

論文の内容の要旨

論文題目 CHARACTERIZATION OF SPONTANEOUSLY FORMING HYDROGEL COMPOSED OF WATER-SOLUBLE PHOSPHOLIPID POLYMERS AND ITS APPLICATION AS AN ORAL DRUG DELIVERY CARRIER

(経口投与を目的とした自発架橋形成型水溶性リン脂質ポリマーハイドロゲルの特性と応用)

氏 名 南 広 祐

リン脂質ポリマーである2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC) ユニットを含むポリマー(MPCポリマー)の水溶液を混合すると自発的にゲル化する。本研究の目的は MPC ポリマー水溶液によるゲル化現象の解明と特性を調べて理論的に体系化し、このハイドロゲルを利用してインスリン口腔送達用ハイドロゲルを調製することである。

食文化の変革に対応して、生活慣習病になる人口が急増し、大きな社会問題となっている。特に糖尿病は年々若年化する傾向があり、日本の潜在患者数は1400万人になるとも推測されている。糖尿病の治療のためにはインスリン投与が有効である。インスリンは食後に高くなった血糖値を下げ、血糖値をある水準に維持させる役割を果たす。通常インスリンを投与する方法としては皮下へのインスリン注射がなされているが、痛みを伴うばかりでなく、操作性も悪い。これに代わるインスリン投与方法としてインスリン経口投与が考えられている。インスリンを消化器官に吸収させるこの方法は実際のインスリンの吸収率が非常に低い。そこで、新しい投与システムの開発が強く望まれている。本研究ではこのような社会的、医療的な要求に答えるため新規マテリアル創製を通じてインスリンの経口投与を実現することを目的としている。

インスリン投与用マテリアルを選ぶ要素即ち、インスリンを運ぶルート、材料の生体適合性などを考えなければならない。そして、厳しい消化器官の環境下においてもインスリンを保護し、高い吸収率を得る戦略が必要である。本研究では水溶液中で溶在したポリマーが混合されことにより分子間相互作用が協同的に作用しゲル化する現象を見出し、これを新規インスリン経口投与システムへ利用することについて研究を行った。

第1章は本研究の背景と意義、またハイドロゲルに関する研究例、そして消化メカニズムと今までの経口投与戦略について記した。

第2章では脂質極性基を側鎖に有する MPC ポリマーから生成するハイドロゲルのゲルについてと物理的な特徴に関して記述した。MPC ユニットを含む Poly[MPC-co-methacrylic acid (MA)] (PMA30, MPC:MA=3:7)と Poly[MPC-co-n-butyl methacrylate (BMA)] (PMB80, MPC:BMA=8:2)の5wt%と10wt%水溶液を調製した(図1)。

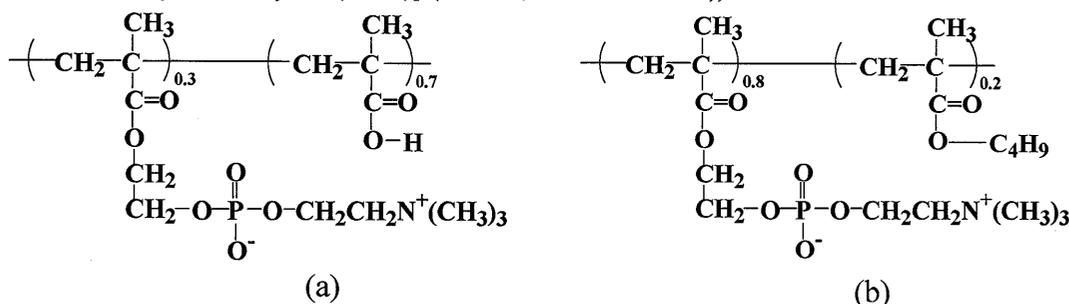


図1. PMA30 (a)と PMB80(b)の構造式.

それぞれの水溶液を2:1、1:1、1:2の比率で混合し、室温にて10—20秒間振り混ぜるとMPC ハイドロゲルが生成する(図2)。この液体—ゲル転移メカニズムは PMA30 のカルボキシレートアニオン基が PMB80 によって形成される分子間会合体内の疎

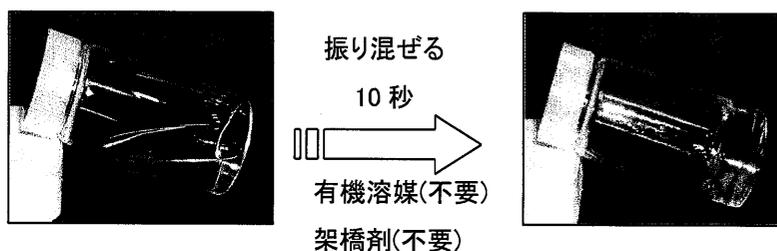


図2. ハイドロゲルの液体—ゲル転移現象.

水場の低い極性と誘電率によりカルボキシル基化し、水素結合を形成するというものである。

液体—ゲル転移を起こす MPC ハイドロゲルはパラクリスタルである。5wt%の水溶液のハイドロゲル(5wt% ハイドロゲル)の場合、単性モデュラスは 2200N/m^2 で10wt%の水溶液のハイドロゲル(10wt%ハイドロゲル)は 4808N/m^2 であった。ハイドロゲルの単性モデュラスは PMB80 の組成に依存した。MPC ポリマーハイドロゲルはスポンジ構造を持ち、早くて高い吸水性を見せる。5wt%ハイドロゲルの場合、自由水は約98%、10wt%ハイドロゲルは約92%の自由水を含んでいる。MPC ポリマー水溶液に塩を添加することによって水の構造に変化を起こし、液体—ゲル転移現象にも影響を与える。すなわち、添加する塩の種類によってゲル化の時間や機械的な物性の調節が可能である。

第3章ではハイドロゲルのpH 応答性について検討した。MPC ハイドロゲルは酸性条件下では水を吸収し、膨潤する。そして中性やアルカリ条件下では解離が起こる。膨潤する場合、ハイドロゲルは吸水とともにポリマーの一部は溶解した。また PMA30 の組成が高くハイドロゲルでは完全解離時間が遅くなった。基本的に膨潤や解離のメカニズムは同じであるものの、この挙動は明らかに pH 依存性を示す。すなわち、カルボキシル基がイオン化される比率によってハイドロゲルの安定性が決定されるが、これはハイドロゲルの中のポリマー分子間架橋あるいは分子内架橋されているかによって異なった。PMA30 の組成が上がると分子内架橋が増加し、PMB80 の組成が上がると分子間架橋が増えた。分子間架橋が増えるとハイドロゲルは安定し、機械的にも強くなる。ハイドロゲルの数平均架橋点間分子量は PMA:PMB=1:1の場合、約2640で、PMA30の組成が下がると数平均架橋分子量も下がる。

第4章では MPC ハイドロゲルの薬物送達メカニズムに関する研究をまとめた。PMB80の水中における疎水性会合特性を利用してインスリンなどの難水溶性のポリペプチドを可溶化することができる。ポリペプチド薬物を含有する MPC ハイドロゲルは酸性水溶液での膨潤により薬物を Non-Fickian メカニズムにて放出をする。この時、放出パターンは薬物の特性ではなく、ハイドロゲルの性質に依存する。すなわち、酸性条件下での放出はハイドロゲルのポリマー消失に原因がある。中性やアルカリ水溶液条件下では表面侵食(Surface erosion process)による薬物の放出がおこる(図3)。この時の放出もカルボキシル基間水素結合の消失によって分離されるポリマーと水の放出とともに行われる。この傾向は薬物の疎水性や分子量に依存し、100%の放出まで到達する時間は薬物の種類によって異なる。

第5章ではMPCハイドロゲルのインスリン経口送達用システムの応用について述べた。インスリンの経口送達のためにインスリン含有 MPC ハイドロゲルを構成している PMA30 と PMB80 の分子量の調節、PMA30 と PMB80 の混合組成を9:1から1:9まで調節、そしてポリマーの濃度が5wt%から70wt%まで調節して調製し、中性条件下での放出挙動を調べた。MPC ハイドロゲルを構成しているポリマーの分子量や比率および濃度を変えることによって放出時間を30分から13時間まで調節することができた。また、ハイドロゲルの強度や孔の大きさを調節することにより、胃の中と同じ pH 環境での滞留中に起こるゲルの破壊と過膨潤を防止した。In vitro 実験を行った結果、5wt%と

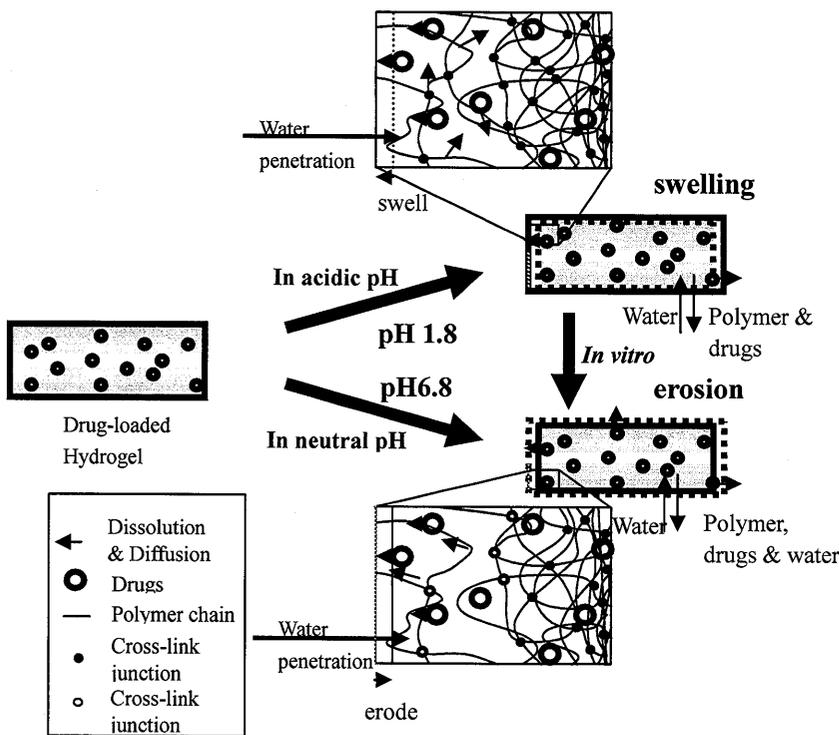


図3. 胃の条件(酸性pH)及び小腸の条件(中性pH)での膨潤/解離と放出メカニズム。は CD スペクトルによる解析からは認められなかった。

第6章では M 細胞にインスリンを送達するために疎水性が強い会合性 MPC ポリマー[Poly(MPC-co-BMA), MPC:BMA=3:7; PMB30W]とインスリンの複合体を作った。小腸に存在する M 細胞は物質を拡散によって吸収するので消化酵素による切断が起こらない。M-cell を通じてうまく吸収させるためには脂溶性と疎水性が非常に重要である。PMB30W は水溶液中で疎水場による安定な複合体を形成した。光散乱における第2ビリアル係数もこの濃度で負から正に変わった。このことは複合体の安定性に変化が起こったことを示している。PMB30W-インスリン複合体は良い安定性を見せた。72 時間後インスリンは酸性条件で 70%放出されたが、PMB30W-インスリン複合体の場合は 70%が保持されていた。また、インスリンは蒸留水の中では 24 時間以内に沈殿した。しかしながら、PMB30W-インスリン複合体は 72 時間が過ぎても沈殿が起こらなかった。これはインスリンが PMB30W によって可溶化され安定になったことを示す。CD スペクトル解析からはインスリンの変性は見られなかった。PMB30W-ポリペプチド薬物の複合体の溶液よりフィルムを調製して MPC ポリマー-ハイドロゲルの中に担持した。PMB30W-ポリペプチド複合体を含んだ MPC ポリマー-ハイドロゲルの *in vitro* 条件で重さの変化を調べた。ハイドロゲルは酸性条件で膨潤し、中性条件で解離する。PMB30W-インスリン複合体が入った場合徐々に重量が減少してインスリンが放出された。

第7章ではより高効率の経口送達システムを作るために、大腸にインスリンを送達するハイドロゲルを設計した。インスリンは内膜に含有し、エチレンジアミン四酢酸・二ナトリウム(EDTA)を外膜として含む構造を持つ二重膜ハイドロゲル(Timing-controlled release hydrogel: TCR hydrogel)を調製した(図4)。このハイドロゲルの最終目的部位は大腸であるものの、小腸で放出されるインスリンは EDTA により保護され、小腸による吸収も高める。これは EDTA がカルシウムイオンとの相互作用を起こし、トリプシンの消化作用を防ぐ効果があり、また細胞間結合を広げる効果があるため、EDTA と一緒に放出されたインスリンは効率的に小腸に吸収され、残った大部分は大腸で放出

10wt%ハイドロゲルの場合、約25%のインスリンが胃の中で放出された。この分率はハイドロゲルのポリマー濃度を上げると約10%まで下げられる。また、小腸の中では75%位のインスリン放出があるが、ポリマーの濃度によって小腸や大腸で放出を90%水準まで上げることができた。即ち、放出時間をハイドロゲルのパラメータを変えることにより調節できた。放出されたインスリンの変性

されるからである。インスリンを含めた内膜と EDTA を含めた外膜は完全に分離されている。pH 水溶液での膨潤や解離が互いに異なって、大腸まで運ばれたインスリンの比率は最大 60%–70%まで抑えることができた。

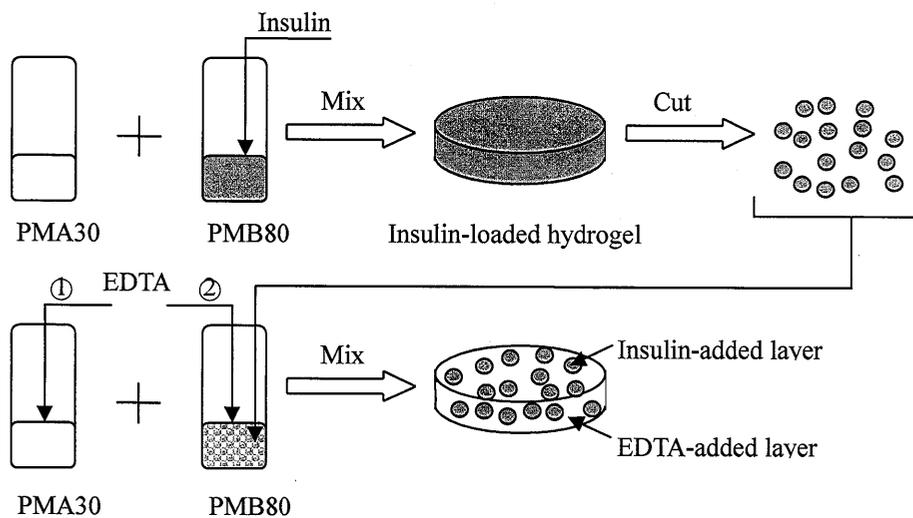


図4. TCR ハイドロゲルの調製.

第8章は本研究のまとめである。

本研究を通じてMPCポリマーハイドロゲルの特性と経口投与用ハイドロゲルとしての可能性について調べた。MPC ポリマーハイドロゲルは今までに存在しなかった新しい概念により設計された優れたインスリンの経口投与用マテリアルとなると結論した。