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：注射に代わる非侵襲性次世代経皮吸収送達技術に関する研究
Research on Non-Invasive Advanced Transdermal Delivery Technology as an Alternative to Injections

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：後藤　雅宏
Masahiro Goto

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：
国立大学法人九州大学 大学院工学研究院　教授
Kyushu University, Faculty of Engineering, Professor

II 研究開発の概要

本研究の目的は、核酸やペプチドなどのバイオ製剤に油状ナノ分散化技術（Solid-in-Oil （S/O） 技術）を応用し、今まで注射でしか投与できなかった生物製剤（バイオ医薬品）を塗り薬あるいは貼り薬として投与できる新たな経皮創薬プラットフォーム技術を創出することである。

我々はこれまでに、独自に開発した経皮促進技術(S/O 技術)を利用し、分子量 500 以上の生体分子の皮膚透過および徐放性付与に成功した。本研究では、これまでの研究で蓄積した知見に基づいて、未だ誰も成し得なかった中分子薬（ペプチド薬等）ならびに核酸医薬に対して、注射に代わる痛みのない完全非侵襲性の新たな経皮投与プラットフォーム技術を構築した。

中分子薬への応用

本研究では、主に、中分子薬および核酸医薬への経皮吸収技術の適応拡大を中心に研究を展開した。我々はこれまで、インスリンに対し、長期の徐放特性を有する S/O 製剤が可能となることを示してきた。本研究では、S/O 技術を新たな中分子薬へ展開するために、GLP-1 受容体作動薬への拡張を試みた。五種類の GLP-1 受容体作動薬の S/O 製剤化を検討した結果、リラグルチドが最も安定な S/O 経皮製剤を与えることを明らかにした。リラグルチド(分子量 3751)は、2 型糖尿病治療用の長期作用型 GLP-1 受容体作動薬である。血糖値の高い場合にのみインスリン分泌効果を発揮し、臨床的に有意な血糖降下作用を示す。本研究では、糖尿病マウスに対して注射および S/O 製剤の経皮投与を行い、投与開始から 6 時間おきに血糖値および餌の重量変化を観察することで、血糖値降下作用および食欲抑制作用の評価を行った。その結果、注射群と S/O 製剤群で血糖値の大幅な低下が確認され、さらに、注射群と比較し、S/O 製剤群で持続的な血糖値の低下が観察された（図１）。また、餌の摂取量を観察した結果、注射群および S/O 製剤群で餌の摂取量が顕著に減少していることが確認された。ただし、現状で S/O 経皮製剤は、注射の 10 倍程度の投与量を必要としている。経皮製剤の社会実装においては、S/O 製剤のさらなる効率化によって、投与量の減容化を図る必要ある。

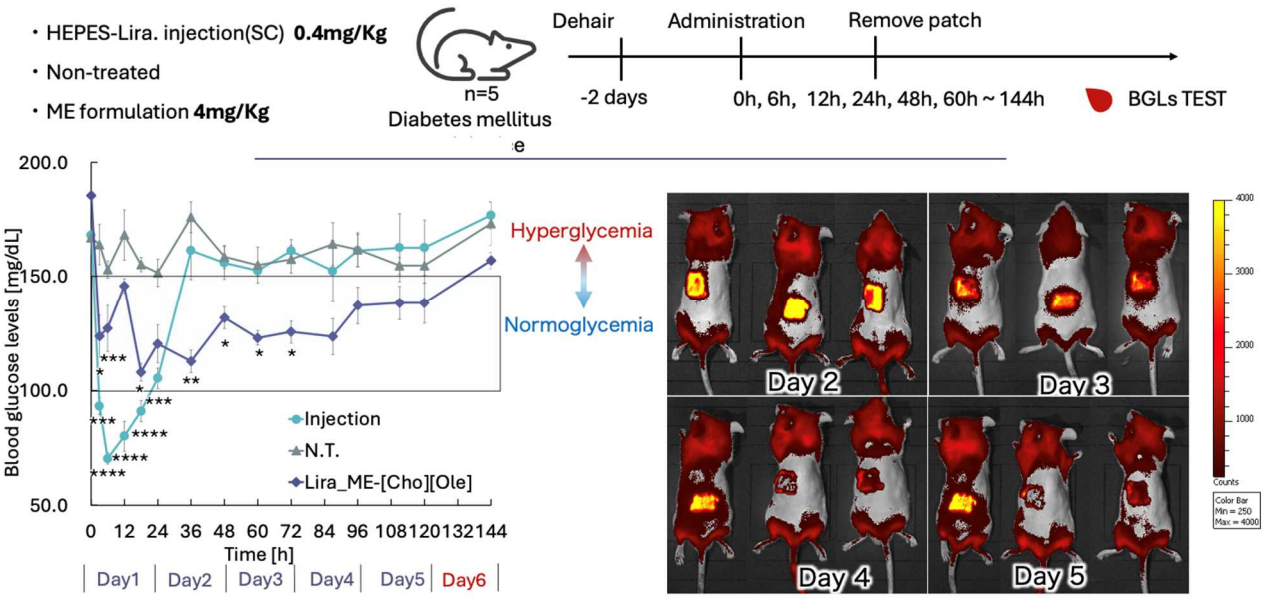

図 1　糖尿病治療薬 GLP-1RA による左）血糖値の低下挙動、右）GLP-1RA の徐放挙動

核酸医薬への応用

アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）をはじめとする核酸医薬は、難治性疾患の新規治療薬として耳目を集めている。しかし ASO の投与法は現在注射に限定されており、重篤な注射部位反応や医療従事者の必要性が大きな課題となっている。そこで本研究では、「経皮投与」による完全非侵襲性の核酸送達技術の確立を目的とした。本研究では、ASO の皮膚浸透を促進するために、Solid-in-Oil（S/O）分散技術 を用い、高い生体適合性と膜浸透促進性を有する脂質由来のイオン液体（IL）界面活性剤でコーティングした。この S/O 製剤について、*in vitro* の皮膚透過性及び細胞内送達性、*in vivo* の抗腫瘍効果を検証した。モデル核酸として、抗腫瘍効果をもつ Trabedersen（ASO）を用いて実験を行なった。核酸水溶液および IL のシクロヘキサン溶液を用いて IL-S/O を調製した。動物試験は、B16F10 細胞を皮内移植した C57BL/6N マウスに IL-S/O を経皮投与し、腫瘍内の核酸および標的タンパク TGF-β2 の定量と腫瘍体積の測定を行い、抗腫瘍効果を検証した。

IL-S/O 製剤の安定性について、4 週間にわたって顕著な粒子径変化が見られなかったことから、長期間安定であることが示唆された。また *in vitro* の皮膚透過試験から、IL-S/O は水溶液と比較して、皮膚浸透と細胞内取込みを有意に促進することが確認された。Trabedersen は、TGF-β2 mRNA の翻訳を阻害することによりアンチセンス効果を発揮する ASO である。今回 *in vivo* の検討において、IL-S/O 製剤は ASO の腫瘍内送達を有意に増加させ、TGF-β2 発現を抑制することが示唆された。さらに IL-S/O は注射投与と同等に腫瘍成長を抑制しうることがわかった（図 2）。

この結果より、S/O 製剤を用いることで皮膚浸透後の核酸が腫瘍細胞内に取り込まれ、アンチセンス効果を発揮することが示された。

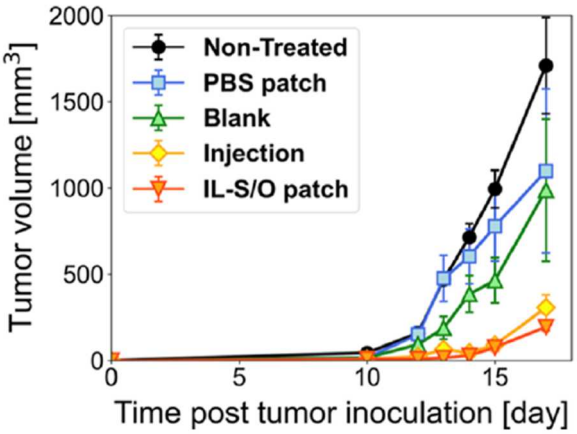

図 2　抗腫瘍効果試験（腫瘍体積変化）

以上の結果、IL-S/O 製剤による ASO の経皮送達および細胞内取込みの増大が、TGF-β2 発現の有意な抑制につながり、結果として腫瘍成長が抑制されることが示された。

そこで、さらに mRNA への応用を検討した。核酸送達用として、カチオンとして 1, 2-Dimyristoyl-sn-glycero-

3-ethyl-phosphatidyl choline (EDMPC) 、アニオンとして palmitate (Pal)と linolate (Lin) を用いて 2 種類の IL(イオン液体)を合成した。mRNA 水溶液と核酸送達用に合成した IL 溶液を混合し、これを凍結乾燥したものを油状基剤 IPM に分散させることで、IL-mRNA-S/O 製剤を調製した。この S/O 製剤について、DLS により粒子径を測定し、また、qPCR で皮膚浸透量を定量した。さらに、NanoLuc をコードした mRNA を用いてトランスフェクション試験を行い、発光量を測定することで細胞内送達能を評価した。

マウス皮膚内に浸透した mRNA を測定したところ、 IL/S/O 製剤を用いた系では PBS を用いた系と比較して皮膚浸透量に有意な差が認められた。さらに、発現した NanoLuc による発光量は、ポジティブコントロールである Lipofectamine にはやや劣るものの良好なルシフェラーゼ発光を確認できたことから、本研究で開発した IL-S/O 製剤が良好なトランスフェクション機能を有することが明らかとなった。

新型コロナウイルスに対するワクチンとして、mRNA ワクチンが大きな成功を収めたことを契機に mRNA, siRNA や miRNA に代表される RNA を主成分とした RNA 医薬が世界中から注目を集めている。そこで、トランスフェクション機能を有する **IL を界面活性剤とした S/O 製剤(ILC)**を調製し、mRNA 医薬の経皮送達キャリアについて検討した。

ILC 経皮製剤のマウス皮膚に対する浸透性を、フランツセルを用いて評価した結果、PBS 溶液を添付した際には蛍光がほとんど検出されなかったが、経皮製剤を添付した皮膚では皮膚深部まで蛍光が検出された。次に、各種 ILC 製剤を適用したマウス皮膚から mRNA を抽出し qPCR で定量したところ、ILC_{30} において他の群より有意に多くの mRNA を送達したことが確認された。これらの結果は、ILC 経皮製剤によって mRNA の経皮浸透が促進されたことを示している。

ILC の予防的抗腫瘍効果を評価するために、C57BL/6N マウスに注射と経皮投与を行った。1 週間に 1 度、OVA-epitope をコードした mRNA を用いて免疫化を 2 回行い、EG.7-OVA 細胞をマウスに移植した後、20 日間腫瘍の成長をモニターした。加えて、EG.7-OVA 移植後 14 日後の腫瘍を取り出し、腫瘍内に遊走した $CD8^+$T 細胞を CLSM によって観察した。

その結果、モデルナ製の LNP を皮下注射した群において腫瘍の形成が顕著に抑制された。同様に ILC_{30} 投与群においても、**未処理群と比較して優位に腫瘍の成長を抑制した結果が確認された (図 3)** 。さらに、ILC_{30} 投与群においては多くの $CD8^+$T 細胞が検出された。これらの結果は、**ILC_{30} 経皮投与群において注射剤と同様に抗腫瘍効果が発現した**ことを示唆している。

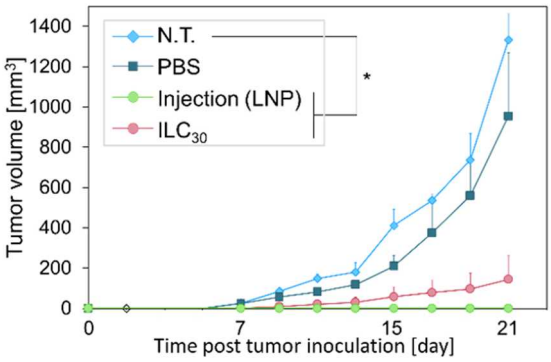

図 3　E.G7-OVA 細胞に対する予防的抗腫瘍効果

本研究では、S/O 経皮液晶製剤 (ILC) を用いた mRNA 医薬の経皮デリバリーシステムを考案した。この **S/O 経皮製剤を用いることで mRNA の皮膚浸透性の向上が達成され、さらに *in vivo* での効腫瘍効果が確認された**。また、腫瘍内において未処理群と比較して CD8+T 細胞が多数確認された。これは、mRNA が経皮送達され抗原タンパク質に翻訳されたのちに免疫を活性化したことを示唆している。**本研究で開発した S/O 経皮製剤は、mRNA 医薬のみでなく ASO や siRNA などの様々な核酸医薬に適応できると期待される。**

以上の結果、本研究で開発した経皮製剤は、ペプチドやタンパク質製剤のみならず、核酸医薬まで幅広く応用可能な製剤として、発展させることができた。特に、mRNA の経皮製剤化は、これまでにない試みであり、完全非侵襲的な核酸投与法として、幅広い展開が期待できる。

Summary of Research Findings

This study aims to establish a novel transdermal drug delivery platform that enables the administration of biopharmaceuticals, such as nucleic acid therapeutics and peptide drugs, via the skin (e.g., topical or patch formulations) instead of conventional injections. Although biopharmaceuticals exhibit high therapeutic specificity and efficacy, their clinical use is often limited by poor membrane permeability and instability in biological environments, necessitating invasive administration routes. Such limitations impose a burden on patients and reduce treatment adherence, highlighting the importance of developing non-invasive and patient-friendly delivery strategies.

To address this issue, we developed a transdermal delivery system based on Solid-in-Oil (S/O) technology, in which solid drug molecules are nanosized and dispersed in an oil phase using suitable surfactants. This system enhances the skin permeability of hydrophilic macromolecules while also providing sustained drug release. In this study, we extended the S/O platform to middle-molecular-weight therapeutics and nucleic acid drugs, aiming to establish a completely non-invasive delivery approach with broad applicability.

First, we investigated its application to peptide therapeutics, focusing on GLP-1 receptor agonists used for the treatment of type 2 diabetes. Among the candidates examined, liraglutide was identified as the most suitable compound for stable S/O formulation. In a diabetic mouse model, transdermal administration of this formulation produced significant glucose-lowering effects comparable to those of injection, while exhibiting a more sustained pharmacological response. A reduction in food intake was also observed, indicating that the biological activity of the peptide was well preserved during formulation and delivery. These findings demonstrate the potential of S/O technology as a long-acting transdermal delivery system for peptide drugs.

Next, we applied this platform to nucleic acid therapeutics. We developed an S/O formulation (IL-S/O) using lipid-derived ionic liquids as functional surfactants to enhance both skin permeability and intracellular delivery. Using an antisense oligonucleotide targeting TGF-β2 as a model compound, transdermal administration in tumor-bearing mice significantly increased drug accumulation in tumor tissues and effectively suppressed target protein expression. Importantly, tumor growth inhibition was comparable to that achieved by conventional injection, demonstrating that therapeutic efficacy can be maintained through a non-invasive route.

Furthermore, we explored the delivery of mRNA therapeutics by designing an advanced S/O formulation incorporating ionic liquids with transfection capability (ILC). In vivo studies revealed that transdermal administration successfully delivered mRNA and significantly suppressed tumor growth. In addition, an increase in CD8-positive T cells in tumor tissues was observed, suggesting that the delivered mRNA was translated into antigenic proteins and subsequently activated antitumor immune responses.

In conclusion, the S/O-based transdermal delivery system developed in this study is applicable to a wide range of biopharmaceuticals, including peptide drugs and nucleic acid therapeutics such as ASOs and mRNA. By enabling efficient and sustained delivery through the skin, this technology provides a promising non-invasive alternative to injection-based therapies and holds significant potential for future applications in areas such as cancer treatment, vaccination, and chronic disease management.