

Title	プレローディング薬物のための金型不使用マイクロニードルの作製
Author(s)	PITAKJAKPIPOP, HARIT
Citation	
Issue Date	2022-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/17776
Rights	
Description	Supervisor:松村 和明, 先端科学技術研究科, 博士

氏名	PITAKJAKPIPOP, Harit		
学位の種類	博士 (マテリアルサイエンス)		
学位記番号	博材第 538 号		
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 24 日		
論文題目	Mold-less microneedle fabrication for pre-loading drug		
論文審査委員	主査	松村 和明	北陸先端科学技術大学院大学 教授
		高村 禅	同 教授
		谷池 俊明	同 教授
		都 英次郎	同 准教授
		Pakorn Opaprakasit	タマサート大学 准教授

論文の内容の要旨

The microneedle technology gets high attention in transdermal drug delivery systems (TDDS) research due to the limitations in the oral and parenteral drug delivery systems. Herein, the photolithography microneedle fabrication method, mold-less, has been employed to overcome the limitation of other fabrication methods. It takes less than 5 minutes for each fabrication process that includes adjusting the length and shape of microneedle by varying the time for UV irradiation and the pattern micro-windows on the photomask that is suitable to produce for industrial scale. Four-point star-shaped microneedles are fabricated via a photolithography process, and sulfobetaine (SPB) monomer is combined with dextran-glycidyl methacrylate/acrylic acid (Dex-GMA/AAc) to form the hydrogel network. The toxicity study shows that the Dex-GMA/AAc/SPB polymer can be considered as extremely biocompatible. The microneedle itself exhibits high drug loading capacity, high-efficiency drug release, and inhibits protein aggregation. The acrylated epoxidized soybean oil (AESO) sheet, microneedle substrate, shows a clear and flexible property and non-absorb drug during the drug loading process; when the microneedle patch is applied on the skin, it also curves along the surface that demonstrating its ability to be easy to apply to any body part. A pre-drug loading platform is designed for the advanced features of the microneedles that provide an effective option for administering therapeutic drugs.

The rhodamine B drug loading and releasing models show that the microneedle can load drug up to $8\mu\text{g}$ on one microneedle patch and release up to 80% of loading in 6h, with only 41 needles. The microneedle has the potential for chemical drug delivery due to its propensity for greater loading and releasing efficiency in microneedle applications. The Dextran-FITC diffusion represented that the molecular drug weight lower than 10 kDa can absorb/diffuse into the center of the microneedle. The Dextran-FITC showed a fast release and diffusion into the artificial skin in a short period.

The protein delivery shows some limitation of protein loading and releasing at low pH, but at pH 7.4, protein releases show higher efficiency suitable for transdermal drug delivery, owing to the presence of pH 7.4 in the interstitial fluid. The Lactate dehydrogenase (LDH) enzyme activity study illustrates that the poly-SPB side chains in the Dex-GMA/SPB/AAc hydrogel inhibit protein aggregation while loading enzyme into the microneedle according to having a higher enzyme kinetic activity than Dex-GMA/AAc hydrogel that do not have the poly-SPB side chains even under external stress, releases the proteins in their native state (without activity loss). A ThT assay determining the fibril formation in human insulin indicates that the human insulin-loaded

Dex-GMA/AAC and Dex-GMA/SPB/AAC effectively suppress the formation of fibrils in human insulin under the dry condition and high-temperature condition that presented only 25% and 20% aggregation, respectively. The combination of hydrogel microneedle and poly-SPB side chains has a potential for biopharmaceutical transdermal drug delivery, especially protein base drug that increases the efficiency bioavailability.

Keywords: microneedles, photolithography, transdermal drug delivery, zwitterionic polymers, protein aggregation

論文審査の結果の要旨

本論文は、光リソグラフィにより簡便かつ安価なハイドロゲルマイクロニードルを作製する技術に関するものであり、マイクロニードル材料に双性イオンポリマーを組み込むことで、含有させたタンパク質薬剤の安定化を同時に達成している。マイクロニードル技術とは、微細針に薬剤を含有させ、皮膚に貼付することで薬剤を体内に投与するパッチ形態の経皮吸収剤のことであり、痛みなく薬物を投与できる技術として注目されている。マイクロニードルの作成法には、モールド法、3D プリンティング法、光リソグラフィ法などがあり、モールド法では微細な構造の制御が困難であり、3D プリンティング法では比較的高価な機材が必要である。一方、光リソグラフィ法では光反応性の材料が必要であるが、微細構造の制御や大量生産が容易などの観点から本研究では光リソグラフィを選定し、新しいタンパク質保護機能を持つハイドロゲルマイクロニードルの研究を行った。材料として、デキストランに光反応性部位であるメタクリレートを導入した Dex-GMA を用いた。マイクロニードルのベース（土台）としてはフレキシブルな acrylated epoxidized soybean oil (AESO) を使用し、UV により固化させて用いた。Dex-GMA とアクリル酸、双性イオンであるスルホベタインモノマー (SPB) の混合水溶液に、フォトマスクを介して UV を照射することで自由な形状のハイドロゲルマイクロニードルを短時間で作製する事に成功した。得られたマイクロニードルを一旦乾燥させ、タンパク質水溶液に浸漬して膨潤することでタンパク質担持ハイドロゲルマイクロニードルとした。この時の担持量はゲルの架橋度、アクリル酸の導入量などにより制御可能であった。その後、タンパク質を担持したマイクロニードルを乾燥させ、熱処理することでタンパク質の凝集を起こさせる条件を負荷し、タンパク質の活性および凝集を評価した。SPB を導入したマイクロニードルではタンパク質の高い凝集抑制効果が確認された。これは双性イオンポリマーがタンパク質を熱凝集から保護するという過去の研究結果とよく一致しており、マイクロニードルへの導入により保護作用を発揮することが確認できた。得られたマイクロニードルからの薬物の放出は、バッファー溶液中への放出曲線およびアガロースゲルに貼付した際の薬物の拡散から調べ、数時間で放出が行われることを示した。また、力学強度およびブタの皮膚への貼付結果からマイクロニードルが十分皮膚を貫通できる強度を持つことも確認した。ゲルからの抽出液の毒性試験の結果から残存モノマーの毒性もほぼないことが確認できた、以上、光リソグラフィの手法により双性イオンポリマーを組み込むことで、タンパク質を熱や乾燥によるストレスから保護した状態で保持可能な新しいハイドロゲルマイクロニードルの創出に成功した。この成果は、学術的だけでなく、新たな医療技術の革新に向けた応用面からも優れていると判断し、博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。