

明 細 書

発明の名称：

遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンを含有するマイクロニードルデバイス

技術分野

[0001] 本発明は、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンを含有するマイクロニードルデバイスに関する。

背景技術

[0002] 生理活性物質を経皮投与する手段の一つとして、マイクロニードルデバイスが知られている。マイクロニードルデバイスは、その主要面上に複数のマイクロニードルを有しており、その具体的な態様としては、例えば、マイクロニードル上に生理活性物質を含有するコーティング層を形成させたものや、生理活性物質を内包する自己溶解型マイクロニードルがある（例えば、特許文献1，2）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特表2008-528509号公報

特許文献2：特表2014-507473号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明者らは、生理活性物質として遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンを用いて、マイクロニードルをコーティングした場合に、コーティングにおける遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの含量均一性が低く、マイクロニードルデバイスの保存中に遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンが凝集しやすいことを見出した。

[0005] コーティング中の生理活性物質の含量均一性が低いと、マイクロニードルデバイス使用時に遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの吸収が安定せず、十分な治療効果が得られない場合がある。

[0006] したがって、本発明の目的は、コーティング層を有するマイクロニードルデバイスであって、コーティング層中に遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンが凝集しにくく、均一に分散するように塗布されたマイクロニードルデバイスを提供することである。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明は、基板と、基板上に配置されたマイクロニードルと、マイクロニードル上に形成されたコーティング層と、を備えるマイクロニードルデバイスであって、コーティング層は、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン（以下、単に「FSH」ともいう。）、アルギニン及びグリセリンを含有し、上記コーティング層において、アルギニンの質量が、FSHの質量に対して0.07～0.75倍、好ましくは0.07～0.6倍であり、グリセリンの質量が、FSHの質量に対して0.1～2.75倍である、マイクロニードルデバイスを提供する。

[0008] 上記コーティング層がFSH、アルギニン及びグリセリンを含有することにより、使用者に有効量のFSHを持続的に投与することができ、FSHの含量均一性及び溶解性にも優れ、コーティング層の液ダレも生じにくい。

[0009] 上記コーティング層は、クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸をさらに含有することが好ましい。

[0010] また、本発明は、基板及びマイクロニードルを有するマイクロニードルアレイを準備する工程と、FSH、アルギニン及びグリセリンを混合してコーティング組成物を得る工程と、マイクロニードルにコーティング組成物を塗布する工程と、コーティング組成物を乾燥させてマイクロニードル上にコーティング層を形成する工程と、を備える、マイクロニードルデバイスの製造方法を提供する。

[0011] 上記製造方法におけるコーティング組成物では、アルギニンの質量が、FSHの質量に対して0.07～0.75倍、好ましくは0.07～0.6倍であり、グリセリンの質量が、FSHの質量に対して1～3倍であることが好ましい。

- [0012] 上記コーティング組成物は、クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸をさらに含有することが好ましい。
- [0013] 上記コーティング層において、アルギニンの質量が、F S Hの質量に対して0.07～0.75倍、好ましくは0.07～0.6倍となり、かつグリセリンの質量が、F S Hの質量に対して0.1～2.75倍となるまで乾燥を行うことが好ましい。
- [0014] さらに、本発明は、F S H、アルギニン及びグリセリンを含有し、上記コーティング剤において、F S Hの質量を基準として、アルギニンの含有量が0.07～0.75倍、好ましくは0.07～0.6倍であり、かつグリセリンの含有量が1～3倍である、マイクロニードル用コーティング剤を提供する。
- [0015] 上記コーティング剤は、クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸をさらに含有することが好ましい。

発明の効果

- [0016] 本発明のマイクロニードルデバイスによれば、コーティング層がF S H、アルギニン及びグリセリンを含有することにより、使用者に有効量のF S Hを持続的に投与することができ、F S Hの含量均一性及び溶解性にも優れ、コーティング層の液ダレも生じにくい。

図面の簡単な説明

- [0017] [図1]マイクロニードルデバイスの一実施形態を示す斜視図である。
- [図2]図1の11-11線に沿った側面断面図である。
- [図3](a)、(b)及び(c)は、マイクロニードルデバイスの製造方法の一実施形態を示す模式図である。
- [図4]一実施形態のマイクロニードルデバイスのコーティング層におけるF S Hの凝集体含有率を示すグラフである。

発明を実施するための形態

- [0018] 以下、図面を参照しながら、好適な実施形態を説明する。なお、図面の説明において同一要素には同一符号を付し、重複する説明を省略する。また、

図面は理解を容易にするため一部を誇張して描いており、寸法比率は説明のものとは必ずしも一致しない。

[0019] 本発明の一実施形態は、基板と、基板上に配置されたマイクロニードルと、マイクロニードル上に形成されたコーティング層と、を備えるマイクロニードルデバイスであって、コーティング層は、F S H、アルギニン及びグリセリンを含有する、マイクロニードルデバイスである。

[0020] 図1は、マイクロニードルデバイスの一実施形態を示す斜視図である。図1に示すマイクロニードルデバイス1は、基板2と、基板2上に二次元状に配置された複数のマイクロニードル3と、マイクロニードル3上に形成されたコーティング層5とを備えている。コーティング層5は、F S H、アルギニン及びグリセリンを含有するものである。

[0021] 基板2は、マイクロニードル3を支持するための土台である。基板2の面積は、 $0.5 \sim 10 \text{ cm}^2$ であることが好ましく、より好ましくは $1 \sim 5 \text{ cm}^2$ 、さらに好ましくは $1 \sim 3 \text{ cm}^2$ である。この基板2を複数個つなげることで所望の大きさの基板を構成するようにしてもよい。

[0022] マイクロニードル3は微小構造であり、その高さ（長さ）は、好ましくは $50 \sim 600 \mu\text{m}$ である。ここで、マイクロニードル3の長さを $50 \mu\text{m}$ 以上とすることにより、コーティング層に含まれるF S Hの投与が確実になる。また、マイクロニードル3の長さを $600 \mu\text{m}$ 以下とすることにより、マイクロニードルが神経に接触するのを回避して、痛みを生じる可能性を減少させるとともに、出血の可能性を回避することができるようになる。また、マイクロニードル3の長さが $500 \mu\text{m}$ 以下であると、皮内に入るべき量のF S Hを効率良く投与することができ、基底膜を穿孔させずに投与することも可能である。マイクロニードル3の長さは、 $300 \sim 500 \mu\text{m}$ であることが特に好ましい。

[0023] ここで、マイクロニードル3とは、凸状構造物であって、広い意味での針形状、又は針形状を含む構造物を意味する。もっとも、マイクロニードルは、鋭い先端を有する針形状のものに限定されるものではなく、先の尖ってい

ない形状のものであってもよい。マイクロニードル3が円錐状構造である場合には、その基底における直径は50～200 μ m程度であることが好ましい。本実施形態ではマイクロニードル3は円錐形であるが、四角錐形などの多角錐形や、別の形状のマイクロニードルであってもよい。

[0024] マイクロニードル3は、典型的には、針の横列について1ミリメートル(mm)当たり約1～10本の密度となるように間隔を空けて設けられる。一般に、隣接する横列は横列内の針の空間に対して実質的に等しい距離だけ互いに離れており、1cm²当たり100～10000本の針密度を有する。1000本以上の針密度があると、効率良く皮膚を穿孔することができる。一方、10000本を超える針密度では、マイクロニードル3の強度を保つことが難しくなる。マイクロニードル3の密度は、好ましくは200～5000本、より好ましくは300～2000本、さらに好ましくは400～850本である。

[0025] 基板2又はマイクロニードル3の材質としては、シリコン、二酸化ケイ素、セラミック、金属（ステンレス、チタン、ニッケル、モリブテン、クロム、コバルト等）及び合成又は天然の樹脂素材等が挙げられるが、マイクロニードルの抗原性及び材質の単価を考慮すると、ポリ乳酸、ポリグリコリド、ポリ乳酸- α -ポリグリコリド、プルラン、カプロノラクトン、ポリウレタン、ポリ無水物等の生分解性ポリマーや、非分解性ポリマーであるポリカーボネート、ポリメタクリル酸、エチレンビニルアセテート、ポリテトラフルオロエチレン、ポリオキシメチレン等の合成又は天然の樹脂素材が特に好ましい。また、多糖類であるヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、プルラン、デキストラン、デキストリン又はコンドロイチン硫酸等も好適である。

[0026] 基板2又はマイクロニードル3の製造方法としては、シリコン基板を用いたウエットエッチング加工又はドライエッチング加工、金属若しくは樹脂を用いた精密機械加工（放電加工、レーザー加工、ダイシング加工、ホットエンボス加工、射出成型加工等）、機械切削加工等が挙げられる。これらの加

工法により、基板2とマイクロニードル3は一体に成型される。マイクロニードル3を中空にする方法としては、マイクロニードル3を作製後、レーザー等で2次加工する方法が挙げられる。

[0027] マイクロニードルデバイス1は、マイクロニードル3上にコーティング層5を備えているが、コーティング層5は、コーティング組成物を塗布することにより形成されることが好ましい。塗布方法としては、噴霧コーティング及び浸漬コーティング等が挙げられ、浸漬コーティングが好ましい。なお、図1では、全てのマイクロニードル3にコーティング層5が形成されているが、コーティング層5は複数存在するマイクロニードル3の一部のみに形成されていてもよい。図1ではまた、コーティング層5はマイクロニードル3の先端部分だけに形成されているが、マイクロニードル3の全体を覆うように形成されていてもよい。さらには、コーティング層5は基板2の上に形成されていてもよい。

[0028] 図2は、図1の1-1線に沿った側面断面図である。図2に示すように、マイクロニードルデバイス1は、基板2と、基板2上に設けられたマイクロニードル3と、マイクロニードル3上に形成されたコーティング層5と、を備えている。マイクロニードル上に形成されているコーティング層5は、F S H、アルギニン及びグリセリンを含有する。

[0029] コーティング層に含有されるアルギニンの質量が、F S Hの質量に対して0.07～0.75倍であることが好ましく、0.07～0.6倍であることがより好ましく、0.07～0.3倍であることがさらに好ましく、0.08～0.15倍であることが特に好ましい。

[0030] コーティング層に含有されるグリセリンの質量の下限値は、F S Hの質量に対して0.1倍であることが好ましく、0.25倍であることがより好ましく、0.5倍であることがさらに好ましい。また、コーティング層に含有されるグリセリンの質量の上限値は、F S Hの質量に対して2.75倍であることが好ましく、1.6倍であることがより好ましく、1倍であることがさらに好ましい。

- [0031] また、コーティング層全体の質量を基準として、グリセリン含有量が40質量%以下であると、液ダレが生じにくい点から好ましい。
- [0032] コーティング層は、例えば、F S H、アルギニン及びグリセリンを含有するコーティング組成物を用いて形成することができる。コーティング層がF S H、アルギニン及びグリセリンを含有することにより、コーティング組成物の塗布時またはマイクロニードルデバイスの保存時におけるコーティング層の経時劣化をより抑制することができる。
- [0033] 本願発明の遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンは、下垂体前葉のゴナドトロフで作られる糖タンパクであり、性腺刺激ホルモン（ゴナドトロピン）の一種である卵胞刺激ホルモンの遺伝子組換え型である。男性では、F S Hは睾丸の精細管成長を促進し、精子の形成を維持する。女性では、F S Hは卵巣の卵胞発育を促進する。
- [0034] F S Hの構造は天然型の卵胞刺激ホルモンと同様に、非共有結合により結合された α 鎖と β 鎖から成るヘテロダイマー糖タンパク質であり、 α 鎖と β 鎖はいずれも糖化すなわちグリコシル化されている。 α -サブユニットは92個のアミノ酸残基からなり、 β -サブユニットは111個のアミノ酸残基からなり、その各々は2つの潜在的なアスパラギンに結合されるグリコシル化部位を有する。
- [0035] F S Hは、例えば、ヒトF S H α 鎖cDNAを組み込んだ発現ベクター及びヒトF S H β 鎖cDNAを組み込んだ発現ベクターを哺乳動物細胞にトランスフェクトして作成した組換え体ヒトF S H産生細胞を無血清培地中で培養することにより、培養液中にF S Hを分泌させ、該培養液から精製することにより得ることができる。
- [0036] F S Hの精製は、該培養液から組換え体ヒトF S H産生細胞を除いたのち、陽イオン交換カラムクロマトグラフィー、色素アフィニティーカラムクロマトグラフィー、逆相カラムクロマトグラフィー、フェニルセファロースカラムクロマトグラフィーまたはゲルろ過カラムクロマトグラフィーを組み合わせることで、F S H活性画分を回収することにより行われ、極めて

純度の高いF S Hを得ることができる（例えば、特許第2 5 2 3 8 4 3号公報、特開2 0 0 1－3 2 3 0 0 0号公報および特開2 0 0 9－2 7 3 4 2 7号公報など）。得られたF S Hは、無血清培地を用いて組換え体ヒトF S H産生細胞を培養することから、ウイルスの混入を防止することができるため、高い有用性を有する。

[0037] 精製されたF S Hは非還元・非加熱条件でのS D S－P A G E電気泳動をした後、ゲルをクマジー染色することにより分子量約4 5 k D aに単一バンドが認められ、このバンドは抗ヒトF S H抗体を用いたウェスタンブロッティングで染色される。

[0038] また、精製されたF S Hは等電点電気泳動で分析することにより、p I（等電点）3. 5～5. 5に複数のバンドを認める。

[0039] F S Hを投与することにより、視床下部一下垂体機能障害または多嚢胞性卵巢症候群に伴う無排卵または希発排卵における排卵誘発作用を示す。したがって、本実施形態のマイクロニードルデバイスを使用することにより、視床下部一下垂体機能障害もしくは多嚢胞性卵巢症候群に伴う無排卵もしくは希発排卵、または不妊症の治療に効果的である。

[0040] コーティング組成物において、F S Hの含有量は、コーティング組成物全体の質量を基準として、2 1～3 9質量%であることが好ましく、2 9～3 7質量%であることがより好ましく、3 0～3 5質量%であることがさらに好ましい。F S Hの含有量が2 1質量%以上であると、F S Hの薬理作用が十分に発揮され、所望の治療効果を奏しやすい。

[0041] また、コーティング組成物がさらにアルギニンを配合することにより、塗布後のコーティング組成物中において、F S Hの凝集体が生じにくくなる。F S Hの凝集体が生じると、治療に寄与しうるF S Hの量が低下し、所望の治療効果が得られにくくなる。

[0042] コーティング組成物において、アルギニンの含有量は、コーティング組成物に含まれるF S Hの質量を基準として、0. 0 7～0. 7 5倍であることが好ましく、0. 0 7～0. 6倍であることがより好ましく、0. 0 7～0

、3倍であることがさらに好ましく、0.08～0.15倍であることが特に好ましい。アルギニンの含有量が、F S Hの質量を基準として0.07倍以上であると、コーティング組成物中またはコーティング層中においてF S Hの凝集体が生成しにくくなる。また、アルギニンの含有量が0.75倍以下、特に0.6倍以下であると、F S Hのコーティング組成物に対する溶解性がより向上する。

[0043] コーティング組成物がグリセリンを含有することにより、コーティング組成物をマイクロニードルに塗布した際のF S Hの含量均一性が改善する。F S Hの含量均一性が改善することにより、当該マイクロニードルデバイスの使用時に、コーティング層からF S Hが安定的に放出され、所望の治療効果を持続的に発揮できる。また、グリセリンはF S Hの溶解性が高く、コーティング組成物の成分として好適である。

[0044] コーティング組成物において、グリセリンの含有量は、コーティング組成物に含まれるF S Hの質量を基準として、1～3倍であることが好ましく、1～2.75倍であることがより好ましく、1～1.8倍であることがさらに好ましく、1～1.2倍であることが特に好ましい。グリセリンの含有量が、F S Hの質量を基準として1倍以上であると、コーティング層におけるF S Hの含量均一性及び溶解性がさらに優れ、マイクロニードルに塗布した際に液ダレが生じにくい点からより好ましい。

[0045] さらに、コーティング組成物は、クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸を含有することが好ましい。特に、コーティング組成物は、クエン酸を含有することがより好ましい。コーティング組成物が特定の酸を含有することにより、F S Hの凝集体の生成がさらに抑制される傾向がある。

[0046] クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸または乳酸を含有するコーティング組成物は、塩酸、硫酸または酢酸を含有するコーティング組成物と比べて、F S Hの凝集体の生成がより抑制される傾向がある。

[0047] 酸の含有量は、コーティング組成物全体の質量を基準として、1～6質量

%であることが好ましく、1～3.5質量%であることがより好ましく、1～2質量%であることがさらに好ましい。

[0048] また、酸の含有量は、コーティング組成物に含まれるアルギニンの質量に対して、0.2～0.6倍であることが好ましく、0.3～0.6倍であることがより好ましく、0.3～0.4倍であることがさらに好ましい。

[0049] コーティング組成物は、必要に応じて、溶剤、高分子担体（粘度付与剤）、溶解補助剤、吸収促進剤、安定化剤、抗酸化剤、乳化剤、界面活性剤、塩類等のその他の成分をさらに含有してもよい。溶剤としては、例えば、精製水、蒸留水等の水、メタノール、エタノール等のアルコールが挙げられる。コーティング組成物が溶剤を含有することにより、マイクロニードルに塗布する際の取り扱い性を向上することができ、乾燥工程によって容易に除去することができる。

[0050] コーティング組成物が溶剤を含有する場合には、乾燥工程において溶剤が除去されるため、コーティング組成物中の成分の組成比がコーティング層に反映されるわけではない。

[0051] すなわち、マイクロニードルデバイスを製造する際に、マイクロニードル上に塗布されたコーティング組成物を乾燥させることで、コーティング層を形成させる。乾燥工程において、コーティング組成物中に含まれる溶剤が除去されるとともに、グリセリンが蒸発し、グリセリンの含有量が低下しうる。グリセリン自体は、例えば、常温における減圧乾燥においては固体となることはない。

[0052] 高分子担体としては、ポリエチレンオキサイド、ポリヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリメチルセルロース、デキストラン、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、プルラン、カルメロースナトリウム、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デキストラン、アラビアゴム等が挙げられる。なお、高分子担体として用いられるポリエチレングリコールの重量平均分子量は、600を超え、500000以下であること

が好ましい。高分子担体としては、生理活性物質と相溶性（均一に交わる性質）の高い担体が好ましく、ヒドロキシプロピルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、プルランなどが特に好ましい。

[0053] コーティング組成物 10 の高分子担体の含有量は、コーティング組成物 10 の全質量を基準として、0.005～30 質量%であり、好ましくは0.01～20 質量%であり、より好ましくは0.05～10 質量%である。また、この高分子担体は、液ダレすることのないようある程度の粘性が必要である場合があり、粘度として室温（25℃）で100～100000 mPa・sであることが好ましい。より好ましい粘度は、500～60000 mPa・sである。

[0054] 上記の他、コーティング組成物 10 には、必要に応じて溶解補助剤又は吸収促進剤として、炭酸プロピレン、クロタミトン、レーメントール、ハッカ油、リモネン、ジイソプロピルアジペート等や、薬効補助剤として、サリチル酸メチル、サリチル酸グリコール、レーメントール、チモール、ハッカ油、ノニル酸ワニリルアミド、トウガラシエキス等が添加されていてもよい。

[0055] 界面活性剤としては、非イオン界面活性剤、イオン界面活性剤（カチオン、アニオン、両性）のいずれでもよいが、安全性の面から通常医薬品基剤に用いられる非イオン界面活性剤が望ましい。これらの化合物としては、例えば、ショ糖脂肪酸エステルなどの糖アルコール脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油が挙げられる。

[0056] マイクロニードルデバイスの製造方法は、基板及びマイクロニードルを有するマイクロニードルアレイを準備する工程と、F S H、アルギニン及びグリセリンを混合してコーティング組成物を得る工程と、マイクロニードルにコーティング組成物を塗布する工程と、コーティング組成物を乾燥させてマイクロニードル上にコーティング層を形成する工程と、を備える。

[0057] コーティング層を形成する際の乾燥条件としては、上記コーティング層において、アルギニンの質量が、F S Hの質量に対して0.07～0.75倍、好ましくは0.07～0.6倍となり、かつグリセリンの質量が、F S Hの質量に対して0.1～2.75倍となるまで乾燥を行うことが好ましい。なお、コーティング層におけるグリセリンの質量の下限値は、F S Hの質量に対して、0.1倍であることが好ましく、0.25倍であることがより好ましく、0.5倍であることがさらに好ましい。また、コーティング層におけるグリセリンの質量の上限値は、F S Hの質量に対して、2.75倍であることが好ましく、1.6倍であることがより好ましく、1倍であることがさらに好ましい。

[0058] このような乾燥条件は、減圧度、温度、時間を適宜調整することができ、アルギニン及びグリセリンの質量が上記範囲となるように行うことが好ましい。乾燥条件としては、例えば、減圧度1～100Paにて、0～40℃、1～100時間の条件で行うことができ、減圧度5～20Pa、室温、10～50時間の条件で乾燥することが好ましい。より具体的には、例えば、乾燥条件は、室温、10Paの条件である。

[0059] 次に、図3を用いて、マイクロニードルデバイスの製造方法を説明する。なお、本明細書において、図3に示す製造方法を「マスク版を用いた浸漬法」ともいう。

[0060] 図3(a)、(b)及び(c)は、マイクロニードルデバイス1の製造方法の一実施形態を示す模式図である。この方法では、まず、図3(a)に示すように、コーティング組成物10をマスク版11上でヘラ12により矢印A方向に掃引する。これにより、開口部13にコーティング組成物10が充填される。続いて、図3(b)に示すように、マスク版11の開口部13にマイクロニードル3を挿入する。その後、図3(c)に示すように、マスク版11の開口部13からマイクロニードル3を引き出す。これにより、マイクロニードル3上にコーティング組成物10を付着させる。なお、コーティング組成物10は基板2上に付着させてもよい。その後、風乾、真空乾燥、

又はそれらの組み合わせ等の方法により、マイクロニードル3上のコーティング組成物10の揮発成分を除去する。これにより、マイクロニードル3上にコーティング層5が強固に付着し、典型的にはガラス質又は固形状になり、マイクロニードルデバイス1が製造される。コーティング層5の水分含有量は通常、コーティング層5の全量基準で55質量%以下、好ましくは30質量%以下、より好ましくは10質量%以下である。上記方法により、塗布されたコーティング組成物10の液ダレが防止されるが、液ダレとは、針先からコーティング組成物が垂れてくることを指し、図3(c)ではH部分が長くなることを意味する。

[0061] マイクロニードル3上に形成されているコーティング層5の高さHは、図3(b)に示すクリアランス(ギャップ)Cで調整される。このクリアランスCは、マイクロニードル3の基底からマスク版11表面までの距離(基板2の厚みは関与しない)で定義され、マスク版11のテンションとマイクロニードル3の長さに応じて設定される。クリアランスCの距離の範囲は、好ましくは、0~500 μ mである。すなわち、クリアランスCの距離が0の場合には、コーティング組成物10がマイクロニードル3の全体に対して塗布されることを意味する。マイクロニードル3上に形成されているコーティング組成物10の高さHはマイクロニードル3の高さによって変動しうるが、通常10~500 μ mであり、好ましくは30~300 μ mであり、より好ましくは40~250 μ mである。コーティング組成物10中のFSHを有効に皮内に投与するためには、マイクロニードルの一部分、すなわちニードルの先端部分に集中的に存在させた方が好ましい。また、皮膚に対する刺激及びFSHの皮膚への移行効率の観点からも、マイクロニードル3の先端から平均して200 μ mまでに存在させることが好ましく、150 μ mまでに存在させることがより好ましく、120 μ mまでに存在させることが更に好ましい。コーティング組成物10が、高い粘度を有すると、マイクロニードルの一部分にコーティング層5を形成しやすくなる。このような方法によりマイクロニードル3上に付着されたコーティング組成物10は、揮発成分

が除去された後、マイクロニードル3の先端部分で、好ましくは略球状又は涙滴状のコーティング層5を形成することができ、マイクロニードル3を皮膚へ穿刺させたときに同時に皮内へ挿入される。

[0062] コーティング層5の乾燥後の厚さは50 μ m未満であることが好ましく、40 μ m未満であることがより好ましく、1～30 μ mであることがさらに好ましい。一般に、コーティング層5の厚さは、乾燥後にマイクロニードル3の表面にわたって測定される平均の厚さである。コーティング層5の厚さは、コーティング組成物10の複数の被膜を適用することにより増大させること、すなわち、コーティング組成物10を塗布する工程を繰り返すことで任意に増大させることができる。

[0063] コーティング組成物10をマイクロニードル3に塗布する際には、装置の設置環境の温湿度は、一定に制御されることが好ましい。また、コーティング組成物10が水を含有する場合は、必要に応じて、水を充満させることもできる。これにより、コーティング組成物10中の水の蒸散を極力防ぐことができる。

[0064] 本実施形態に係るコーティング組成物によれば、凝集体の生成を抑制することができる。凝集体含有率の評価は、クロマトグラフィーを用いてコーティング組成物を分離し、ピーク面積から凝集体含有率を算出することができる。凝集体含有率の評価方法としては、例えば、0.01%ポリソルベート80を含むリン酸緩衝液を用いて、マイクロニードルに塗布されたコーティング組成物から抽出した後、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、得られた抽出液を分離して、F S Hよりも保持時間が短いフラクションに含まれるタンパク質を凝集体として評価する。

[0065] 本発明のマイクロニードルデバイスを治療のために施用する方法は、例えば、WO 2014/097837に記載された装置を用いて、マイクロニードルデバイスを被施用者の皮膚面に衝突または圧着させる方法が挙げられる。具体的には、マイクロニードルの先端部の少なくとも一部分が当該皮膚へ穿入され、マイクロニードルの穿入された部分にあるコーティングから、遺

伝子組換え型 F S H が被施用者の体内へ吸収され得る状態となる。その後、遺伝子組換え型 F S H が被施用者の体内へ吸収され得る状態を保持した後、マイクロニードルデバイスを皮膚面から取り去る。マイクロニードルを皮膚に穿入させた状態を保持する時間（穿刺時間）は、10分以内、1分以内、30秒以内または10秒以内であってよく、0.5秒以上であってよい。

被施用者の負担を軽減する観点から、穿刺時間はより短いことが好ましい。穿刺時間が長くなるほど、マイクロニードルが真皮組織を損傷させるか、または皮膚に極微量の出血を生じる虞が高まる。

また、例えば、遺伝子組換え型 F S H（30～600IU）を含有する組成物をマイクロニードルの先端部に塗布して形成させたコーティング層を備えるマイクロニードルデバイスを、上述の方法（例えば、穿刺時間が0.5秒～1分）で被施用者の皮膚に適用することを含む、遺伝子組換え型 F S H の投与方法が提供される。マイクロニードルデバイスの適用時から、血漿中の F S H の濃度が最高となるまでの時間（Tmax）は、例えば、約3～8時間である。内因性ホルモンが生理的には、パルス状に放出されることを鑑みると、Tmaxが上記範囲内であると、マイクロニードルデバイスは、期待する薬効を発揮しやすくなり、かつ、副作用も生じ難いと考えられる。

実施例

[0066] 以下に、実施例を用いて、本発明をより詳細に説明する。

[0067] （1）含量均一性試験1

表1の記載にしたがって調製した参考例1～3のコーティング剤を、マイクロニードルに塗布した。なお、表1中の数字は、コーティング剤全体に対する質量％を意味する。

次に、参考例1，2は約40％RHの条件下で10枚、参考例3は90％RHの条件下で20枚に塗布した。マイクロニードルに塗布されたコーティング剤をそれぞれ回収し、各コーティング剤における遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン（以下、単に「F S H」ともいう。）の含有量を測定した。得られた F S H の含有量の平均値、標準偏差 S D、変動係数 C V を算出した。なお

、変動係数C Vとは、標準偏差を平均値で除した値である。

[0068] [表1]

		参考例1	参考例2	参考例3
FSH		40	40	40
基剤	グリセリン	60	－	－
	プロピレングリコール	－	60	－
	プルラン	－	－	15
	水	－	－	55
合計		100	100	110

[0069] 結果を表2に示す。グリセリンを含む参考例1では、変動係数が7.2であり、プロピレングリコールを含む参考例2及びプルランを含む参考例3と比較して、含有量のバラツキが小さかった。

[0070] [表2]

	参考例1	参考例2	参考例3
塗布環境湿度	40%RH	40%RH	90%RH
平均値 [μ g]	58.2	78.1	21.9
標準偏差SD [μ g]	4.2	23.1	4.5
変動係数CV [%]	7.2	29.6	20.5

[0071] (2) 凝集試験1

表3の記載にしたがって、参考例4～7及び実施例1のコーティング剤を調製した。得られたコーティング組成物を、マスク版を用いた浸漬法により、マイクロニードルアレイのマイクロニードルの先端部に塗布して、マイクロニードルアレイを減圧乾燥した。次に、得られたマイクロニードルデバイスを包装し、40℃で2週間保存した後、凝集体含有率を以下のように評価した。なお、FSHよりも保持時間が長いフラクションには、タンパク質は含まれていなかった。

<凝集体含有率の評価方法>

0.01%ポリソルベート80を含むリン酸緩衝液を用いて、マイクロニードルに塗布されたコーティング組成物から抽出した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、得られた抽出液を分離して、FSHよりも保持時間が短いフラクションに含まれるタンパク質を凝集体として評価した。

[0072] [表3]

	参考例4	参考例5	参考例6	参考例7	実施例1
FSH	33.3	31	31	31	31
グリセリン	53.3	49.7	49.7	49.7	49.7
トレハロース	—	5.5	—	—	—
グルコース	—	—	5.5	—	—
マルトース	—	—	—	5.5	—
アルギニン／クエン酸	—	—	—	—	5.5
精製水	13.3	13.8	13.8	13.8	13.8
合計	99.9	100	100	100	100

[0073] 結果を図4に示す。図4に示すように、アルギニン＋クエン酸を用いた実施例1は、FSHの凝集体の生成を抑制する点で優れるものであった。

[0074] (3) 凝集試験2

表4の記載にしたがってFSH、グリセリン、アルギニン、酸及び精製水を混合し、pH8のコーティング組成物をそれぞれ調製した。酸として、5N塩酸、リン酸、5N硫酸、ホウ酸、クエン酸、酒石酸、酢酸、乳酸を使用した。得られたコーティング組成物を、マスク版を用いた浸漬法により、マイクロニードルアレイのマイクロニードルの先端部に塗布して、マイクロニードルアレイを減圧乾燥した。次に、得られたマイクロニードルデバイスを包装し、40℃で2週間保存した後、凝集体含有率を評価した。なお、凝集体含有率の評価は、凝集試験1と同様に行った。

[0075]

[表4]

	実施例2	実施例3	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7	実施例8	実施例9
FSH	33.6	33.6	33.6	33.6	33.6	33.6	33.6	33.6
グリセリン	38.6	40.3	37.3	40.2	40.3	40.2	40.6	39.5
アルギニン	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
酸	5N塩酸	4	-	-	-	-	-	-
	リン酸	-	1.4	-	-	-	-	-
	5N硫酸	-	-	6	-	-	-	-
	ホウ酸	-	-	-	-	-	-	-
	クエン酸	-	-	1.6	-	-	-	-
	酒石酸	-	-	-	1.5	-	-	-
	酢酸	-	-	-	-	1.6	-	-
乳酸	-	-	-	-	-	-	1	-
精製水	19.3	20.2	18.6	20.1	20.1	20.1	20.3	19.8
合計	100	100	100	100	100	100	100	100

[0076] 結果を表5に示す。実施例2～9の中では、5 N塩酸、5 N硫酸または酢

酸を含有する実施例 2, 4 または 8 では、F S H の凝集体が少量生成したが、実施例 3, 5 ~ 7 または 9 では F S H の凝集体が全く生成しなかった。

[0077] [表5]

	凝集体含有率 [%]
実施例 2	11.5
実施例 3	0
実施例 4	2
実施例 5	0
実施例 6	0
実施例 7	0
実施例 8	0.3
実施例 9	0

[0078] (4) 性状試験 1

表 6 の記載にしたがい、F S H、グリセリン、アルギニン、クエン酸及び精製水を含有する実施例 10 ~ 13 および参考例 10 ~ 12 のコーティング組成物を調製した。得られたコーティング組成物を、マスク版を用いた浸漬法により、マイクロニードルアレイのマイクロニードルの先端部に塗布して、マイクロニードルアレイを減圧乾燥した。次に、得られたマイクロニードルデバイスを包装し、40℃で2週間保存した後、コーティング層における F S H の溶解性、及び F S H の凝集体含有率を評価した。なお、凝集体含有率の評価は、凝集試験 1 と同様に行った。

[0079] [表6]

	FSH	グリセリン	アルギニン	クエン酸	精製水
実施例 10	100	120	7.5	2.5	30
実施例 11	100	120	15	5	30
実施例 12	100	120	30	10	30
実施例 13	100	120	60	20	30
参考例 10	100	120	3	1	30
参考例 11	100	120	90	30	30
参考例 12	100	120	120	40	30

[0080] 結果を表 7 に示す。実施例 10 ~ 13 のコーティング組成物を用いたマイクロニードルデバイスでは、コーティング層における F S H の溶解性に優れ、F S H の凝集体の生成も抑制された。一方、参考例 10 のコーティング組

成物を用いた場合には、FSHの凝集体が含有しており、参考例11および12のコーティング組成物を用いた場合には、FSHの溶解性が低下していた。

[0081] [表7]

	溶解性	凝集体含有率 [%]
実施例10	○	0
実施例11	○	0
実施例12	○	0
実施例13	○	0
参考例10	○	0.4
参考例11	×	
参考例12	×	

[0082] (5) 液ダレ抑制試験

表8の記載にしたがって、FSH、グリセリン、アルギニン、クエン酸、精製水を混合し、実施例14～16および参考例13のコーティング組成物を調製した。得られたコーティング組成物について、不溶物の有無を目視にて観察した。不溶物が存在しなかった場合を「○」、不溶物が存在した場合を「×」として評価した。

また、得られたコーティング組成物を、マスク版を用いた浸漬法により、マイクロニードルアレイのマイクロニードルの先端部に塗布して、マイクロニードルアレイを減圧乾燥して、マイクロニードルデバイスを得た。次に、デジタルマイクロスコープ（キーエンス社製）を使用して、得られたマイクロニードルデバイスのコーティング層の性状（液ダレの有無）を観察した。液ダレが見られなかった場合を「A」、液ダレが見られた場合を「B」として評価した。

[0083] [表8]

	FSH	グリセリン	アルギニン	クエン酸	精製水
実施例14	100	275	13.4	4.5	69
実施例15	100	177	13.4	4.5	44
実施例16	100	118	13.4	4.5	29
参考例13	100	471	13.4	4.5	118

[0084] 結果を表9に示す。実施例14～16のコーティング組成物を用いたマイクロニードルデバイスでは、F S Hが十分に溶解されていた。一方、参考例13のコーティング組成物を用いたマイクロニードルデバイスでは、液ダレが見られた。

[0085] [表9]

	溶解性	性状
実施例14	○	A
実施例15	○	A
実施例16	○	A
参考例13	○	B

[0086] (6) 乾燥による影響

実施例17のコーティング組成物をマイクロニードルに塗布した後、減圧乾燥前のコーティング組成物におけるF S H、アルギニン、グリセリン及びクエン酸の含有量を、ガスクロマトグラフィー法にて測定した。次に、室温、10Paの条件で減圧乾燥を行った後、同様に、コーティング層におけるF S H、アルギニン、グリセリン及びクエン酸の含有量を、ガスクロマトグラフィー法にて測定した。なお、実施例17のコーティング組成物は、表10中の減圧乾燥前の割合でF S H、グリセリン、アルギニン、クエン酸及び水を混合して得られたものである。

[0087] 結果を表10に示す。減圧乾燥前のコーティング組成物における各成分の含有率は、コーティング組成物を調製したときの各成分の配合割合とほぼ同一であった。一方、減圧乾燥後のコーティング層において、水の含有率だけでなく、グリセリンの含有率も低下した。すなわち、水とともにグリセリンが蒸発することにより、F S Hの含量均一性に優れ、液ダレがより抑制されたものといえる。また、減圧乾燥の時間を長くすることによりグリセリンの含有率はさらに低下した。

[0088]

[表10]

	含有率 [%]			
	減圧乾燥前	乾燥時間 (15時間)	乾燥時間 (30時間)	乾燥時間 (50時間)
FSH	37.8	53.6	67.7	74.4
グリセリン	45.5	36.8	20	12.3
アルギニン	5.1	7.2	9.2	10
クエン酸	1.7	2.4	3.1	3.3
水	10	0	0	0
質量比 (グリセリン/FSH)	1.2	0.69	0.3	0.165

[0089] (7) 含量均一性試験 2

表 1 1 の記載にしたがって調製した実施例 1 8 および 1 9 のコーティング剤を、マイクロニードルに塗布した。なお、表 1 1 中の数字は、コーティング剤全体に対する質量％を意味する。

次に、実施例 1 8 および 1 9 は約 4 0 % R H の条件下で 2 0 枚に塗布した。マイクロニードルに塗布されたコーティング剤をそれぞれ回収し、各コーティング剤における遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン（以下、単に「F S H」ともいう。）の含有量を測定した。得られた F S H の含有量の平均値、標準偏差 S D、変動係数 C V を算出した。なお、変動係数 C V とは、標準偏差を平均値で除した値である。

[0090] [表11]

	実施例18	実施例19
FSH	35.0	21.6
グリセリン	40.0	59.5
アルギニン	5.0	2.9
クエン酸	－	1.0
精製水	20.0	15.0
合計	100	100

[0091] 結果を表 1 2 に示す。実施例 1 8 および 1 9 のコーティング剤は、ともに含有量のバラツキが小さかった。

[0092]

[表12]

	実施例18	実施例19
塗布環境湿度	40%RH	40%RH
平均値 [μ g]	17.4	4.6
標準偏差SD [μ g]	0.7	0.3
変動係数CV [%]	3.8	6.3

[0093] (8) 凝集試験3

表13の記載にしたがって、実施例20のコーティング剤を調製した。得られたコーティング剤を、マスク版を用いた浸漬法により、マイクロニードルアレイのマイクロニードルの先端部に塗布して、マイクロニードルアレイを減圧乾燥した。次に、得られたマイクロニードルデバイスを包装し、40℃で2週間保存した後、凝集体含有率を評価した。なお、凝集体含有率の評価は、凝集試験1と同様に行い、FSHよりも保持時間が長いフラクションには、タンパク質は含まれていなかった。

[0094] [表13]

	実施例20
FSH	35.0
グリセリン	40.0
アルギニン	5.0
クエン酸	—
精製水	20.0
合計	100

[0095] 実施例20のコーティング剤は、40℃で2週間保存した後であっても、凝集体含有率は3.8%であった。

[0096] (9) 性状試験2

表14の記載にしたがい、FSH、グリセリン、アルギニン、クエン酸及び精製水を含有する実施例21および22のコーティング剤を調製した。得られたコーティング剤を、マスク版を用いた浸漬法により、マイクロニードルアレイのマイクロニードルの先端部に塗布して、マイクロニードルアレイを減圧乾燥した。次に、得られたマイクロニードルデバイスを包装し、40℃で2週間保存した後、コーティング層におけるFSHの溶解性、及びFS

Hの凝集体含有率を評価した。なお、凝集体含有率の評価は、凝集試験1と同様に行った。

[0097] [表14]

	実施例21	実施例22
FSH	100	100
グリセリン	120	120
アルギニン	6	75
クエン酸	2	25
精製水	30	30

[0098] 結果を表15に示す。実施例21および22のコーティング剤を用いたマイクロニードルデバイスでは、コーティング層におけるFSHの溶解性に優れ、FSHの凝集体の生成も抑制された。

[0099] [表15]

	溶解性	凝集体含有率 [%]
実施例21	○	0.2
実施例22	○	0

[0100] (10) マイクロニードルデバイスの適用

FSH100質量部に対して、グリセリン100質量部、アルギニン10質量部及びその他の成分100質量部を混合して調製したコーティング剤を、マイクロニードルの先端部に塗布した後、乾燥させて、マイクロニードルデバイスを得た。施用装置を用いて、得られたマイクロニードルデバイスを被施用者の皮膚に適用した。このとき、穿刺時間は10秒間に設定した。経時的に被施用者の血液を採取し、血漿中のFSHの濃度を測定した。

[0101] 血漿中のFSHの濃度が最大となるまでに要した時間(Tmax)は、約8時間であった。

符号の説明

[0102] 1…マイクロニードルデバイス、2…基板、3…マイクロニードル、5…コーティング層、10…コーティング組成物、11…マスク版、12…ヘラ、13…開口部。

請求の範囲

- [請求項1] 基板と、基板上に配置されたマイクロニードルと、マイクロニードル上に形成されたコーティング層と、を備えるマイクロニードルデバイスであって、
- コーティング層は、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン、アルギニン及びグリセリンを含有し、
- コーティング層において、アルギニンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.07～0.75倍であり、グリセリンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.1～2.75倍である、マイクロニードルデバイス。
- [請求項2] コーティング層において、アルギニンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.07～0.6倍である、請求項1に記載のマイクロニードルデバイス。
- [請求項3] コーティング層は、クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸をさらに含有する、請求項1又は2に記載のマイクロニードルデバイス。
- [請求項4] 基板及びマイクロニードルを有するマイクロニードルアレイを準備する工程と、
- 遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン、アルギニン及びグリセリンを混合してコーティング組成物を得る工程と、
- マイクロニードルにコーティング組成物を塗布する工程と、
- コーティング組成物を乾燥させてマイクロニードル上にコーティング層を形成する工程と、を備え、
- コーティング層において、アルギニンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.07～0.75倍となり、かつグリセリンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.1～2.75倍となるまで乾燥を行う、マイクロニードルデバイスの製造方法。

- [請求項5] コーティング層において、アルギニンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.07～0.6倍となり、かつグリセリンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.1～2.75倍となるまで乾燥を行う、請求項4に記載のマイクロニードルデバイスの製造方法。
- [請求項6] コーティング組成物において、
 アルギニンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.07～0.75倍であり、
 グリセリンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して1～3倍である、請求項4又は5に記載の方法。
- [請求項7] コーティング組成物において、アルギニンの質量が、遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量に対して0.07～0.6倍である、請求項4～6のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項8] コーティング組成物は、クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸をさらに含有する、請求項4～7のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項9] 請求項4～8のいずれか一項に記載の方法により製造されるマイクロニードルデバイス。
- [請求項10] 遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン、アルギニン及びグリセリンを含有し、
 遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量を基準として、アルギニンの含有量が0.07～0.75倍であり、かつグリセリンの含有量が1～3倍である、マイクロニードル用コーティング剤。
- [請求項11] 遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモン、アルギニン及びグリセリンを含有し、
 遺伝子組換え型卵胞刺激ホルモンの質量を基準として、アルギニンの含有量が0.07～0.6倍である、請求項10に記載のマイクロニードル用コーティング剤。

[請求項12] クエン酸、リン酸、ホウ酸、酒石酸及び乳酸からなる群から選択される酸をさらに含有する、請求項10又は11に記載のコーティング剤。