

## C. 研究結果

### C.1. 針到達深度の解析

MH500あるいはMH800をヒト皮膚に貼付して5秒後に剥離し、共焦点レーザー生体顕微鏡によりMH適用部位の皮膚を観察した (Fig. 3)。皮膚表面には穿刺孔が鮮明に観察され、皮膚断面画像では少なくとも深さ100  $\mu\text{m}$ まで針部の到達が確認された。ヒト皮膚では角質層が10~20  $\mu\text{m}$ 、生きた表皮が約200  $\mu\text{m}$ の厚さであることから、MHのニードルはヒト皮膚においても装填された抗原を角質層下の生きた表皮に送達可能であることが示された。また、MH貼付時間の延長に伴ってこれらの穿刺孔は塞がる傾向が認められた (Fig. 4)。したがって、MHを数時間適用した皮膚においてはバリア機能の破壊や二次感染の危険性を考慮する必要はほとんどないことが示唆された。

### C.2. 針部溶解性ならびに皮膚水分蒸散量の評価

MHは皮膚内で針部が溶解することによって、装填した抗原を経皮送達できるように設計されていることから、ヒト皮膚における微小針の溶解性を検証した。MH800を1時間貼付すると、3名の被験者のうち2名では針部が根元近くまで溶解し、残りの1名では針部は半分程度溶解した (Fig. 5)。また、6時間貼付すると全ての被験者で針部全体の溶解が確認された。したがって、針部溶解に要する時間には個人差が認められたものの、臨床研究での安全性評価におけるMHの貼付時間は6時間が妥当であろうと判断した。

MHは角質層に直接孔を開けることから、皮膚バリア機能への影響が懸念される。そこで、皮膚水分蒸散量を指標に角質層のバリア機能を評価した。MH800剥離直後の皮膚では水分蒸散量が顕著に増加しており、角質層を貫通した穿刺孔による影響が考えら

れた (Fig. 6)。その後、剥離部位の水分蒸散量は時間経過とともに徐々に低下し、皮膚バリア機能の回復、すなわち、穿刺孔の閉塞が確認された。さらに、5秒間貼付あるいは1時間貼付と比較して、6時間貼付では水分蒸散量が全体的に小さく、長時間貼付することでニードルが完全に溶解し、貼付中すでに穿刺孔の閉塞が始まっているものと推察された。

### C.3. MHのヒトにおける安全性評価

各種MHを6時間貼付して剥離した2日後の皮膚を観察すると、MH300適用では被験者20名中1名、MH500適用では12名、MH800適用では13名において、わずかな紅斑を認めた (Table 3)。しかし、これら軽度の局所反応はほとんどの被験者において1週間以内に消失し、1ヶ月後には全ての被験者で元の皮膚状態に回復した。また、針が長いMH500およびMH800の貼付では、毛細血管の傷害に伴う血色素漏出 (紫斑) が3日後におよそ半数の被験者に認められた。しかし、軽度の色素沈着が残存した1名を除き、遅くとも1ヶ月後には元の皮膚状態に回復した。したがって、MHの貼付は一過性の弱い皮膚刺激を伴うのみであり、重篤な局所反応を惹起しないことが明らかとなった。

また、MH貼付前後でいずれの被験者の血液検査値にも明らかな差異は無く、顕著な全身性の副作用は認められなかった。

さらに、MH貼付時における痛みを17名の被験者においてVASにより評価した。VASスコアについてSteel-Dwass法による多重比較を行った結果、MH-needleless、MH300、MH500、MH800の間で大きな差異は認められなかった (Table 4)。MH-needlelessにおいてもVASスコアの上昇が観察されたのは、貼付時のバネ式アプリケーションの打撃による影響と考えられるが、そのスコアは最大の痛みを100とするVAS評価において軽微であ

った。したがって、MHの皮膚への貼付において針部の穿刺に伴う痛みはほとんどないことが示された。

#### D. 考察

経皮ワクチン製剤はその簡便性・普及性から開発途上国において、さらには大規模接種にも対応し得ることから先進国においても、有用な新規ワクチン製剤として期待されている。また、皮内投与がこれまで臨床で実施されてきた皮下注射や筋肉内注射と同等以上の免疫応答を誘導し、経皮投与がワクチン効果を高める可能性が示唆されている (N. Engl. J. Med. 351, 2295-2301, 2004)。最近、皮内マイクロインジェクションデバイスとして開発された Soluvia™ (Becton Dickinson, Vaccine 25, 8833-8842, 2007) を用いた三価季節性インフルエンザワクチン製剤、Intanza®/IDflu® (Sanofi Pasteur SA, Adv. Ther. 29, 41-52, 2012) が上市された。これは、皮内ワクチン接種が従来までの注射型ワクチン接種法と比較して簡便性・有効性の観点から重要視されていることを窺わせるものであり、事実、世界的に様々なマイクロニードルデバイスの開発研究が行われている。しかし、Intanza®/IDflu®は抗原溶液が充填されたプレフィルドシリンジと使い捨てのマイクロニードルデバイスを連結して使用するものであり、従来の注射型ワクチン製剤と同様に抗原溶液の室温保存への対応や医療廃棄物の削減までは望めない。

一方、我々が独自に開発した MH は抗原を装填した微小針を有するシート状の乾燥製剤であり、室温保存による安定性が保証されている。また、注射ワクチン製剤と比較すると使用後の廃棄物量は大きく削減することができる。今回、MH がヒトにおいて安全な経皮ワクチンデバイスであることを実証し、簡便性・普及性に優れる経皮ワクチン製剤の開発を基礎研究から臨床研究へと展開させる足掛かりを得ることができた。これら安全性評価の結果に基づいて、現在、インフルエンザ HA 抗原を装填した MH 製剤

のヒトにおける安全性ならびに有効性を検証する臨床研究に着手している。

## E. 結論

- MH のヒト皮膚に対する穿刺特性を明らかとし、本デバイスがヒトに安全に適用できることを実証した。

## F. 健康危険情報

該当事項なし

## G. 研究発表

### G.1. 論文発表

該当事項なし

### G.2. 学会発表

- 1) 廣部祥子, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 小豆澤宏明, 片山一朗, 鈴木 博, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルの穿刺特性および安全性に関する臨床研究: **第 27 回 日本 DDS 学会学術集会**, 東京, 2011 年 6 月 9-10 日
- 2) 廣部祥子, 松尾一彦, 横田やよい, 権英淑, 神山文男, 小豆澤宏明, 片山一朗, 森川彰子, 井上龍巳, 角田秀信, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 皮膚内溶解型マイクロニードルを用いた貼るワクチンの実用化に向けて: **第 10 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィォーラム 2011**, 仙台, 2011 年 10 月 8-9 日
- 3) 廣部祥子, 松尾一彦, 権 英淑, 神山文男, 浅田秀夫, 小豆澤宏明, 片山一朗, 鈴木 博, 向 洋平, 岡田直貴, 中川晋作: 経皮ワクチン製剤「貼るワクチン」の実用化を目指した橋渡し研究ーヒトにおける安全性・有効性の評価: **第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会**, 神戸, 2011 年 10 月 22 日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### H.1. 特許取得

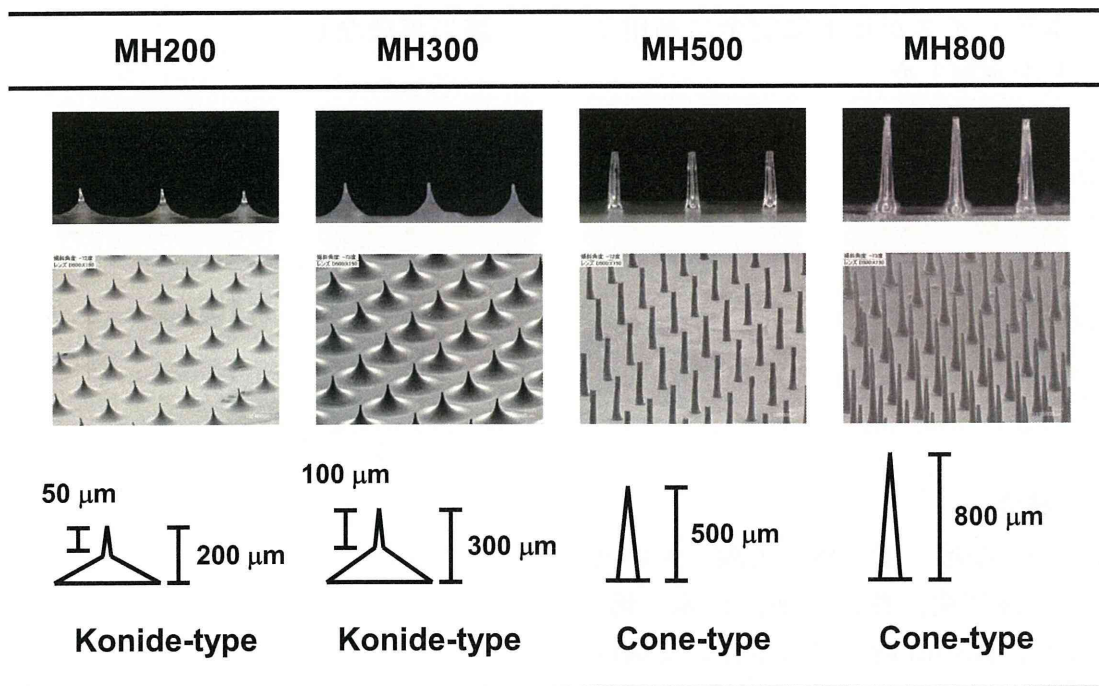
該当事項なし

### H.2. 実用新案登録

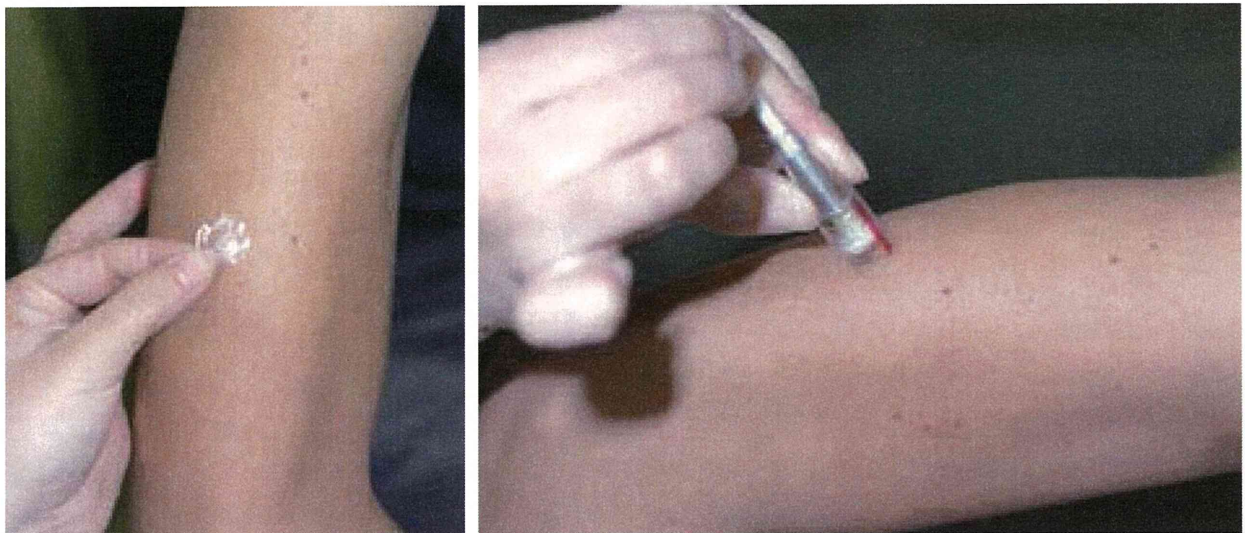
該当事項なし

### H.3. その他

該当事項なし



**Fig. 1** Dimension of self-dissolving microneedle array (MicroHyal; MH).



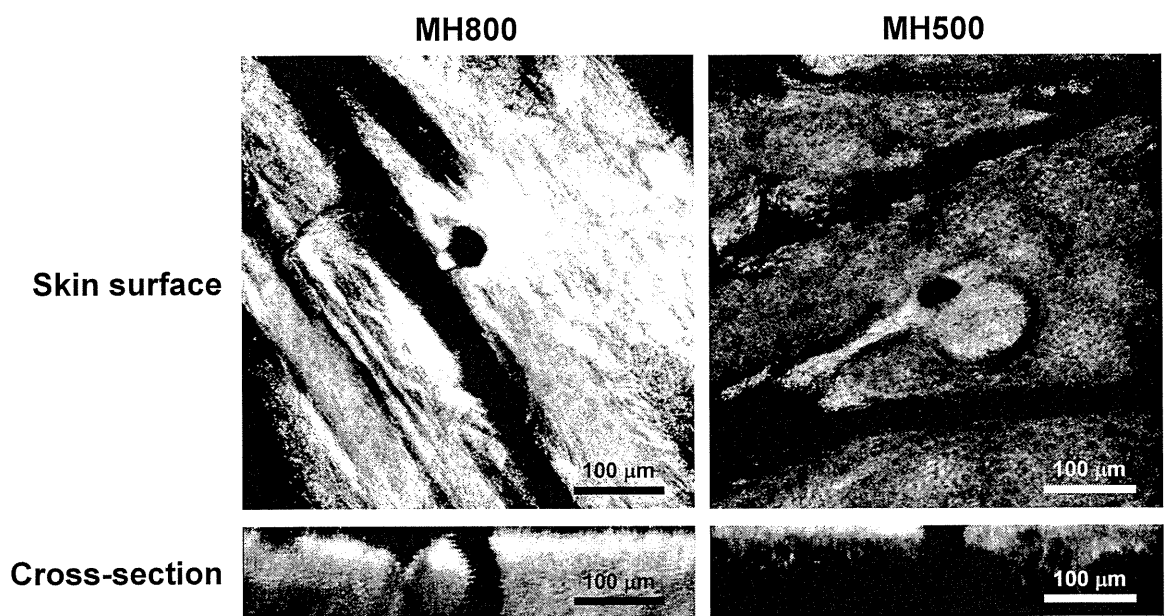
**Fig. 2** Images of MH application to human skin.

**Table 1** Procedure of clinical study

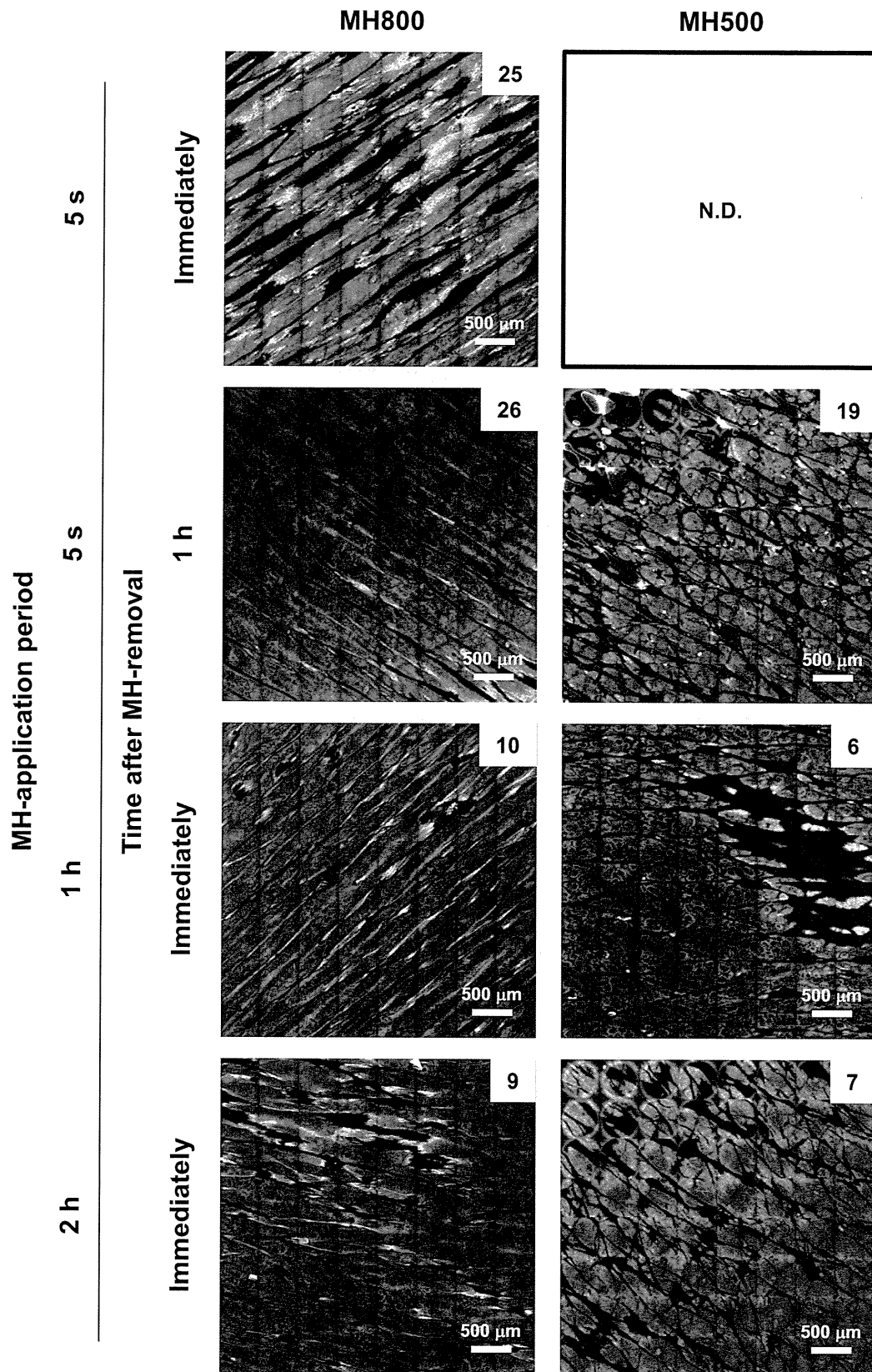
	Time after experimental beginning					
	0	6 h	2 d	3 d	7 d	30 d
<b>MHs</b>	Application	Removal				
<b>ICDRG scoring</b>			●	●	●	●
<b>Purpura evaluation</b>						
<b>Blood test</b>	●		●			

**Table 2** Scoring of patch test according to ICDRG

Score	Reactions
-	Negative reaction
+?	Doubtful reaction; faint erythema only
+	Weak (non-vesicular) positive reaction; erythema, infiltration and possibly papules
++	Strong (vesicular) positive reaction; erythema, infiltration, papules, vesicles
+++	Extreme positive reaction; bullous reaction
IR	Irritant reaction

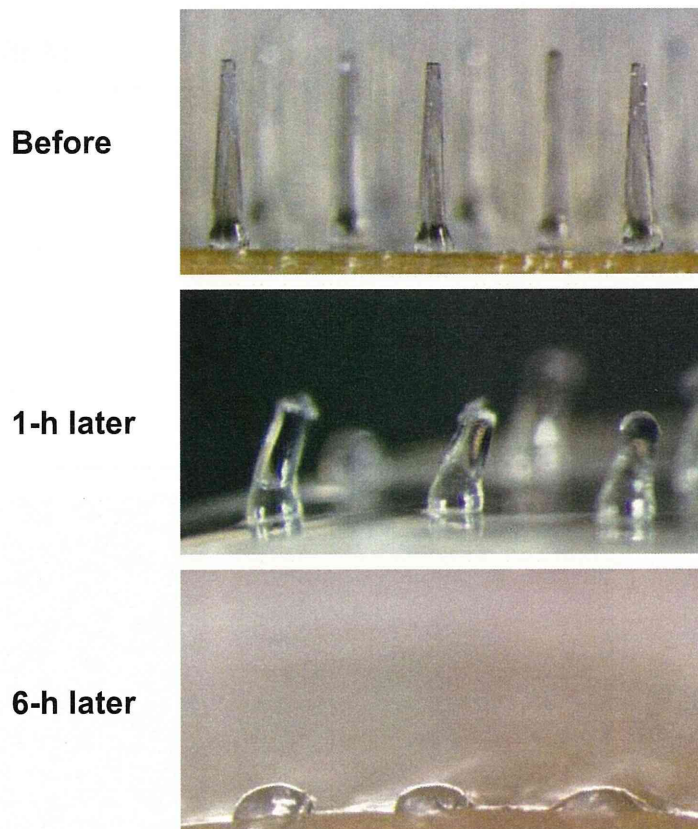


**Fig. 3** In vivo confocal microscopic images after MH application on human skin. MH800 or MH500 was applied to the skin of left lateral upper arm of 2 healthy volunteers for 5 second, and then skin images were immediately photographed under in vivo confocal scanning laser microscope.

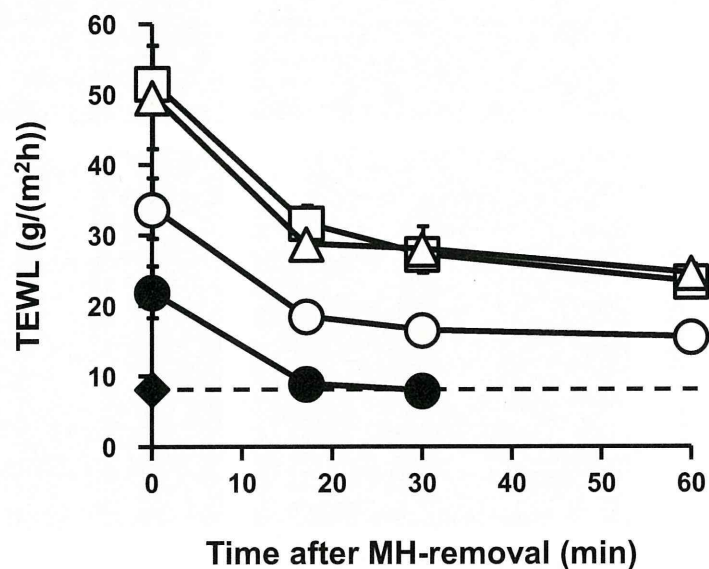


**Fig. 4** In vivo confocal microscopic images after MH application on human skin. MH800 or MH500 was applied to the skin of left lateral upper arm of 2 healthy volunteers for 5 second, 1 hour, or 2 hours, and then skin images were immediately or 1-hour later photographed under in vivo confocal scanning laser microscope. Numerical values shown at upper right in each photo indicate the number of puncture holes in the field of view. N.D.; not determined.





**Fig. 5** Stereoscopic microscopic images of MH800 after application to human skin. The MH800 was applied to the skin of left lateral upper arm of healthy volunteer for 1 h or 6 h, and then the microneedle arrays were immediately observed under stereoscopic microscope.



**Fig. 6** Transepidermal water loss (TEWL) after MH application. MH800 were applied to the skin of left lateral upper arm of 3 healthy volunteers for 5 sec (□), 1 h (△), or 6 h (○). As control, MH-needleless was applied for 6 h (●). At the indicated time after MH-removal, TEWL of the application sites was measured. Data are expressed as mean  $\pm$  SE of results from 3 subjects. ◆; TEWL of untreated skin.

**Table 3** Local adverse event after application of MHs

MH	Day	ICDRG score			Purpura
		-	+?	+	
MH300	2	19/20 (95.0%)	1/20 (5.0%)	0/20 (0%)	0/17 (0%)
	3	20/20 (100%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/17 (0%)
	7	20/20 (100%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/17 (0%)
	30	20/20 (100%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/17 (0%)
MH500	2	8/20 (40.0%)	12/20 (60.0%)	0/20 (0%)	6/17 (35.3%)
	3	13/20 (65.0%)	6/20 (30.0%)	1/20 (5.0%)	8/17 (47.1%)
	7	19/20 (95.0%)	0/20 (0%)	1/20 (5.0%)	6/17 (35.3%)
	30	20/20 (100%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/17 (0%)
MH800	2	7/20 (35.0%)	13/20 (65.0%)	0/20 (0%)	6/17 (35.3%)
	3	13/20 (65.0%)	7/20 (35.0%)	0/20 (0%)	10/17 (58.8%)
	7	19/20 (95.0%)	1/20 (5.0%)	0/20 (0%)	5/17 (29.4%)
	30	20/20 (100%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/17 (0%)

**Table 4** Pain scale assessment on MH application

ID	MH-needleless	MH300	MH500	MH800
01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
03	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
04	5	5	8.5	8.5
05	3	3	6	6
06	12	12	21	24
07	13	13	27	30
08	19	34	51	51
09	16	17	23	23
10	11	11	12	11
11	2	2	2	3
12	3	20	12	28
13	16	16	17	16
14	0	6	10	6
15	30	15	28	32
16	10	12	15	19
17	6	10	11	11
18	0	15	29	41
19	7	11	7	8
20	0	0	0	0
<b>Mean ± SD</b>	9.0 ± 8.1	11.9 ± 8.0	16.4 ± 12.5	18.7 ± 14.2

N.D.; not determined

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作	新規経皮ワクチンデバイスに応用した経皮ワクチン製剤（貼るワクチン）の開発	杉林堅次	次世代経皮吸収型製剤の開発と応用	シーエムシー出版	東京	2011	177-184
松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作	感染症予防対策に資する画期的経皮免疫製剤（貼るワクチン）の開発	森下真莉子	次世代バイオ医薬品の製剤設計と開発戦略	シーエムシー出版	東京	2011	231-237
廣部祥子, 岡田直貴, 中川晋作	経皮ワクチン製剤の実用化に向けた取り組み		バイオ・ゲノム関連医薬品開発におけるニーズ・技術動向・開発ノウハウ	技術情報協会	東京	2011	189-196

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kazuhiko Matsu o, Yayoi Yokot a, You Zhai, Yiu ing-Shu Quan, Fum io Kamiyama, Yo hei Mukai, Naoki Okada, and Shins aku Nakagawa	A low-invasive and effective transcutaneous immunization system using a novel dissolving microneedle patch for soluble and particulate antigens	J. Control. Release	in press		2012
Kazuhiko Matsu o, Sachiko Hiro be, Yayoi Yokot a, Yurika Ayab rre, Masashi Set o, Ying-Shu Qu a, Fumio Kamiy ama, Takahiro T ogan, Toshihiro Horii, Yohei M ukai, Naoki Ok ada, and Shins aku Nakagawa	Transcutaneous immunization using a dissolving microneedle array protects against tetanus, diphtheria, malaria, and influenza	J. Control. Release	in press		2012
松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作	感染症予防対策に資する経皮免疫製剤（貼るワクチン）の開発	日本臨牀	69(9)	1561-1566	2011
松尾一彦, 岡田直貴, 中川晋作	マイクロニードル型経皮ワクチン製剤（貼るワクチン）の開発	総合臨牀	60(11)	2211-2214	2011

## 2 新規経皮ワクチンデバイスを応用した経皮ワクチン製剤（貼るワクチン）の開発

松尾一彦\*<sup>1</sup>, 岡田直貴\*<sup>2</sup>, 中川晋作\*<sup>3</sup>

### 2.1 はじめに

近年、新興・再興感染症の世界的流行が危惧されており、唯一の根本的予防手段であるワクチンの重要性が再認識されるようになった<sup>1)</sup>。ワクチン開発はEdward Jennerによる牛痘接種法（天然痘ワクチン）に始まり、約200年もの歴史を持つ。Jennerの種痘以後、細菌学、ウイルス学の発達により、感染症の原因となる病原体が次々と同定され、数多くのワクチンが開発されてきた。現在においても、これらの基礎研究に基づき、新たに分子生物学的手法を駆使して、より安全で有効なワクチンの開発が進められている。しかしながら、現在実用化されているワクチンはほとんどが注射による投与方法であるために、最もワクチンを必要とする開発途上国においては、単にワクチンを送り届けるといっても、ワクチンを購入するところから始まり、そのワクチンを適切に保管する（コールドチェーンの管理）、ワクチンを接種する（医療技術者の確保とトレーニング）、など多くの問題が残されており、年間3000万人の子供が予防接種をうけることができずにいる<sup>2,3)</sup>。このことから、安全で有効なワクチン成分を探索、創製する基礎研究だけでは感染症の根絶は不可能であり、次世代のワクチン開発においては有効で安全な抗原を広く全世界へと普及させることを考慮した簡便で安価な剤形ワクチンへと仕上げる創剤的研究が最重要課題であるといっても過言でないだろう。

本観点から、著者らは貼るだけという簡便な操作で免疫応答を誘導しうる経皮ワクチン製剤（貼るワクチン）の開発を推進している。

### 2.2 経皮薬物デリバリー技術の開発と経皮ワクチンへの応用

薬物を経皮的に投与する手法（経皮吸収）は、薬物の肝初回通過効果を回避できるだけでなく、注射投与に比べ安全かつ簡便に薬物を投与できることから、世界各国でその研究が精力的に行われてきた。その標的組織である皮膚は解剖学的に見れば外側から角層、生きた表皮、真皮という順番で大きく3層に分けられる（図1）。最外層を構成する角層は外界からの異物侵入を阻止する、いわば物質透過における物理的バリアとして機能する<sup>4)</sup>。そのため経皮吸収により有効血中濃度に達することのできる薬物は一般的にオクタノール/水分係数が1～4、つまり適度に脂

\*1 Kazuhiko Matsuo 大阪大学 大学院薬学研究科 薬剤学分野 特任研究員

\*2 Naoki Okada 大阪大学 大学院薬学研究科 薬剤学分野 准教授

\*3 Shinsaku Nakagawa 大阪大学 大学院薬学研究科 薬剤学分野 教授

## 次世代経皮吸収型製剤の開発と応用

溶性であり、分子量が500以下のものに限定される<sup>5)</sup>。薬物の経皮吸収効率を改善させるために様々な経皮薬物デリバリー技術が考案された。しかしこのような技術を用いることで薬物の角層突破を達成したとしても、その後薬物は血管が存在する真皮にまで拡散し、さらには血管内皮細胞をも透過しなければならず、どのような薬物でも全身作用を目的とした経皮吸収型製剤として開発できるわけではない。

しかし貼るワクチンにおいては、ワクチン抗原を血中にまで送達する必要はなく、生きた表皮にまで送達することができれば、ワクチン効果を発揮できると考えられる。皮膚は角層を中心とする物理的バリアとして機能するだけでなく、生体を守る免疫学的バリアとしても非常に重要な役割を果たしている(図1)。生きた表皮を構成する細胞の約95%を占めるケラチノサイトは、異物の侵入を感知して炎症メディエーターを分泌することで自然免疫の誘導に関わる<sup>6)</sup>。またケラチノサイトの間隙にはランゲルハンス細胞(LC)と呼ばれる強力な抗原提示細胞が存在しており、皮膚内へと侵入してきた異物を認識・捕食する<sup>7)</sup>。LCは異物を認識・捕食すると所属リンパ節へと遊走し、T細胞、B細胞を活性化することで異物に対する免疫応答を誘導する。したがって生きた表皮に存在するLCに抗原を効率よく送達することができれば、抗原特異的な免疫応答を強力に誘導できると期待される。

このような背景を踏まえて、これまでに開発された経皮薬物デリバリー技術を用いてワクチン抗原をLCが常在する生きた表皮へと局所的に送達することでワクチン効果の誘導を期待する経皮ワクチン製剤が考案された。これまでにエレクトロポレーション法<sup>8)</sup>、イオントフォレシス法<sup>9)</sup>、ソノフォレシス法<sup>10)</sup>を利用した経皮ワクチンの開発が試みられてきた。しかしながら、これらの経皮ワクチンは確かに注射型ワクチンと同レベルの免疫応答を誘導することが示されてきたが、いずれも大型な電源装置を必要とするために汎用性に欠けるなどの課題を残している。現在では

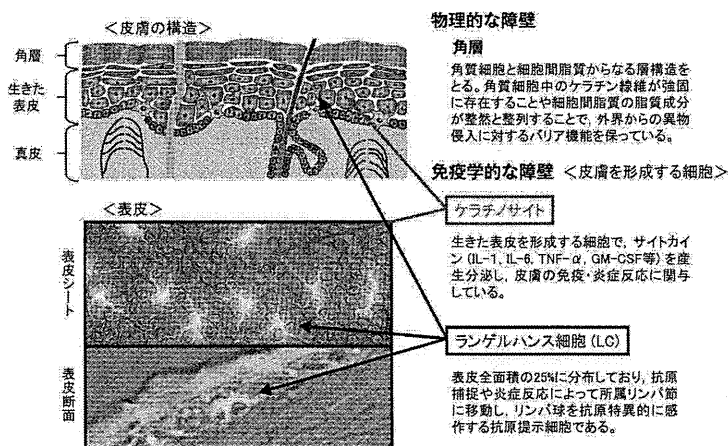


図1 皮膚の構造

より簡便で安全な経皮ワクチン手法の開発が行われており、まさに皮膚に貼るだけという簡便な操作で免疫応答を誘導することができる経皮ワクチン製剤の研究開発に注目が集まっている。

### 2.3 経皮ワクチンデバイスを用いた経皮ワクチン製剤の開発

簡便性ならびに安全性に優れる経皮ワクチン製剤がいくつかの研究グループから報告されているが、それらに用いられているデバイスは専らガーゼパッチである<sup>13)</sup>。ガーゼパッチを応用した経皮ワクチン製剤は、皮膚に適用する直前に抗原溶液を浸み込ませる操作が必要であるため、簡便性に欠けており、また注射型ワクチンと同様に抗原溶液の輸送や保管にコールドチェーンを必要とする。さらにガーゼパッチによって免疫応答の誘導に十分な抗原を経皮的に送達するには、紙やすりのようなもので予め皮膚を前処理（角層あるいは角層の脂質成分の部分的除去）する必要がある。安全面において医薬品として実用化するにあたり克服しなければならない問題が残っている。

一方、著者らは、コスメディ製薬との共同で経皮ワクチンデバイスとして親水性ゲルパッチを応用した経皮ワクチン製剤の開発を推進している<sup>12-14)</sup>。親水性ゲルパッチはアクリル酸エステル系の粘着基材をベースに、吸収促進剤や湿潤剤を配合したシート状のデバイスである（図2）。本パッチは医薬品または化粧品として既にヒトに使用されている素材のみで作製しているために、安全性には問題ないと考えられる。また本パッチに抗原溶液を浸み込ませると、水分のみが高分子ゲル体に吸収され、パッチ表面上に抗原の濃縮層が形成される特徴を有する。さらに抗原を含浸させた状態で取り扱うことができるために、輸送、保管が容易になると考えられる。

これまでに、蛍光標識モデル抗原を含有させた親水性ゲルパッチをマウス耳介皮膚に貼付すると、抗原は角層を透過して表皮にまで到達し、LCに捕捉されていることを確認している。また抗原を取り込んだLCは免疫誘導の場である所属リンパ節へと遊走し、抗原特異的な免疫応答を誘導できることを明らかとしている。

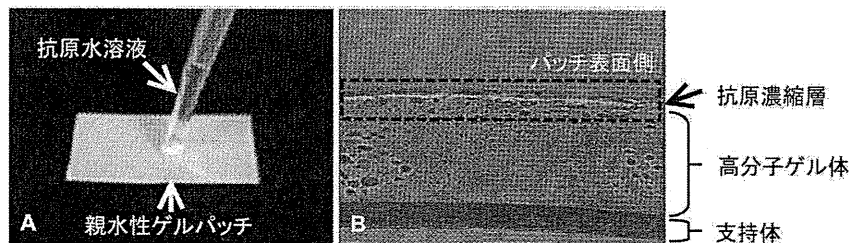


図2 親水性ゲルパッチ

- A. 親水性ゲルパッチ（1 cm × 2 cm）への抗原溶液の滴下  
 B. 親水性ゲルパッチの顕微鏡写真

## 次世代経皮吸収型製剤の開発と応用

### 2.4 親水性ゲルパッチを応用した破傷風・ジフテリア経皮ワクチン製剤の有効性と安全性

著者らの貼るワクチンによる感染症予防効果について、破傷風・ジフテリアに対するワクチン効果を検証した結果を例に紹介する。まず破傷風・ジフテリアトキソイド (TT/DT) を含有させた親水性ゲルパッチを用いた経皮ワクチン製剤による抗原特異的 IgG 抗体産生を評価した。TT/DT を混合して経皮ワクチンとした群においては、2 回投与することによって抗トキソイド抗体の産生が認められ、その後投与回数を増やすことで、従来の皮下注射ワクチン群と同程度またはそれ以上の抗体価を示すことが明らかとなった (図 3)。また、8 回免疫後の 2 週間後に致死量の破傷風毒素直接投与に対する耐過試験を行ったところ、何も免疫していないラットでは全例が死亡したが、経皮免疫群ならびに注射免疫群では共に、全例が生存した (図 4)。以上の結果から、親水性ゲルパッチを応用した経皮免疫製剤は TT/DT 混合免疫製剤として破傷風・ジフテリアの感染に対して、非常に有効な発症予防効果を発揮できることが実証された。さらに、これらのラットにおいてパッチを貼付した皮膚局所に顕著な刺激性は認められなかったことから、本経皮ワクチン製剤は安全性にも優れていることが判明した。

### 2.5 親水性ゲルパッチによる抗原の角層透過促進効果

ヒトの皮膚はげっ歯類と比較すると厚く、一般的に物質の透過性が非常に乏しいことが知られ

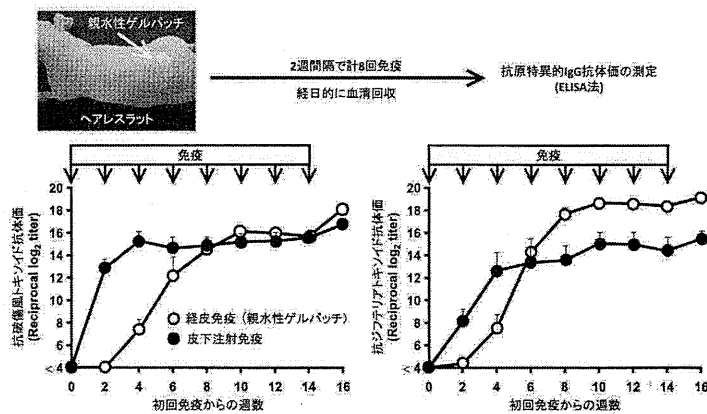


図 3 親水性ゲルパッチを用いた破傷風・ジフテリア経皮ワクチン

免疫方法	生存したラットの数/被験ラットの数
経皮免疫 (親水性ゲルパッチ)	5/5
皮下注射免疫	5/5
無免疫	0/5

図 4 破傷風毒素投与による耐過試験



第6章 医薬品応用

ている<sup>15)</sup>。そこで *in vitro* においてヒト皮膚を用いた親水性ゲルパッチによる抗原の角層透過促進効果について検証した。抗原を単に塗布するだけでは FITC-OVA は皮膚を全く透過していなかったのに対して、親水性ゲルパッチを適用した場合に抗原の透過量は増大した (図 5(A))。また FITC-OVA 含有親水性ゲルパッチを貼付した皮膚の表皮シートを観察したところ、ほとんどの FITC-OVA が細胞間隙に認められたことから、抗原は角層の細胞間隙を通過していることが示唆された (図 5(B))。抗原の角層透過経路としては、細胞間隙の他に、毛穴の関与も考えられる。そこで毛穴を持たない人工培養皮膚モデル (TEST SKIN LSE-high)<sup>16)</sup> における抗原の角層透過性を検証した。FITC-OVA 溶液を単に塗布するだけでは、その透過は観察されなかったのに対して、親水性ゲルパッチを適用することによって人工培養皮膚における FITC-OVA の透過量が顕著に増大したことから (図 6)、親水性ゲルパッチによる抗原の角層透過経路として毛穴の関与はほとんどなく、主に細胞間隙を通過していることが示唆された。以上の結果より、親水性ゲルパッチは非常に優れた抗原の角層透過促進機能を有していることが明らかとなり、臨床適用した場合においてもその効果を十分に発揮できることが期待された。

親水性ゲルパッチによる抗原分子の角層透過促進機構の一つの要因に、パッチの角層に対する水和効果が挙げられる。すなわちパッチを皮膚に貼付すると、皮膚からの水分蒸散が妨げられ、

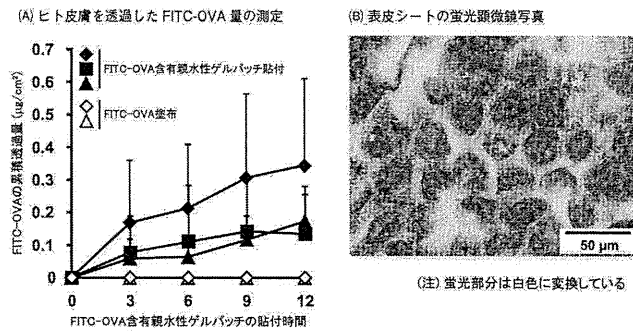


図5 ヒト皮膚を用いた抗原の *in vitro* 角層透過試験

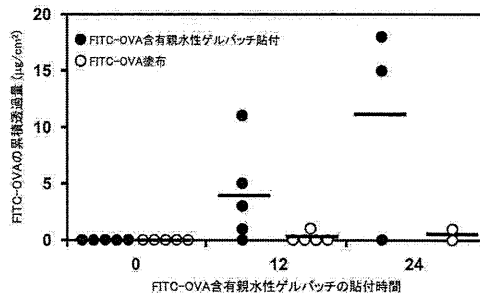


図6 人工培養皮膚モデル (TEST SKIN LSE-high) を用いた抗原の *in vitro* 角層透過試験  
各プロット (●, ○) は個々の値を、バーは各群の平均を示す。

## 次世代経皮吸収型製剤の開発と応用

角層の水分含量が増大する。それによって角層の細胞間隙を構成する脂質二重層の構造が緩み、水溶性の高分子が角層へと分配しやすくなると考えられる。またもう一つの要因としては、パッチを用いることにより皮膚表面における抗原濃度勾配を増大できることが挙げられる。本パッチの表面に抗原水溶液を滴下すると、水分のみが親水性ゲル体に吸収され、パッチ表面上に抗原濃縮層が形成される(図2)。このパッチを皮膚に貼付すると皮膚表面に大きな抗原濃度勾配が現出でき、これが単純拡散の駆動力となり、抗原の角層透過が促進されると考えられる。

これらの動物実験の結果に基づき、TT/DT 経皮ワクチンの安全性・有効性をヒトにおいて検証する臨床研究を実施したところ、顕著な副反応を示すことなく抗トキソイド抗体価の上昇が認められ、親水性ゲルパッチは早期実用化が期待できる非常に有用な新規経皮ワクチンデバイスであることが示された。

### 2.6 皮膚内溶解型マイクロニードルを応用した経皮ワクチン製剤の開発

親水性ゲルパッチは水溶性抗原物質の角層への分配とその後の単純拡散を増大することによってLCへの送達効率を上昇させるため、抗原物質が水に不溶性あるいは懸濁された粒子状形態の場合には適用が困難である。ところが、注射ワクチン製剤として実用化されている抗原の多くは、無毒・弱毒化したウイルスや細菌、あるいはそれら病原体由来コンポーネントの凝集体といった粒子状形態であり、経皮免疫製剤の汎用性を拡大するためにはこれらのワクチン抗原にも対応しうる経皮ワクチンデバイスが必要とされる。




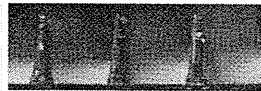
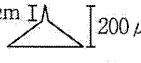


そこで筆者らはコスメディ製薬との共同でヒアルロン酸を主成分とする皮膚内溶解型マイクロニードル(MicroHyal; MH)を応用した経皮ワクチン製剤の開発にも取り組んでいる(表1)。マイクロニードル法は微小な針を用いて角層を物理的に突破し、痛みを伴うことなく簡便に針に内包または吸着させた物質を皮膚内へと送達できる技術であるが、従来のマイクロニードルは金属製の微小針が皮膚内で折れ残る危険性を払拭できなかった。一方、MHは針成分であるヒアルロン酸が皮膚内の水分によって溶解し、内封した抗原を角層下へ安全に送達できることが期待された。実際に、抗原封入MHを貼付すると、針は皮膚内で溶解しており、内包物質の形状が可溶性分子、不溶性粒子に拘わらず、LCが存在する生きた表皮、さらにはその下の真皮へと送達できることが示された。さらに本マイクロニードルはニードルの長さや形状を自由に調節することが可能である。現在、TT/DTや三価季節性インフルエンザHA抗原、SE36マラリア抗原を用いた有効性評価において良好な結果が得られており、今後の展開に期待がもたれる。

### 2.7 おわりに

親水性ゲルパッチを応用した経皮ワクチン製剤は、従来までの注射に代わる新規剤形ワクチン

## 第6章 医薬品応用

表1 皮膚内溶解型マイクロニードル

皮膚内溶解型マイクロニードル (MicroHyal; MH)			
全体図	 <p>○生体成分であるヒアルロン酸を主成分とし、ニードルが溶解する。 ○微小針の長さを自由に調製することができる。</p>		
名称	MH200	MH300	MH800
拡大写真			
形状	$50\ \mu\text{m}$  $200\ \mu\text{m}$ コニーデ型	$100\ \mu\text{m}$  $300\ \mu\text{m}$ コニーデ型	$800\ \mu\text{m}$  円錐型
本数	200本/0.8 cm <sup>2</sup>	200本/0.8 cm <sup>2</sup>	200本/0.8 cm <sup>2</sup>
ニードル到達部位	角層	生きた表皮	真皮

として、接種を簡便、安全、安価にする非常に有用なアプローチであり、臨床応用の一歩前の段階にある。また著者らは現在、多種多様な抗原にも適用できる皮膚内溶解型マイクロニードルを応用した経皮ワクチン製剤の開発も行っている。簡便性・普及性に優れる経皮ワクチン製剤（貼るワクチン）が実用化されれば、乳幼児へのワクチン接種の負担を大きく軽減できるのみならず、感染症地域への渡航者に対する事前予防ワクチンの施行、開発途上国へのワクチン普及に大きく貢献できるものと期待する。

### 謝辞

本稿にて紹介した研究内容は、「保健医療分野における基盤研究推進事業（㈱医薬基盤研究所）」からの研究助成によるものであり、コスメディ製薬㈱ 神山文男先生、権 英淑先生、ならびに奈良県立医科大学皮膚科学講座 浅田秀夫先生との共同による成果であります。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、TT/DTを快く提供いただきました㈱阪大微生物病研究会に深謝いたします。

### 文 献

- 1) E. K. Hui, *Microbes Infect.*, **8**, 905 (2006)
- 2) N. Azad *et al.*, *Curr. Drug Deliv.*, **3**, 137 (2006)

次世代経皮吸収型製剤の開発と応用

- 3) E. L. Giudice *et al.*, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **58**, 68 (2006)
- 4) B. W. Barry, *Nat. Biotechnol.*, **22**, 165 (2004)
- 5) J. D. Bos *et al.*, *Exp. Dermatol.*, **9**, 165 (2000)
- 6) C. Wu *et al.*, *Exp. Dermatol.*, **17**, 645 (2008)
- 7) A. R. Mathers *et al.*, *Immunol. Res.*, **36**, 127 (2006)
- 8) D. J. Laddy *et al.*, *J. Virol.*, **83**, 4624 (2009)
- 9) P. Batheja *et al.*, *Expert Opin. Drug Deliv.*, **3**, 127 (2006)
- 10) B. E. Polat *et al.*, *Expert Opin. Drug Deliv.*, **7**, 1415 (2010)
- 11) S. Naito *et al.*, *Vaccine*, **25**, 8762 (2007)
- 12) Y. Ishii *et al.*, *J. Control. Release*, **131**, 113 (2008)
- 13) K. Matsuo *et al.*, *J. Control. Release*, **149**, 15 (2011)
- 14) K. Matsuo *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* (in press)
- 15) S. Rohatagi *et al.*, *Pharm. Res.*, **14**, 50 (1997)
- 16) S. Kano *et al.*, *Pharm. Res.*, **23**, 329 (2006)