

# 日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

## I 基本情報

研究開発課題名：イオン液体を用いた中分子医薬品（ペプチド・核酸）の非侵襲的経皮・経腸吸収促進技術の確立に関する研究

Non-invasive transdermal and intestinal delivery technology for peptides and nucleic acids (siRNA, mRNA) with ionic liquid: A new treatment option

研究開発実施期間：令和3年11月30日～令和8年3月31日

研究開発代表者 氏名：石田 竜弘

Ishida Tatsuhiko

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立大学法人徳島大学 大学院医歯薬学研究部（薬学域） 教授

Tokushima University, Institute of Biomedical Sciences, Professor

## II 研究開発の概要

本研究では、開発研究代表者らが独自に見出した「医用応用可能なイオン液体を用いた中分子医薬品（ペプチド・核酸）の非侵襲的経皮・経腸吸収促進技術」の最適化と高度化を行った。また、経鼻投与可能かについても検討し、本技術の更なる高度化を進めることで、様々なモダリティに応用可能でオンデマンドな治療の展開を可能とすることを目指した。

以下、研究成果の概要を示す。

### 【経皮吸収促進技術の最適化・高度化】

がん抗原ペプチドを含む最適化したイオン液体処方をマウスに貼付（免疫）し、抗原選択的な免疫活性化を介して、予防的効果として免疫後に移植した腫瘍の増殖抑制について検討した。その結果、あらかじめ移植していた腫瘍の増殖抑制を達成した。siRNAを含む最適化したイオン液体処方（軟膏）を乾癬モデルマウスに毎日塗付して治療し、肥厚抑制効果を達成した。また、GLP-1 受容体作動薬を塗布し、24 時間後に糖負荷を行ったところ、血糖値の上昇を完全に抑制した。さらに、本技術によって吸収可能な中分子化合物の分子量はおよそ 20 kDa 程度であることをモデル化合物を用いて明らかにした。本吸収改善・促進技術の更なる高度化を目指し、イオントフォoresisとの併用について検討したところ、イオントフォoresisと併用することで吸収速度の更なる改善が見られ、本技術の高度化を達成した。

### 【腸管吸収促進技術の最適化・高度化】

イオン液体を用いて経口投与することで、20 kDa 程度までの中分子が吸収されることをモデル化合物を用いて示した。また、中分子の吸収部位が胃ではなく小腸であることも明らかにした。さらに、2 型糖尿病治療薬として認可されている GLP-1 受容体作動薬についても経口投与を行ったが、そのままでは吸収は観察されず、小腸内への直接投与では顕著な吸収が観察された。そこで、製剤学的な工夫を加え腸溶性カプセル化を行った。本腸溶性カプセル製剤を、ラット、イヌ、ブタにそれぞれ経口投与し、その後の吸収について検討したところ、全ての

試験で血中への吸収が観察された。特にラットでは、顕著な薬理効果までも観察することができた。したがって、通常では経口吸収されない易分解性のペプチドなどの中分子化合物の新たな経口投与技術を確立することができた。

#### 【経鼻吸収促進技術の開発】

イオン液体を用いて経鼻投与することで、20 kDa 程度までの中分子が吸収されることをモデル化合物を用いて示した。さらに、ヘテロ二本鎖核酸(HDO) (分子量：9,647.64) について鼻腔内投与後の吸収改善効果を検討したところ、顕著な吸収促進効果が見られた。その際の bioavailability は約 28%であった。イオン液体処方として投与した HDO は、脳ではなく、肝臓や腎臓に到達しており、鼻腔内からの吸収は三叉神経など脳や髄液へのルートではなく、粘膜上皮細胞を突破して血管へ移行するルートを経ていることが示唆された。さらに、2 型糖尿病治療薬として認可されている GLP-1 受容体作動薬についても経鼻投与を行った。経鼻投与により、GLP-1 受容体作動薬が吸収され、全身循環に移行することを確認した。また、投与後に糖負荷試験を行ったところ、血糖値の上昇を完全に抑制した。また、同様に、インスリンについても経鼻投与を行ったところ、インスリンが全身循環に移行することが確認された。GLP-1 受容体作動薬およびインスリンについて血糖値への影響を評価したところ、両者ともに皮下投与に匹敵するほど十分高い薬理効果を示すことがわかった。さらに、VHH 抗体 (15 kDa) を含むイオン液体処方を経鼻投与することによって VHH 抗体が血中へ移行することも確認した。したがって、通常では鼻腔から吸収され難い中分子化合物の新たな経鼻投与技術を確立することができた。

#### 【モダリティ含有イオン液体の調製・最適化】

経皮投与におけるペプチドおよび siRNA に最適なイオン液体処方の確立を達成した。さらに、経口および経鼻投与における最適なイオン液体処方も確立することができた。さらに、製剤学的な工夫を加えることでカプセル製剤化に成功し、易分解性のペプチドであっても腸管から吸収させる技術を確立することができた。

#### 【イオン液体の安全性評価・吸収過程における薬物相互作用の評価】

経皮投与時には、イオン液体は、角質層を形成する死細胞と死細胞の間に存在する脂質の流動性を高めることで、中分子化合物の透過性を亢進している可能性が示された。また、経口投与の場合には、小腸において、腸管上皮の密着接合(TJ)を形成する主要なタンパク質群に影響を与え、細胞間隙をひらくことで 20 kDa 程度までの中分子化合物を透過させることが示された。また、経鼻投与時にも、イオン液体は経口投与時と同様に 20 kDa 程度までの化合物を透過させることから、腸管への影響と同様に鼻腔内の上皮細胞間の密着接合に影響を与えているものと類推された。

経皮投与用として最適化したイオン液体処方に関して、例えば 3 週間毎日同じ場所に塗布を続けても浮腫や炎症を伴うような皮膚の肥厚は観察されず、そのまま塗布しても十分安全であることが確認された。一方、経口・経鼻投与用に最適化した処方に関しては、そのまま 1 日 1 回の繰り返し投与を行った場合、1 週間程度で顕著な体重の減少が確認され、死亡する個体も見られた。そこで、イオン液体処方を生理食塩水で希釈（イオン液体含量として 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100%(v/v)）し、それぞれ経口、経鼻投与した。その結果、20%以下の濃度では、2 週間以上連続投与しても体重減などの顕著な毒性はみられなかった。したがって、経口、経鼻投与する場合には、最適化したイオン液体を生食などの溶媒を用いて 5 倍希釈し、これを直ちに投与することで、吸収促進効果と安全性を担保できることを示した。

#### 【臓器、組織指向性の制御】

経皮投与では、角質を突破したインスリンが、真皮層と筋肉層の間に滞留していることがわかり、イオン液体の吸収改善効果は角質層の突破及び真皮内での拡散促進効果にとどまり、その後の血中などへの移行は中分子化合物自身の性質によることが示された。さらに、経口投与後の腸内でのモデル化合物の動態を観察したところ、イオン液体を用いていない場合、比較的速やかに腸内を移動したのに対して、イオン液体処方では小腸内移動速

度が比較的遅くなることがわかった。これまでの検討で、イオン液体が小腸内皮細胞間の密着接合を一過性に開くことが示唆されていることから、イオン液体による腸管吸収促進効果は接触時間の延長と透過性の亢進という2つの要因によって生じている可能性が示された。さらに、経鼻投与後のモデル中分子化合物の動態を評価した。イオン液体処方として投与したモデル中分子化合物は、脳ではなく、肝臓や腎臓に到達しており、鼻腔内から吸収されそのほとんどが血液に移行していることがわかった。

#### 【シーズ対応】

令和5年度1次公募採択にて採択された課題「悪性中皮腫に対する新規ドラッグデリバリーシステムを用いた個別化治療の開発」、「異常タンパク質の脳内伝播を標的とする中枢神経変性疾患の非侵襲的な核酸ナノ医薬品の開発」、「DDS技術を活用した経皮投与型ペプチド性乳がん治療薬の開発研究」との連携により、提供されるシーズについて、シーズが目指す最適な送達技術の高度化に向けた研究開発を実施した。さらに、令和6年度創薬基盤推進研究事業1次公募にて採択された課題「エクソソームをハイジャックする革新的核酸医薬品の開発と肺がん治療への展開」、「最適DDSを用いたヘテロ核酸による治療法構築と薬物動態解析」、「中枢性希少疾患シアリドーシスに対するmRNA医薬の開発と脳内動態制御基盤の確立」提供のシーズについて、シーズが目指す最適な送達技術の高度化に向けた研究開発を実施した。

## **Non-invasive transdermal and intestinal delivery technology for peptides and nucleic acids (siRNA, mRNA) with ionic liquid: A new treatment option.**

The purpose of this R&D project was to brush up on the utility of ionic liquids (ILs) based non-invasive delivery technology via such transdermal, oral and intranasal routes, we have originally developed, for mid-sized molecules including peptides and siRNAs. ILs are normally defined as compounds completely composed of ions with melting point below 100 °C. The application of ILs for pharmaceutical area is recently growing up more and more. Transdermal delivery is the most studied DDS field using ILs and some hydrophobic ILs were confirmed as skin penetration enhancers due to its higher interaction with the hydrophobic skin surface barrier. We could confirm that our ILs enhance skin penetration of some peptides and siRNA. Peptides were insulin, GLP-1 receptor agonists, antigens for cancer immunotherapy, and a tumor growth inhibitor. Then we found out the penetrated peptides and siRNA work to give therapeutic effects in mouse models. In addition, we showed the potential of ILs to enhance the oral absorption of mid-sized molecules such as peptides of GLP-1 receptor agonist in mice. The IL can overcome the intestinal barrier and lead to systemic absorption of mid-sized molecules without severe toxicity when the formulation for administration was diluted with saline (less than 20% (w/v)). We further tried to reveal the gastrointestinal absorption site where our IL enhances absorption of mid-sized molecules. Our IL enhanced the oral absorption of mid-sized molecules at small intestine, not the stomach or colon. In vivo imaging study showed that our IL increases intraluminal residence time of compound dissolved in them. Then, we extended our ILs to intranasal administration of mid-sized macromolecules. Our ILs could enhance nasal absorption of mid-sized molecules after intranasal administration, which was superior to transdermal or oral administration. Then, we observed in mouse models that the absorbed peptides such as insulin, GLP-1 receptor agonist and a tumor growth inhibitor work to give therapeutic effects without severe toxicity when the formulation for administration was diluted with saline (less than 20% (w/v)). Throughout this R&D project, we could expand the utility and possibility of ILs as an oral absorption enhancer for mid-sized molecules such as peptides and siRNA. Non-invasive drug delivery systems have tremendous advantages over injections. Accordingly, our ILs based non-invasive drug delivery system would open new era leading to disruptive innovation in the drug delivery system.