞれに対して以下のように研究成果をあげた。試作品Aタイプがディスポーザブルタイプ、試作品Bタイプが多本数化に対応したカートリッジタイプ。

【1】年齢、性別、部位を問わずに皮膚内へ挿入可能とする挿入技術の開発への対応

- 1) 基本機構を選定
- 2) 再現性がみられること

評価項目：挿入性

基本機構を検討し、安定して垂直に皮膚にマイクロニードルを皮膚に進行させる機構を完成させた。

本機構において2タイプの試作品を作成し、試作品を操作したときのマイクロニードルアレイ挿入性を評価した（表1）。

表1 試作品のマイクロニードルの挿入性

タイプ	試作品タイプA		試作品タイプB		
条件	1	2	1	2	3
判定	適	適	適	適	適

タイプAにおいて2つの条件で試作品を操作し、タイプBにおいては3つの条件で試作品を操作した結果、全ての条件で目標をクリアした。

【2】皮膚内に高い信頼性で挿入可能な技術の開発への対応

- 1) 基本機構を選定
- 2) 正確に作動すること

評価項目：作動性

表2 評価結果

タイプ	試作品タイプ A		試作品タイプ B		
条件	1	2	1	2	3
判定	適	適	適	適	適

タイプ A において 2 つの条件で試作品を操作し、タイプ B においては 3 つの条件で試作品を操作した結果、全ての条件で正確に作動し、目標をクリアした。

【3】 ディスポーザブル化のためのコンパクト技術の開発への対応

評価項目：サイズ，重量

作成した最終試作品のサイズおよび重量を測定した。

表3 作成した最終試作品のサイズおよび重量

	試作品タイプ A		試作品タイプ B	
	サイズ	重量	サイズ	重量
判定	適	適	不適 (カートリッジ部のみでは適合)	適

試作タイプ A においてサイズおよび重量は目標をクリアした。

試作タイプ B においては、サイズが目標をクリアしなかったが、カートリッジ部のみでは達成した。

【4】 皮膚内への挿入性（効果）の評価

目標：(1) 評価方法の確立

(2) 穿刺性の評価（穿刺深度 100um 以上、穿刺率 90%以上）

(1) 評価方法の検討

マイクロニードルの穿刺性を評価する方法としては、間接法と直接法がある。間接法には組織学的方法と剥離マーカー長測定法があり、組織学的方法とは、マーカーを塗布したマイクロニードルを穿刺し、次いで抜いた後に、皮膚切薄くスライスして皮膚切片を作成し、皮膚組織内に残存したマーカーを検出し、穿刺深度を推定するものである。しかし皮膚切片の

作成には莫大な労力が必要であり、全てのマクロニードルの穿刺深度の測定は不可能に近い。

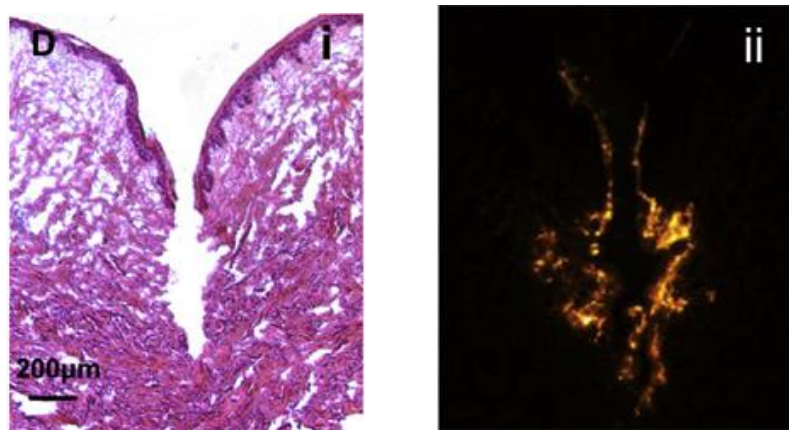


図5 顕微鏡観察 (左：断面標本、右：蛍光色素)

参考：Yeu-Chun Kim. et al., *J. of Controlled Release* (2010)

剥離マーカー長測定法は、マーカーを塗布したマイクロニードルを穿刺し、次いで抜いた後に、マイクロニードル表面の剥離されたマーカー長さから穿刺深度を推定する(図6)。マーカーが皮膚からの浸出液などにより溶解し拡散してしまう可能性があり、正確な計測とは言えない。

直説法としては、(OCT(Optical Coherence Tomography)法が報告されている(Elizabeth Ryan et.al., *Eur. J. Pharm. Sci.*, 47(2012), 297-304)。OCT法とはレーザー光の後方散乱光を利用するものであり、皮膚に穿刺したままの状態での穿刺深度を測定することが可能である。しかし、OCT測定は、光の屈折率が測定に影響され、皮膚とマイクロニードルの屈折率の異なる物質を測定すると、正確に測定することはできず、皮膚上にマイクロニードルを載せ、穿刺されていない状態でも深く穿刺されているように計測されてしまう(図8)。穿刺深度を測定するには、皮膚と基盤面との空気層部分の距離を測定するしかなく、マイクロニードルの先端部の穿刺状態などの観察はできず、間接的方法となっている。また、レーザー光が試料を透過しなくてはならない、尖った試料(Aspect比が大きい針)では適用できない、などの限界があり、事実、本実験で用いた光透過性の低い樹脂製アレイでは図9のような画像しか得られなかった。

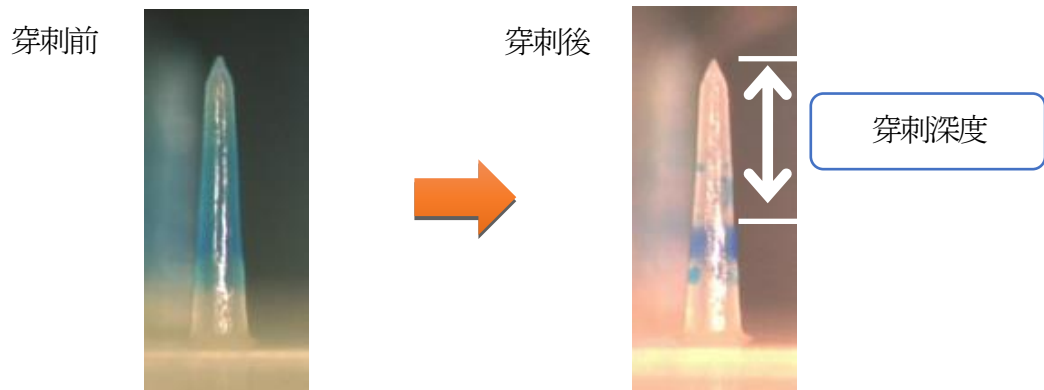


図6 剥離マーカー長測定法

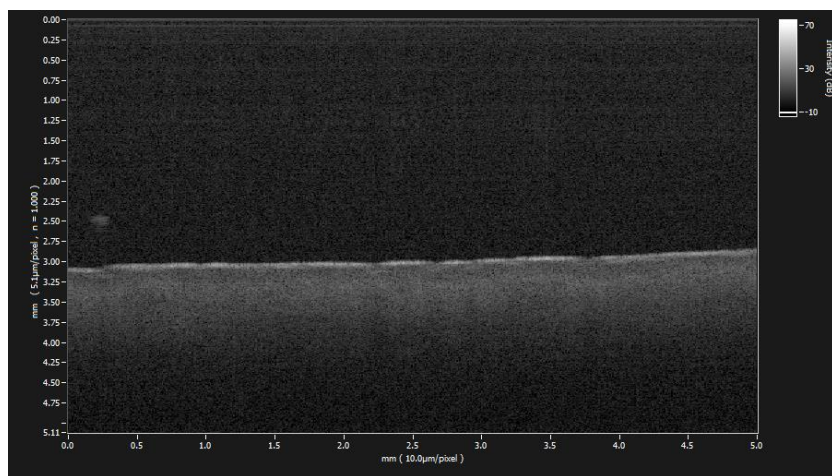


図7 皮膚のOCT測定画像

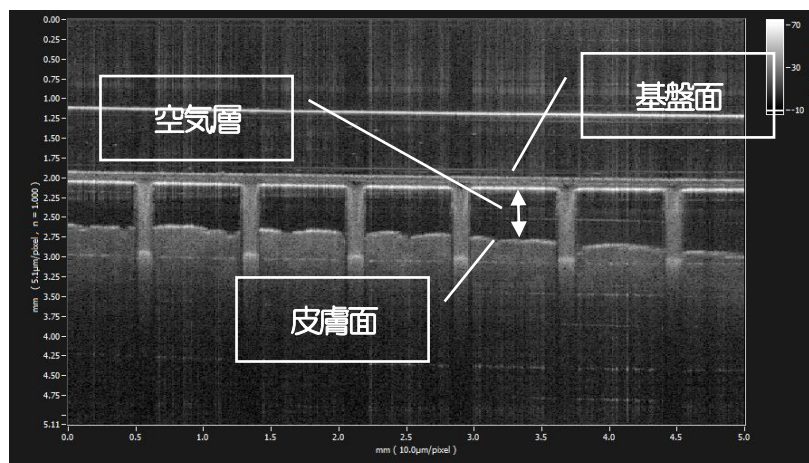


図8 皮膚にマイクロニードルを載せただけの画像

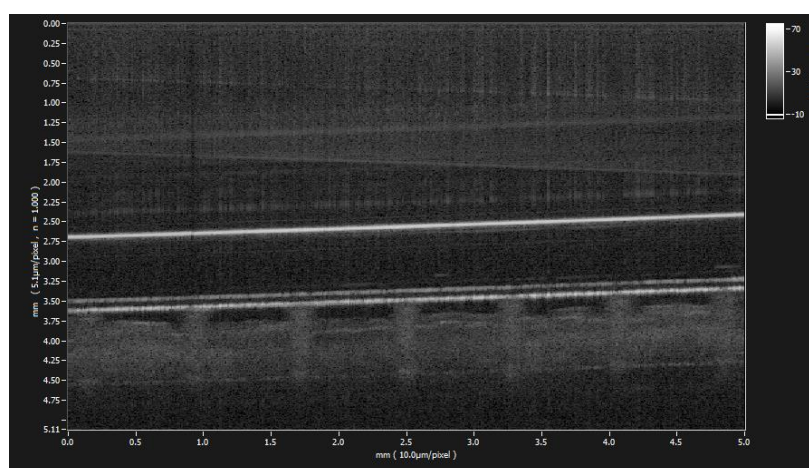


図9 皮膚にマイクロニードル穿刺した画像

そこで、本事業では、マイクロニードルを皮膚に穿刺したまま（＝直接法）、アレイ中の全てのマイクロニードルを短時間に測定する方法を検討した。

評価方法として、ラマン分光法とX線 μ CT法を検討した。ラマン分光法では、アレイ基盤及び皮膚に対してレーザー透過不良により評価法としては不適であった。

X線 μ CTは、X線管球とX線検出器を対向させて固定し、その間に測定対象物を設置して360度回転させて、ある断層面のあらゆる角度からのX線透過データを収集して、断層画像（CT画像）を計算するものであり、近年、X線技術の進歩により、焦点サイズが μ フォーカスレベルに縮小化が可能となったこと、またPC演算処理速度の向上により、高分解能、高速処理が可能となった技術である。

このX線 μ CTをマイクロニードルの穿刺性評価方法として検討した。本方法によりマイクロニードルが皮膚へ穿刺状態は鮮明な3D画像で短時間に評価することが可能となり、X線 μ CT法によりマイクロニードルの穿刺性を評価する方法を確立することができた（図10, 11, 12）。この方法では、OCTのように屈折率の違いなどに影響されることなく正確に

穿刺深度を計測することができる。

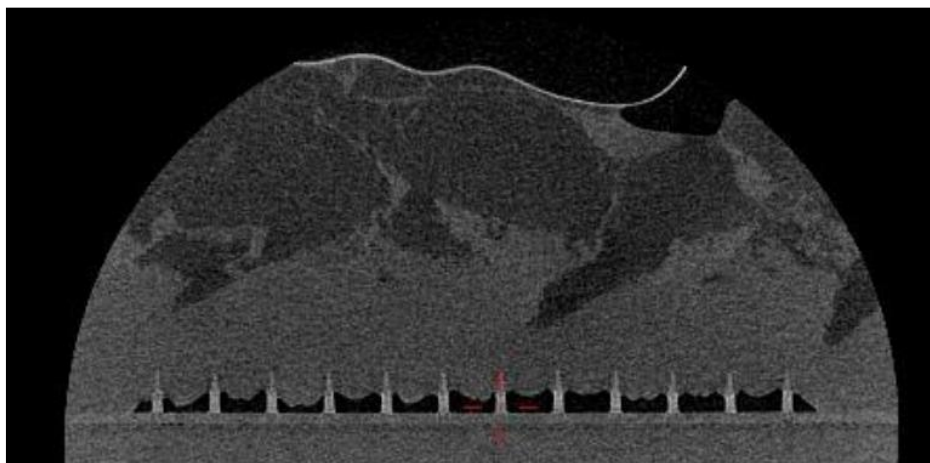


図 1 0 X 線 μ CT による穿刺性評価画像

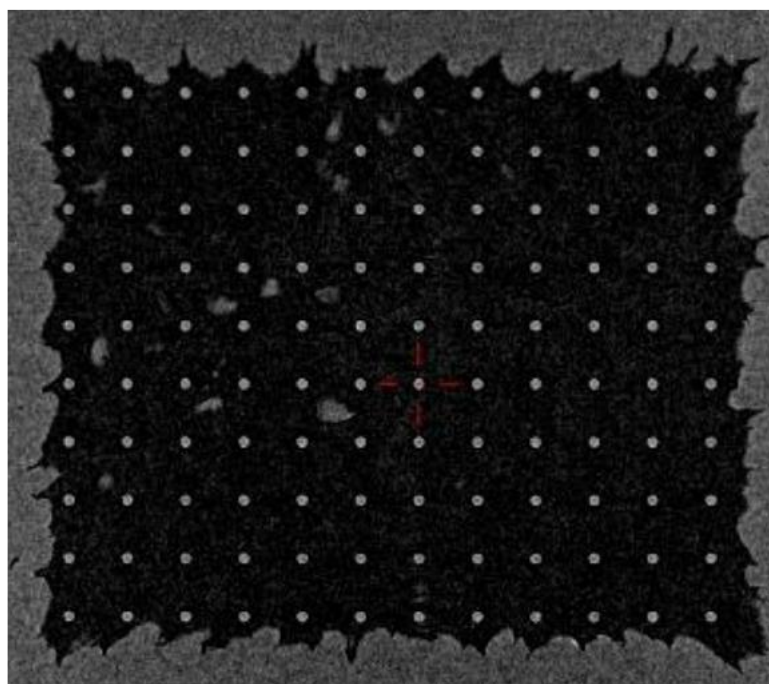


図 1 1 X 線 μ CT による穿刺性評価画像

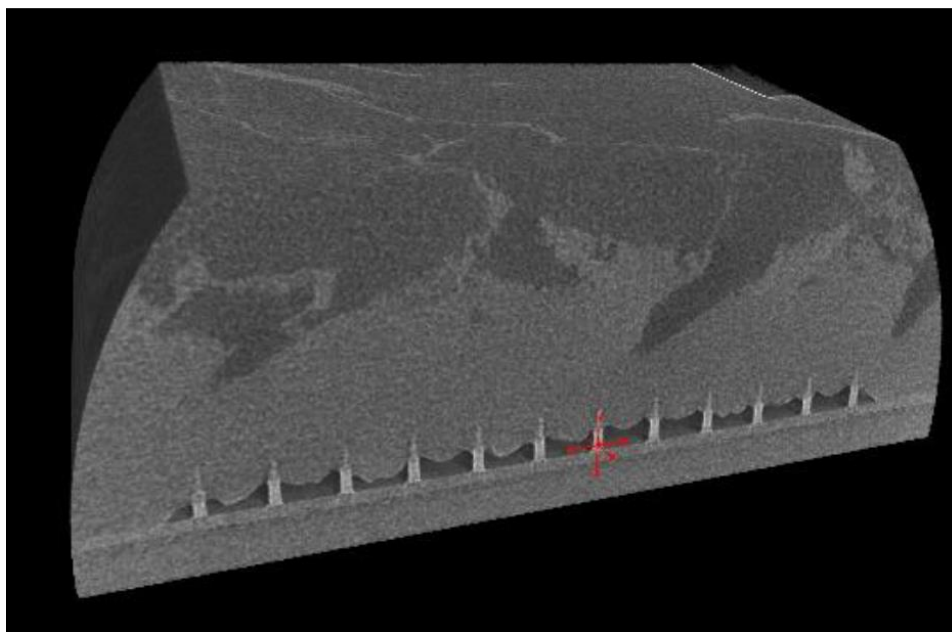


図1 2 X線 μ CTによる穿刺性評価画像

(2) 穿刺性の評価

in vitro（摘出皮膚での穿刺性評価試験）及び in vivo（ミニブタにおける穿刺性評価試験）を実施し、X線 μ CT法により穿刺性を評価した。

a) in vitro

a-1) 皮膚モデルの検討

in vitro（摘出皮膚での穿刺性評価試験）実施にあたり、皮膚弾性による穿刺性へ影響を避けるために、ヒト、ブタに近い弾性を持つ評価用のモデルを検討した。皮膚弾性をレオメータを用いて測定し、弾性体の上に皮膚が設置される多層構造からなる皮膚モデルを作成した（図1 3）。

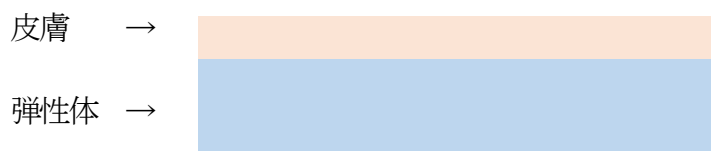


図1 3 皮膚モデル

a-2) 穿刺性の評価

試作検討中の機構について、皮膚モデルを使用して穿刺性の評価をし、その結果をフィードバックして機構の最適化をおこなった。

<方法>

1. 皮膚モデルに試作品を用いてマイクロニードルを穿刺した。
2. 穿刺後、マイクロニードルを穿刺まま、皮膚を X 線 μ CT で評価した。

<結果>

検討の結果、in vitro において、良好な穿刺性が得られる試作品が完成した。
in vivo での評価を実施することにした。

b) in vivo

最適化された試作品について、穿刺性をミニブタを用いて評価した。
評価項目：穿刺深度，穿刺率

<方法>

1. マイクロニードルに薬液(placebo)を塗布した。
2. ミニブタ背部に試作品を用いてマイクロニードルを穿刺した。
(マイクロニードルは薬液塗布有/無の両方を試験した)
3. 穿刺条件は3条件とした。
4. 穿刺後、ミニブタを安楽死させ、穿刺部位の皮膚をマイクロニードルと共に採取した。
5. 採取した皮膚を X 線 μ CT で評価した。

<結果>

全ての条件で目標をクリアし、穿刺深度と穿刺率の目標をクリアした。

表4 薬液の塗布なし

条件	試作品タイプ A	試作品タイプ B
1	達成	達成
2	達成	達成

表5 薬液の塗布あり

条件	試作品タイプA	試作品タイプB
1	適	適
2	適	適

【5】 サンプル製造検討

目標： 1) プロトタイプを選定する。
2) 材料、成形方法、形状などを検討し、サンプル製造方法に目途をつける。

検討した機構について、装置としての具現化を検討した。

試作品の製作のため、設計検討し設計図を作成し、材料および成形方法を検討した。作成した設計図から試作品を作成し、作成した試作品について、前項の in vitro 試験、in vivo 試験を実施し、試作品としての適性を評価した。評価結果からの改善点を検討、設計の見直し、再評価を実施した。

検討の結果、動作確認、穿刺性の評価（前項）により、プロトタイプを決定でき、また、サンプル製造方法に目途をつけた。

第3章 全体総括

3-1 研究成果総括

本事業により、以下の技術が完成した。

① 挿入性に関する技術

指で押し込むにも関わらず、操作方法によらずマイクロニードルが常に皮膚に対して垂直に侵入し、適切にマイクロニードルが皮膚に挿入される技術が完成した。

それにより、年齢、性別、部位を問わずにマイクロニードルを皮膚内へ挿入することが可能となった。

② 高い信頼性で挿入可能な技術

高い信頼性で挿入できる技術が完成した。

それにより、正確にマイクロニードルを皮膚内へ挿入することが可能となった。

③ プロトタイプ

ディスプレイタイプと多本数マイクロニードルに対応したカートリッジタイプのプロトタイプを完成し、サンプル製造に目途を付けた。

3-2 知財

国内出願 4 件，国際出願 1 件を行った。

3-3 対外発表

○学会

第31回日本DDS学会（2015年） 発表

X線 μ CT 法によるマイクロニードルの皮膚穿刺性評価

牧野悠治¹、加藤千恵子¹、國本崇²、小林勝則³、石橋賢樹³、濱本英利³

¹ 武蔵野大学 薬学研究所 ² 徳島文理大学 理工学部 ³ 株式会社 メドレックス

第4回マイクロニードル国際学会（MICRONEEDLES 2016） 発表

IN VITRO AND IN VIVO IMAGING OF

PENETRATED MICRONEEDLES BY X-RAY MICRO CT

Y.Makino¹, C.Kato¹, T.Kunimoto², H.Hashizume³, K.Kobayashi⁴, M.Ishibashi⁴,

H.Hamamoto⁴

¹Musashino University, ²Tokushima Bunri University, ³Yamato Scientific Co.,Ltd, ⁴Medrx Co.,Ltd

3-4 今後の事業化に向けた取組み

今年度は、使いやすさ及び、誤作動、誤操作を防ぐユーザービリティ検討を加え、ユーザー評価用サンプルを製造しユーザー評価を得て、その結果をフィードバックし、改良を加え、最終製品形態に仕上げる計画である。

その後、ユーザーである製薬メーカーと協力し、臨床試験等を実施し、早期の上市を目指す。

以上