

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2012年9月27日(27.09.2012)



(10) 国際公開番号  
WO 2012/128363 A1

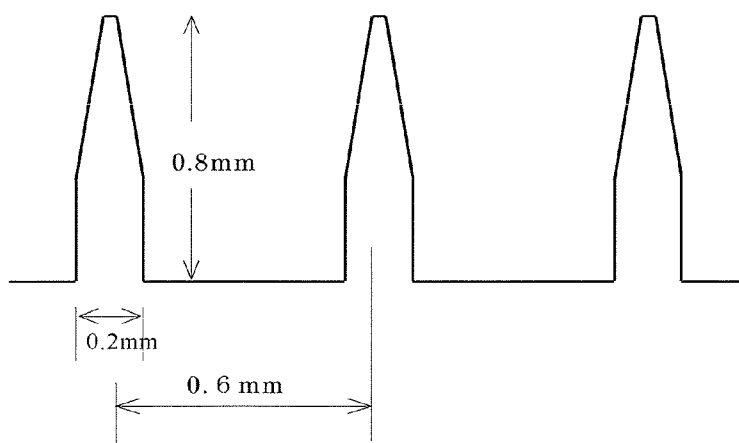
- (51) 国際特許分類:  
A61M 37/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/057598
- (22) 国際出願日: 2012年3月23日(23.03.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2011-087736 2011年3月24日(24.03.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): コスメディ製薬株式会社(COSMED PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒6018014 京都府京都市南区東九条河西町3-2 Kyoto (JP). 株式会社アップウェル(Up Well Co. Ltd.) [JP/JP]; 〒8300042 福岡県久留米市荘島町8-5-101 Fukuoka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 権 英淑 (QUAN, Ying-shu) [CN/JP]; 〒6018014 京都府京都市南区東九条河西町3-2 コスメディ製薬株式会社内 Kyoto (JP). 神山 文男(KAMIYAMA, Fumio) [JP/JP]; 〒6018014 京都府京都市南区東九条河西町3-2 コスメディ製薬株式会社内 Kyoto (JP). 母里 彩子(MORI, Ayako) [JP/JP]; 〒8300042 福岡
- (74) 代理人: 特許業務法人 宮▲崎▼・目次特許事務所(MIYAZAKI & METSUGI); 〒5400028 大阪府大阪市中央区常盤町1丁目3番8号 中央大通FNビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロパ (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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),

[続葉有]

(54) Title: PEDF MICRO-NEEDLE ARRAY AND METHOD FOR PRODUCING SAME

(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

【図1】



(57) Abstract: Provided is a PEDF micro-needle array that can be inserted easily and evenly into the surface layer of the skin and/or the stratum corneum of the skin without breaking and that dissolves easily. This PEDF micro-needle array comprises micro-needles containing a pharmaceutically effective amount of one or more drugs selected from the group consisting of PEDF and active partial peptides thereof. Four types of peptides are shown to be effective as active partial peptides. Preferably, PEDF and the active partial peptides thereof are retained only in the tip end sections of the micro-needles because PEDF and the active partial peptides thereof are expensive. Preferably, the material of the micro-needles is a water-soluble polymer, and particularly a polysaccharide. With this micro-needle array, it is possible to inhibit hair loss or induce the promotion of hair growth.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2012/128363 A1

OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

---

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。

## 明 細 書

### 発明の名称 : P E D F マイクロニードルアレイ及びその製造方法 技術分野

[0001] 本発明は P E D F 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 Harbor Laboratory)編「分子クローニング実験指針(Molecular Cloning: A Laboratory Manual)」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、0.1～1.0 mm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、0.4～1.0 mm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0.5  $\mu$ gから100mg、好適には1  $\mu$ g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

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] P E D F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P E D Fマイクロニードルアレイの構成によれば、P E D F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P E D F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 P E D F 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微量ずつ分けて注射する方法が考えられるが、P E D F 皮下注射は P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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	60	PEDF 0.01
	デキストラン	30	
	ポリビニルピロリドン	10	
本組成 2	ヒアルロン酸	70	PEDF 0.01
	デキストラン	20	
	ポリビニルピロリドン	10	
本組成 3	ヒアルロン酸	80	ペプチド 1 0.01
	グルコース	20	
比較組成 1	ヒアルロン酸	30	PEDF 0.01
	デキストラン	40	
	ポリビニルピロリドン	30	

[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、ゲルパーミエ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<sup>2</sup>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PEDF 5mg及びトレハロース(林原研究所、岡山市) 100 $\mu$ gを500 $\mu$ l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100 $\mu$ m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10 $\mu$ g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) 100 $\mu$ gを500 $\mu$ l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100 $\mu$ m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10 $\mu$ g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 : P E D F 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 : P E D F 10  $\mu$ g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 : P E D F 0.5  $\mu$ gを含有する針内均一マイクロニードル : 本組成 1 の P E D F 濃度を減少させた組成を用いた。

マイクロニードルC : P E D F 10  $\mu$ g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 : P E D F 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0.2 mm、先端直径0.04 mm、長さ0.8 mmの円錐台状であり、0.6 mm間隔に格子状に配列されており、1 cm<sup>2</sup>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2 cm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18~20 g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M i x 1.000；ミネラルM i x 4.000；および油性ビタミン混合物0.050である。ここで、ビタミンM i xは、以下の組成（単位はm g／飼料g）：ビタミンK 30.3125、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C a 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M i xは、以下の組成（単位はm g／飼料100g中）：C a (H<sub>2</sub>P O<sub>4</sub>) H<sub>2</sub>O 585.000、乳酸C a 1,328.000、クエン酸F e 118.800、M g S O<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O 548.000、K<sub>2</sub>H P O<sub>4</sub> 959.200、N a H<sub>2</sub>P O<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O 453.600、およびN a C l 174.000を有し、油性ビタミン混合物は、以下の組成（単位はm g／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 25.0000、およびピーナツ油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	5.2
2 群	マイクロニードルC	5.4
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200 $\mu$ m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<sup>2</sup>あたり約244個形成されている。

## 請求の範囲

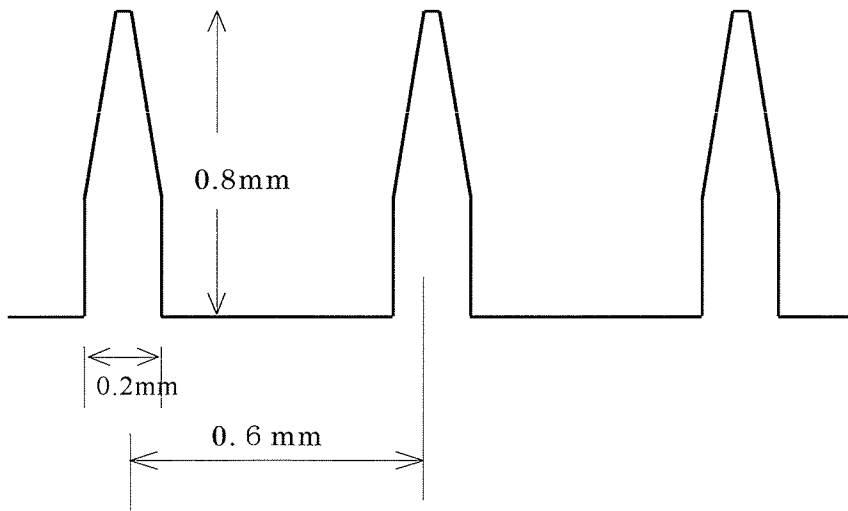
- [請求項1] P E D F 及びその活性部分ペプチドの群の中から選択された1若しくは複数の薬物を医薬的に有効量含有させたマイクロニードルから構成される P E D F マイクロニードルアレイ。
- [請求項2] 前記活性部分ペプチドがペプチド1、ペプチド2、ペプチド3及びペプチド4の群の中から選択された1若しくは複数のペプチドであることを特徴とする請求項1の P E D F マイクロニードルアレイ。
- [請求項3] 前記 P E D F またはその活性部分ペプチドは前記マイクロニードルの先端部分にのみ存在していることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の P E D F マイクロニードルアレイ。
- [請求項4] 前記 P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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 P E D F 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、円錐台型又はコーン型であり、その根元直径は0.15～1.0mm、先端直径は0.01～

0.08 mm、高さは0.1～1.2 mm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0.4～1.0 mm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。

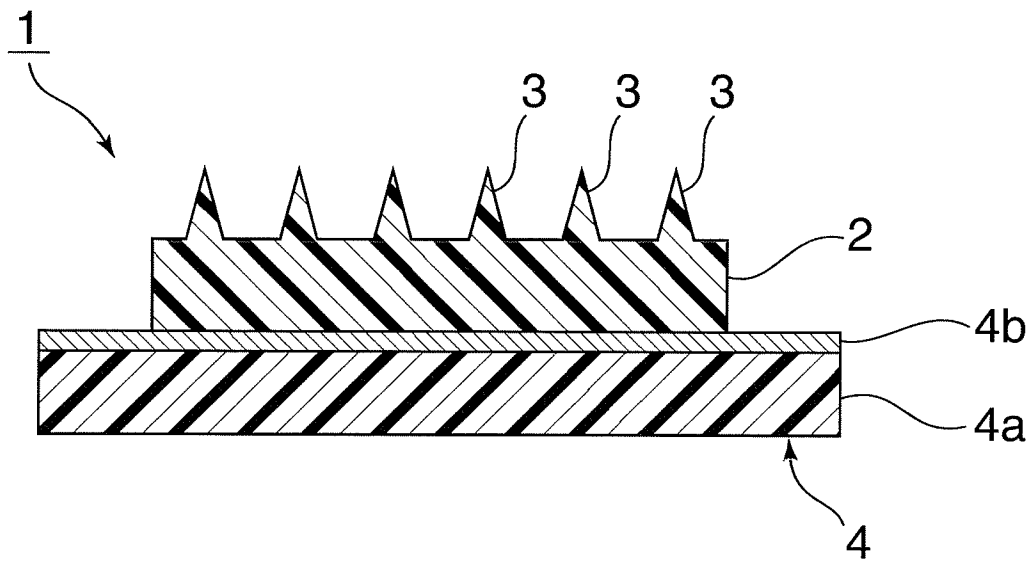
[請求項11]       マイクロニードルアレイの後ろを片面に粘着剤を塗布した粘着性支持体シートで裏打ちしたことを特徴とする請求項1ないし請求項10のいずれか1項に記載のPEDFマイクロニードル投与システム

[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。

[図1]



[図2]



## 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

"I" 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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
20 June, 2012 (20.06.12)Date of mailing of the international search report  
03 July, 2012 (03.07.12)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## 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

**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.  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.

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

20.06.2012

国際調査報告の発送日

03.07.2012

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 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)

安田 昌司

3E 4486

電話番号 03-3581-1101 内線 3344

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

## 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ろ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ため、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ため、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。