(19)日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11)国際公開番号
WO2012/128363

発行日　平成26年7月24日(2014.7.24)

(43)国際公開日　平成24年9月27日(2012.9.27)

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
A61M 37/00 (2006.01)	A61M 37/00	4C167

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 19 頁）

出願番号	特願2013-506042 (P2013-506042)
(21)国際出願番号	PCT/JP2012/057598
(22)国際出願日	平成24年3月23日(2012.3.23)
(31)優先権主張番号	特願2011-87736 (P2011-87736)
(32)優先日	平成23年3月24日(2011.3.24)
(33)優先権主張国	日本国(JP)

(71)出願人　501296380
コスメディ製薬株式会社
京都府京都市南区東九条河西町３２
(71)出願人　506307809
株式会社アップウェル
福岡県福岡市中央区白金一丁目８号２番地１０２
(74)代理人　110001232
特許業務法人　宮▲崎▼・目次特許事務所
(72)発明者　権　英淑
京都府京都市南区東九条河西町３２　コスメディ製薬株式会社内
(72)発明者　神山　文男
京都府京都市南区東九条河西町３２　コスメディ製薬株式会社内

最終頁に続く

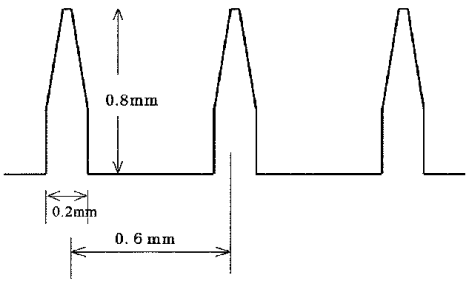
(54)【発明の名称】ＰＥＤＦマイクロニードルアレイ及びその製造方法

(57)【要約】

皮膚表層及び／又は皮膚角質層に折れることなく容易且つ均一に刺入でき、かつ容易に溶解するＰＥＤＦマイクロニードルアレイを提供する。

ＰＥＤＦマイクロニードルアレイは、ＰＥＤＦ及びその活性部分ペプチドの群の中から選択された１若しくは複数の薬物を医薬的に有効量含有させたマイクロニードルから構成される。活性部分ペプチドとして４種類のペプチドが有効であることを示している。ＰＥＤＦ及びその活性部分ペプチドは高価であるためマイクロニードルの先端部分にのみ保持させることが好ましい。マイクロニードルの素材は水溶性高分子、特に多糖類であることが好ましい。このマイクロニードルアレイにより、毛髪の脱毛抑制または発毛促進を誘導することができる。

[図1]



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＰＥＤＦ及びその活性部分ペプチドの群の中から選択された１若しくは複数の薬物を医薬的に有効量含有させたマイクロニードルから構成されるＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項２】
前記活性部分ペプチドがペプチド１、ペプチド２、ペプチド３及びペプチド４の群の中から選択された１若しくは複数のペプチドであることを特徴とする請求項１のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項３】
前記ＰＥＤＦまたはその活性部分ペプチドは前記マイクロニードルの先端部分にのみ存在していることを特徴とする請求項1又は請求項２に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項４】
前記ＰＥＤＦまたはその活性部分ペプチドを含有するマイクロニードルは、溶着法により作成したことを特徴とする請求項３に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項５】
マイクロニードルの素材が水溶性高分子であることを特徴とする請求項1ないし請求項４のいずれか1項に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項６】
前記水溶性高分子が水溶性の多糖類であることを特徴とする請求項５に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項７】
前記水溶性の多糖類が、ヒアルロン酸であることを特徴とする請求項６に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項８】
前記ヒアルロン酸の分子量が５万以上、４００万以下であることを特徴とする請求項７に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項９】
マイクロニードルが水溶性高分子１００重量部と単糖類ないしは２糖類の２０～１００重量部との混合物からなる素材とすることを特徴とする請求項1ないし請求項４のいずれか1項に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項１０】
前記マイクロニードルの形状が円錐型、円錐台型又はコニーデ型であり、その根元直径は０．１５～１．０ｍｍ、先端直径は０．０１～０．０８ｍｍ、高さは０．１～１．２ｍｍであり、マイクロニードルとマイクロニードルのピッチが０．４～１．０ｍｍであることを特徴とする請求項１ないし請求項９のいずれか１項に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイ。
【請求項１１】
マイクロニードルアレイの後ろを片面に粘着剤を塗布した粘着性支持体シートで裏打ちしたことを特徴とする請求項１ないし請求項１０のいずれか１項に記載のＰＥＤＦマイクロニードル投与システム
【請求項１２】
請求項１ないし請求項１０のいずれか１項に記載のＰＥＤＦマイクロニードルアレイを無傷の皮膚へ適用し、毛髪の脱毛抑制または発毛促進を誘導することを特徴とする毛髪再生方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】

本発明はＰＥＤＦ投与用マイクロニードルアレイに関する。

【背景技術】

【０００２】

医薬品を体内に投入する方法としては内服法、注射法、経皮法などが知られており、それぞれ特徴を有している。内服法は簡単であるが、薬剤によっては吸収効率が悪く、あるいは消化管や肝臓に負担をかける。注射法は効率がよいが、苦痛を伴い、医師等の専門家の手を患わさなければならない。これに対し経皮法は薬物の投与量を時間的にコントロールして薬物局所濃度の一時的増加による苦痛や炎症などの副作用を軽減でき、患者の不安・負担を和らげることができる。

【０００３】

従来の経皮法は、薬効成分を含む製剤を皮膚表面に塗布又は貼付し、薬物を皮膚や粘膜を透過させて投与していた。しかし、この方法は発汗や外的圧力等により薬物が脱落するほか、体内への異物侵入を抑止する皮膚角質層のバリアー機能のため透過効率が低い欠点があった。

【０００４】

これらの問題を解決し、皮膚表層及び／又は皮膚角質層の特定の場所に薬効成分を確実に供給する方法として、マイクロニードルが提案された（特許文献１）。マイクロニードルは非常に細いので皮膚表層及び／又は皮膚角質層に刺入した際痛みも出血もなく且つ穿刺創は速やかに閉鎖されるので、皮膚下に薬物を確実に供給する方法として好適である。基板上に複数のマイクロニードルを備えたものをマイクロニードルアレイという。さらにマイクロニードルアレイを皮膚上に固定するための粘着テープ等を備えたものをマイクロニードルパッチという。

【０００５】

マイクロニードルの材質として、生体内で溶解消失する物質が提案されている（特許文献２）。このようなマイクロニードルに薬物を含有させて皮膚に刺入すると、マイクロニードルは皮膚表層及び／又は皮膚角質層において溶解消失するので、皮膚表層及び／又は皮膚角質層の特定の場所に薬物を確実に供給することができる。

【０００６】

しかしながらマイクロニードルの機械的強度が小さい場合は皮膚に刺入する際に折れて刺入できず、機械的強度が大きい場合はマイクロニードルが皮膚内で容易に折れず残留させることが困難な欠点があった。これまでいろいろな材質がマイクロニードル素材として提案されている。例えば、マルトース（特許文献２）、ヒアルロン酸（特許文献４、５、６）、デキストラン（特許文献４）、ポリビニルピロリドン（特許文献７）、ゼラチン（特許文献３、５、６）、コラーゲン（特許文献５、６）、キトサン（特許文献５）、蛋白質（特許文献３、４）、生分解性樹脂（特許文献１）を用いたものが公表されている。

【０００７】

医療用の薬物を含むマイクロニードルは医療用マイクロニードルと呼ばれている。医薬品の中には高価なものが多く、高コスト化を避けるためにはマイクロニードル先端部分にのみ薬剤を含有させる必要がある。薬物をマイクロニードル先端に塗布する塗布法がすでに提案されている（特許文献８）。

【０００８】

ストレス社会のため近年薄毛人口が増加し、育毛・発毛に対する関心が高まっている。ヘアケア市場にはすでに多くの育毛・発毛剤が上市されている。

色素上皮由来因子蛋白質（以下「ＰＥＤＦ」と略記する）は優れた脱毛抑制活性及び発毛促進活性を有する（特許文献９）。しかしながら、これを注射法で投与すると薬液の皮内での注入量の一時的急増のため激しい痛みが生じる。

ＰＥＤＦの変異体（特許文献１０～１２）やＰＥＤＦの製造方法（非特許文献１）はすでに知られている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００９】
【特許文献１】特表２００２－５１７３００号公報
【特許文献２】特開２００３－２３８３４７号公報
【特許文献３】特開２００６－３４６１２６号公報
【特許文献４】ＷＯ２００６／０８０５０８号公報
【特許文献５】特開２００８－２８４３１８号公報
【特許文献６】特開２０１０－０２９６３４号公報
【特許文献７】特開２０１０－０８２４０１号公報
【特許文献８】ＷＯ２００８／０９６７３２号公報
【特許文献９】特開２００７－１９７３３０号公報
【特許文献１０】米国特許第６３１９６８７号公報
【特許文献１１】ＷＯ０３／０５９２４８号公報
【特許文献１２】ＷＯ９３／２４５２９号公報
【非特許文献】
【００１０】
【非特許文献１】コールドスプリングハーバー研究所(Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ ＨａｒｂｏｒＬａｂｏｒａｔｏｒｙ)編「分子クロニング実験指針（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ： Ａ ＬａｂｏｒａｔｏｒｙＭａｎｕａｌ）」第２版、コールドスプリングハーバー研究所出版（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ）,１９８９年。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１１】
本発明の解決しようとする課題は、ＰＥＤＦないしはその活性部分ペプチドを人体に投与するに際し、内服法・注射法や在来の塗布法より優れた、マイクロニードルを利用する経皮投与法を提供することにある。
【課題を解決するための手段】
【００１２】
本発明のＰＥＤＦマイクロニードルアレイは、ＰＥＤＦ及びその活性部分ペプチドの群の中から選択された１若しくは複数の薬物を医薬的に有効量含有させたマイクロニードルから構成されていることを特徴とする。
【００１３】
ＰＥＤＦは高価である。またＰＥＤＦの利用率を高めるためにＰＥＤＦはマイクロニードルアレイのマイクロニードル部分にのみ存在させ、基板部分には含ませないようにマイクロニードルアレイを製造することが好ましい。体内に刺入され、投与されるのはマイクロニードルの先端部分のみで、基板部分はマイクロニードルを支持する部分であって、薬剤投与に直接関係しないからである。
【００１４】
薬物をマイクロニードルアレイの先端に付着させる方法として、従来薬物をマイクロニードルアレイ先端に塗布する塗布法が知られているが、この方法では薬物がマイクロニードルの皮膚刺入の際剥がれ落ちることが多く、不満足であった。
【００１５】
マイクロニードル部分にのみ薬剤を含有させる方法として溶着法がある。これはマイクロニードル素材を水溶性とし、その素材もしくは他の水溶性素材からなる水溶液中にＰＥＤＦを溶解させておき、その溶液内にすでに成形されたマイクロニードルアレイの先端を浸すことにより薬物をマイクロニードルアレイ先端部にのみ含有させる方法である。マイクロニードルアレイの先端を薬物溶液に浸したとき、マイクロニードルアレイの先端が部分的に溶解し、薬物溶液が先端に付着したとき一体化し、マイクロニードルの皮膚への刺入に際し薬物含有部分がはがれ落ちることがない。
【００１６】

溶着法によりマイクロニードルアレイ先端に薬物を効率よく付着させるためには、マイクロニードルアレイ素材と薬物溶液は相溶性があることが好ましい。

【００１７】

マイクロニードル部分にのみ薬剤を含有させる別の方法として、マイクロニードルアレイを段階的に製造する方法がある。マイクロニードルの形状が穿設された型に、マイクロニードル素材にＰＥＤＦを添加した水溶液を流延し、室温下又は加熱して水分を蒸発して乾燥し、マイクロニードル部分のみを製造する。その上にマイクロニードル素材のみの水溶液を流延して基板を積層した後剥離し、基板上にマイクロニードルを転写する。この方法によってもマイクロニードル部分にのみＰＥＤＦが含有されたマイクロニードルアレイが得られる。

【００１８】

本発明のＰＥＤＦマイクロニードルアレイは、ＰＥＤＦが水溶性であるため、素材が水溶性の高分子であることが望ましい。水溶性高分子の例としては、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコールのような合成高分子、カルボキシメチルセルロース、エチルセルロースのような半合成高分子、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、デキストラン、デキストリン、プロテオグリカンのような多糖類などがあげられる。これらの高分子素材に単糖類、２糖類を添加した混合物からなるマイクロニードルは、マイクロニードルの皮膚内溶解速度が短縮されるという特徴を有するのでより望ましい。

【００１９】

多糖類を主素材とするマイクロニードルに医薬的に有効量のＰＥＤＦを含有させたものは特に好適に使用できる。

【００２０】

また、多糖類１００重量部にグルコースを約２０～１００重量部添加した素材にＰＥＤＦを含有させたマイクロニードルは、皮膚内での針溶解性が高まりＰＥＤＦの即溶解性を与えるのでより好ましい。

【００２１】

マイクロニードルの主成分を構成するヒアルロン酸の分子量は５万以上４００万以下であることが望ましい。ヒアルロン酸の分子量が５万未満であると機械的強度の観点から不都合である。また４００万を超えると水溶液とした際の溶液粘度が高すぎて取扱に不便である。

【００２２】

本発明のマイクロニードルアレイは、複数の微細なマイクロニードルが基板の表面に形成されてなるマイクロニードルアレイであって、該マイクロニードルの形状は皮膚に刺入しやすく且つ刺入に際し苦痛を伴わないように円錐型、円錐台型又はコニーデ型とした。なお、コニーデ型とは、いわゆる火山型と呼ばれる形状であり、円錐台型の側面が内側方向に湾曲した形状である。

【００２３】

マイクロニードルの根元直径は細くなると皮膚内に刺入する素材の量が減少すると共に皮膚に刺入する際に折れやすくなり、太くなると皮膚に刺入する際に苦痛を伴うので０．１５～１．０ｍｍが適当である。先端直径は、細くなると（尖っていると）皮膚に刺入する際に折れやすくなり、太くなると皮膚に刺入しにくくなり苦痛を伴うので０．０１～０．０８ｍｍが適当である。

【００２４】

マイクロニードルの高さは、低くなると皮膚表層及び／又は皮膚角質層の所定位置に薬剤を供給しにくくなり、高くなると皮膚に刺入する際に折れやすくなるので０．１～１．０ｍｍが適当である。又、マイクロニードルとマイクロニードルの間のピッチは、短くなると皮膚に刺入しにくくなり、長くなると面積あたりのマイクロニードルの数が少なくなり、所定の狭い部位に多量の薬剤を供給できなくなるので、０．４～１．０ｍｍが適当である。

【００２５】

ＰＥＤＦは非特許文献１に記載の方法で、該蛋白質をコードするＤＮＡを発現させることにより産生できるが、購入することもできる。具体的な産生手法は、特許文献９の［００１８］等に記載されている。

【００２６】

本明細書では、ＰＥＤＦには、ヒトＰＥＤＦと機能的に同等な特性を有するすべてのＰＥＤＦ変異体を含むものとする。ＰＥＤＦ変異体は、例えば特許文献１０～１２に記載されている。

【００２７】

ヒトＰＥＤＦのアミノ酸配列に対して、１つ又は複数のアミノ酸残基の置換、欠失、及び／又は付加を有するアミノ酸配列を含むＰＥＤＦ変異体であって、かつヒトＰＥＤＦと同等な機能を有するＰＥＤＦの変異体は、好ましい変異体である。ヒトＰＥＤＦと機能的に同等とは、ヒトＰＥＤＦと同等の脱毛抑制活性又は発毛促進活性を有すること、又はヒトＰＥＤＦと同等に毛母細胞を含む毛根部の細胞のアポトーシスを防止し得る機能を有することを意味する（特許文献９［００２０］～［００２２］）。

【００２８】

また、ヒトＰＥＤＦのアミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列を有する活性部分ペプチドも、ヒトＰＥＤＦと機能的に同等であれば、本発明のマイクロニードルに含有させることができる。本明細書において活性部分ペプチドとは、ＰＥＤＦを化学的ないしは酵素的に分解した多くのフラグメントの中でＰＥＤＦと同様あるいはそれ以上の優れた脱毛抑制性及び発毛促進活性を有するペプチドをいうものとし、そのアミノ酸配列がＰＥＤＦのアミノ酸配列の一部と同等なものをいう。

【００２９】

脱毛抑制性及び発毛促進活性を確認できた活性部分ペプチドの例として以下の４種がある。本明細書において、それぞれペプチド１、ペプチド２、ペプチド３、ペプチド４と記載する。

ペプチド１：Ｈｉｓ　Ｌｅｕ
Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｐｒｏ Ｌｅｕ Ａｓｐ Ｔｙｒ Ｈｉｓ Ｌｅｕ Ａｓｎ Ｇｌｎ Ｐｒｏ Ｐｈｅ Ｉｌｅ Ｐｈｅ Ｖａｌ Ｌｅｕ Ａｒｇ Ａｓｐ：ＰＥＤＦの３８１－４００残基に相当する２０残基

ペプチド２：Ｈｉｓ　Ｌｅｕ
Ｔｈｒ Ｐｈｅ Ｐｒｏ Ｌｅｕ Ａｓｐ：ＰＥＤＦの３８１－３８７残基に相当する７残基

ペプチド３：Ｔｙｒ　Ｈｉｓ
Ｌｅｕ Ａｓｎ Ｇｌｎ Ｐｒｏ：ＰＥＤＦの３８８－３９３残基に相当する６残基

ペプチド４：Ｐｈｅ　Ｉｌｅ　Ｐｈｅ　Ｖａｌ　Ｌｅｕ　Ａｒｇ　Ａｓｐ：ＰＥＤＦの３９４－４００残基に相当する７残基

【００３０】

ＰＥＤＦないしは活性部分ペプチドの投与量は、投与対象の年齢、体重、性別、症状、などで適宜決定されうる。通常の投与量は1回あたり０．５μｇから１００ｍｇ、好適には１μｇから１０ｍｇである。投与は毎日あるいは数日おきに数ヶ月間投与する。少なければ効果がなく、多すぎれば予期せぬ副作用が起こることが懸念される。マイクロニードルへのＰＥＤＦないしは活性部分ペプチドの充填量は、投与の便を考慮すると投与全量を１枚のマイクロニードルに充填することが望ましい。

【００３１】

本発明のマイクロニードルアレイの製造方法は、特に限定されず、従来公知の任意の方法で製造されればよい。

例えば、マイクロニードルの形状が穿設された型に、マイクロニードル素材水溶液を流延し、室温下又は加熱して水分を蒸発して乾燥し、乾燥後基板を剥離する。

【００３２】

以上のような方法で作製したマイクロニードルアレイを皮膚に数時間適用するためにはマイクロニードルアレイの基板の裏面に粘着性フィルムで裏打ちしてマイクロニードルパ

ッチとすることが好ましい。より具体的には、マイクロニードルアレイは、基板と、基板の片面において該基板と一体に設けられた複数のニードル等を有する。このマイクロニードルアレイの基板の複数のニードルが設けられている面と反対側の面に、基板よりも大きな面積の粘着性フィルムを積層する。それによって、粘着性フィルムによりマイクロニードルアレイを裏打ちして、マイクロニードルパッチとすることができる。このような粘着性フィルムとしては、基材と、基材の片面に粘着剤層が設けられた適宜の粘着性フィルムを用いることができる。このような基材としては、ポリエステルフィルム、ポリエチレンフィルム、ポリウレタンフィルム、ウレタンフォーム、紙などが挙げられる。また、上記粘着剤としては、アクリルエステル、スチレン‐イソプレン系熱可塑性ゴム粘着剤等からなる粘着剤を好適に使用出来る。

【００３３】

図２は、上記マイクロニードルパッチの一実施形態を略図的に示す断面図である。図２に示すように、マイクロニードルパッチ１は、基板２を有し、基板２の片面に複数のニードル３が一体的に構成されている。また、基板２の反対側の面に、粘着性フィルム４が積層されている。粘着性フィルム４は、基材４ａと、基材４ａの片面に設けられた粘着剤４ｂとを有する。

【発明の効果】

【００３４】

ＰＥＤＦ若しくはその活性部分ペプチドを毛髪産生を必要とする部分、例えば頭部に、マイクロニードルにより選択的に供給すれば、脱毛が抑制され、発毛促進活性が現れる。

【００３５】

マイクロニードルは適度の硬さと折れにくさを有し、しかも皮膚表層及び／又は皮膚角質層において容易に溶解する。このため刺入に際し失敗が少なく、初心者にも使用しやすい。

【００３６】

本発明のＰＥＤＦマイクロニードルアレイの構成によれば、ＰＥＤＦ若しくはその活性部分ペプチドを毛髪の産生を必要とする部分のみに徐々に供給することができる。

【００３７】

従来の内服法や注射法では、体内全体にＰＥＤＦが分配供給され、毛髪産生部分の局所濃度が不十分となり、効果が限定的であった。局所的に十分な効果が得られるほどの量のＰＥＤＦを内服あるいは注射により投与すると副作用を生じ、重篤な疾病を誘発する危険があった。

【００３８】

これに対し毛髪産生を必要とする部分、例えば頭部の多数箇所に微量ずつ分けて注射する方法が考えられるが、ＰＥＤＦ皮下注射はＰＥＤＦ注入量が瞬間的かつ局所的に急上昇するため激痛を伴うことが知られており、このような激痛を伴う注射を多数箇所に、それも反復して適用することは現実的でない。

【００３９】

一方マイクロニードルによれば、マイクロニードル素材を適切に選択して溶解時間を調節することにより、必要局所に必要量のＰＥＤＦを徐々に供給することができる。従って数日あるいは数週間にわたって断続的に投与することが容易である。

【図面の簡単な説明】

【００４０】

【図１】図１は、マイクロニードルアレイの断面図の例である。

【図２】図２は、本発明の一実施形態にかかるマイクロニードルアレイとしてのマイクロニードルパッチを示す略図的断面図の図である。

【発明を実施するための形態】

【００４１】

次に、本発明を詳細に説明するが、本発明は実施例に限定されるものではない。本発明で用いたＰＥＤＦ及び各ペプチドは株式会社アップウエルにより作成された。

【実施例１】
【００４２】
本実施例で用いたマイクロニードルの材質とマイクロニードルに含有させたＰＥＤＦをまとめて表１に示す。マイクロニードルの材質組成は、マイクロニードルを構成する各成分の重量比で示す。図１に本実施例のマイクロニードルアレイの断面図の一部分を示す。
【００４３】
【表１】

本実施例のマイクロニードル

	マイクロニードル組成		薬物
	素材	重量比	重量％
本組成１	ヒアルロン酸 デキストラン ポリビニルピロリドン	６０ ３０ １０	ＰＥＤＦ ０．０１
本組成２	ヒアルロン酸 デキストラン ポリビニルピロリドン	７０ ２０ １０	ＰＥＤＦ ０．０１
本組成３	ヒアルロン酸 グルコース	８０ ２０	ペプチド１ ０．０１
比較組成１	ヒアルロン酸 デキストラン ポリビニルピロリドン	３０ ４０ ３０	ＰＥＤＦ ０．０１

【００４４】
本実施例で用いられているヒアルロン酸はキッコーマンバイオケミファ（株）（旧名（株）紀文フードケミファ）製でその分子量は８０万（商品名：ＦＣＨ－８０）、デキストランは日本バルク薬品製（商品名：デキストラン７０）、ポリビニルピロリドンはＢＡＳＦジャパン製（商品名：コリドン１２ＰＦ）である。また、本発明において分子量とは重量平均分子量であり、ゲルパーミェーションクロマトグラフィー（ＧＰＣ）により測定された量をいう。
【００４５】
各マイクロニードルアレイは、マイクロニードルの形状が穿設された型に、マイクロニードル素材にＰＥＤＦを添加した水溶液を流延し、室温下又は加熱して水分を蒸発して乾燥してマイクロニードル部分を作成する。表１のＰＥＤＦの重量％は、このＰＥＤＦ添加水溶液中のＰＥＤＦの重量％である。その上にマイクロニードル素材のみの水溶液を流延して基板を積層した後剥離し、基板上にマイクロニードルを転写する。この方法によればマイクロニードルにのみＰＥＤＦが含有されたマイクロニードルアレイが得られ、ＰＥＤＦの利用効率がよい。しかし、ＰＥＤＦの含有を針部のみに限定することは困難で一部は基板にも含浸される。このようにして製造したマイクロニードルを、本明細書では針内均一マイクロニードルと記載する。ＰＥＤＦをより効率的に針先にのみ装填するためには実施例２で述べるような溶着法がさらに適切である。
【００４６】
マイクロニードルは、根元直径０．２ｍｍ、先端直径０．０４ｍｍ、長さ０．８ｍｍの円錐台状であり、０．６ｍｍ間隔に格子状に配列されており、直径１ｃｍ^{2}の円形パッチ型アレイでありマイクロニードルは２４４個形成されている。
【００４７】
作製したマイクロニードルアレイのベース部の硬度をＪＩＳ鉛筆硬度測定法により測定

した。

【００４８】

雄性ラット（１２週齢）をネンブタール（３０ｍｂ／ｋｇ）で麻酔後腹部皮膚を剃毛し、上記の各組成のマイクロニードルを１枚の保護絆創膏で裏打ちして投与した。投与時間は２時間であった。また即溶解が期待された本組成３については３０分後に取り出した。取出したマイクロニードルを顕微鏡観察し、先端部の溶解状況を観察した。各マイクロニードルの鉛筆硬度と投与後の観察結果を表２にまとめた。

【００４９】

この表より、マイクロニードルの組成は多糖類を主素材とすることで良好な結果を得られるが、ビニルピロリドンの割合が多いと硬すぎて針が脆くなることが分かる。また、グルコースを含有する多糖類マイクロニードルの短時間針溶解も確認できる。別の試験結果から多糖類のみからなるマイクロニードルでは30分の皮膚適用では針の溶解性は不十分であることを確認している。

【００５０】

【表２】

各マイクロニードルの性状と投与後の状況

	マイクロニードルアレイの性状	鉛筆硬度	投与後の観察結果
本組成１	マイクロニードルは完全な形状で成形	７Ｈ	マイクロニードルは２時間後には完全に皮膚内溶解
本組成２	同上	７Ｈ	同上
本組成３	同上	７Ｈ	マイクロニードルは 30 分後には完全に皮膚内溶解
比較組成１	一部のマイクロニードルは型から剥すさい型内で折れ、マイクロニードルアレイとして不完全	８Ｈ	（投与不実施）

【実施例２】

【００５１】

（溶着法によるＰＥＤＦマイクロニードルアレイの作成と評価）

前記本組成１の素材の薬物を含まないマイクロニードルを作成した。マイクロニードルアレイは直径１cmの円形パッチであった。また、本組成１のマイクロニードル素材とＰＥＤＦ５ｍｇ及びトレハロース（林原研究所、岡山市）１００μｇを５００μｌの水に溶解した溶液を作成した。溶着法により、すなわち上記マイクロニードルの針の先端部１００μｍを上記水溶液に1秒間浸漬して引き上げ乾燥させ、先端ＰＥＤＦ溶着マイクロニードルアレイを得た。これによりマイクロニードル針部にＰＥＤＦが約１０μg含有される。このような製造法により作成したマイクロニードルを、本明細書では溶着法マイクロニードルと記載する　マイクロニードルアレイの裏面には皮膚への数時間の適用を安定化させるために絆創膏（マイクロポア、３Ｍ社）を直径２．５ｃｍの円形に切り出した粘着フィルムを裏打ちしマイクロニードルパッチを得た。

【００５２】

このマイクロニードルパッチを雄性ラットに投与したところ、上記と同様マイクロニードルは皮膚内で完全に溶解することを認めた。

【実施例３】

【００５３】

（ペプチド１を用いるマイクロニードルアレイの作成と評価）

前記本組成２の素材の薬物を含まないマイクロニードルを作成した。また本組成２のマイクロニードル素材とペプチド１の５ｍｇ及びトレハロース（林原研究所、岡山市）１００μｇを５００μｌの水に溶解した溶液を作成した。

【００５４】

溶着法により、すなわち上記マイクロニードルの針の先端部１００μｍを上記水溶液に１秒間浸漬して引き上げ乾燥させ、先端ＰＥＤＦ溶着マイクロニードルアレイを得た。こ

れによりマイクロニードル針部にＰＥＤＦが約１０μｇ含有される。
【００５５】
マイクロニードルアレイの裏面には皮膚への数時間の適用を安定化させるために絆創膏（マイクロポア、３Ｍ社）を直径２．５ｃｍの円形に切り出した粘着フィルムを裏打ちしマイクロニードルパッチを得た。
【００５６】
このマイクロニードルパッチを雄性ラット剃毛背部皮膚に投与したところ、マイクロニードルは皮膚内で完全に溶解することを認めた。
【実施例４】
【００５７】
（実施例４：ＰＥＤＦの脱毛抑制活性）
４種類のマイクロニードルを以下のように作成した。
マイクロニードルＡ：　ＰＥＤＦ１０μgを含有する針内均一マイクロニードル：本組成１を用いた。
マイクロニードルＢ：　ＰＥＤＦ０．５μgを含有する針内均一マイクロニードル：本組成１のＰＥＤＦ濃度を減少させた組成を用いた。
マイクロニードルＣ：　ＰＥＤＦ１０μgを含有する溶着法マイクロニードル：本組成３を用いた。
マイクロニードルＤ：　ＰＥＤＦを含まないマイクロニードル：本組成１を用いた。
【００５８】
マイクロニードルは、根元直径０．２ｍｍ、先端直径０．０４ｍｍ、長さ０．８ｍｍの円錐台状であり、０．６ｍｍ間隔に格子状に配列されており、１ｃｍ^{2}の円形パッチ型アレイでありマイクロニードルは２４４個形成されていた。アレイの後ろは直径２ｃｍの円形ＰＥＴフィルムの片面にアクリル粘着剤を塗布した粘着シートで裏打ちした。
【００５９】
モデル動物として脱毛マウスを以下のように作成した。
６～８週齢の体重１８～２０ｇのＣ５７ＢＬ６／Ｊマウス（クレアより購入）を特定病原体未感染条件下において１０週間飼育した。飼育方法は、久留米大学動物実験倫理委員会もしくは米国農務省（ＵＳＤＡ）の「ｔｈｅ Ｇｕｉｄｅ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ ｏｆ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ａｎｉｍａｌｓ」のガイドラインに沿って許可されたプロトコルに従って行った。
【００６０】
コリン欠乏食給餌群では、試験開始日から、マウスに低蛋白高脂肪のコリン欠乏食を自由に摂食させた。このコリン欠乏食の組成（単位は質量％）は、ビタミンフリーカゼイン８．０００；ラード３７．９５０；グラニュー糖４８．３７５；Ｌ－シスチン０．６２５；ビタミンＭｉｘ１．０００；ミネラルＭｉｘ４．０００；および油性ビタミン混合物０．０５０である。ここで、ビタミンＭｉｘは、以下の組成（単位はｍｇ／飼料ｇ）：ビタミンＫ３
０．３１２５、ビタミンＢ１ ０．３１２５、ビタミンＢ２ ０．５０００、ビタミンＢ６ ０．３１２５、ＤＬ－パントテン酸Ｃａ １．２５００、ナイアシン １．２５００、残りはグラニュー糖を有し、ミネラルＭｉｘは、以下の組成（単位はｍｇ／飼料１００ｇ中）：Ｃａ（H_2PO_4）H_2O ５８５．０００、乳酸Ｃａ
１，３２８．０００、クエン酸Ｆｅ １１８．８００、$MgSO_4$・$7H_2O$ ５４８．０００、K_2HPO_4 ９５９．２００、NaH_2PO_4・$2H_2O$
４５３．６００、およびＮａＣｌ １７４．０００を有し、油性ビタミン混合物は、以下の組成（単位はｍｇ／飼料１００ｇ中）：ビタミンＡ（５０万ＩＵ／ｇ）２．５０００、ビタミンＤ３（５０万ＩＵ／ｇ）０．６２５０、ビタミンＥ ２５．０００、およびピーナッツ油２１．８７５０を有する。
【００６１】
それぞれマウス５ひきずつの下記の４群に分け、次のような投与試験を行った。

１群．マイクロニードルＡを投与し、コリン欠乏食を給餌した；
２群．マイクロニードルＣを投与し、コリン欠乏食を給餌した；
３群．マククロニードルＢを投与し、コリン欠乏食を給餌した；
４群．マイクロニードルＤを投与し、コリン欠乏食を給餌した；

【００６２】

試験開始日（０日目）に、各群のマウスにそれぞれのマイクロニードル１枚を脱毛皮膚に投与した。その後もコリン欠乏食を摂食させつつ２回／週に投与を継続し６週間後に投与部の毛髪量試験を毛髪採取重量測定により評価した。評価結果を表３に示す。

【００６３】

【表３】

評価結果

群	投与マイクロニードル	毛髪量（ｍｇ）
１群	マイクロニードルＡ	５２
２群	マイクロニードルＣ	５４
３群	マイクロニードルＢ	５
４群	マイクロニードルＤ	１以下

【００６４】

表３から明らかなように、１群、２群、３群ともに育毛効果が確認された。１群２群はＰＥＤＦ含量が多いので育毛効果も大きかった。

【実施例５】

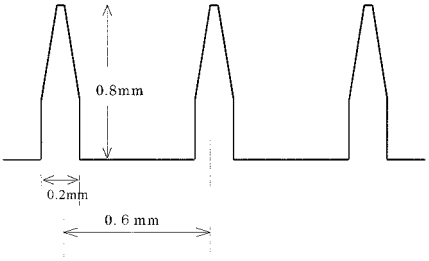
【００６５】

室温で水１ｇにヒアルロン酸ナトリウム（キッコーマンバイオケミファ（株）製、商品名ＦＣＨ－ＳＵ、培養由来、重量平均分子量１０万）１００ｍｇおよびペプチド２の１ｍｇを溶解しヒアルロン酸水溶液を得た。本水溶液を下記のディメンジョンを有するマイクロニードル形成鋳型に厚さ２ｍｍに流延して乾燥させ、針高さ２００μｍのコニーデ型マイクロニードルを有する直径１ｃｍのマイクロニードルアレイを得た。同様にしてペプチド３、ペプチド４に関してもマイクロニードルアレイを得た。これらのマイクロニードルアレイは針部および基板部すべてに均一にペプチドが溶解している。得られたマイクロニードルアレイを直径２ｃｍの円形の保護絆創膏で裏打ちした。マイクロニードルアレイを保護絆創膏と共に雄性ラットの剃毛皮膚に投与したところ１時間後には針部は３種マイクロニードルとも完全に皮膚内溶解していることを顕微鏡観察により確認した。

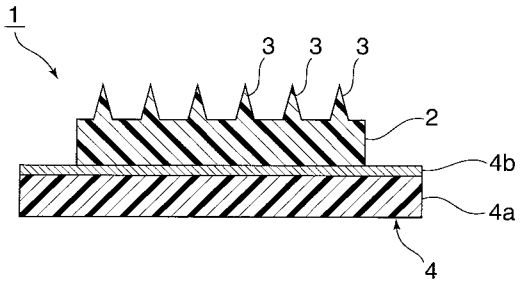
【００６６】

本試験に使用したマイクロニードル形成鋳型は凹部根元の直径が０．６ｍｍ、先端直径が０．０２ｍｍ、深さ０．２ｍｍのコニーデ型であり、０．６ｍｍ間隔に格子状に配列されており、１ｃｍ^{2}あたり約２４４個形成されている。

【図１】



【図２】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2012/057598

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61M37/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61M37/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2011/002034 A1 (Toppan Printing Co., Ltd.), 06 January 2011 (06.01.2011), paragraphs [0001], [0007] to [0009], [0012] to [0067]; fig. 1 to 4 (Family: none)	1-11
Y	JP 2007-197330 A (Kabushiki Kaisha Seitai Shigen Kenkyusho), 09 August 2007 (09.08.2007), paragraphs [0001], [0005], [0008] to [0010], [0015] to [0022], [0031] to [0056] (Family: none)	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
20 June, 2012 (20.06.12)	03 July, 2012 (03.07.12)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2012/057598

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2005/0148508 A1 (Shaltiel Shmuel), 07 July 2005 (07.07.2005), paragraphs [0001], [0054] to [0061]; SEQUENCE LISTING & WO 2003/059248 A2	2-4
Y	WO 2008/139648 A1 (Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc.), 20 November 2008 (20.11.2008), paragraphs [0001], [0011], [0020] to [0046]; fig. 1 to 5, 7 to 8 & US 2010/0280457 A1 & EP 2153863 A1	3-4,7-8

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2012/057598

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [x] Claims Nos.: 12
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 12 pertains to a method for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out a search under the provision of PCT Rule 39.1(iv).

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 ＰＣＴ／ＪＰ２０１２／０５７５９８

Ａ． 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl. A61M37/00(2006.01)i

Ｂ． 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl. A61M37/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１２年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ． 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WO 2011/002034 A1 (凸版印刷株式会社) 2011.01.06, 段落[0001], 段落[0007]－[0009], 段落[0012]－[0067], [図 1]－[図 4] (ファミリーなし)	1 － 11
Y	JP 2007-197330 A (株式会社生体資源研究所) 2007.08.09, 段落【0001】, 段落【0005】, 段落【0008】-【0010】, 段落【0015】-【0022】, 段落【0031】-【0056】 (ファミリーなし)	1 － 11

☑ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊ 引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
２０．０６．２０１２	０３．０７．２０１２

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員） ３Ｅ ４４８６
安田 昌司
電話番号 ０３－３５８１－１１０１ 内線 ３３４４

様式ＰＣＴ／ＩＳＡ／２１０（第２ページ）（２００９年７月）

国際調査報告

国際出願番号 ＰＣＴ／ＪＰ２０１２／０５７５９８

Ｃ（続き）． 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	US 2005/0148508 A1 (Shaltiel Shmuel) 2005.07.07, 段落[0001], 段落[0054]－[0061], SEQUENCE LISTING & WO 2003/059248 A2	2 - 4
Y	WO 2008/139648 A1 (久光製薬株式会社) 2008.11.20, 段落[0001], 段落[0011], 段落[0020]－[0046], [図 1]－[図 5], [図 7]－[図 8] & US 2010/0280457 A1 & EP 2153863 A1	3 - 4, 7 - 8

国際調査報告

国際出願番号 ＰＣＴ／ＪＰ２０１２／０５７５９８

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第１ページの２の続き）

法第8条第3項（ＰＣＴ17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1．☑ 請求項 12 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項12は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。

2．☐ 請求項 ＿＿＿＿＿＿ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3．☐ 請求項 ＿＿＿＿＿＿ は、従属請求の範囲であってＰＣＴ規則6.4(a)の第２文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1．☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。

2．☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。

4．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

(72)発明者 母里 彩子
福岡県久留米市荘島町８－５－１０１ 株式会社アップウェル内
Ｆターム(参考) 4C167 AA72 BB02 EE08 GG16

（注）この公表は、国際事務局（ＷＩＰＯ）により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願（日本語実用新案登録出願）の国際公開の効果は、特許法第１８４条の１０第１項(実用新案法第４８条の１３第２項）により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。