

## 「博士論文」 合否査定資料

申請者 同志社女子大学大学院 薬学研究科医療薬学専攻  
職・氏名 羽 森 真 美

---

学位の名称 博士 (薬学)

---

論文名 エレクトロスピンニング法を用いた医療用ナノファイバーの調製と  
新規放出制御型薬物送達システムの開発

---

審査委員 主 査 杉 浦 幸 雄

---

副 査 森 田 邦 彦

---


副 査 芝 田 信 人

---

審査結果 合

# 博士学位論文審査結果報告書

2016年 2月 9日

学位申請者	羽 森 真 美		
審査委員	主 査	杉 浦 幸 雄	
	副 査	森 田 邦 彦	
	副 査	芝 田 信 人	

本学大学院薬学研究科博士課程在学中の羽森真美から、「エレクトロスピニング法を用いた医療ナノファイバーの調製と新規放出制御型薬物送達システムの開発」という論文を添えて、博士（薬学）の学位申請があった。これを受けて公正に審査委員が決められ、主査杉浦幸雄、副査森田邦彦・芝田信人の三名が審査委員として審査に当たった。




各委員は申請論文を時間をかけて丁寧に査読した後、2月9日に公開の論文発表・口頭試問会を開き、申請者に対して論文内容の確認並びに学力検査を兼ねて申請者に試問を行った。約60分の発表・試問であったが、各委員から忌憚のない鋭い質問や意見が全体および細部にわたって述べられた。質疑応答において、申請者は厳しい質問に対して的確に応答し、論文内容をよく理解して好感のもてるものであった。この発表・試問を通して、申請者の学力・人物ともに極めて優れていることを確認した。また本論文に関する報文として、英文誌（査読付き）に筆頭著者として三報公表されており、査読付き英文論文（筆頭著者）が最低一報は受理されていることという審査要件を満たしている。

申請論文に関しては、エレクトロスピニング法により調製したナノファイバーが水溶性薬物および脂溶性薬物のどちらにも適用でき、薬物放出制御型薬物送達システムに応用できることを明確に示し、今後の展開に大きな期待が持てる。未開拓な分野に挑戦し独創的な実験工夫も加えられ、多くの新しい知見が得られており、内容的に高く評価できるものである。

よって審査委員は全員一致で、申請者羽森真美の申請論文に対して、博士（薬学）の学位を授与するに値するものであることを決定した。

# 博士学位論文審査結果要旨

2016年 2月 9日

学位申請者	羽 森 真 美	
審査委員	主 査	杉 浦 幸 雄 
	副 査	森 田 邦 彦 
	副 査	芝 田 信 人 
論文題名	エレクトロスピニング法を用いた医療用ナノファイバーの調製と新規 放出制御型薬物送達システムの開発	
(要旨)	<p>羽森真美から提出された上記の学位論文は、IV章から構成されている。その目次は以下のようになっている。</p> <p>諸論</p> <p>第I章 ES法を用いたMACナノファイバー調製の条件検討</p> <p>第II章 MACナノファイバーを用いた放出制御型カプセル剤の設計と評価</p> <p>第III章 MACナノファイバーを用いた放出制御型錠剤の設計と評価</p> <p>第IV章総括</p> <p>実験の部</p> <p>要旨</p> <p>参考文献</p> <p>論文の概略を示すと、薬物送達システム(DDS)製剤の設計において使用されるナノ材料は、薬物の生体内挙動を制御する先端技術である。特に高分子材料で作製されるナノファイバーは、新規材料として種々の分野での応用が可能で、新たな技術革新へと波及することが期待される。</p> <p>そこで先ず第I章では、メタクリル酸コポリマーS(MAC)を材料にナノファイバーを効率よく得るためのエレクトロスピニング(ES)装置の開発とその条件設定を検討した。銅製円形状の捕集板を作製し、その中心部に導電性金属棒を取り付けることにより、効率よく均一なMACナノファイバーを収集することに成功した。</p>	

次に第 II 章では、ウラニンおよびニフェジピンを MAC ナノファイバーに包埋したカプセル剤を作製し、薬物の溶出挙動と体内動態について検討した。その結果、特に脂溶性薬物の MAC ナノファイバー化は、放出制御型徐放製剤の設計に適していることが明らかになった。

さらに第 III 章では、放出制御型の薬物含有 MAC ナノファイバー錠を調製して薬剤学的検討を行った。モデル薬物としてアセトアミノフェンを用い、ES 法で調製した MAC ナノファイバーで直接打錠法により錠剤を成形し、本錠剤からのアセトアミノフェンの放出制御を評価した。ラット十二指腸内投与による体内動態および X 線 CT による錠剤の消化管内移動の追跡により放出制御型製剤として価値があることを確認した。

以上のように本論文は、ES 法により作製した MAC ナノファイバーが放出制御型製剤の設計に有用であることを明確に示すとともに DDS の設計において幅広い応用性を示唆するものとして高く評価される論文である。よって本論文は、博士 (薬学) の学位を授与するに値する論文であると認める。

# 博士學位論文内容要旨

2016年 2月 9日

学位申請者	羽 森 真 美		
審査委員	主 査	杉 浦 幸 雄	
	副 査	森 田 邦 彦	
	副 査	芝 田 信 人	

## (要旨)

エレクトロスピニング (ES) 法は、直径がナノメートルサイズの繊維 (ナノファイバー) を高分子から創製する方法で、古くから繊維業界において不織布の製造方法として研究されてきた。本論文は、この手法を用いて医療用ナノファイバー創製し、ドラッグデリバリーシステム (DDS) の設計に応用して薬剤学的な検証をしたものである。ES 装置では、キャピラリーの先端に高電圧を印加し、ポリマー溶液を吐出させることで溶媒を瞬時に蒸散させ、繊維直径が数十～数百ナノメートルオーダーのナノファイバーを形成させることができる。医学分野では、細胞工学や再生医療を行う際の細胞の足場として研究されつつあり、また、工学分野ではセルロースナノファイバーの研究が隆盛となり、ES 法は様々な工業製品へ応用できる未来の新素材を創製する技術として注目を集めている。しかし、薬学分野、とりわけ医薬品の製造における ES 法の応用例はなく、ES 法で医薬品製剤を創製し得る高分子も見出されていなかった。一方、1970 年代に確立した DDS の概念は、1980 年代に確立したナノテクノロジーの概念と融合し、21 世紀の初頭には、様々なナノ素材を用いたナノ DDS の概念が樹立した。DDS は、親薬物の薬理活性の最適化や理想的な体内動態に制御する技術であり、標的となる特定の臓器や組織に対する薬物の到達性と選択性の増強や薬物吸収性の改善により、薬効の増強や深刻な副作用の軽減、患者のノンコンプライアンスの改善にもつながる製剤技術である。

そこで、本研究では以上のような背景を踏まえ、医薬品の製造過程において既に腸溶性コーティング剤として使用されているメタクリル酸コポリマー S (MAC) をベースとした MAC ナノファイバーを ES 法により調製する手法を開発し、調製した MAC ナノファイバーを製剤中の薬物放出の支持媒体として利用する、新規の薬物放出制御型 DDS 製剤の開発と薬剤学的評価を行っている。具体的な論文の構成はⅢ章から構成され、第Ⅰ章では研究に使用する ES 装置の設計と条件検討をおこない、第Ⅱ章～第Ⅲ章に渡り、MAC ナノファイバーへの薬物の包埋と薬物含有 MAC ナノファイバーを基に調製した製剤 (カプセル剤あるいは錠剤) について *in vitro* 溶出試験およびラット *in vivo* 投与試験などの薬剤学的検討を実施している。

第Ⅰ章では、既に製剤添加物として使用が認められている医療用高分子として MAC を選択し、MAC ナノファイバーを効率的に捕集することができる ES 法装置を開発して操作時の条件設定を行っている。本研究で開発された ES 装置のナノファイバーの捕集板は、その中央部に誘電性の金属棒を取り付けたことにより、効率的に電流を捕集板へ誘導することができ、銅製の捕集板上に MAC ナノファイバーが効率よく集積されるという特徴

を有するものである。この実験的工夫により、金属棒を中心にテント状にナノファイバーが自己組織化し、ナノファイバーをナノファイバーシートとして簡単に剥離することが出来るように改良された。また、高分子として MAC を用いた ES 法装置の運転条件も同時に見い出され、以下の DDS に関する検討を可能にしている。MAC 溶液の濃度（あるいは粘性）および MAC を溶解する溶媒の誘電率に依存して MAC ナノファイバーの繊維径を制御することを可能としている。この開発した ES 装置を用いることにより、製剤設計に必要な MAC ナノファイバーをシートとして得ることができ、第 II 章以降の DDS 設計に供与した。さらに、MAC ナノファイバー中に薬物を包埋することが出来るか否かを調べることを目的として、脂溶性の異なるウラニン (UN, LogPow=0.10)、アセトアミノフェン (AAP, LogPow=0.49) およびニフェジピン (NP, LogPow=3.23) などのモデル薬物に適用したところ、薬物の物理化学的性質に関係なく、MAC ナノファイバー中にはそれら薬物を包埋できることを実証している。加えて、MAC ナノファイバー作製時の繊維径に影響する変動要因として、非イオン性界面活性剤の MAC 溶液への添加の影響を検討し、非イオン性界面活性剤の MAC ナノファイバーの添加は、MAC ナノファイバーの繊維径を制御する有効な手段であることも明らかにしている。

第 II 章では、脂溶性あるいは水溶性の薬物含有 MAC ナノファイバーを用いた放出制御型カプセル剤の設計を行い、薬剤学的検討を行っている。薬物含有 MAC ナノファイバーの X 線構造回折の結果、MAC ナノファイバー中での薬物結晶はアモルファス状態として存在しており、MAC ナノファイバー中での薬物は内部エネルギーの高い状態で存在しているものと考えられた。UN および NP をモデル薬物として使用し、放出制御型カプセル剤として、NFPC (薬物含有ナノファイバーをカプセルに充填した製剤)、MPPC (薬物含有ナノファイバーを微粒子状に粉碎してカプセルに充填した製剤)、PMC (MAC と薬物の物理的混合物をカプセルに充填した製剤) の 3 種類を調製し、in vitro 溶出試験および in vivo ラット十二指腸投与試験を行った。NEPC および MPPC の in vitro 溶出試験の結果から、薬物を MAC ナノファイバーに包埋することで徐放化が付与されたが、特に包埋する薬物の脂溶性が高い場合、MAC ナノファイバーを微粉末化して比表面積を増大させることにより、MAC ナノファイバーからの溶出量を増大させ得ると言う特性を見出している。また、これらカプセル剤のラット in vivo 十二指腸内投与試験の結果から、水溶性薬物 UN を含有する NFPC および MPPC では、PMC と比較して、最高血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) は抑制され、最高血漿中濃度到達時間 ( $T_{max}$ ) が延長することを確認している。一方、脂溶性薬物 NP では、MAC ナノファイバーを使用したカプセル剤での AUC の上昇が観察され、MAC ナノファイバーを微粉末化することが脂溶性薬物 NP の生体内利用率を上昇させるための製剤上の工夫であることを見出している。また、NFPC からの薬物血漿中濃度推移が、ラット十二指腸内投与 120 分後以降は一定に保たれており、MAC ナノファイバーを薬物の溶出支持体とする NFPC は、薬物の排泄速度と供給速度を釣り合った状態にせしめる製剤であることを証明した。

第 III 章では、MAC ナノファイバーを直接打錠した錠剤を作製し、薬剤学的検討を行っている。AAP をモデル薬物とし、NFP (薬物含有ナノファイバーを打錠した錠剤)、NFT<sub>adso</sub> (薬物非含有ナノファイバーに薬物含有量の全量を吸着させた後、打錠した錠剤)、NFP<sub>half</sub> (薬物含有量の半量分で薬物含有ナノファイバーを調製し、薬物含有量の残り半量分を調製した薬物含有ナノファイバーに吸着させた後、打錠した錠剤) と薬物の物理的混合物を打錠した錠剤 (PMT) を調製して in vitro 溶出試験および in vivo 十二指腸投与試験を行った。直接打錠法による MAC ナノファイバーの打錠では、滑沢剤を添加することなく一定量の MAC ナノファイバーを容易に打錠することができ、打錠障害も認められなかった。打錠圧が高いほど低い打錠圧の場合と比べ、ナノファイバーの網目構造がより緻密となり、このナノファイバーの緻密さは錠剤からの薬物の放出速度に関連し、打錠圧




がナノファイバー錠からの薬物放出を制御する要因の一つであることを示した。さらに、NFT,  $NFT_{adso}$  および  $NFT_{half}$  の in vitro 薬物溶出試験の結果から、薬物の添加形態を変えることで薬物の溶出挙動を制御できることも明らかにしている。また、溶出相の水素イオン濃度を変化させた場合の溶出試験の結果から、NFT は pH 感応性の錠剤であることが示されており、pH 1~3 の環境では、錠剤は溶解することなく膨潤することにより薬物を溶出し、pH 7 付近以上の環境では外側から自己溶解していくことで、より多くの薬物を溶出する特性を持つことを示した。また、in vivo 十二指腸内投与試験の結果、NFT 投与後の薬物体内動態には、MAC の pH 感応性に関連する薬物の溶出特性に加え、薬物の添加形態の影響が血漿中薬物濃度に反映され、加えて、消化管内を崩壊せずに移動するという特性を示し、素錠に比べて超持続型の放出制御型製剤であることを明らかにした。すなわち、pH 感応性を持つ NFT は、経口投与時には胃内では崩壊せず、そのまま腸に移行して消化管内の pH に依存して膨潤あるいは溶解しながら薬物を放出するという特性を有した、従来にない革新的な錠剤であることが証明された。

本論文では、MAC ナノファイバーに基づく薬物放出制御型 DDS 製剤の設計と評価をテーマとして研究展開が行われているが、まずは ES 装置の開発から始まり、創製した MAC ナノファイバーを DDS の素材にして新規の DDS 製剤を提案するというように、研究の流れに一貫性が認められ、特に、従来、主に繊維産業で用いられてきた ES 法を製剤設計に応用することに着目した点は、優れた発想の転換であると評価に値するものである。このことは、発表した論文が学術雑誌の表紙を飾ったことや、DDS に関する国際会議で発表した内容がベストポスター賞に選ばれたという事実からも、本研究の根底に流れる発想の斬新さがうかがえる。よって、本論文には、MAC ナノファイバーというナノ素材を用いた製剤設計という観点から、新たな放出制御型 DDS 製剤の設計論と方向性が示されている。また、本論文で検証されている剤形は、カプセル剤と錠剤ではあるが、MAC ナノファイバーがシート状で得られ、さらに加工が可能であるという特徴から、それら以外の剤形、例えば、吸入剤、経皮膚吸収製剤、注射剤などにも適応可能であり、今後の学会の進展に貢献すること大であると考えられる。

以上から、本論文の提出者 羽森真美 には、博士（薬学）の学位を授与する資質があると認められる。

# 試問結果の要旨

2016年 2月 9日

学位申請者	羽 森 真 美		
審査委員	主 査	杉 浦 幸 雄	
	副 査	森 田 邦 彦	
	副 査	芝 田 信 人	
(要旨)			
<p>提出された学位申請論文をあらかじめ通読した上で、三名の審査員が揃って公開の口頭発表を聴講するとともに、当該発表会場での口頭試問ならびに個別の口頭試問を厳正に実施した。</p> <p>まず、提出された学位申請論文 (A4 版用紙 72 枚=400 字詰め原稿用紙約 260 枚) の最も重要な点である研究の新規性について、主査である杉浦から質問し、本研究の真髄である「エレクトロスピニング (ES) 法を用いた医療用ナノファイバーの調製ならびに放出制御型薬物送達システム (DDS) の開発」が申請者によって初めて報告された内容であり、申請者のアイデアおよびその研究成果にゆるぎない新規性があることを確認した。</p> <p>副査である森田と芝田からは、誤植と思われる箇所指摘と内容の確認を個別に実施したほか、医療用ナノファイバーを調製するにあたっての ES 法の長所と短所、メタクリル酸コポリマー S (MAC) をベースポリマーとして作製された DDS と既存の徐放性製剤との性能面での相違点、および将来展望について発表会場で質問した。その結果、ES 法の特長について申請者はきわめて造詣が深く、医療のさまざまな場面への応用性を具体的に見据えている点、また今回開発された DDS を将来ヒトに適応した際、既存の DDS 製剤よりも優れると推測できる点を明瞭に論ずるなど、関連する医療分野に対しても深い見識を有していることを確認した。</p> <p>そのほか、作製された MAC ナノファイバーに組み込まれた薬物の物理化学的性状や、放出された薬物の体内動態の特性など、論文の第 I 章から第 III 章の全般にわたって発表会場につめかけた聴講者から投げかけられた数々の質問に対し、申請者は至って冷静かつ論理的に応答することで、研究成果の医療薬学的な礎が盤石であることを明確に示した。</p> <p>以上、公開ならびに個別の口頭試問を通じ、申請者の学力および人物ともに問題なく、論文内容は、医療用ナノファイバーの DDS への応用前途を明確に示しており、近未来の医療への大いなる貢献を期待させる内容として高く評価できる。よって、三名の委員の見解は、本論文が学位授与に十分値する内容として一致したことをここに報告する。</p>			