

岐阜薬科大学博士（薬学）学位論文

Mohs ペーストの

新規製剤設計と臨床応用に関する研究

田口 真穂

目 次

序 論	1
第 1 章 Mohs ペーストの製剤学的研究と処方改良 Mohs ペーストの臨床応用	
第 1 節 緒 言	5
第 2 節 試験材料および方法	7
第 3 節 結 果	12
第 4 節 考 察	24
第 2 章 デンプン非含有 Mohs ペーストの調製と製剤学的評価	
第 1 節 緒 言	30
第 2 節 試験材料および方法	32
第 3 節 結 果	37
第 4 節 考 察	43
第 3 章 処方改良 Mohs ペーストの保存安定性評価	
第 1 節 緒 言	47
第 2 節 試験材料および方法	50
第 3 節 結 果	54
第 4 節 考 察	60
第 4 章 処方改良 Mohs ペーストの吸水特性およびマウス腫瘍組織における固 定効果評価	
第 1 節 緒 言	63
第 2 節 試験材料および方法	65
第 3 節 結 果	70

第4節 考察	75
總括	80
謝辭	83
引用文献	84
略語	90

序 論

Mohs ペーストは、1940 年代に米国の外科医 Frederic E. Mohs'により Mohs' chemosurgery に使用する組織固定剤「Mohs Ointment」として考案された^{1,2)}。Mohs' chemosurgery は、皮膚がんなどの表在性腫瘍の根治的除去を目的に臨床応用された治療法で、病変部位を化学的に固定して削除し、その組織片を病理組織的に診断しながら、腫瘍が除去されるまで固定、削除、検鏡を繰り返す化学的外科療法である³⁻⁵⁾。外科的切除に比べて手技が簡便で、特殊な器具も必要とせず、侵襲も少ないため、外科的切除の困難な症例にも実施が可能である⁶⁻⁸⁾。当初、Frederic E. Mohs' により考案された「Mohs Ointment」の処方原料には、主成分である塩化亜鉛の他に、当時わが国では入手困難な Stibnite、*Sanguinaria canadensis* 等の試薬が含まれていたことから、本邦においては長らく普及されなかった。しかしながら、2000 年に大久保ら⁹⁾によって、わが国で入手可能な試薬である塩化亜鉛と亜鉛華デンプンから成る処方が提案されたことにより、本方法が臨床で応用される機会が増え、Mohs ペーストとして様々な医療施設で用いられている¹⁰⁻¹⁷⁾。

Mohs ペーストによる組織化学固定は、主成分である塩化亜鉛が水分によりイオン化し、亜鉛イオンのタンパク沈殿作用によって引き起こされる^{9,18)}。この結果、全身への侵襲をほとんど伴わずに腫瘍細胞や腫瘍血管、および二次感染した細菌の細胞膜が硬化し、止血ならびに殺菌効果が得られる。腫瘍に伴う出血や滲出液、悪臭等のコントロールに対する有効性から、現在、わが国では適応を拡大し、皮膚表在性悪性腫瘍の手術不適応例における隆起性腫瘍の除去または容積の縮小に加えて、乳がん等の自壊創における止血や滲出液の軽減や、二次感染に伴う悪臭抑制等を目的とした、緩和医療領域における患者の Quality of life (QOL) 向上に使用されている報告が増えている¹⁹⁻²⁵⁾。

現在、Mohs ペーストは医薬品として市販されていないため、各医療施設で院内製剤として調製されている。多くの施設で調製されている Mohs ペーストは、調製後、硬さが急激に変化して粘着性が経時的に増加し、患部への塗布性が悪くなるという問題点を有している。そのため臨床現場では、処置の直前に調製し、塗布時に Mohs ペーストの状態に合わせてグリセリンの添加量を適宜増減して調節し、塗布方法を工夫するなど、取り扱いに苦慮している例を散見する²⁶⁻²⁹⁾。さらに、多量の滲出液や出血を伴う症例にコントロール目的で塗布した際には、Mohs ペーストが吸水後に液状化して患部から流れ出し、周囲の健常皮膚に付着すると炎症等の皮膚障害を起こす。そのため、Mohs ペースト施行前に、患部の周囲に様々な皮膚被膜剤や保護剤を塗布し、覆布などで保護する等の前処置が必要とされている²⁶⁻²⁹⁾。

そこで、Mohs ペーストのこれらの物性変動の要因を解明し、「調製後の急激な硬さの変化と経時的な粘着性の増加」と「滲出液や血液吸収後の液状化」の二つの製剤学的問題点が改善された臨床応用につながる利便性の高い製剤を設計するために、研究を行った。

第1章では、製剤学的検討により、Mohs ペーストの調製後の急激な物性変化の要因は、製剤中のデンプンであり、D-Sorbitol を Mohs ペーストに添加することで急激な硬度上昇と伸長特性の増加が抑制されることを明らかにした。さらに、臨床使用において、D-Sorbitol 添加 Mohs ペースト (D-Sorbitol-added Mohs paste: S-MP) は、塗布性が改善されて、安全性や効果は同等である製剤であることを明らかにした。第2章では、製剤中のデンプンを微結晶セルロース (以下、微結晶 Cellulose) と軟膏基剤に置換したデンプン非含有 Mohs ペースト (Cellulose Mohs paste without starch: C-MP) を処方設計し、製剤学的物性が安定することを明らかにした。有効成分の *in vitro* 放出性試験と水分保持能を評価し、基剤は Macrogol

軟膏が最も適していることを明らかにした。第3章では、処方改良 Mohs ペーストの物性および有効成分に関する保存安定性評価から、S-MP および C-MP の保管条件ならびに製剤学的物性が安定である期間を検討し、処方改良により院内製剤の事前調製が可能となることを明らかにした。第4章では、処方改良 Mohs ペーストの吸水特性と皮膚担がんモデルマウスにおける腫瘍組織固定効果を検討し、C-MP は液状化による患部からの流動リスクが軽減され、短時間で時間依存的に腫瘍組織を固定させる特徴を有した、臨床応用につながる利便性の高い製剤であることを明らかにした。

以上の結果について、本論文では4章にわたり詳述する。

本論文は、下記の如く、既に受理された論文等を総括したものである。

- 1) 山本浩充, 小林万里, 芳賀吏那子, 伊東奈保美, 小川法子, 田口真穂, 高橋知里, 磯部隆史, 埴岡伸光, 村田実希郎, 岡田賢二, 重山昌人. がん切除手術に用いられる Mohs ペーストに関する製剤学的研究. 薬剤学, 75,264-270 (2015).
- 2) 橋口宏司, 田口真穂, 菊池絵里, 飯村仁美, 横山 敦, 久保雅恵, 神谷武伺, 藤澤 順, 重山昌人, 寺町ひとみ. ソルビトールの添加で塗布性を改善した新処方 Mohs ペーストの臨床使用の1例. 日本緩和医療薬学雑誌, 10, 111-114 (2017)
- 3) 田口真穂, 重山昌人, 伊東奈保美, 小川法子, 高橋知里, 村田実希郎, 埴岡伸光, 山本浩充, 寺町ひとみ. デンプン非含有 Mohs ペーストの調製と製剤評価. YA-KUGAKU ZASSHI, 137, 477-484 (2017)
- 4) 田口真穂, 重山昌人, 田村大喜, 森 和也, 村田実希郎, 埴岡伸光, 山本浩充, 寺町ひとみ. 処方改良 Mohs ペーストの保存安定性評価. 日本緩和医療薬学雑誌, 11, 19-25 (2018)
- 5) Taguchi M., Shigeyama M., Ogawa N., Murata M., Hanioka N., Yamamoto H., Teramachi H. Evaluation of Tumor Tissue Fixation Effects of Formulation Modified Mohs

Pastes in Mice and Their Water-Absorbing Properties. Biol. Pharm. Bull, 41, 1824-1829
(2018)

第1章 Mohs ペーストの製剤学的研究と処方改良 Mohs ペーストの臨床応用

第1節 緒言

Mohs ペーストは、外科的全切除が不可能または患者が手術を希望しない症例において、有棘細胞がんや基底細胞がんなどの腫瘍を除去する際に組織を固定化するために用いられる¹⁴⁻¹⁸⁾。さらに、乳がんなどが自壊した際に生じる出血や滲出液の抑制²⁰⁻²⁴⁾、二次感染による悪臭防止などにも効果があり²⁵⁻²⁷⁾、進行がん患者のQOL向上のための緩和治療に用いられている。

組織固定剤である Mohs ペーストは、約 1 mm の厚さで腫瘍組織表面へ塗布すると、48 時間後には組織表面から約 5 mm の深さまでを硬化し、72 時間後には約 10 mm の深さまで硬化する¹⁸⁾。病変部の組織固定は表面のみであれば約 1 時間、深部まで固化するには 1~2 日程度必要である²⁷⁾。その後、固定された腫瘍をメスなどによって切除し、腫瘍がなくなるまでこれを繰り返す。組織の硬化は、Mohs ペーストの主成分である塩化亜鉛のタンパク質沈殿作用によって引き起こされる。

臨床現場において、同じ処方調製したにもかかわらず、柔いペーストや、硬いペーストができ、場合によっては、強い粘着性を示すなど、均一な物性を有する Mohs ペーストを調製する難しさが指摘されてきた²⁶⁻²⁹⁾。このため、目的とする病巣部に均一に塗布することが困難となり、臨床現場では Mohs ペースト調製時に適宜グリセリンを加えることによって粘度の調節をする等の工夫が行われている²⁶⁻²⁹⁾。しかし、物性が不均質であるため、添加量などをその日のペーストの状態に合わせて調節する必要があり、臨床現場で使用するには不便である。

上記のような問題点が指摘されてきたが、Mohs ペーストの物性が変動する原因などは、これまで明らかにされていなかった。そこで第 1 章では、Mohs ペーストの物性変動に影響する物理化学的な現象を明らかにするとともに、安全性の高い添加物を処方中に加えることで、上記問題点を改善し、利便性を向上しうる Mohs ペーストの処方設計を試みた。さらに、処方設計により物性変化が改善された新処方 Mohs ペーストを、乳がんの皮膚自壊創に対して臨床使用した。

第2節 試験材料および方法

1. 試薬 (物理化学的特性評価)

塩化亜鉛、D-Sorbitol、D(+)-Glucose、D(+)-Mannose、D(-)-Mannitol はキシダ化学株式会社、日本薬局方亜鉛華デンプンは健栄製薬株式会社より購入したものを使用した。試薬はすべて試薬特級品を用いた。

2. Mohs ペーストの調製

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解させ、塩化亜鉛水溶液とした。塩化亜鉛水溶液を乳鉢中に移した後、乳棒で攪拌しながら徐々に亜鉛華デンプン 25 g を加えた後、グリセリンを適量 (0 ~ 4 mL) 加えて混和・均一化し、ペーストを得た。調製したペーストは、プラスチック製軟膏容器 (20 mL) に充填し、試験に供した。

3. 処方改良 Mohs ペーストの調製

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解させ、塩化亜鉛水溶液とした。塩化亜鉛水溶液を乳鉢中に移した後、乳棒で攪拌しながら各種添加剤 4 g を加え、溶解した。なお、本実験では添加剤として、D-Sorbitol、D(+)-Glucose、D(+)-Mannose、D(-)-Mannitol を用いた。この水溶液中に、乳棒による攪拌下、徐々に亜鉛華デンプン 25 g を加え、混和・均一化し、ペーストを得た。調製したペーストは、プラスチック製軟膏容器 (20 mL) に充填し、試験に供した。

調製した各 Mohs ペーストの処方を Table 1 に示した。

Table 1 Formula of Mohs Paste

	Original Mohs Paste	Add Glycerin Mohs Paste	Modified Mohs Paste
Zinc chloride (g)	50	50	50
Purified water (mL)	25	25	25
Sugar / Sugar alcohol (g)			4
Zinc oxide starch powder (g)	25	25	25
Glycerin (mL)		0.5 ~ 4	

4. 試験方法

本研究では、調製した Mohs ペーストの硬度、伸長特性、展延性の三つの物理化学的特性について評価を行った。ペーストの物性の経時的な変化を評価するため、調製後、室温にて 0、1、2、4、6、8、24、48 時間保存した試料について、以下に示す 3 種の物性値測定を実施した。なお、対照として、市販のザーネ®軟膏およびプロペト®軟膏についても同様の評価を実施した。それぞれの物性測定についての詳細な実験方法は以下の通りである。

(1) 硬度測定評価法

Mohs ペーストの硬さは、RHEO METER (COMPAC-100 II®, サン科学社) を用いて測定した(Figure 1-a))。測定試料を、内径 42 mm、深さ 26 mm の容器に、気泡を生じないように充填した。RHEO METER の PRESS MODE にて、試料を充填した容器を乗せたステージを、1 mm/min の速度で上昇させ、ペーストに接触後、感圧軸が 2 mm 侵入したときに、感圧軸に加わる応力を記録し、その値を、硬さを表す指標 (以下硬度) とした (Figure 1-b))。

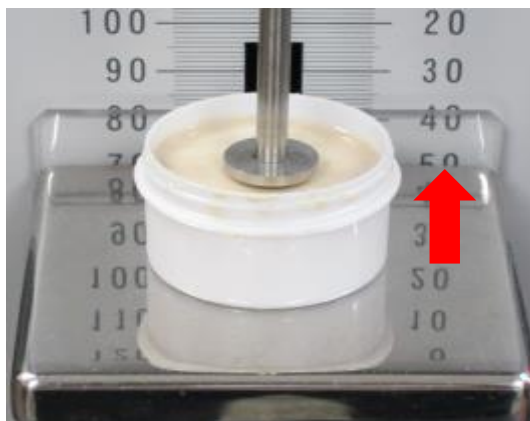
(2) 伸長特性評価法

硬度評価と同様、RHEO METER を用いた。容器に充填した試料と感圧軸を接着させた後、RHEO METER の TRACTION MODE にて試料を乗せたステ

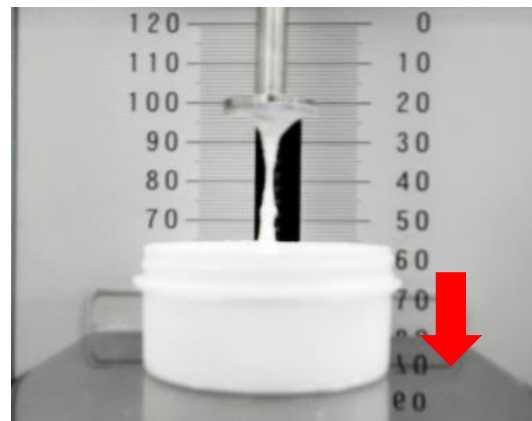
ージを 30 mm/min の速度で下降させ、感圧軸と試料が分離するまでの移動距離を計測し、伸長特性の指標とした (Figure 1-c)。



a) RHEO METER (COMPAC-100 II[®], Sun Scientific)



b) Press mode



c) Traction mode

Figure 1 Hardness and Stretchiness Measuring Device and Measuring Method

(3) 展延性測定評価法

Mohs ペーストの展延性は、薬剤用平行板粘度計 (スプレッドメーター U-518®, エルクエスト社) を用いて評価した。ステージ中央部に試料を充填した後、ステージ下部よりピストンで試料を押し出すと同時に 114.8 g のガラス平板をプレート上の試料に落として試料に荷重をかけ、一定時間毎に平板上に拡がったペーストの直径を計測した。今回の実験では、展延が進まなくなった 300 秒後におけるペーストの直径を展延性の指標として用いた (Figure 2)。

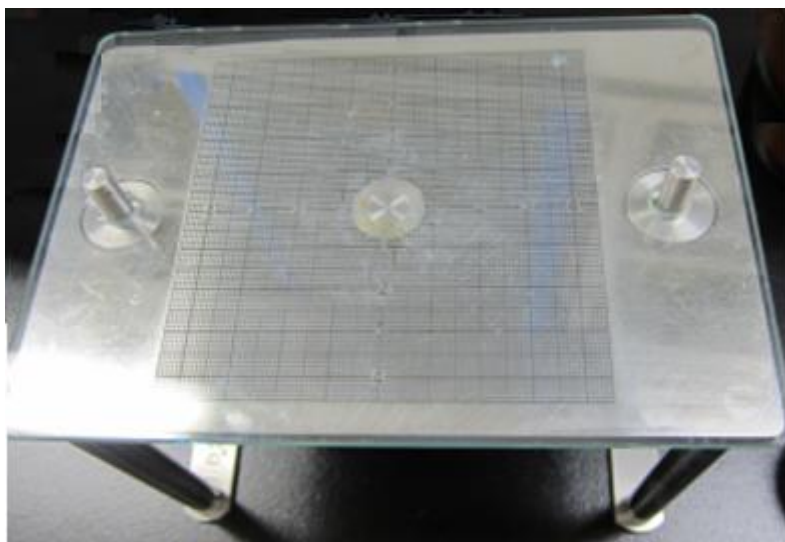


Figure 2 SPREAD METAR (U-518®, Elquest)

5. 統計解析

各物性評価試験を $n=3$ で実施し、有意差検定については、Welch's t test を行い、危険率 5 % を有意水準として解析した。ソフトは QuickCalcs® (GraphPad Software 社) を使用した。

6. Mohs ペースト処方成分の顕微鏡観察

25 mg の亜鉛華デンプンまたは、25 mg の亜鉛華デンプンと 4 mg の D-Sorbitol をガラスプレートに量り取り、この試料に精製水または 200 w/v% の塩化亜鉛水溶液 25 μ L を滴下した。得られた試料にカバーガラスを乗せ、24 時間経過した試料について、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM-510 META[®], ZEISS 社) により観察を行った。

7. 試薬 (症例報告)

塩化亜鉛は和光純薬工業、日本薬局方亜鉛華デンプンおよび日本薬局方 D-Sorbitol は、丸石製薬より購入したものを使用した。試薬はすべて試薬特級品を用いた。

8. 新処方 Mohs ペーストの調製法

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解させ、塩化亜鉛水溶液とした。塩化亜鉛水溶液を乳鉢中に移した後、乳棒で攪拌しながら D-Sorbitol 4 g を加え、溶解した。この溶液中に、乳棒による攪拌下、徐々に亜鉛華デンプン 25 g を加え、混和・均一化し、ペーストを得た。調製は、塗布の前日に行い、使用時まで冷蔵庫で保管した。

9. 倫理的配慮

新処方 Mohs ペーストの使用に際しては、横浜南共済病院倫理委員会の承認を得た (審査承認日：2015 年 1 月 28 日、受理番号：倫 26_9_2)。新処方 Mohs ペーストの使用に際し、患者には書面および口頭で説明して同意を得た。

第3節 結果

1. Mohs ペーストの物理化学的特性

(1) 硬度測定評価結果

グリセリン未添加のオリジナル Mohs ペースト (Original Mohs paste: O-MP) の調製直後 (0 時間) から 48 時間後までの硬度の経時的変化を、Figure 3 に示す。亜鉛華デンプンを添加直後、乳棒による攪拌ができなくなるほど急激な硬度上昇が生じ、調製直後の硬度は約 20 N であった。この Mohs ペーストの高い硬度は、時間の経過と共に徐々に減少した。グリセリンを添加した Mohs ペーストでは、O-MP に比べて硬度は 1.0 N 以下と柔らかくなり、経時的な硬度変化も認められなかった。同一条件で測定した市販のプロペト®軟膏の硬度は $0.13 \text{ N} \pm 0.15$ 、ザーネ®軟膏が $0.19 \text{ N} \pm 0.06$ であり、グリセリンを添加することによって、市販の軟膏剤程度のペースト硬度に調整できた。

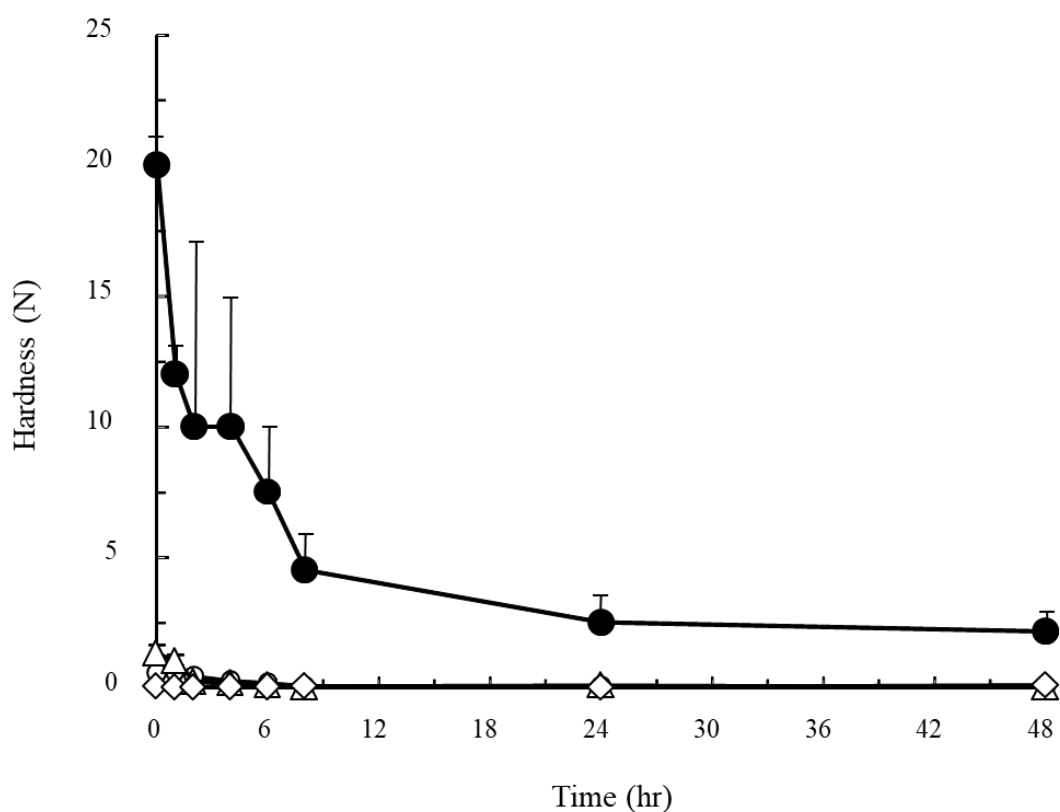


Figure 3 Time Course of Mohs Paste Hardness

Each point represents the mean \pm S.D. (n=3). ●: Original formulation, ○: add 0.5 mL glycerin, △: add 1.0 mL glycerin, ◇: add 4.0 mL glycerin

(2) 伸長特性評価結果

Mohs ペースト調製直後から 48 時間後までの伸長特性の経時的変化を Figure 4 に示した。O-MP において、調製直後は急激な硬度上昇が生じるため、ペーストの伸びは観察されなかった。しかしながら、時間の経過に伴ってペーストの軟化と共に強い粘着性と伸長性を示すようになった。伸長幅は 24 時間後に 70.6 mm となり、最大値を示した。

グリセリン添加により硬度を減少させた Mohs ペーストでは、調製直後から 10 mm を超える伸長特性を示し、グリセリンが未添加である O-MP よりも伸長特性が大きな値を示した。この伸長特性は経時的に増加し、1 mL 添加系

では 6 時間後に、その他の添加系では 24 時間後に O-MP の最大値とほぼ同じ約 70 mm となった。市販されている軟膏の伸長特性は、プロペト®軟膏、ザーネ®軟膏でそれぞれ 10.8 ± 1.1 mm、 10.6 ± 1.4 mm であり、保存によって Mohs ペーストの伸長特性が著しく増大していることが確認できた。

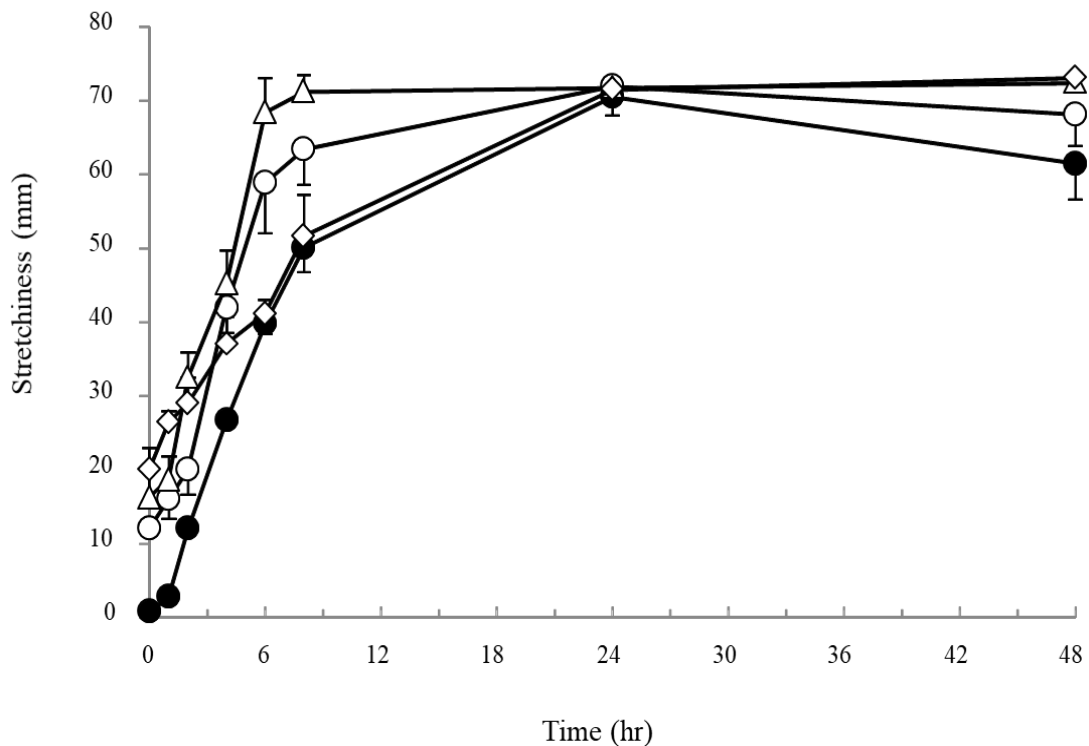


Figure 4 Time Course of Mohs Paste Stretchiness

Each point represents the mean \pm S.D. (n=3). ●: Original formulation, ○: add 0.5 mL glycerin, △: add 1.0 mL glycerin, ◇: add 4.0 mL glycerin

(3) 展延性測定評価結果

Mohs ペースト調製直後から 48 時間後までの展延性の経時的変化を、Figure 5 に示した。O-MP において、展延性については時間による変化はほとんど認められなかった。また、グリセリンの添加量を変化させても、わずかに展延性は低下するものの、有意な差は認められなかった。なお、同一条件で測

定した市販のプロペト®軟膏の展延性は 35.2 ± 0.1 mm、ザーネ®軟膏が 26.7 ± 0.0 mm であったことから、グリセリンを添加した Mohs ペーストであっても、市販の軟膏よりも展延性に劣るといった結果となった。

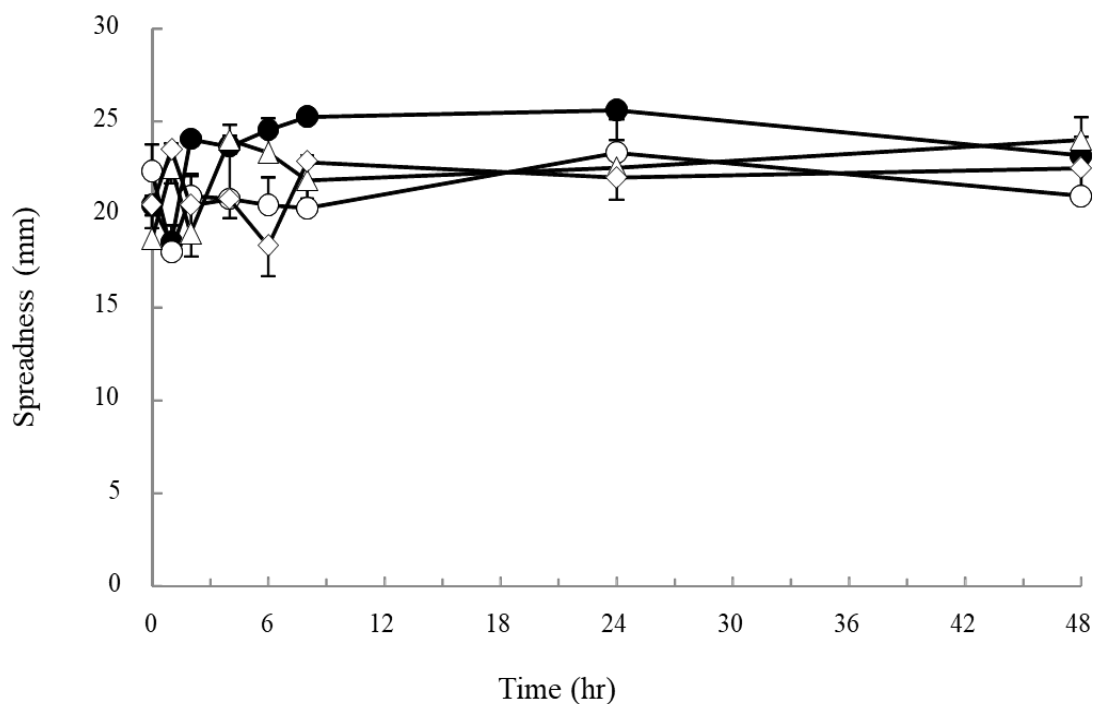


Figure 5 Time Course of Mohs Paste Spreadness

Each point represents the mean \pm S.D. (n=3). ●: Original formulation, ○: add 0.5 mL glycerin, △: add 1.0 mL glycerin, ◇: add 4.0 mL glycerin

2. Mohs ペースト処方成分の顕微鏡観察

Mohs ペーストは調製直後から、経時的に硬度や伸長特性などの物性が変化した。その要因を明らかにするため、Mohs ペーストに処方されている成分を顕微鏡により観察した (Figure 6)。亜鉛華デンプンに精製水を添加した系では、大きなデンプンの顆粒と、溶解しきれずに残っている小さな酸化亜鉛の粒子が観察された (Figure 6-a))。これに対し、亜鉛華デンプンに塩化亜鉛水溶液を添加した系では、

膨潤したデンプン顆粒と共に各デンプン顆粒間に白濁部分が観察され、ゲル状物質と推定された (Figure 6-b))。

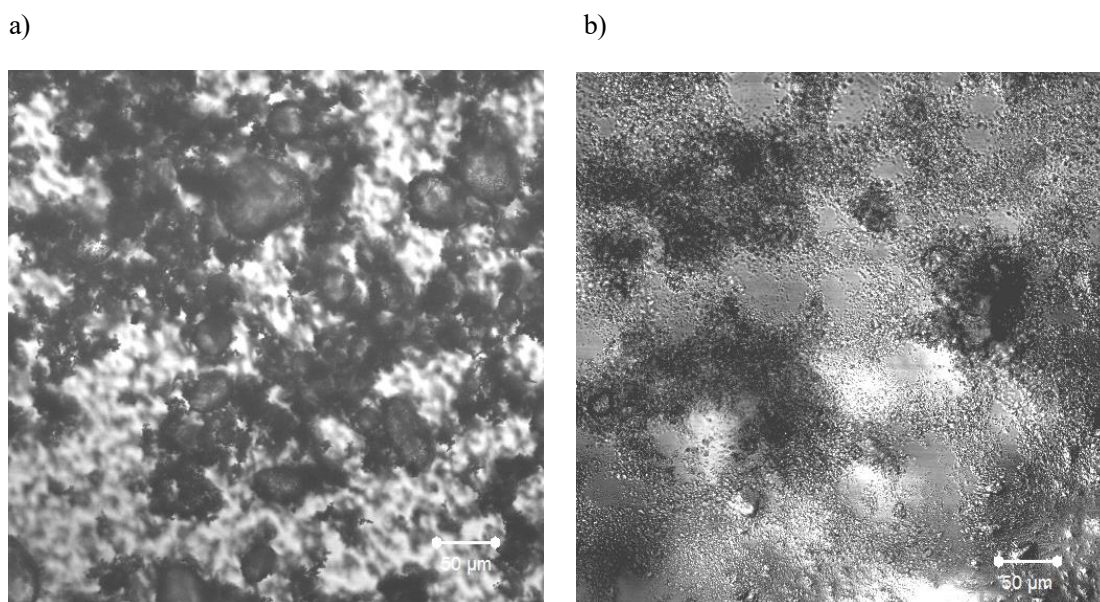


Figure 6 Photomicrographs of Zinc Oxide Starch Particle after Adding Purified Water (a) or Zinc Chloride Solution (b)

3. 添加物を加えた処方改良 Mohs ペーストの物理化学的特性

Mohs ペースト処方成分の顕微鏡観察の結果から、調製直後に認められる Mohs ペーストの粘着性増加を伴わない硬度上昇は、処方内の液体成分、即ち、水のデンプン顆粒内への移行に伴う、固形成分間に存在する自由水の不足によるものと推察された。そこで、水分の顆粒への浸透を抑制できれば、急激な硬度の上昇やその後の粘着性の増大などの諸現象も防げるのではないかと仮説を立て、水和能力を有する可溶性成分を処方中に添加し、デンプン顆粒内への水の浸入を抑制することで、ペーストの物性変化を抑えられるかどうかについて検討した。

(1) 硬度測定評価結果

水和能力を有する可溶性成分として、糖および糖アルコールを添加して調製した処方改良 Mohs ペーストの調製直後と 48 時間後の硬度を Figure 7 に示す。

D(+)-Glucose 添加系では、O-MP の硬度と有意な差は認められず、48 時間後の硬度も減少した。これに対し、D(+)-Mannose や D(-)-Mannitol、D-Sorbitol 添加系では初期の硬度上昇を有意に抑制することができた。特に D-Sorbitol 添加系では、調製直後に比べて 48 時間後の硬度がわずかに上昇するものの、他の処方 に比べて硬度上昇を抑制する効果が顕著に表れた。

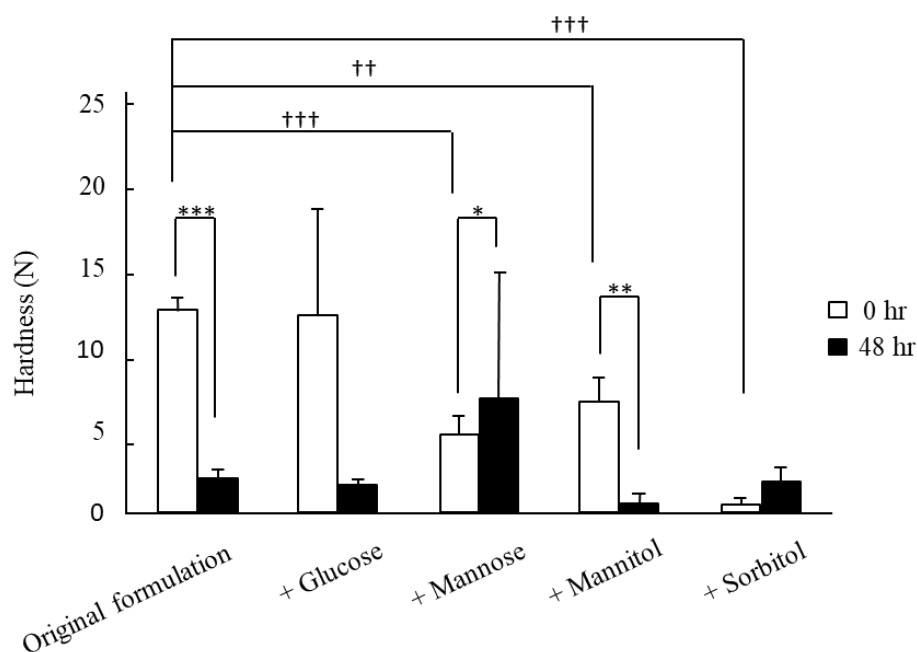


Figure 7 Effect of Sugar and Sugar Alcohol on the Mohs Paste Hardness

Each column represents the mean \pm S.D. (n=4). Welch's *t* test, *,[†] $P < 0.05$, **,†† $P < 0.01$, ††† $P < 0.001$ (*compared with data at 0 hr, [†] compared with original formulation)

(2) 伸長特性評価結果

糖および糖アルコールを添加して調製した処方改良 Mohs ペーストの調製直後と 48 時間後の伸長特性を Figure 8 に示す。ペーストの伸長特性は、D-Sorbitol 添加系以外の処方では、48 時間後に伸長特性が増加するとともに、経時的に粘着性も強く表れた。

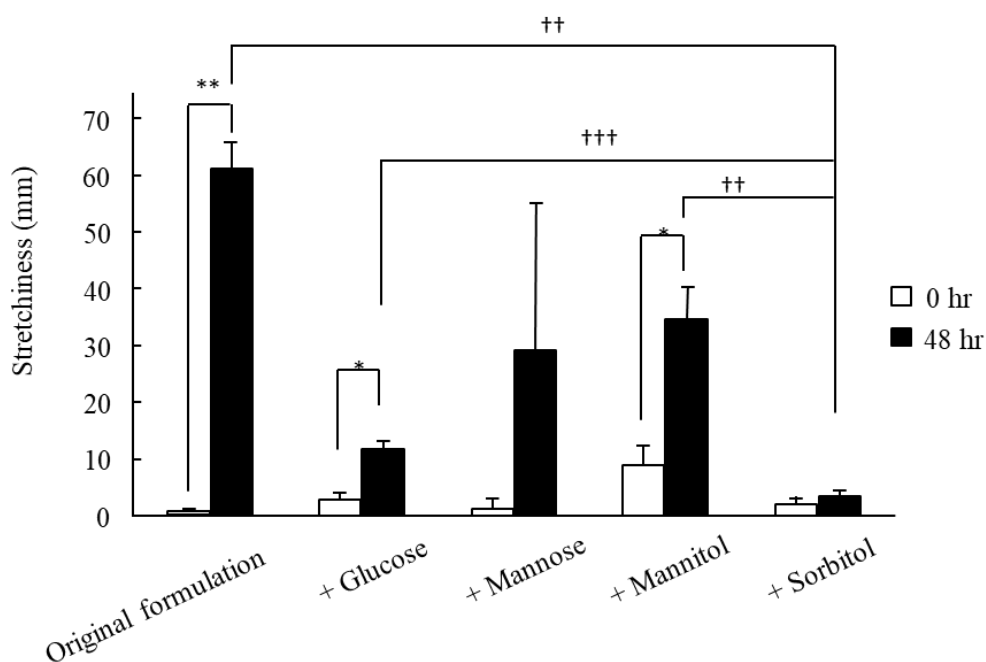


Figure 8 Effect of Sugar and Sugar Alcohol on the Mohs Paste Stretchiness

Each column represents the mean \pm S.D. (n=4). Welch's *t* test, *,[†] $P < 0.05$, **,†† $P < 0.01$, ††† $P < 0.001$ (*compared with data at 0 hr, [†] compared with Sorbitol)

(3) 展延性測定評価結果

糖および糖アルコールを添加して調製した処方改良 Mohs ペーストの調製直後と 48 時間後の展延性を Figure 9 に示した。調製直後の D-Sorbitol 添加系では、他の Mohs ペーストよりも硬度が低いため、大きな展延性を示した。しかし、48 時間経過後ではやや展延性が低下していた。

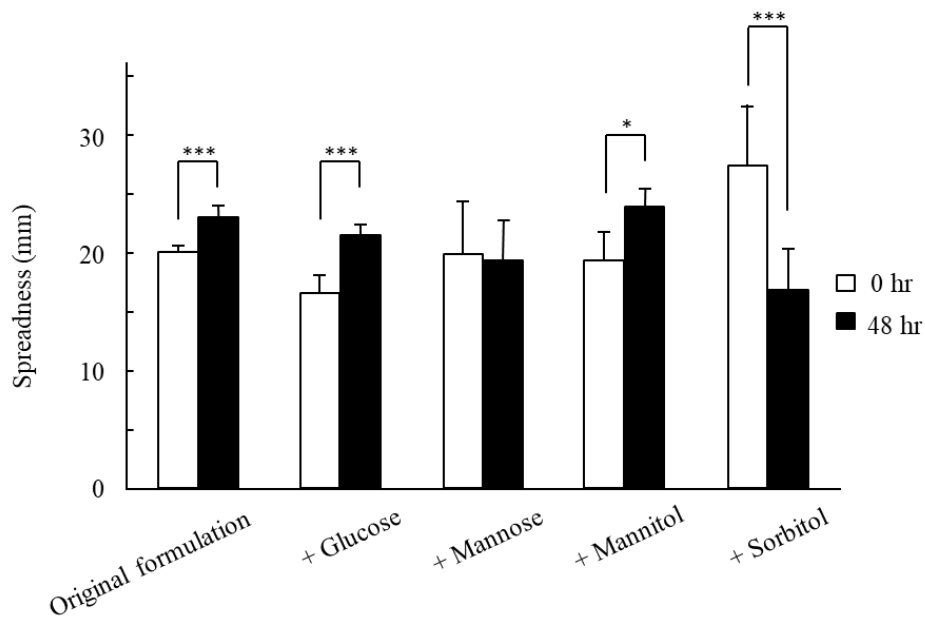


Figure 9 Effect of Sugar and Sugar Alcohol on the Mohs Paste Spreadness

Each column represents the mean \pm S.D. (n=4). Welch's *t* test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (*compared with data at 0 hr)

4. D-Sorbitol を添加した Mohs ペースト処方成分の顕微鏡観察

水和能力の強い化合物である D-Sorbitol を亜鉛華デンプンと混合した後、200 w/v%の塩化亜鉛水溶液を添加して、顕微鏡観察を行った。わずかにデンプン顆粒の膨潤は認められるものの、亜鉛華デンプン-塩化亜鉛水溶液系 (Figure 6-b)) で見られたようなゲル状物質は観察されず、精製水を添加した試料とほぼ同じような像が観察された (Figure 10)。

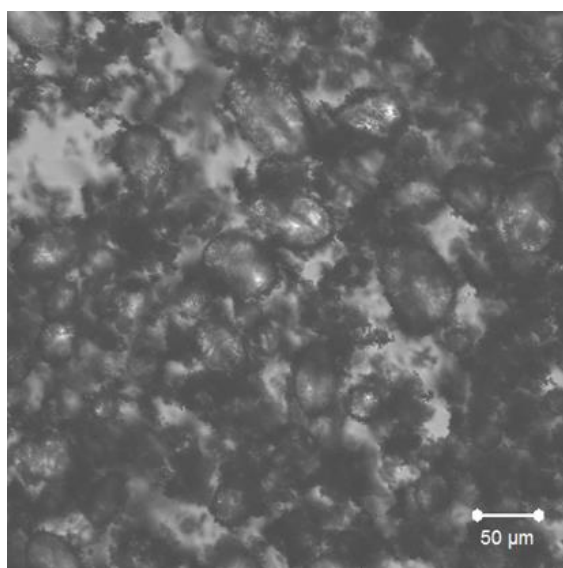


Figure 10 Photomicrographs of Zinc Oxide Starch Particle after Adding D-Sorbitol-Zinc Chloride Solution

5. 新処方 Mohs ペーストの臨床使用

(1) 患者背景

67 歳女性、4 年前に乳房腫瘍を自覚し、近医を受診。かかりつけ医からの紹介で横浜南共済病院外科を受診した。診察の結果、左乳がんで TNM (Tumor Nodes Metastasis) 分類は T4cN3cM1 stage IV (皮膚、肝臓、骨転移)。病理診断の結果は充実腺管がんで、Estrogen receptor 8、Progesterone receptor 0、Human epidermal growth factor receptor type 2 (2+)、FISH (Fluorescence in situ hybridization) 法 (-)、ki67 は 5~15% であった。

(2) 治療経過

原疾患に対しては、過去 4 年間に経口アロマターゼ阻害薬、タモキシフェン、カペシタビンが順次投与されていた。皮膚浸潤に対して自宅でセルフケアを行っていたが、出血が著明となったため、止血目的で入院し、新処方 Mohs

ペースト処置を実施することとなった。

新処方 Mohs ペースト処置時の経過を Figure 11 に示す。新処方 Mohs ペーストを塗布前 (Figure 11-a)) に、疼痛予防のため創部に 2%リドカインゼリーを塗布し、フルルビプロフェン注 50 mg を静注した。なお、病巣部周囲の健常皮膚の保護には白色ワセリンを用いた。新処方 Mohs ペースト塗布後の疼痛は NRS (Numerical rating scale) 0/10 であった。塗布後 30 分間固定させた後に新処方 Mohs ペーストを洗浄除去した。除去後、腫瘍表面の一部より持続的な出血があったため、出血部位に再度新処方 Mohs ペーストを塗布した。24 時間後に洗浄除去したところ、すべての部位において止血を確認した (Figure 11-b))。初回処置から 5 日後再度出血が観察され、12 日後、出血量が多くなってきたため、再度、新処方 Mohs ペースト塗布を実施し、30 分間固定により止血された (Figure 11-c))。固定後の疼痛は NRS 1/10 であった。ペースト処置を実施することとなった。

また、前回固定した左乳房の突出部分 40 × 30 × 15 mm を切除した (Figure 12)。



a) Before application



b) 1 day



c) 12 days

Figure 11 The Progress after the Mohs Paste Application



Figure 12 Fixed Organization Section from the Breast Cancer

24 時間の新処方 Mohs ペーストの固定により得られた固定深度は、切除部分において測定した結果、13 mm であった (Figure 13)。切除部に出血は見られなかった。

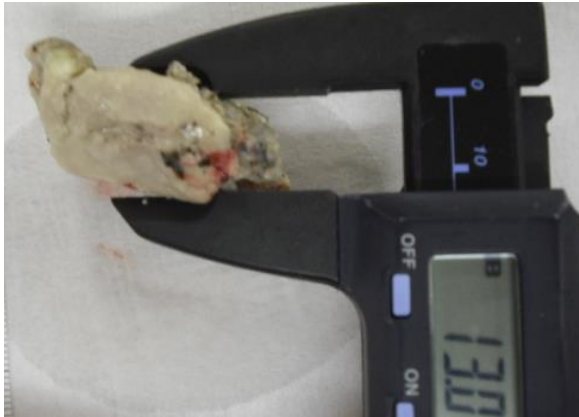


Figure 13 Tissue Invasion Depths of Fixation

(3) 切除部の病理診断

新処方 Mohs ペーストの効果を確認するために、切除部の病理診断を実施した。最深部の大部分に焼灼による凝固変性が加わっているため、判断困難な部分が多いが、壊死以外のほぼ全てのがん細胞に *viability* (がん細胞の増殖能) があると考えられた。

第4節 考察

Mohs ペーストは調製者や調製した日、調製してから用いるまでの時間などによって硬度や粘着性などの物性が大きく変化し、取り扱い難いといった問題点が臨床現場で指摘されてきた。このような物性の変動が生じる要因を明らかにするため、Mohs ペーストのペースト硬度、伸長特性および展延性を経時的に測定した。また、医療現場では、Mohs ペーストの硬度を柔らかく調整するためにグリセリンが添加されることがある。そこで、グリセリンの添加量がペーストの物性に及ぼす影響についても併せて評価した。

O-MP は、調製直後に著しい硬度の上昇を示した後、時間の経過と共に徐々に軟化した。また、ペーストの軟化に伴って、強い粘着性と伸長性を示すようになった。展延性は時間による変化はほとんど認められなかった。ペーストの硬度が変化しているにもかかわらず、展延性が変化しなかった理由としては、硬度の減少に伴って粘着性が増大したため、ペーストは柔らかくなったが展延しにくくなったものと考えられる。この様に、Mohs ペーストの物理化学的特性の経時的に変化が、臨床現場における Mohs ペーストの物性変動や塗布のしにくさを引き起こしているものと考えられる。

現在、臨床現場で用いられているグリセリン添加の方法は、ペーストの急激な硬度上昇を抑制し、ペーストは低い硬度を示した。しかしながら、調製直後から伸長特性を示し、O-MP よりも伸長特性の増大が顕著となった。硬度調整目的で Mohs ペーストへグリセリンを添加すると、硬度は低下させるが伸長特性を増加させ、強い粘着性により塗布性が悪化することが明らかとなった。

次に、これらの物性変化の要因を明らかにするため、Mohs ペーストに処方されている亜鉛華デンプンを顕微鏡により観察した。塩化亜鉛存在下においてはデ

デンプン顆粒の膨張と顆粒間のゲル状物質が観察された。デンプンは多数の α -グルコースが直鎖状に重合したアミロースと、枝分かれしたアミロペクチンの二成分で構成されている。アミロース分子やアミロペクチン分子は水素結合によって分子間で強く結びつき、密な構造をとっているため、通常水分子はデンプン顆粒内へ浸透することができない³⁰⁾。このため、亜鉛華デンプンに精製水を添加した系では、デンプン顆粒の膨潤は観察されていない。一方、塩化亜鉛水溶液を添加した系では、水溶液中の塩化物イオンや亜鉛イオンによってアミロースやアミロペクチンを結合させる水素結合が弱まり、デンプン顆粒内への水分子の浸透が可能となる。水分子の浸透が進むと、デンプン顆粒の膨潤が起こり、固形成分粒子間に存在する水分が急激に減少する。この作用により、デンプン顆粒同士の固体間摩擦が生じるためペーストの硬度が著しく上昇する。さらに水の浸透が進行すると、デンプン顆粒が破裂し、水を保持したアミロースやアミロペクチンなどの高分子溶液が放出されることで糊化し、軟化と共に強い粘着性が生じるようになったと推察される。

そこで、水和能力を有する可溶性成分を処方中に添加し、デンプン顆粒内への水の浸入を抑制することで、ペーストの物性変化が抑制できるかを検討した。本実験では、水分保持用添加剤として、糖類の D(+)-Glucose と D(+)-Mannose、糖アルコールである D(-)-Mannitol と D-Sorbitol を用い、それぞれを処方中に添加したペーストについて物性を評価した。予備検討の結果、処方に対し添加剤を 4 g 加えることで、物性の改善されたペーストを得ることが確認できたため、本実験では、添加量を 4 g として検討を行った。また、データには示さないが、水和能力を有する塩化ナトリウムなどの各種塩類についても同様に試みたところ、水の浸透を促進してしまったためと思われるペースト硬度のさらなる上昇を引き起こしたため試験には用いなかった。

これらのペーストの物性変化を検討した結果、調製直後および 48 時間後の両方の硬度上昇が顕著に抑制され、伸長特性の増加が最も抑制されたのは、D-Sorbitol を処方中に添加した Mohs ペーストであった。

D(+)-Mannose や D(-)-Mannitol を添加した Mohs ペーストは、初期の硬度上昇を有意に抑制することができたが、48 時間後に伸長特性が増加するとともに、経時的に粘着性も強く表れた。これは、D(+)-Mannose や D(-)-Mannitol は、オリジナルの処方比べ、水のデンプン顆粒内への浸透速度を遅くするものの、徐々にデンプン顆粒内への水分子の浸透が進み、48 時間後には糊化が生じてしまったためと考えられる。

一方、硬度上昇抑制効果が最も強く表れた D-Sorbitol 添加系では、48 時間後においても粘着性が効果的に抑制できており、糊化が抑制できていることが確認できた。調製直後は、他のペーストよりも硬度が低いため展延性は大きな値を示したが、48 時間経過後ではやや展延性が低下していた。この展延性の変化は、48 時間後はペーストの硬度がわずかに増加しており、D(+)-Mannose や D(-)-Mannitol よりもゆっくりではあるがデンプン顆粒内への水の浸透が進み、物性変化が徐々に生じているものと推察される。

顕微鏡観察において、D-Sorbitol 添加系では、亜鉛華デンプン—塩化亜鉛水溶液系で見られたゲル状物質は観察されず、わずかにデンプン顆粒の膨潤は認められるものの、精製水を添加した試料とほぼ同じような像が観察された。D-Sorbitol は強い水和能力により、水中で大きな分子集合体として振る舞い、塩化亜鉛水溶液中において、塩化物イオンや亜鉛イオンによってデンプン分子間の水素結合が弱められ分子構造が粗となっても、D-Sorbitol と水和した分子集合体では、デンプン顆粒へ浸透できない。この効果により、水分子の浸透が起らず、デンプン顆粒の膨潤が抑制されたものと考えられる。顕微鏡観察した試料を流水下に置いた

ところ、亜鉛華デンプン－塩化亜鉛水溶液系では、スライドガラス上に粘着性の試料が残留したのに対し、亜鉛華デンプン－精製水系および鉛華デンプン－D-Sorbitol－塩化亜鉛水溶液系では容易に洗い流すことができ、D-Sorbitol のような水和力を有する化合物の添加が粘着性の抑制に有用であると考えられた。

以上、デンプン顆粒への水分子の浸透によって引き起こされると考えられる硬度上昇や糊化による粘着性の増大に対して、水和能力を有する添加剤を加えることにより、硬度上昇や粘着性の増大の程度を変化することを明らかにした。特に、D-Sorbitol を添加した Mohs ペーストでは、調製直後の硬化ならびに糊化による高粘弾性を有意に抑制することができた。これは、水和力の強い D-Sorbitol を用いることで系内の自由水を奪い、デンプン顆粒への水の浸透速度を遅延させることができたためと考えられた。また、結果には示さないが、処方改良 Mohs ペーストを室温にて2週間軟膏容器内に保存したペーストの色調を観察したところ、O-MP は長期保存しても色調の変化は認められなかったのに対し、還元性を有する D(+)-Glucose 添加系および D(+)-Mannose 添加系において褐色の色調変化が認められた。一方、還元性を持たない D(-)-Mannitol や D-Sorbitol 添加系では色調変化は認められなかった。さらに予備検討ではあるが、D-Sorbitol については、黄色ブドウ球菌の増殖を促進するような効果も見られなかった。これらの結果から、D-Sorbitol は、がん切除手術時に組織を硬化させるために用いられる Mohs ペーストの物性制御を市販の軟膏剤の物性に近づけることができ、また、物性変動も抑制できることから、有効な添加剤となり得ることが示唆された。また、D-Sorbitol は、甘味料や保湿剤として食品や化粧品などに用いられており、外用薬として使用する上で安全性に問題はないと考えられる。

本研究で開発した D-Sorbitol を添加した新処方 Mohs ペーストを用いて、臨床現場にて、乳がん患者の自壊創に対して処置を行った。調製した新処方 Mohs ペ

ースト (Figure 14) は、O-MP (Figure 15) と比較して硬度、粘度とも抑えられ市販の軟膏に物性が近く、ヘラを用いて容易に病巣部に短時間で塗布することが可能であった。



Figure 14 D-Sorbitol-added Mohs paste



Figure 15 Original Mohs paste

切除部分の病理診断は、壊死以外のほぼ全てのがん細胞に *viability* があるとの結果であったが、十分に固定効果は得られており、切除時に出血も認められなか

った。また、非切除部分は 30 分の固定時間でも腫瘍表面は硬化し、十分な止血が得られた。乳がん自壊創の出血症例に対して O-MP を処置したところ、30 分間の塗布で止血効果が得られており³¹⁾、D-Sorbitol 添加の新処方 Mohs ペーストは、従来型の O-MP と同等の効果があると考えられた。

以上より、D-Sorbitol 添加の新処方 Mohs ペーストは、従来の製剤に比して塗布性が改善され、効果も同等であることが推察されたことから、今後の臨床現場で有用な製剤となり得ることが明らかになった。

第2章 デンプン非含有 Mohs ペーストの調製と製剤学的評価

第1節 緒言

緩和医療や緩和ケア領域において、皮膚に浸潤した局所進行乳がんや、有棘細胞がんなどの表在性悪性腫瘍病変の自壊創では、腫瘍の膨大や接触痛、出血、滲出液、二次感染等による悪臭を伴い、身体的、精神的、社会的な苦痛を伴うことが多い³²⁻³⁴⁾。特に、腫瘍からの出血は健常組織と異なり止血が得られ難い特徴があり、貧血症状を引き起こすことがある。さらに、腫瘍からの大量な滲出液に伴って起こるアルブミンの喪失や、度重なるガーゼ交換は、患者やその家族のQOLを低下させる一因である^{27,35)}。Mohs ペーストは、イオン化した亜鉛の作用により、腫瘍細胞や腫瘍血管等をタンパク変性させるとともに、吸水特性を有することから、塗布した自壊創の表面は、固定化して乾燥され、出血や滲出液が減少する⁹⁾。さらに、イオン化した亜鉛は、二次感染した細菌の細胞膜も硬化・変性させるため、抗生物質に耐性を有している細菌に対しても抗菌力を有し、悪臭を軽減する。Mohs ペーストの1回の施行時間は、症例や目的によって様々であり、出血や滲出液、悪臭抑制のために表面のみ固定したい場合および疼痛が強い場合には、処置時間が15分～2時間であることが多く⁸⁻¹²⁾、腫瘍容積の減少や除去を目的とする場合には、24時間程度連続で処置することもある^{36,37)}。処置後は、Mohs ペーストを患部からガーゼ等で拭き取った後、微温湯等で洗浄除去を行う。この様に、Mohs ペーストは、簡便で低侵襲に組織を固定するため、高齢者や全身状態の不良な症例に対しても使い易いこと、安価であること、短期間で出血、滲出液、悪臭の抑制が得られるなどの利点があり、これらの症状の緩和や、QOL向上のために有効であったとの症例報告が散見されている³⁸⁻⁴⁰⁾。

しかしながら、現在、院内製剤として調製されている Mohs ペーストには、以下の二つの問題点が指摘されている。

一つ目の問題点は、Mohs ペーストは、調製後の硬度変化が著しく、強い粘着性を示すようになるため、処置時に取り扱いづらく、目的とする病巣部に効率よく、均一に塗布することが困難となる点である^{29,34)}。この問題点に対しては、第1章にて、これらの物性変動が亜鉛華デンプンに含まれるバレイショデンプンの糊化に由来することを明らかにし、調製後の急激な物性変動が抑制された D-Sorbitol 添加の新処方 Mohs ペーストを開発した。

二つ目の問題点は、止血や滲出液の抑制を目的として処置した際に、滲出液などを Mohs ペーストが吸水することによって、液状化が起こり、塗布部からペーストが流れ出て周囲の健常皮膚に付着し、皮膚に障害を起こすことがある点である²⁹⁾。

そこで、本研究では、さらなる利便性向上を目的に、製剤学的問題点である「著しい物性の変化」および「吸水後の液状化」の両方を改善した、亜鉛華デンプン中のバレイショデンプンを除去した製剤の開発を試みた。今回、新たに処方設計をしたデンプン非含有 Mohs ペースト (Cellulose Mohs paste without starch: C-MP) と、従来から用いられてきた O-MP との製剤学的物性の違いについて、ペーストの硬度や成分の放出性試験などに基づき評価した。

第2節 試験材料および方法

1. 試薬

O-MP および C-MP の調製には、塩化亜鉛 (キンダ化学)、日本薬局方亜鉛華デンプン (健栄製薬)、酸化亜鉛 (ナカライテスク)、微結晶 Cellulose (CEOLUS[®] PH-101, 旭化成)、日本薬局方 Macrogol 軟膏 (日興製薬)、日本薬局方吸水クリーム (日興製薬)、日本薬局方親水クリーム (日興製薬)、グリセリン (ナカライテスク) を使用した。試薬はすべて試薬特級品を用いた。

2. O-MP の調製法

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解し、塩化亜鉛水溶液とした。放冷した塩化亜鉛水溶液を乳鉢中に移した後、乳棒で攪拌しながら徐々に亜鉛華デンプン 25 g を加え、混和・均一化してペーストを得た。なお、本実験では粘度調整のためのグリセリンは添加しなかった。調製したペーストは、プラスチック製軟膏容器 (20 mL) に充填し、試験に供した。

3. 基剤の異なる C-MP の調製法

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解させ、塩化亜鉛水溶液とした。酸化亜鉛 12.5 g (亜鉛華デンプン 25 g に相当)、微結晶 Cellulose 3.125 g を量り取り、乳鉢にてよく混合した。そこへ軟膏基剤 (Macrogol 軟膏、吸水クリーム、親水クリームのいずれか) 8.5 g と、グリセリン 2 mL を加え、さらに乳棒でよく練合したものに、放冷した塩化亜鉛水溶液を徐々に加え、混和・均一化し、C-MP とした。調製したペーストは 20 mL のプラスチック製軟膏容器に充填し、室温で保存した。

以下、基剤に Macrogol 軟膏を用いたペーストを M-MP (Cellulose-Macrogol

Mohs paste without starch)、吸水クリームを用いたペーストを A-MP (Cellulose-Absorptive cream Mohs paste without starch)、親水クリームを用いたペーストを H-MP (Cellulose-Hydrophilic cream Mohs paste without starch)と表記する。

調製した各 Mohs ペーストの処方を Table 2 に示した。

Table 2 Formula of Mohs Paste

	O-MP	C-MP		
		M-MP	A-MP	H-MP
Zinc chloride (g)	50	50	50	50
Purified water (mL)	25	25	25	25
Zinc oxide starch powder (g)	25			
Zinc oxide (g)		12.5	12.5	12.5
Microcrystalline Cellulose (g)		3.125	3.125	3.125
Macrogol ointment (g)		8.5		
Absorptive cream (g)			8.5	
Hydrophilic cream (g)				8.5
Glycerin (mL)		2	2	2

4. 試験方法

本研究では、各 Mohs ペーストの製剤学的物性について、硬度、伸長特性、展延性、有効成分の *in vitro* 放出性および吸水特性を評価した。それぞれの物性測定についての詳細な実験方法は以下の通りである。

(1) 硬度測定評価法

Mohs ペーストの硬度は、RHEO METER を用いて測定した (Figure 1-a))。測定試料を、内径 42 mm、深さ 26 mm の容器に、気泡を生じないように充填した。RHEO METER の PRESS MODE にて、試料を充填した容器を乗せたステージを、1 mm/min の速度で上昇させ、ペースト表面に接触後、感圧軸が 2 mm 侵入したときに、感圧軸に加わる応力を記録し、硬度とした (Figure 1-b))。経時的な物性変化を評価するため、調製直後および 25.0 ± 2.0 °C にて 1.5、24、

48、72 時間保存した試料について、測定を実施した。

(2) 伸長特性評価法

伸長特性の評価は、RHEO METER の TRACTION MODE を用いて実施した。内径 42 mm、深さ 26 mm の容器に充填した試料の表面と感圧軸を接着させた後、試料を乗せたステージを 30 mm/min の速度で下降させ、感圧軸と試料が分離するまでの移動距離を計測し、伸長特性の指標とした (Figure 1-c))。経時的な物性変化を評価するため、調製直後および 25.0 ± 2.0 °C にて 1.5、24、48、72 時間保存した試料について、測定を実施した。

(3) 展延性評価法

展延性の評価は、薬剤用平行板粘度計 (スプレッドメーターU-518[®]) を用いて実施した (Figure 2)。ステージ中央部に試料を充填した後、ステージ下部よりピストンで試料を押し出すと同時に 114.8 g のガラス平板をプレート上の試料に落として試料に荷重をかけ、試験開始後 300 秒における平板上に拡がった試料の直径 (mm) を測定し、展延性の指標とした。経時的な物性変化を評価するため、調製直後および 25 ± 2 °C にて 1.5、24、48、72 時間保存した試料について、測定を実施した。

(4) *in vitro* 放出性試験法

有効成分である亜鉛の製剤からの放出性を評価するため、*in vitro* 放出性試験を行った。放出性試験に用いた縦型拡散セル装置を Figure 16 に示す。

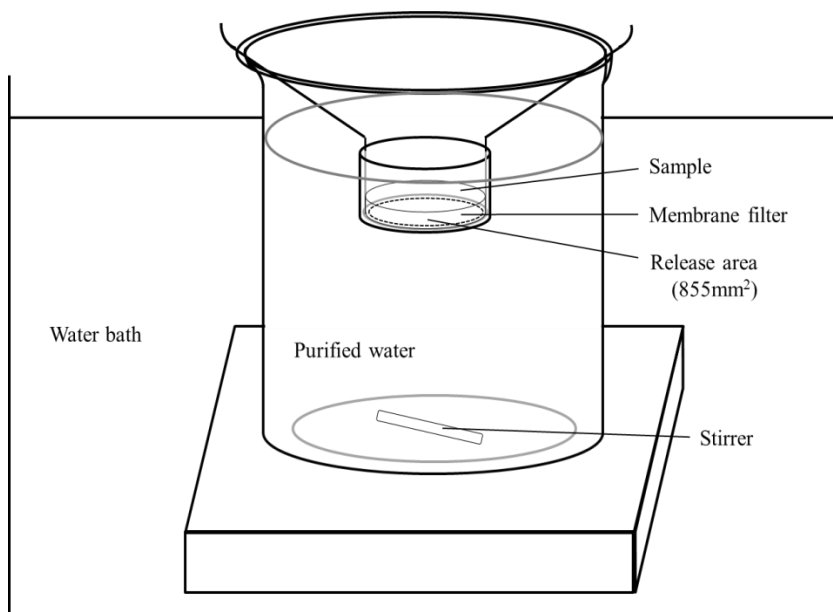


Figure 16 An *in vitro* Release Testing (Release Diffusion Cell System)

試料には、調製後 1 時間以内の試料を用いた。拡散セルからの有効放出面積は 855 mm² で、放出面にはメンブレンフィルター (セルロースアセテートタイプ[®], pore size 0.2 μm, 直径 47 mm, ADVANTEC) を貼り付けた。フィルター上に、試料 17 g を均一に充填した。試験液には精製水を用い、液量 180 mL、試験液温度 32.0 ± 1.0 °C の条件で行った。攪拌子の回転数は 150 rpm とした。試験開始後、0、5、10、20、30、60、90、120、180、240、300 分に、放出面から垂直に 2.5 cm 離れた場所から 1 mL 採取した。試験液採取後は、直ちに同じ温度の同量の精製水を補充した。亜鉛濃度の測定には、メタロアッセイ亜鉛テスト[®] (メタロジェニクス社) を用いた。試料溶液の 560 nm における吸光度を、分光光度計 (SpectraMax[®] 340PC384 ハイスループット吸光マイクロプレートリーダー, モレキュラーデバイスジャパン) を用いて測定し、各時間における試験液中に放出された亜鉛の絶対量を算出した。

(5) 吸水特性評価法

試料として、調製後 1 時間以内の Mohs ペーストを供した。ろ紙 (50 mm × 50 mm) 上に、試料約 10 g を 45 mm × 45 mm の型に詰め、その質量を精密に測定した。直径 100 mm のシャーレ内で、25 mL の精製水で浸した Kimwipes® 上に載せ、3 時間放置し吸水させた (Figure 17)。

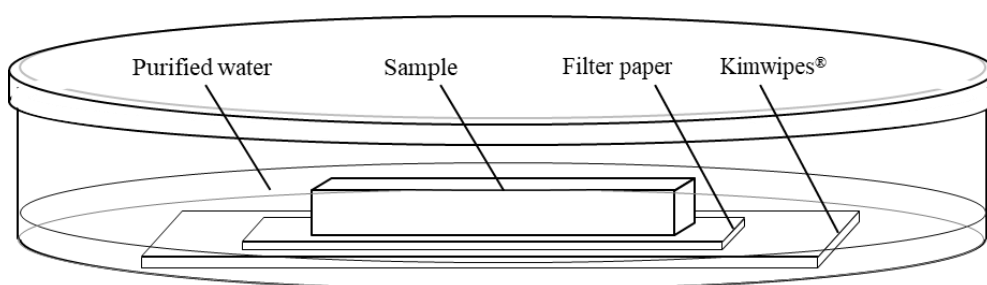


Figure 17 Test Method for Moisture Absorption Properties

吸水後、試料の質量を精密に測定した後、80 °C に設定した恒温乾燥器 (DRYING OVEN® MOV-112, 三洋電機) 内で 120 時間乾燥させ、乾燥減量を測定し、それぞれの単位試料 g あたりの吸水量を算出し、吸水特性を評価した。なお、対照として、ろ紙および吸水させていない Mohs ペーストの乾燥減量を測定し、吸水量の算出に用いた。

5. 統計解析

各物性評価試験を n=3 で実施し、有意差検定については、Welch's *t* test を行い、危険率 5 % を有意水準として解析した。ソフトには QuickCalcs® を使用した。

第3節 結果

1. 硬度の経時的変化

各 Mohs ペーストの調製直後 (0 時間) から 72 時間までの硬度の経時的変化を Figure 18 に示す。O-MP では、塩化亜鉛水溶液に亜鉛華デンプンを添加後、乳棒による攪拌ができなくなるほど急激な硬度上昇が生じ、調製直後の硬度は約 20 N であった。この高い硬度は、時間の経過とともに減少した。一方で、デンプンを含まずに、微結晶 Cellulose と軟膏基剤を使用した M-MP、A-MP、H-MP では、調製直後の硬度は約 0.1 ± 0.4 N で、経時的な硬度変化は、ほとんど認められなかった。

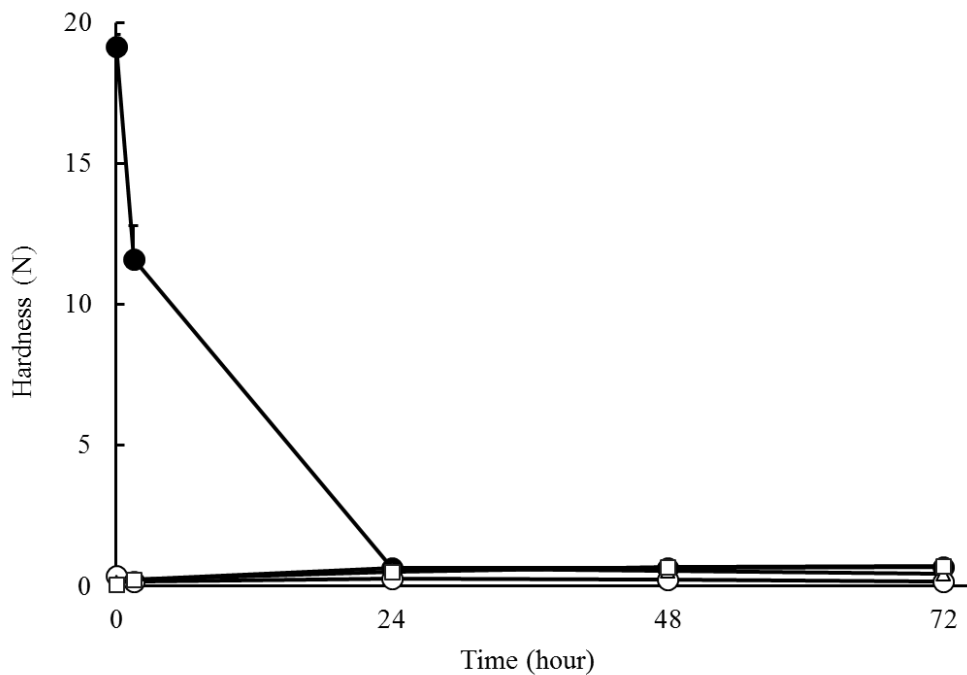


Figure 18 Time Course of Mohs Paste Hardness

Each point represents the mean \pm S.D. ($n=3$). Welch's t test, compared with O-MP. The hardness of M-MP, A-MP and H-MP was significantly lower than that of O-MP at 0 and 1.5 hr ($P<0.01$), ●: O-MP, ○: M-MP, △: A-MP, □: H-MP.

2. 伸長特性の経時的変化

各 Mohs ペーストの調製直後から 72 時間までの伸長特性の経時的変化を Figure 19 に示す。調製直後の O-MP の伸びは 5.2 mm であった。しかしながら、1.5 時間後には 23.5 mm、24 時間後には 53.3 mm、72 時間後には 67.3 mm と、時間の経過に伴ってペーストが軟化し、高い伸長特性を示すようになった。

一方、C-MP においては、M-MP は 5.2 ± 11.7 mm、A-MP は 2.9 ± 10.7 mm、H-MP は 3.7 ± 11.2 mm で、いずれも経時的な伸長特性の著しい変化は認められなかった。

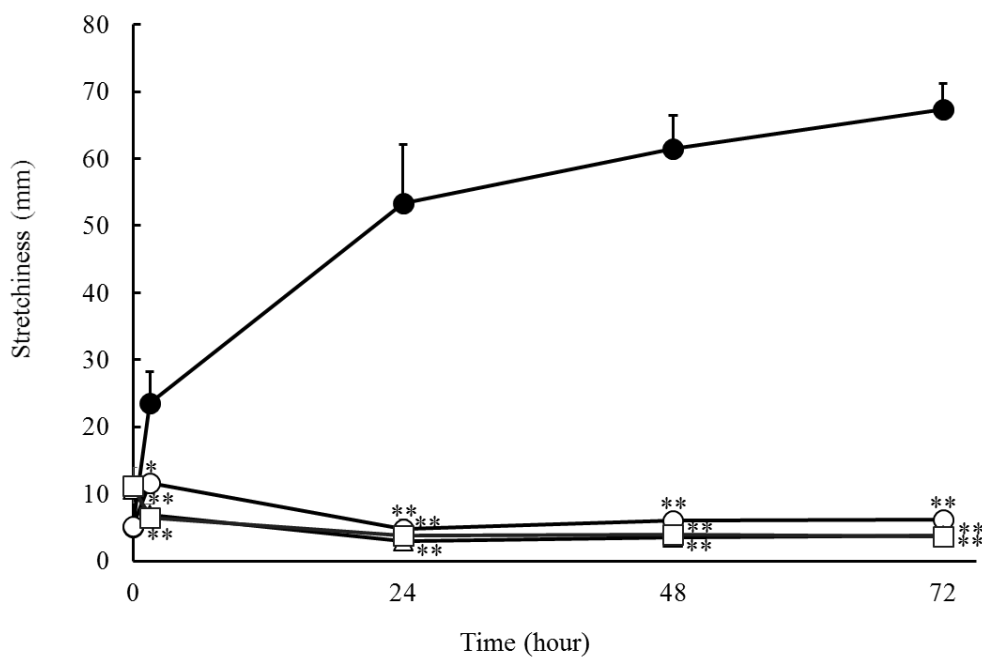


Figure 19 Time Course of Mohs Paste Stretchiness

Each point represents the mean \pm S.D. (n=3). Welch's *t* test, compared with O-MP. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ●: O-MP, ○: M-MP, △: A-MP, □: H-MP.

3. 展延性の経時的変化

調製直後の展延性は、すべての Mohs ペーストにおいて 21.0 ± 3.0 mm であった。展延の様子としては、試験開始後、数秒で展延は止まり、その後、測定時間の 300 秒までの間の拡がりは、ほとんどみられなかった。72 時間までの展延性の経時的変化は認められず、0 ~ 72 時間までの展延性の平均値は、O-MP は 22.7 ± 0.7 mm、M-MP は 22.6 ± 3.1 mm、A-MP は 21.1 ± 1.3 mm、H-MP は 20.3 ± 1.0 mm であった。

4. 亜鉛成分の Mohs ペーストからの *in vitro* 放出挙動

有効成分である亜鉛の、各 Mohs ペーストからの放出挙動を Figure 20 に示す。O-MP は 60 分で 5.6%、120 分で 7.7%、80 分で 10.9%、300 分で 13.9%が、試験液中に放出された。A-MP、H-MP の亜鉛成分の放出速度は O-MP とほぼ同程度であった。一方、M-MP からの亜鉛の放出速度は、他のペーストよりも速く、60 分で 5.7%、120 分で 9.8%、180 分で 15.1%、300 分で 21.2%が放出され、M-MP は O-MP と比較すると 120 分後には約 1.3 倍、300 分後においては約 1.5 倍となり、有意に高い値を示した。

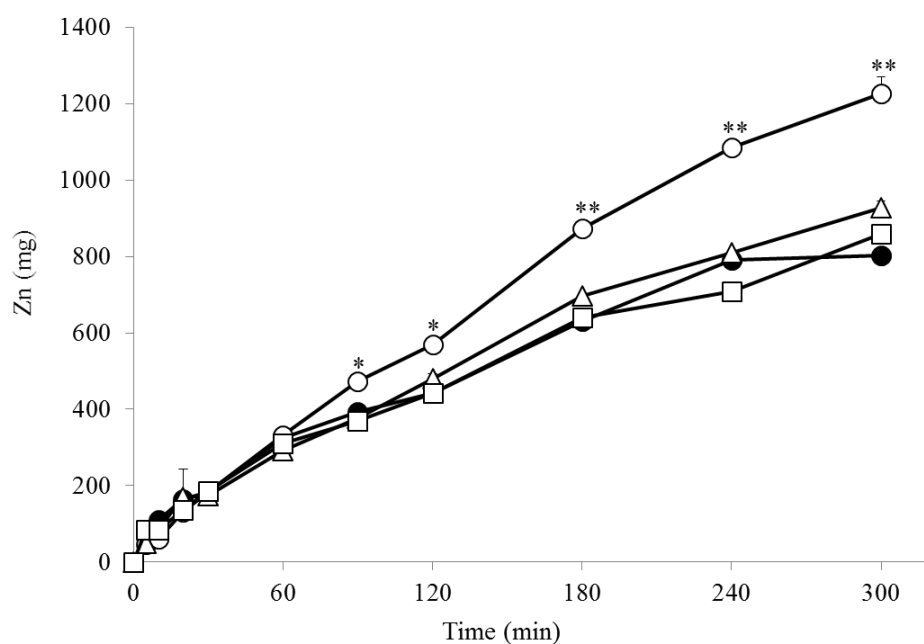


Figure 20 Release Profiles of Zinc from Each Formulations Mohs Paste

Each point represents the mean \pm S.D. (n=3). Welch's *t* test, compared with O-MP. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ●: O-MP, ○: M-MP, △: A-MP, □: H-MP.

5. Mohs ペーストの吸水特性

3 時間の吸水特性試験において、試料 1 g あたりに吸水された水分量を Figure 21 に示す。O-MP は試料 1 g あたり約 0.43 g の水分を保持する特性を有していた。O-MP と比較して、M-MP と H-MP では吸水量に有意な差は認められなかった。一方、A-MP の吸水量は O-MP と比較して低い値を示し、約 0.78 倍であった。

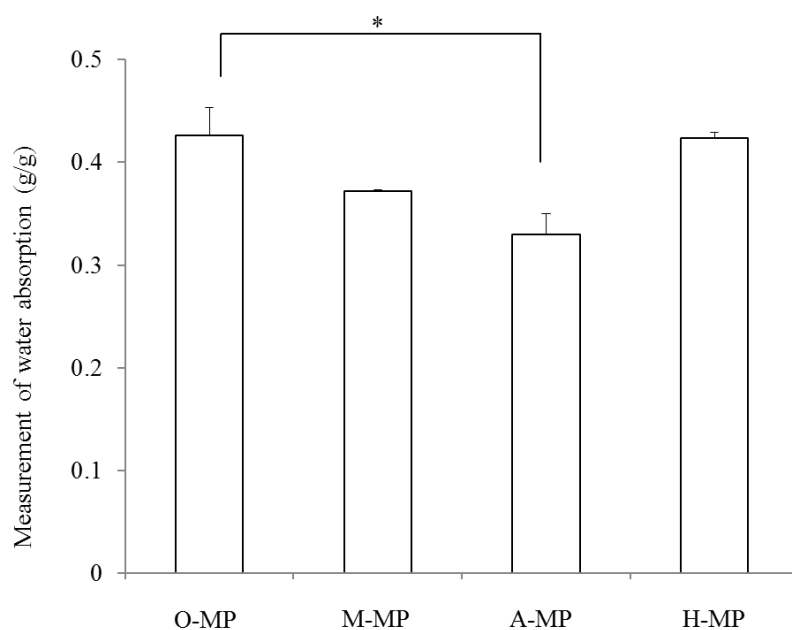
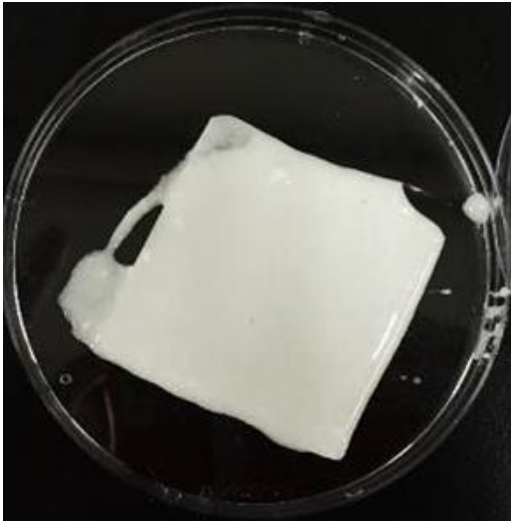
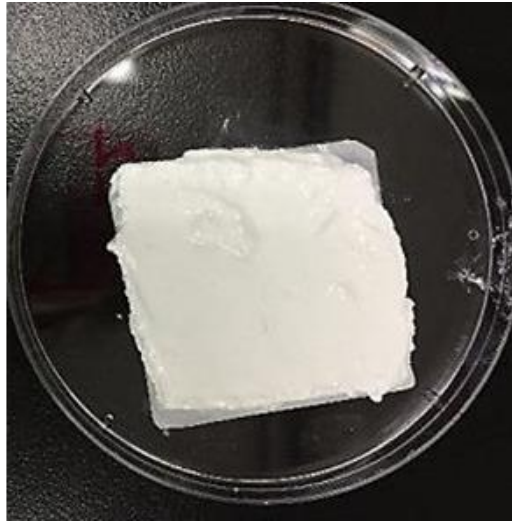


Figure 21 Water Absorption of Each Formulations Mohs Paste
 Each point represents the mean \pm S.D. (n=3). Welch's *t* test, compared with O-MP, * $P < 0.05$.

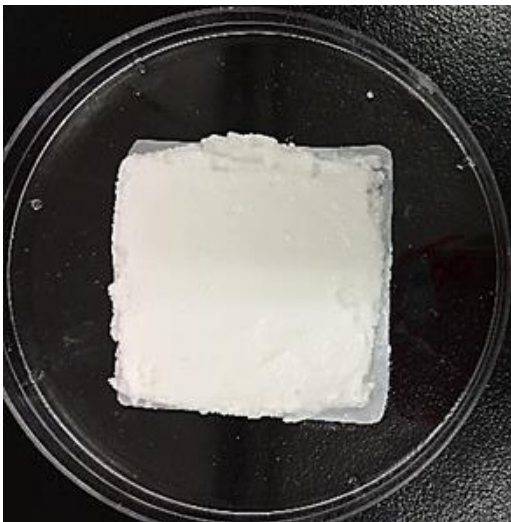
吸水後の Mohs ペーストの様子を Figure 22 に示す。吸水後の O-MP は、液状化が観察され、硬度を測定したところ 0.01 ± 0.00 N と著しく低い値を示した。一方で、M-MP、A-MP、H-MP は吸水しても液状化は生じなかった。



O-MP



M-MP



A-MP



H-MP

Figure 22 Photographs of Mohs Paste after Water Absorption Test

第4節 考察

Figure 18 や 19 に示したような O-MP の硬度や伸長特性などの物性変動の要因としては、製剤中の塩化物イオンや亜鉛イオンにより、亜鉛華デンプンに含まれるデンプン顆粒への水分子の浸透性が高まり、デンプン顆粒が膨潤して粒子間水分が減少し、固体間摩擦が上昇して調製直後の硬化が生じること、さらに、その後起こるデンプンの糊化により粘着性の増大が生じることを、第1章にて明らかにした。これらのことから、本章では、Mohs ペースト中のバレイショデンプンを、微結晶 Cellulose と軟膏基剤に置き換え、デンプンを含有しない Mohs ペーストの処方設計を企図した。

微結晶 Cellulose の量は、市販の軟膏の硬度を基準とした。予備実験にて、同一条件で測定した市販のカデックス®軟膏 0.9%の硬度は 0.26 ± 0.01 N、ザーネ®軟膏 0.5%は 0.19 ± 0.06 N であった。これらの硬度を基準として、微結晶 Cellulose の量を、バレイショデンプンの 1/8 の量である 3.125 g、軟膏基剤の添加量を 8.5 g とした。基剤には、水性成分を分散させることから、Macrogol 軟膏、吸水クリーム、親水クリームを用い、それぞれ M-MP、A-MP、H-MP を作製した。微結晶 Cellulose については、市販の軟膏の展延性を基準とした。予備実験にて、同一条件で測定した市販のカデックス®軟膏 0.9%は 28.0 ± 0.1 mm、ザーネ®軟膏 0.5%は 26.7 ± 0.0 mm であった。PH-101、KG-802、KG-1000 (CEOLUS®, 旭化成) の三種類のグレードを用いて比較をしたところ、粒子の繊維が短い PH-101 の展延性が最も高く、繊維が長い KG-802、KG-1000 では、PH-101 の 0.87 倍、0.76 倍と低い展延性を示したことから、微結晶 Cellulose としては、PH-101 のグレードを採用した。

硬度、伸長特性、展延性の三つの物性の経時的変化について評価を行ったとこ

ろ、O-MP は、調製直後に硬度が上昇し、経時的な硬度低下がみられた (Figure 18)。硬度の低下に伴い、伸長特性が高値になり (Figure 19)、容器や軟膏へラに粘着して取り扱いづらい性状となった。また、展延性は大きな変化を認めなかった。硬度が変化しているにもかかわらず、展延性が変化しなかった理由としては、硬度の減少に伴って粘着性が増大し、柔らかくなったが展延し難くなったものと考えられる。

一方、M-MP、A-MP、H-MP は、O-MP と比べて硬度や伸長特性、展延性の経時的な変化はほとんどみられなかった (Figure 18, 19)。バレイショデンプンを処方中から除去したことで、O-MP に生じた粘着性も認められなくなり、M-MP、A-MP、H-MP の伸長特性は、市販されているカデックス[®]軟膏 0.9% (伸長特性: 10.4 ± 0.5 mm) やザーネ[®]軟膏 0.5% (伸長特性: 10.6 ± 1.4 mm) と同程度であることが確認された。展延性に関して、M-MP、A-MP、H-MP は、調製直後の O-MP および市販されているカデックス[®]軟膏 0.9% やザーネ[®]軟膏 0.5% に近い展延性を示すことが確認された。

C-MP は、市販の軟膏剤に近い物性を有し、O-MP の経時的な硬度変化や伸長特性の変化が抑えられていた。このことから、O-MP は用時調製の必要があったが、C-MP は事前調製による作り置きが可能となることが示唆された。さらに、高い粘着性が生じないことから、患部への均一な塗布も容易になり、処置に要する時間が短縮されると考えられる。

有効成分である亜鉛の Mohs ペーストからの *in vitro* 放出性試験を実施したところ、A-MP、H-MP は O-MP と同様の挙動を示したのに対し、M-MP からの亜鉛成分の放出速度は速く、O-MP と比較して累積放出量は 2 時間で約 1.3 倍、5 時間で約 1.5 倍の亜鉛の放出量であった (Figure 20)。これには、軟膏基剤中における拡散速度が関係していると考えられ、親水性の Macrogol 軟膏では、亜鉛イオン

の拡散速度が大きく、速い放出を示したと推察された。一方、O-MP ではデンプンの糊化に伴う粘性増加によって拡散速度が遅く、低い放出性となったと考えられる。さらに、吸水クリームや親水クリームは乳剤性基剤であるため、Macrogol 軟膏に比べて処方中の疎水性成分の割合が増している⁴¹⁾。このため、ペースト中での亜鉛イオンの拡散速度が低下し、A-MP や H-MP からの亜鉛の放出量が M-MP よりも少なかったと考えられる。この結果から、M-MP は、O-MP よりも亜鉛の放出速度が速く、より短時間での組織固定が可能になると推定され、患者にとって、同一体位を保持する時間を短縮することができることから、身体的、精神的負担の軽減が期待される。

吸水特性試験では、O-MP は水分を保持する特性を有していたが、吸水後は液状化し、ろ紙上から流れ出していた (Figure 21, 22)。一方、C-MP では、いずれの軟膏基剤を用いた場合においても、吸水後における液状化は認められなかった (Figure 22)。吸水量については、M-MP と H-MP は O-MP と同程度であったが、A-MP は約 0.78 倍でやや低い値を示した (Figure 21)。この結果から、C-MP の吸水特性に関しては、軟膏基剤の影響が大きいと考えられ、油中水型 (W/O 型) の吸水クリームでは吸水能が低いが、水溶性基剤の Macrogol 軟膏や水中油型 (O/W 型) の親水クリームを用いた C-MP は、O-MP と吸水能に有意な差は認められないことが確認された。M-MP と H-MP は、同程度の吸水力を維持しながらも吸水後の液状化が抑制されたことから、周囲の健全組織障害のリスク軽減につながることを推察される。

Mohs ペーストは、悪性腫瘍病変の湿潤した自壊創に塗布し、処置後に流水等で除去する^{26, 35, 42, 43)}。H-MP で使用している親水クリームは、薬効薬理として乾燥型の皮膚疾患に適用し、湿潤型のものでは皮膚分泌物との混和性および皮膚浸透性が大きく、分泌物の再吸収により、ときに病状の悪化をきたすことがある乳

剤性基剤である⁴⁴⁾。一方で、M-MP で使用している Macrogol 軟膏は、Macrogol 400 と Macrogol 4000 の等量混合物で、刺激性がなく、湿潤病変にも使用可能で、水に溶けやすいため、容易に洗い去ることができる水溶性基剤である^{41, 45, 46)}。Mohs ペーストが適用となる患部の状態や使用方法を考慮すると、C-MP 処方中の軟膏基剤としては、親水クリームよりも、Macrogol 軟膏を用いる方が好ましいと考えられる。

以上のことから、本研究において新たに処方設計した C-MP は、製剤学的物性の検討結果、急激な物性変化は抑制され、吸水後の形状として液状化が生じないことが見出された。使用基剤としては、薬効薬理的特徴や有効成分の *in vitro* 放出性試験と吸水特性の評価から、水溶性基剤である Macrogol 軟膏が最も適していることを明らかにした。

第3章 処方改良 Mohs ペーストの保存安定性評価

第1節 緒言

Mohs ペーストは、塩化亜鉛を主成分とした外用薬である。表在性腫瘍に塗布し、組織を化学的に固定して除去する Mohs 療法として 1930 年代に考案された²⁾。当初考案された「Mohs Ointment」には、わが国で入手困難な試薬が含まれていたことから、塩化亜鉛と亜鉛華デンプンから成る処方が提案され^{9, 18)}、現在、緩和ケア領域において、多くの医療施設で使用されている^{10-17, 19-29)}。Mohs 療法は、考案当初の目的であった手術困難な患者に対する表在性腫瘍の切除に加えて、皮膚に浸潤した局所進行乳がんなどの自壊創に対する止血および滲出液の軽減、二次感染等による悪臭の抑制等の目的で施行されている²⁴⁻²⁷⁾。Mohs ペーストを腫瘍組織表面に厚さ 1 mm で塗布した場合、48 時間で約 5 mm、72 時間で約 10 mm の深度で固定されると報告されている¹⁸⁾。固定後デブリードマン処置して、腫瘍を徐々に縮小させることが可能となる^{47, 48)}。1 回の施行時間は、症例や目的によって様々であり、出血や滲出液、悪臭抑制のために表面のみ固定したい場合や、疼痛が強い場合は、処置時間 15 分～2 時間であることが多く⁸⁻¹²⁾、腫瘍量の減少を目的とする場合には、24 時間程度連続で処置することもある^{36, 37)}。処置後は Mohs ペーストをガーゼ等で拭き取った後、微温湯等で洗浄除去する⁴⁹⁾。現在、Mohs ペーストは医薬品として市販されていないため、各医療施設で院内製剤として調製されている^{50, 51)}。

現在調製されている O-MP には次の問題点が指摘されている。一つ目の問題は、調製直後から著しく物性が変化することである。経時的に硬度が変化し、強い粘着性を示すようになるため、外用薬として取り扱いにくく、目的とする病

巣部に効率良く、均一に塗布することが困難となっている^{29,34)}。臨床現場においては、用時調製とし、ガーゼに塗布して創部に貼付する方法や、ペーストや患部の状態に合わせてグリセリン添加量で硬度を調節するなどの対策が取られているが、強い粘着性という点では改善されていない^{29,51)}。二つ目の問題点は、血液や滲出液などの吸水後に Mohs ペーストが液状化することである。止血や滲出液の軽減を目的に塗布した際に、Mohs ペーストの液状化により患部から流出して周囲の健常皮膚に付着すると、炎症等の皮膚障害を起こす。そのため、処置時には健常皮膚の保護のために疎水性の白色ワセリン等を塗布し、皮膚被膜剤を創周囲に散布して創部のみを露出させるように覆布を用いるなどの対策を実施している^{24, 34, 52)}。

第 1 章および第 2 章において、臨床上の利便性の向上を目的としてこれらの問題点を踏まえて二種類の処方改良 Mohs ペーストを開発した。一つ目の処方改良 Mohs ペーストは、水分保持作用を有する可溶性の糖である D-Sorbitol を添加した S-MP である。第 1 章にて、調製直後および 48 時間後における硬度や伸長特性などの物性変化が有意に抑制されることを確認している。さらに、S-MP は、充実腺管がんの臨床症例にて、著しい硬度変化および粘着性等の出現による均一塗布の困難さが改善されたことにより病巣部への処置時間の短縮が可能になり、さらに、腫瘍に対する固定効果および止血効果は O-MP と同等であったことを確認している。

一方で、S-MP は血液や滲出液等の吸水後にペーストが液状化する点については改善されていなかったため、第 2 章ではさらなる処方改良を行った。二つ目の処方改良 Mohs ペーストは、物性変化の要因であるデンプンの代わりに、微結晶 Cellulose と吸水性基剤を用いた C-MP である。C-MP は調製後 72 時間の硬度および伸長特性の変化は認められず、3 時間吸水条件下においても硬度や形状は保

持されて液状化は生じないことを明らかにしている。

しかしながら、これまでの処方改良 Mohs ペーストの物性変化は室温で検討しており、保存温度による影響や長期間保存による影響については明らかになっていない。そこで、本研究では、冷所および加速条件下で 30 日間保存した際の、製剤物性の変化および有効成分に関する保存安定性を評価した。

第2節 試験材料および方法

1. 試薬

試料の調製には、塩化亜鉛 (キシダ化学)、日本薬局方亜鉛華デンプン (健栄製薬)、酸化亜鉛 (ナカライテスク)、D-Sorbitol (キシダ化学)、微結晶 Cellulose (CE-OLUS® PH-101, 旭化成)、日本薬局方 Macrogol 軟膏 (日興製薬)、グリセリン (ナカライテスク) を使用した。試薬はすべて試薬特級品を用いた。

2. O-MP の調製法

調製法は、第2章第2節2.に準じた。調製した試料は、3 mL および 20 mL のプラスチック製軟膏容器に充填した。

3. S-MP の調製法

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解し、塩化亜鉛水溶液とした。室温で放冷した塩化亜鉛水溶液を乳鉢中に移した後、乳棒で攪拌しながら D-Sorbitol 4 g を添加し、溶解した。この水溶液中に、乳棒による攪拌下、徐々に亜鉛華デンプン 25 g を加え、混和・均一化し、S-MP を得た。調製した試料は、3 mL および 20 mL のプラスチック製軟膏容器に充填し、試験に供した。

4. C-MP (M-MP) の調製法

塩化亜鉛 50 g を精製水 25 mL に溶解させ、塩化亜鉛水溶液とした。酸化亜鉛 12.5 g、微結晶 Cellulose 3.125 g を量り取り、乳鉢にてよく混合した。そこに Macrogol 軟膏 8.5 g と、グリセリン 2 mL を加え、さらに乳棒でよく練合したものに、室温で放冷した塩化亜鉛水溶液を徐々に加え、混和・均一化し、C-MP とした。調

製した試料は 3 mL および 20 mL のプラスチック製軟膏容器に充填し、試験に供した。

調製した各 Mohs ペーストの処方を Table 3 に示した。

Table 3 Formula of Mohs Paste

	O-MP	S-MP	C-MP (M-MP)
Zinc chloride (g)	50	50	50
Purified water (mL)	25	25	25
D-Sorbitol		4	
Zinc oxide starch powder (g)	25	25	
Zinc oxide (g)			12.5
Microcrystalline Cellulose (g)			3.125
Macrogol ointment (g)			8.5
Glycerin (mL)			2

5. Mohs ペースト保存後の製剤物性評価

軟膏容器に充填し、密閉した各 Mohs ペーストを、冷所条件および加速条件下にて保存した。冷所条件は、 4.0 ± 2.0 °C に設定した冷蔵庫 (CT-3213[®], 日本フリーザー) 内で保存した。加速条件は、 40.0 ± 2.0 °C、RH 70.0 ± 5.0 % に設定した定温恒温器 (EPR-113[®], いすゞ製作所) 内で保温保存した。測定時の試料温度を一定にするため、測定前 30 分間は室温 (25.0 ± 2.0 °C) に保管した。それぞれの物性測定についての詳細な実験方法は以下の通りである。

(1) 硬度測定評価法

硬度は、RHEO METER の PRESS MODE を用いて測定した。測定試料を、内径 28 mm、深さ 12 mm の軟膏容器に、気泡を生じないように充填して試験に供した。試料を充填した容器を乗せたステージを、1 mm/min の速度で上昇させ、ペーストに接触後、感圧軸が 1 mm 侵入したときに、感圧軸に加わる応力を計測し、硬度の指標とした (Figure 1-b))。調製当日、冷所または保温条件下

にて3、30 日後の各試料について硬度を評価した。

(2) 伸長特性評価法

伸長特性の評価は、RHEO METER の TRACTION MODE を用いて実施した。内径 28 mm、深さ 12 mm の容器に充填した試料の表面と感圧軸を接着させた後、試料を乗せたステージを 30 mm/min の速度で下降させ、感圧軸と試料が分離するまでの移動距離を計測し、伸長特性の指標とした (Figure 1-c))。冷所または保温条件下にて保存 0、3、30 日後の試料について伸長特性を評価した。

(3) 展延性評価法

展延性は、薬剤用スプレッドメーター (No.506 平行板粘度計[®], 安田精機製作所) を用いて評価した。ステージ中央部に試料を充填した後、ステージ下部よりピストンで試料を押し出すと同時に 114.8 g のガラス平板をプレート上の試料に落として試料に荷重をかけ、試験開始後 300 秒における平板上に広がった試料の直径 (mm) を測定し、展延性の指標とした。冷所または保温条件下にて保存 0、3、30 日後の試料について展延性を評価した。

(4) *in vitro* 放出性試験法

組織固定の有効成分である亜鉛について *in vitro* 放出試験を行い、放出特性を評価した。放出性試験に用いた縦型拡散セル装置を Figure 16 に示す。拡散セルからの有効放出面積は 855 mm² で、放出面にはメンブレンフィルター (セルロースアセテートタイプ[®], pore size 0.2 μm, 直径 47 mm, ADVANTEC) を貼り付けた。フィルター上に、試料 17 g を均一に充填した。試験液には精製

水を用い、液量 180 mL、試験液温度 32.0 ± 1.0 °C の条件で行った。攪拌子の回転数は 150 rpm とした。試験開始後、0、5、10、20、30、60、90、120 分に、放出面から垂直に 2.5 cm 離れた場所から 1 mL 採取した。試験液採取後は、直ちに同じ温度の同量の精製水を補充した。亜鉛濃度の測定には、メタロアッセイ亜鉛テスト® (メタロジェニクス社) を用いた。試料溶液の 560 nm における吸光度を、分光光度計 (SpectraMax® 340PC384 ハイスループット吸光マイクロプレートリーダー, モレキュラーデバイスジャパン) を用いて測定し、各時間における試験液中に放出された亜鉛の絶対量を算出した。

調製当日の試料および、冷所または保温条件下にて 30 日保存後の試料について亜鉛の放出特性を評価した。

6. 統計解析

各物性評価試験を $n=3$ で実施し、有意差検定については、Welch's t test を行い、危険率 5% を有意水準として解析した。ソフトには QuickCalcs® を使用した。

第3節 結果

1. 硬度の経時的変化

各 Mohs ペーストの硬度の経時的変化を Figure 23 に示す。O-MP の硬度は、調製直後 12.6 ± 3.4 N で高い値を示したが、30 日後には保存条件に関わらず時間の経過と共に著しく低下した。一方で、S-MP は、調製後の硬度は 0.5 ± 0.7 N で、冷所保存条件下において経時的な硬度上昇が観察された。また、保温保存条件下においては、有意な変化は認められなかった。C-MP は、調製後の硬度は 1.8 ± 0.5 N で、保存条件に関わらず有意な経時的硬度変化は認められなかった。

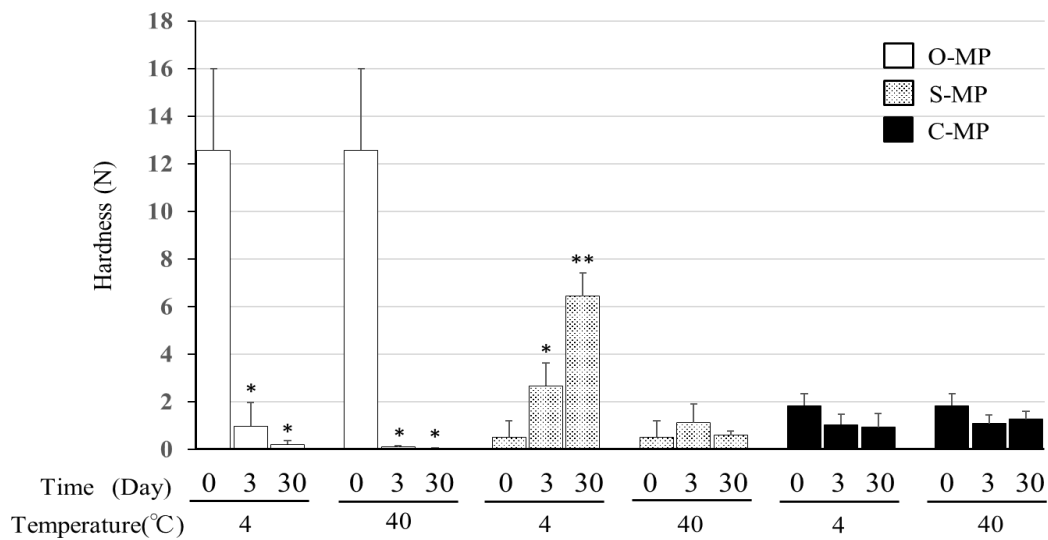


Figure 23 Time Course of Mohs Paste Hardness

Each column represents the mean \pm S.D. (n=3). Obtained with Welch's *t* test, Compared with data at 0 day. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2. 伸長特性の経時的変化

各 Mohs ペーストの伸長特性の経時的変化を Figure 24 に示す。調製後の O-MP の伸びは 2.2 ± 0.2 mm であった。時間の経過に伴ってペーストは軟化し、30 日後には保存条件に関わらず高い伸長特性を示すようになった。冷所保存と比較して保温保存条件下の方が、3 日後における伸長特性の増大は顕著であった。一方で、S-MP では、冷所保存下で経時的な伸長特性の増大は観察されなかった。また、保温保存下においては、伸長特性が増大した。C-MP においては、保存条件に関わらず、伸長特性の有意な変化は認められなかった。

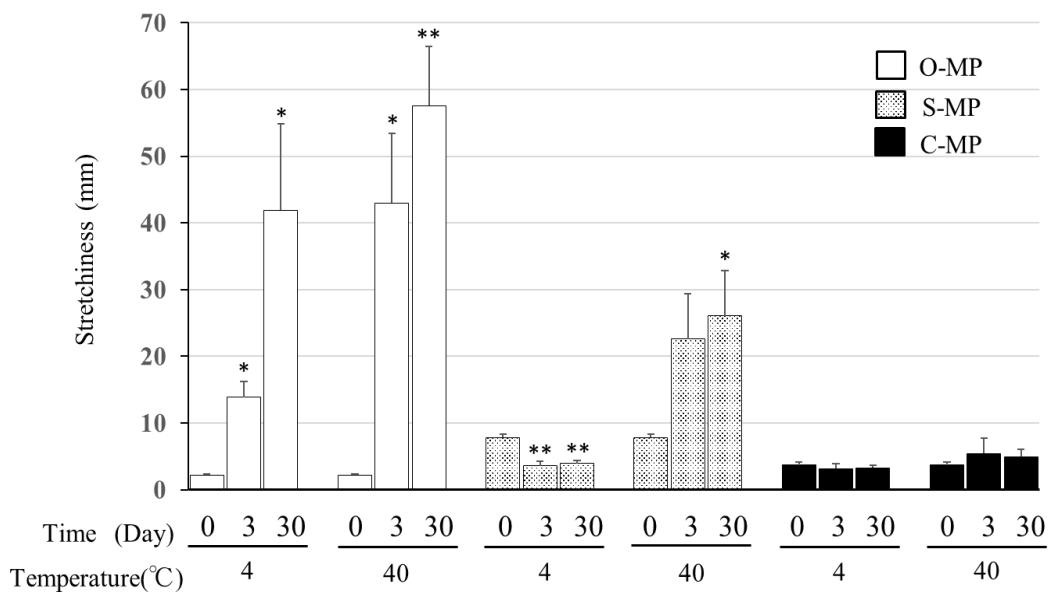


Figure 24 Time Course of Mohs Paste Stretchiness

Each column represents the mean \pm S.D. (n=3). Obtained with Welch's *t* test, Compared with data at 0 day. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3. 展延性の経時的変化

各 Mohs ペーストの展延性の経時的変化を Figure 25 に示す。ペーストの展延の様子は、いずれの試料も試験開始後の数秒で止まり、その後、測定時間の 300 秒までの間の拡がりはほとんど見られなかった。調製後の O-MP の展延性は 16.7 ± 3.3 mm を示し、保存条件に関わらず上昇した。一方で、S-MP は、調製後の展延性は 25.5 ± 1.8 mm であったが、冷所保存後の展延性は低下し、保温保存後は有意な変化は認められなかった。調製後の C-MP の展延性は、 16.2 ± 1.5 mm であった。30 日後の展延性は保存条件に関わらず上昇した。

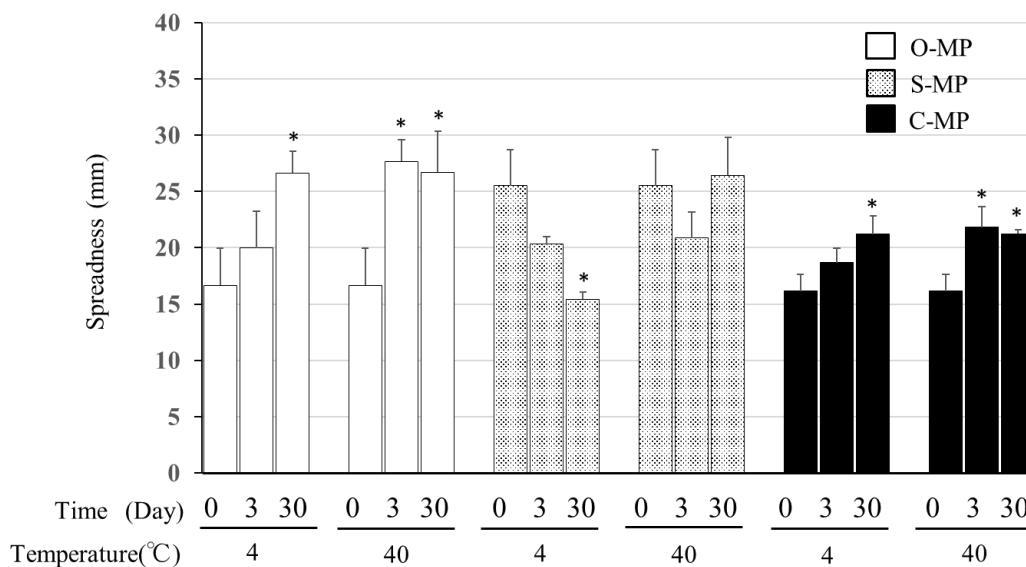


Figure 25 Time Course of Mohs Paste Spreadness

Each column represents the mean \pm S.D. (n=3). Obtained with Welch's *t* test, Compared with data at 0 day. * $P < 0.05$.

4. 亜鉛成分の Mohs ペーストからの *in vitro* 放出挙動

各 Mohs ペーストについて、有効成分である亜鉛の放出挙動について試験を行った。最初に 4 °C および 40 °C の条件で保存した O-MP における結果を Figure 26 に示す。

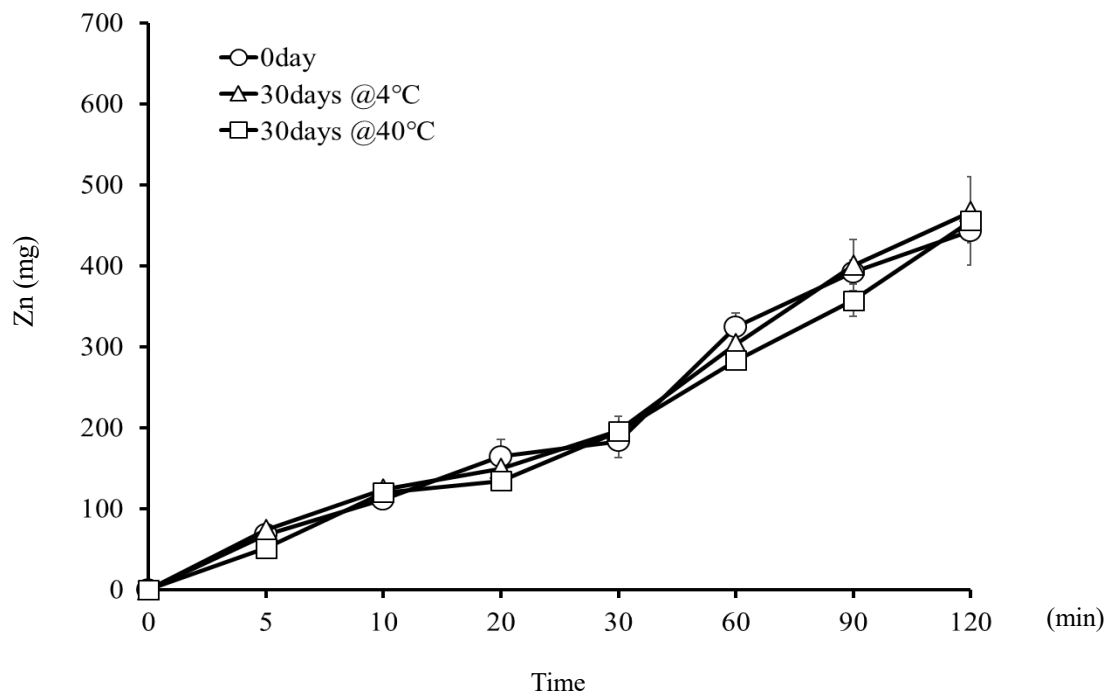


Figure 26 *in vitro* Release Profiles of Zinc from O-MP after Storage

Data are shown as the mean \pm S.D. (n=3).

次に、4 °C および 40 °C の条件で保存した S-MP における亜鉛の放出挙動の結果を Figure 27 に示す。

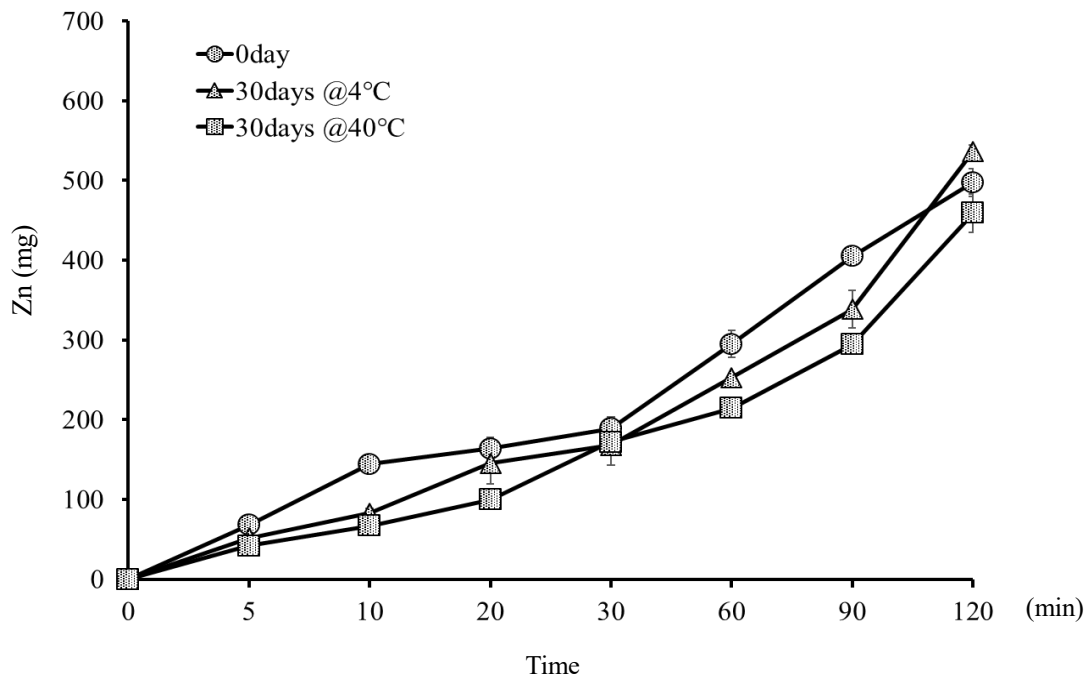


Figure 27 *in vitro* Release Profiles of Zinc from S-MP after Storage

Data are shown as the mean \pm S.D. (n=3).

最後に、4 °C および 40 °C の条件で保存した C-MP における亜鉛の放出挙動の結果を Figure 28 に示す。

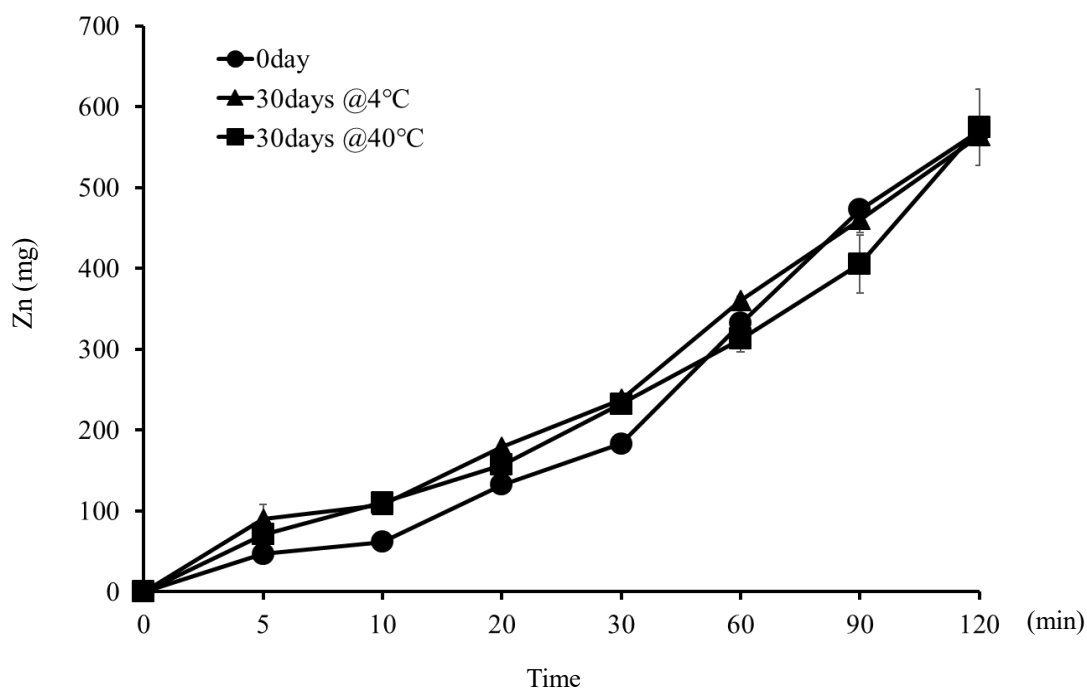


Figure 28 *in vitro* Release Profiles of Zinc from C-MP after Storage

Data are shown as the mean \pm S.D. (n=3).

調製当日と保存後の試料と比較すると、試験液中に放出された亜鉛成分の放出速度は、各 Mohs ペーストとも同程度であった。120 分後における調製当日の O-MP の放出率は $7.6 \pm 0.3\%$ 、S-MP が $8.6 \pm 0.3\%$ 、C-MP は $9.8 \pm 0.1\%$ であった。C-MP は、O-MP と比較すると 120 分後における累積放出量は約 1.3 倍の値を示した。

第4節 考 察

本研究では、O-MP および二種類の処方改良 Mohs ペーストについて、長期保存後の製剤物性を評価するために保温条件で加速試験を実施した。また、保存温度の影響を評価するために、冷所保存条件での試験を行った。硬度、伸長特性、展延性の三つの物性の経時的変化について評価したところ、O-MP は、調製直後に急激な硬度の上昇が観察され、保存条件に関わらず経時的な硬度低下が見られた。硬度の低下に伴い、伸長特性は高値になり、容器や軟膏へラに O-MP が粘着して取り扱いにくい性状となった。第1章において、O-MP は常温保存下で90分後には硬度が約40%低下し、伸長特性は23.5 cmの伸びを示した。さらに72時間後には硬度は0.7Nまで著しく低下して、伸長特性は67.3 cmに増大した。本研究においては、O-MP はいずれの温度保存条件下においても硬度および伸長特性の変化が見られたが、冷所に保管することで、その変化は穏やかになる傾向があった。これらの物性変化は、デンプン顆粒への水分子の浸透に起因していることから、温度上昇により浸透速度が高まるためと考えられる。

S-MP は、O-MP に約4%のD-Sorbitolを添加している製剤である。S-MP に添加しているD-Sorbitolは、食品の甘味料や化粧品の保湿剤などとして用いられており、生体への安全性が高い。添加率は、局所皮膚適用製剤における5%以下の添加剤の変更であり、処方変更の程度は小さいと考えられる。滲出液や血液などの水分を吸収すると液状化する問題点は解決されていないが、すでに臨床症例での報告がある⁵³⁾ことから、他施設においても院内製剤として採用する際に、倫理委員会での承認が得られやすいという利点がある。

S-MP は、D-Sorbitolを添加したことで、O-MP に観察されたような調製直後の急激な硬度の上昇および伸長特性の増加は抑制された。これは、水和能力を有す

る添加剤を加えることにより、系内の自由水を奪い、デンプン顆粒への水の浸透速度が遅延させられ、調製直後の硬化ならびに糊化による高粘弾性が有意に抑制されたと考えられた。S-MP は、O-MP よりも塗布性が良好であることから、広い患部への処置に対しても塗布時間の短縮が期待される⁵³⁾。一方で、出血や滲出液が多い場合は流動性が高くなり、剥離した製剤が健常皮膚に流下する危険性があるため、周囲の健常皮膚の保護を厳重に行う必要があると考えられる。今回の実験において、S-MP は冷所保存条件下で経時的に硬度が上昇したが、30 日後において伸長特性の増加は抑制されていた。硬度上昇に伴い、30 日後の展延性は低下したものの、Macrogol 軟膏を基剤とした C-MP の調製直後と同等の値を示し、塗布時の利便性には影響しないと考えられた。また、保温保存条件下においては、硬度は低値のままで、伸長特性は経時的に増大した。この伸長特性の変化は、O-MP と比較して穏やかであった。冷所保存では、D-Sorbitol 添加によるデンプンへの水の浸透速度の低下が顕著であったが、温度上昇に伴って O-MP よりも穏やかではあるものの、デンプン顆粒内への水の浸透が進み、糊化等の物性変化が徐々に生じたものと推察される。

これらのことから、S-MP は事前調製した際には、冷蔵庫等で保管して使用前に常温に戻すことで 1 ヶ月以内であれば塗布性が維持される可能性が示唆された。

一方、C-MP は、著しい硬度変化および粘着性等の出現に加えて、水分吸収による液状化の両方の問題点が改善された製剤である。市販医薬品であるカデックス®軟膏 0.9 %やザーネ®軟膏 0.5 %の硬度を基準として微結晶 Cellulose の添加量を定めており、調製直後の伸長特性および展延性も市販されている軟膏に近い値を示すことが第 2 章にて確認されている。しかしながら、C-MP は、O-MP の処方中に 12.5 %含有しているバレイショデンプンを微結晶 Cellulose と Macrogol 軟膏

等に置き換えているため、処方変更水準が高く、すでに Mohs ペーストを使用している医療機関においても、新規院内製剤として倫理委員会に新たに申請を要する可能性がある。

本章における長期保存条件下の実験において、C-MP は物性変化の要因であるデンプンを含んでいないため、硬度および伸長特性の有意な変化は認められなかった。放出特性に関しては、第 2 章における調製直後の比較実験で、O-MP よりも C-MP は亜鉛の放出速度が高いことが認められており、本研究においても、各 Mohs ペースト共に長期保存による大きな変化がなかったことから、同様の結果が示された。Mohs ペーストは悪性腫瘍病変の自壊創に塗布し、処置後に流水等で除去するが、C-MP は亜鉛の放出が速いことから、組織固定のための処置時間の短縮が可能になると推定される。また、基剤が Macrogol 軟膏であることから被洗浄性が良好であり⁵⁴⁾、洗浄時の利便性も向上されると考えられる。塗布や洗去に要する時間および固定時間の短縮により、患者の同一体位を維持する身体的、精神的負担の軽減が期待される。さらに、O-MP と同程度の吸水力を維持しながらも吸水後の液状化は抑制されていることから、周囲の健全組織の障害のリスク軽減につながることを推察される。

以上のことから、C-MP は冷所での保管は必要とせず、常温での保管が可能であり、少なくとも 1 ヶ月以上は製剤物性的には安定である可能性が示唆された。

本研究の結果から、今回検討した Mohs ペーストの中では、保存後の製剤特性が最も安定しているのは C-MP であることが確認された。O-MP は用時調製が必要であったが、処方改良により S-MP および C-MP は院内製剤の事前調製が可能となることを明らかにした。

第4章 処方改良 Mohs ペーストの吸水特性およびマウス腫瘍組織 における固定効果評価

第1節 緒言

乳がんや有棘細胞がん、転移による皮膚表在性悪性腫瘍等の進行患者においては、腫瘍容積が増大し、多量の浸出液や出血を伴う自壊創となる症例が散見される。Mohs ペーストは、塩化亜鉛と亜鉛華デンプンから成る外用薬であり、主成分である亜鉛により化学的に組織を固定する作用を有していることから、手術不能症例の腫瘍表面に塗布し、腫瘍の切除や自壊創に対する止血および滲出液の軽減、二次感染により生じる悪臭を防止する目的で使用されている¹⁹⁻²⁹⁾。Mohs ペーストは、一定時間塗布した後、ガーゼ等で拭い取り微温水等を用いて流水除去するが⁴⁹⁾、その処置時間は、治療目的や腫瘍の状態によって異なる。出血や滲出液、悪臭抑制のために表面のみ固定したい場合や、疼痛が強い場合は、処置時間は15分～2時間であることが多く⁸⁻¹²⁾、腫瘍量の減少を目的とする場合には、24時間程度連続で処置することもある^{36,37)}。

現在、Mohs ペーストは医薬品として市販されていないため、各医療施設で院内製剤として調製されている^{50,51)}。現在、多くの施設で使用されている Mohs ペーストは、調製直後から硬度、粘弾性などの物理化学的特性が著しく変化するため、患部へ塗布する際の取扱いが困難である。そこで、第1章にて、処方中に4%のD-sorbitolを添加することで、Mohs ペーストの調製直後の物理化学的変化が改善され、患部への塗布が容易になり処置時間が短縮されたことを明らかにした。第3章にて、D-sorbitolを添加したS-MPについて安定性試験を行った結果では、冷所保存下で30日以内であれば粘着性は生じないが、長期保存により伸

長特性の増大が見られることが明らかとなっている。さらに、第2章において、O-MPの調製後の著しい物理化学的変化および吸水後の液状化の両方の問題点が改善されたC-MPを開発した。C-MPは、第3章で実施した安定性試験において、加速試験で30日の保存でも物性が安定であることを明らかにしている。

本章では、これらの処方改良Mohsペーストについて、処方変更が薬理効果に与える影響を評価した。Mohsペーストは、出血および滲出液を抑制する際に、患部からの液体成分をペースト内に吸収保持しながら、組織を固定する。組織固定の作用としては、Mohsペースト中の亜鉛イオンによりタンパク質の高次構造が変化して凝固するため、塗布部位の腫瘍細胞または腫瘍血管のタンパク質は変性する。それと同時に、Mohsペーストの吸水能によって自壊創の表面は乾燥し、その結果、出血および滲出液が減少する。そのため、本研究では、最初に処方改良Mohsペーストの吸水特性を比較検討した。

Mohsペーストが病変部位を化学的に固定する到達深度は、塗布時間に依存する^{9,18)}。しかし臨床症例では、患部の皮膚組織の状態によって固定条件が様々であるため、Mohsペーストの組織固定浸透速度を比較することは困難である。本研究では、S-MPとC-MPの皮下腫瘍組織に対する固定効果を比較するために、皮膚担がん腫瘍モデルマウスを作成して実験を行った。

第2節 試験材料および方法

1. 試薬

各試料の調製には、塩化亜鉛 (キシダ化学)、日本薬局方亜鉛華デンプン (健栄製薬)、酸化亜鉛 (ナカライテスク)、D-Sorbitol (キシダ化学株式会社)、微結晶 Cellulose (CEOLUS® PH-101, 旭化成)、日本薬局方 Macrogol 軟膏 (日興製薬)、グリセリン (ナカライテスク) を使用した。試薬はすべて試薬特級品を用いた。

2. O-MP の調製法

調製法は、第2章第2節2. に準じた。

3. S-MP の調製法

調製法は、第3章第2節3. に準じた。

4. C-MP (M-MP) の調製法

調製法は、第3章第2節4. に準じた。

調製した各 Mohs ペーストの処方を Table 3 に示した。

5. 吸水特性評価法

試料として、調製後 1 時間以内の Mohs ペーストを供した。ろ紙 (50 mm × 50 mm) 上に、試料約 10 g を 45 mm × 45 mm の型に詰め、その質量を精密に測定した。直径 100 mm のシャーレ内で、25 mL の精製水で浸した KimWipes® 上に載せ、3 時間放置し吸水させた (Figure 17)。

(1) 吸水性試験

吸水後、試料の質量を精密に測定した後、80°C に設定した恒温乾燥器内で 120 時間乾燥させ、乾燥減量を測定し、それぞれの単位試料 g あたりの吸水量を算出し、吸水特性を評価した。なお、対照として、ろ紙および吸水させていない Mohs ペーストの乾燥減量を測定し、吸水量の算出に用いた。

(2) 吸水後の形状観察

精製水で浸したシャーレ内で 3 時間放置し、吸水させた条件下で、各 Mohs ペーストの形状を観察した。

(3) 吸水後の硬度変化測定

Mohs ペーストの硬度は、RHEO METER を用いて測定した (Figure 1-a))。測定試料を、内径 28 mm、深さ 12 mm の容器に、気泡を生じないように充填した。RHEO METER の PRESS MODE にて、試料を充填した容器を乗せたステージを、1 mm/min の速度で上昇させ、ペースト表面に接触後、感圧軸が 1 mm 侵入したときに、感圧軸に加わる応力を記録し、硬度の指標とした (Figure 1-b))。

6. 腫瘍組織における固定効果評価法

本研究を遂行するにあたり、科学的にはもとより動物福祉の観点からも適正な動物実験の実施を促すことを目的として制定された愛知学院大学薬学部動物実験規定に従い、愛知学院大学の動物実験委員会の審議および承認を得たうえで、動物に対する倫理面を十分考慮し、さらに使用動物数を最小限にするよう努力して動物実験計画に基づいて実験を行った。

(1) 腫瘍モデル動物の作成

実験には、4週齢のICR系雌マウス(体重15~25g)を日本チャールスリバー(株)より購入し、1週間の予備飼育の後、実験に使用した。マウスは動物実験センターの飼育室(室温 25.0 ± 1.0 °C, 湿度 55.0 ± 5.0 %)において、プラスチック製ケージ内で飼育し、明期が8~20時、暗期が20~8時の12時間周期の明暗条件環境下で飼育管理した。マウスは1ケージあたり3匹の飼育とし、摂餌および飲水は、固形飼料(実験動物用飼料CE-7[®], 日本クレア(株))および水道水をそれぞれ自由摂取とした。

マウス肉腫由来S-180細胞(TKG0173)は、医用細胞資源センター・細胞バンク(東北大学加齢医学研究所)から購入し、マウス腹腔内で継代した。予備飼育後の5週齢ICR系雌マウスの背部に、細胞 5×10^6 個を皮下に投与し、移植後3週目の皮下腫瘍マウスを実験に用いた。

(2) 組織固定深達度測定

マウス背部に作成した腫瘍部位を小動物用電気バリカンで除毛し、0.5gの試料を直径1cm×高さ1mmのリング状の容器に入れて設置した。容器の周囲の皮膚は、ワセリンを塗布して保護し、その上を覆うようにガーゼで固定した(Figure 29)。

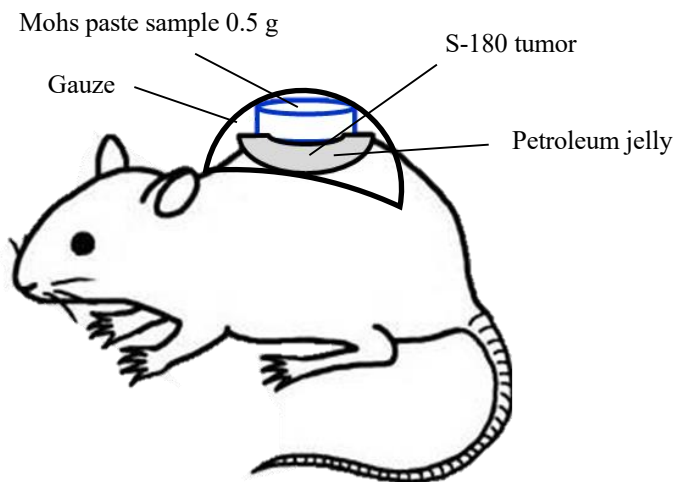


Figure 29 Test Method for Effects on Tissue Fixation in the Mouse Tumor

マウスの麻酔はイソフルラン動物用[®](マイラン製薬(株))を使用した。
塗布後6時間後および24時間後の腫瘍組織の状態を、小・中型実験動物用
3DマイクロX線コンピューター断層診断装置(Computed tomography: CT)
(CosmoScan AX[®], 株式会社リガク)を用いて撮影した(Figure 30)。画像処理
ソフトImage J ver.1.51(米国国立衛生研究所)を使用し、固定された組織の深
さを測定し、組織固定深達度を算出した。



Figure 30 CT Image Photography of the Tumor Tissue (CosmoScan AX[®], Rigaku)

7. 統計解析

各物性評価試験は $n=3$ で実施し、有意差検定については Welch's t test を行った。動物実験は $n=6$ で実施し、各群の測定値は平均値 \pm 標準偏差で表記した。対照群に対する各群の差の検定は Dunnett の検定を行った。危険率 5 %を有意水準として解析した。統計解析ソフトには JMP[®] ver.11 (SAS Institute 社) を使用した。

第3節 結果

1. 吸水特性評価

(1) 吸水性試験

3 時間の吸水試験において、試料 1 g あたりに吸水された水分量を Figure 31 に示す。O-MP は試料 1 g あたり約 0.4 g の水分保持特性を有していた。O-MP と比較して、S-MP および C-MP では吸水量に有意な差は認められなかった。

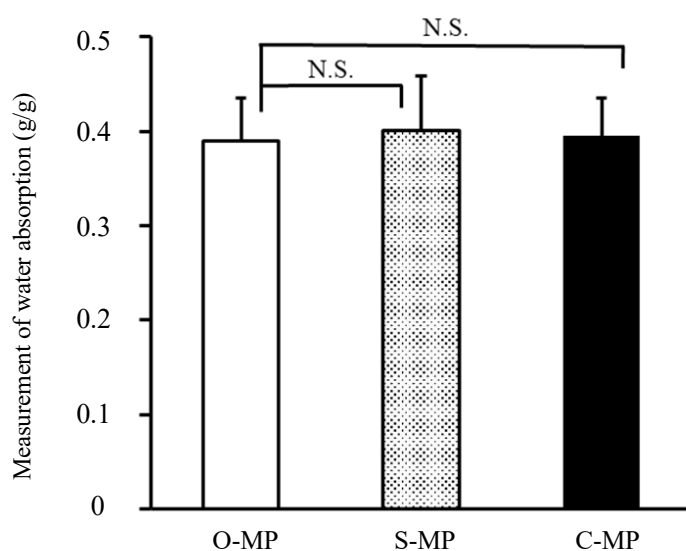
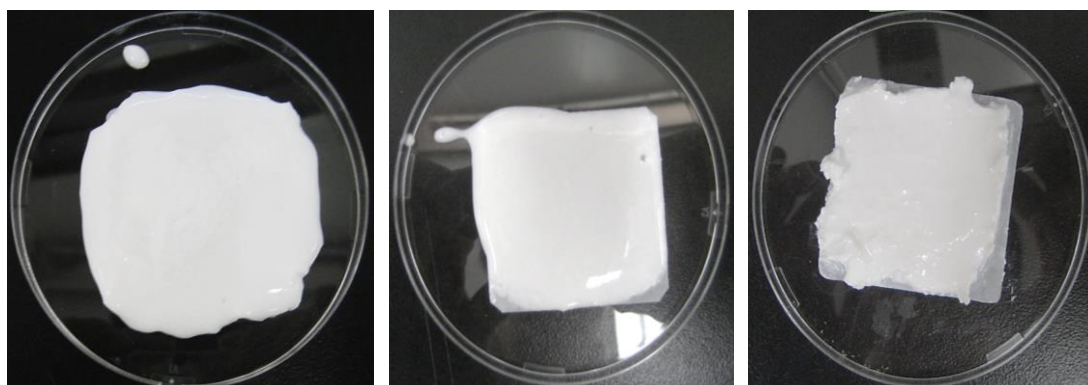


Figure 31 Water absorption of each formulations Mohs Paste

Each column represents the mean \pm S.D. of 3 trials. Welch's *t* test compared with original formulation Mohs paste.

(2) 吸水後の形状観察

吸水後の各 Mohs ペーストの様子を Figure 32 に示す。吸水後の O-MP および S-MP は液状化して、ろ紙上から流れ出していた。一方で、C-MP は吸水後でも液状化せずに形状を保持したままであった。



O-MP

S-MP

C-MP

Figure 32 Photographs of Each Mohs Paste Sample after Water Absorption

(3) 吸水による硬度変化

次に、吸水前と後の各 Mohs ペーストの硬度を測定した結果を Figure 33 に示す。調製直後の O-MP の硬度は 12.6 ± 3.4 N であったが、吸水後は 0.01 ± 0.01 N と著しく低い値を示した。S-MP の調製直後の硬度は 0.5 ± 0.7 N を示し、吸水後の硬度は 0.01 ± 0.01 N で、有意に低下していた。C-MP の調製直後の硬度は 1.8 ± 0.4 N で、吸水後は 1.6 ± 0.3 N を示し、吸水後においても有意な硬度変化はなかった。

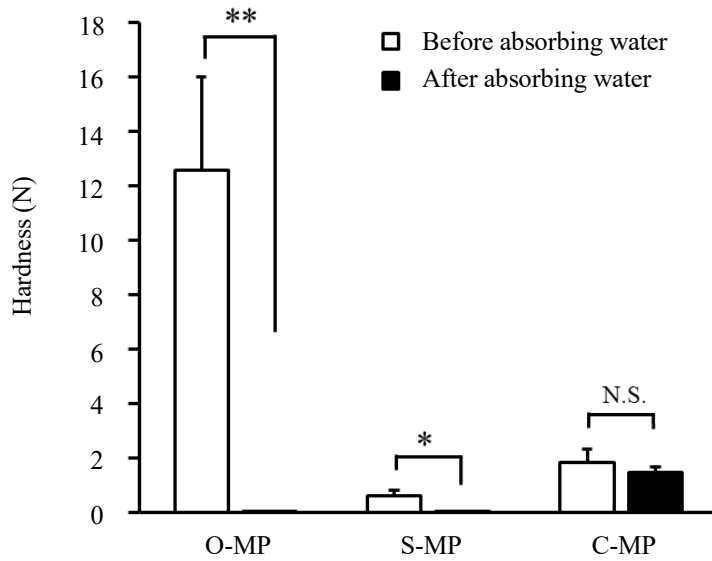


Figure 33 Hardness of Mohs Paste before and after Water Absorption

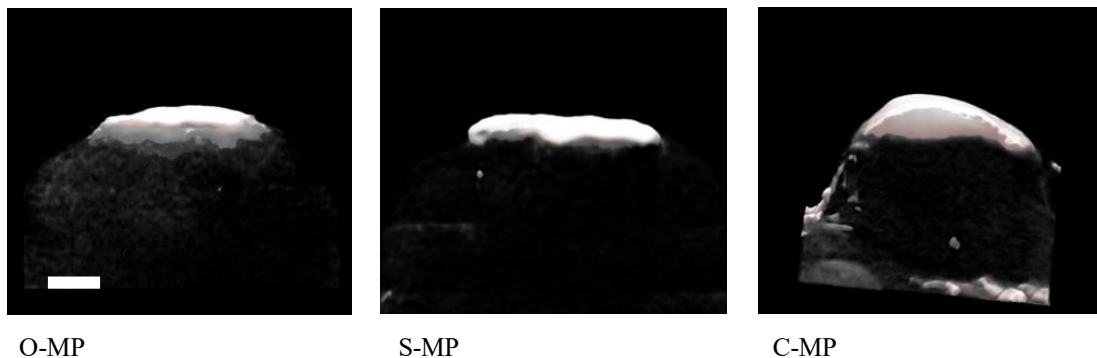
Each point represents the mean \pm S.D. of 3 trials. Welch's *t* test compared with before absorbing water. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2. 腫瘍組織固定効果

(1) Mohs ペースト塗布後の腫瘍組織観察

各試料を皮膚担がんマウスの腫瘍部位に塗布し、CT スキャン画像にて腫瘍組織の状態を観察した。塗布 6 時間後の画像を Figure 34 (A) に示した。全ての Mohs ペースト群において、腫瘍表面の塗布部から腫瘍内部に向かって高吸収域が観察され、タンパク変性が確認された。塗布 24 時間後の画像を Figure 34 (B) に示した。いずれの Mohs ペースト群においても、24 時間後では 6 時間と比較して変性が進行して深部の組織が固定されていた。

(A)



(B)

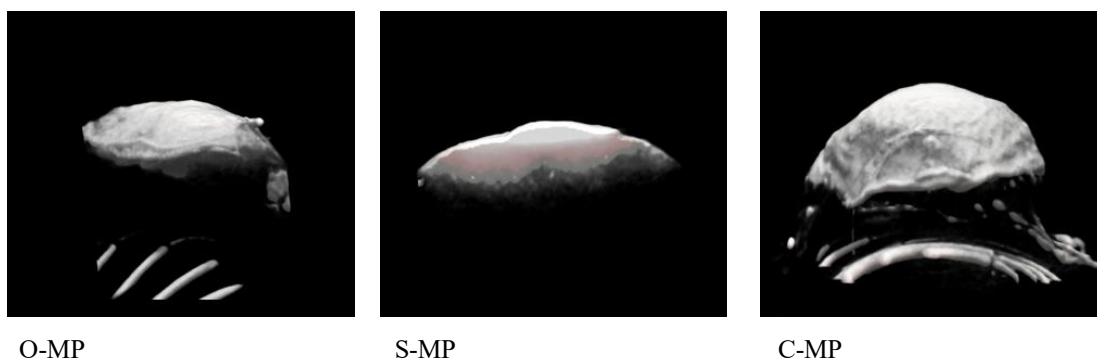


Figure 34 CT Images of the Mouse Skin Tumor Tissue after Mohs Paste Application

Cross-sectional view. (A): 6 hrs after Mohs paste application, (B): 24 hrs after Mohs paste application. The white bar indicates 2000 μm .

(2) 組織固定深達度評価

次に、Mohs ペースト塗布後 6 時間および 24 時間の腫瘍組織の固定深達度を計測した結果を Figure 35 に示す。O-MP 群の組織固定深達度は 6 時間後で 1.27 ± 0.24 mm、24 時間後で 2.75 ± 0.35 mm であった。S-MP 群は 6 時間後で 1.17 ± 0.15 mm、24 時間後で 2.36 ± 0.37 mm であった。S-MP 群の 6 および 24 時間後の組織固定深達度は O-MP 群との間に有意な差は認められなかった。(各 $P=0.95, 0.17$) C-MP 群の組織固定深達度は 6 時間後で 1.82 ± 0.48 mm、

24 時間後で 3.50 ± 0.41 mm であつた。C-MP 群は 6、24 時間後ともに O-MP 群と比較して組織固定深達度が有意に増加していた。(各 $P=0.011$, 0.005)

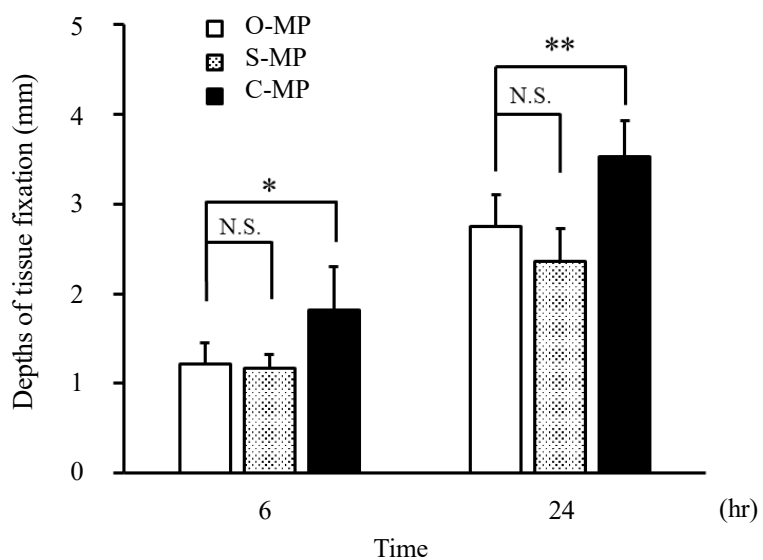


Figure 35 Effect of formulation on the Tissue Invasion Depth

The invasion depths of tissue fixation at 6 hrs and 24 hrs of each sample application were measured. Each column represented mean \pm S.D. (n=6), Dunnett's test, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, compared with original formulation Mohs paste.

第4節 考察

本研究では、開発した S-MP と C-MP の二種類の処方改良 Mohs ペーストについて、吸水特性および腫瘍組織固定効果を評価した。

吸水特性評価において、S-MP と C-MP は、調製直後の O-MP と吸水能に有意な差は認められないことが確認された。O-MP の原料である亜鉛華デンプン中には、酸化亜鉛 50%、バレイショデンプン 50%が含有されている。O-MP の処方中には亜鉛華デンプンが 25%を占めることから、バレイショデンプンは O-MP 中に 12.5%含まれている。亜鉛華デンプンに塩化亜鉛水溶液を添加すると、デンプン顆粒が水分子流入により膨潤して崩壊し、糊化現象が起こり、24 時間後には顆粒間に白濁したゲル状の物質が観察される。O-MP の吸水能は、このデンプン顆粒への吸水および崩壊後に放出したアミロースやアミロペクチンなどの高分子の吸水性が関与していると推測された。

しかし、第1章にて、D-Sorbitol を亜鉛華デンプンと混合した後に、塩化亜鉛水溶液を添加すると、24 時間後においてわずかにデンプン顆粒の膨潤は認められるが、ゲル状物質は観察されなかった。このことから、処方中に D-Sorbitol を含有している S-MP の吸水能は、水和能力の強い化合物である D-Sorbitol がデンプン顆粒間に水分を保持することに起因すると推測された。

一方で、C-MP は処方中にデンプンを含有しておらず、デンプンの代わりに微結晶 Cellulose および基剤として Macrogol 軟膏を使用している製剤である。C-MP で使用している微結晶 Cellulose は、 α -Cellulose 重合体で、平均粒径が約 50 μm の不溶性繊維である。よって、患部に塗布した際に、本微結晶 Cellulose が組織中に浸透する可能性は低い。仮に、微結晶 Cellulose の一部が浸透したとしても、固定された組織に留まり、処置後に組織の切除により除去されるため、生体に直接影

響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。C-MP で使用している Macrogol 軟膏は吸水性を有する水溶性基剤であり^{45,46)}、C-MP の吸水能に関しては、軟膏基剤の影響が大きいと推測された。

一般的な製剤選択において、患部からの滲出液が多い場合は、吸水性が高い水溶性基剤の製剤を選択するが、Mohs ペーストによる処置の場合、吸水により基剤が溶け出すと周囲組織の損傷の原因となる可能性がある。C-MP では、処方中に微結晶 Cellulose を使用しているため、吸水後も硬度が保たれて液状化が観察されなかったと推測された。

C-MP は、O-MP と同程度の水分保持特性を有しながら、吸水後の硬度や形状に有意な変化はなく、吸水による物性変化が少ないことが明らかになった。これらのことから、C-MP は、製剤の液状化による患部からの流出および周囲皮膚組織を損傷する危険性が O-MP や S-MP よりも低いと考えられた。

Mohs ペーストの組織固定に対する薬理作用は、主成分である塩化亜鉛が水分の存在下でイオン化し、腫瘍の組織や血管、二次感染した細菌膜が、亜鉛イオンのタンパク凝集作用により硬化されることが報告されている¹⁸⁾。Mohs ペーストは、塗布時間に依存的に組織を固定し、ヒト腫瘍表面に約 1 mm の厚さで塗布した場合、24～48 時間で表面から 5 mm、72 時間で 10 mm に達したとの報告がある¹⁸⁾。今回の実験においても、O-MP のマウス腫瘍組織における固定深度は 6 時間で 1.3 ± 0.24 mm、24 時間で 2.8 ± 0.35 mm となり、塗布時間が長い腫瘍組織の方が、固定深達度が大きい結果であった。

Mohs ペーストの処方改良が、薬理作用に及ぼす影響について、皮膚担がんマウスの腫瘍に対する組織固定深達度を指標に検討を行った。S-MP は、塗布 6 時間後、24 時間後ともに O-MP の固定深達度と有意な差はなく、Mohs ペーストへの 4 %D-Sorbitol 添加による腫瘍組織固定効果に対する有意な影響は認められな

かった。第 1 章において、S-MP を充実腺管がんの乳がん自壊創に処置したところ、30 分間の塗布で止血効果が得られ、24 時間の塗布で組織が皮膚表面から 13 mm の深さまで固定されており、臨床的な効果は O-MP と同等であったことを確認している。さらに、第 3 章において、*in vitro* 放出試験を行ったところ、S-MP は O-MP と同様の亜鉛の放出挙動を示しており、本実験のマウスの皮膚担がん腫瘍における結果からも、S-MP は O-MP と同等の組織固定効果を有することが示唆された。

一方で、C-MP の組織固定深達度は、O-MP と比較して 6 時間後で約 1.5 倍、24 時間後で約 1.3 倍の高い値を示した。C-MP は、処方中のデンプンを微結晶 Cellulose と Macrogol 軟膏に置換えた製剤であるため、S-MP よりも処方変更水準が高い製剤である。C-MP は、第 3 章での *in vitro* 放出試験において、2 時間後の亜鉛放出量が O-MP の 1.3 倍、5 時間後は 1.5 倍の高い放出特性を示し、放出速度が O-MP よりも速いことを確認している。組織固定深達度および放出特性の結果から、C-MP は処方変更により組織固定効果が高くなっていることが示唆された。

近年、動物医療領域においても Mohs ペーストの使用例が報告されている⁵⁵⁾、⁵⁶⁾。福山らは、犬の骨肉腫症例において、Mohs ペーストを 1 時間処置した結果、CT スキャン画像にて 10 mm の深さまで固定されたことを確認している⁵⁵⁾。また、佐藤らは、鶏の胸肉を用いて Mohs ペーストの組織固定効果を検討し、塗布後 3 時間で平均 3.8 mm の固定深達度であったと報告している⁵⁴⁾。マウス腫瘍組織や鶏胸肉に対する Mohs ペーストの組織固定深達度と比較すると、滲出液を有する骨肉腫自壊創での深達速度は速いことが推察された。一般的に腫瘍組織は、健常組織よりも組織の結合力が弱く、血管新生が盛んで血流が多い特徴があり、がん種や皮膚表層状態、滲出液の漏出や出血状況によっても、組織固定の深達速度が

異なることが考えられる。

清水は、犬の乳腺腫瘍自壊例に対して腫瘍容積を減少させる目的で Mohs ペーストを 48 時間処置した症例を報告している。清水の症例では、塗布した Mohs ペーストが多量の浸出液等により液状化して患部から流出し、周囲組織に付着した。腫瘍の周囲組織のうち、紅斑を伴う皮膚炎が認められる部位に付着した場合は組織が固定されていたが、健常な組織に付着した場合は固定されていなかったと述べている⁵⁶⁾。このことから、滲出液等の水分が豊富ながんの自壊創と比較して、表皮を有する腫瘍組織や、潰瘍や炎症を生じていない健常組織への Mohs ペーストの組織固定作用は異なることが考えられた。

本研究の結果から、C-MP は高い組織固定効果を有しているため O-MP よりも処置時間が短縮されることが推察された。しかしながら、臨床現場で C-MP を用いて処置をする際には、腫瘍患部の状態によって組織固定深達速度が変化することも考慮する必要がある。そのため、本実験で得られたマウス皮膚担がん腫瘍組織における組織固定深達度と、塗布部位の皮膚組織の状態が最も近い症例での O-MP の組織固定深達度の両方を考慮して、塗布時間を決定する必要があると考えられた。さらに、C-MP は物理化学的に安定であり、臨床的に取り扱いが容易であるため、塗布時の処置に要する時間が短縮されることが推測される。塗布および固定等の処置時間の短縮は、患者の体位拘束等の心身の負担や、医療従事者の負担の軽減につながると期待される。

Mohs ペーストの主成分である塩化亜鉛は、細胞障害性を有する劇物であり、病院等の施設で使用する際には、試薬の管理や吸入や付着等の曝露防止のための注意が必要となる。また、Mohs ペーストの調製時には、使用後の器具の洗浄に多くの時間を要する⁵⁴⁾。Mohs ペーストは、平成 26 年度に日本病院薬剤師会で行われた「社会が必要とする薬剤の市販化要望に関する調査」にて、二番目に多くの

施設から要望があった院内製剤である⁵⁷⁾。今後、製剤学的に安定した C-MP が医薬品として市販化されることで、臨床上的製剤学的問題点の改善に加えて、調製時の曝露のリスクや業務負担が軽減され、頻回の処置や緊急処置への対応が可能になると考えられた。

総括

現在、医療施設で院内製剤として作成されている Mohs ペーストは、調製後の硬さや粘着性などの物性が不均質であることが報告されている。経時的に物理化学的特性が変化するため、作成には用時調製を要し、病巣部への均一塗布が困難となり、処置時には塗布性を維持するためグリセリン添加などの硬度調節が必要となる。また、滲出液や出血を多量に吸水した後、Mohs ペーストが液状化して塗布部位から流れ出し、周囲の健常皮膚に付着して炎症等の皮膚障害を起こすこと、グリセリン添加によって吸水後の液状化がさらに亢進することなどの問題点を有している。

本研究では、Mohs ペーストの臨床現場での利便性の向上を目的とし、Mohs ペーストの物性変動の要因解明と製剤学的検討を行い、上記の臨床上的問題点を解決し得る新規製剤を開発した。

第1章では、Mohs ペーストの製剤学的研究による問題点の改善と、処方改良 Mohs ペーストの臨床応用について研究を行った。O-MP の硬度、伸長特性、展延性についての物性変化およびグリセリン添加の影響を検討したところ、グリセリン添加は、硬度は低下させるが伸長特性は増加させ、塗布性は改善されないことが見出された。共焦点レーザー顕微鏡を用いて亜鉛華デンプンの形態観察実験を行った結果、初期の硬度上昇は塩化亜鉛存在下のデンプン顆粒内への水分子浸透による膨張、その後の硬度低下および粘着性の出現は、デンプンの糊化による現象であることが見出され、調製後の急激な物性変化の要因は製剤中のデンプンであることを明らかにした。そこで、処方に水和能力を有する可溶性成分を添加して物性を比較した結果、4%の D-Sorbitol 添加は、O-MP の急激な硬度上昇と伸長特性の増加を抑制することを明らかにした。さらに、乳がん患者の皮膚自壊創例

に臨床使用した結果、S-MP は硬度や粘度が安定して塗布性は改善されており、安全性や創部止血効果は O-MP に劣らない製剤であることを明らかにした。

第 2 章では、調製後の急激な物性変化および吸水後の液状化の両方の問題点を改善する製剤の開発を行った。処方 of 亜鉛華デンプン中に含まれるバレイショデンプンを、微結晶 Cellulose と吸水性基剤に置換して、デンプンを含有しない製剤設計を試み、製剤学的物性を検討した。吸水性基剤として、Macrogol 軟膏、吸水クリーム、親水クリームを用いて比較したところ、すべての C-MP は、硬度や伸長特性、展延性の経時的な変化がほとんど見られず、O-MP に生じた粘着性も認められなかった。有効成分である亜鉛について *in vitro* 放出性試験を行った結果、A-MP および H-MP は O-MP と同様の放出挙動を示したのに対し、M-MP からの亜鉛成分の放出速度は速く、O-MP と比較して累積放出量は 2 時間で 1.3 倍、5 時間で 1.5 倍の亜鉛の放出量を示した。吸水特性評価の結果、M-MP および H-MP の吸水性には有意な差は認められなかったが、A-MP は 0.78 倍で吸水性は低かった。3 時間吸水後の形態を観察したところ、すべての C-MP は液状化が生じなかった。本研究により、C-MP は急激な物性変化が抑制されて、吸水後の形状として液状化が生じないことが見出され、使用基剤としては水溶性基剤である Macrogol 軟膏が最も適していることを明らかにした。

第 3 章では、二種類の処方改良 Mohs ペーストについて、冷所条件および加速条件下にて保存し、安定性評価を行った。調製後 30 日間の物理化学的特性を評価したところ、S-MP は、冷所保存により硬度が上昇し、加速条件下では伸長特性が増大した。一方で C-MP はいずれの条件下でも硬度および伸長特性の有意な変化を示さないことが見出された。さらに *in vitro* 放出性試験を行った結果、各 Mohs ペーストは、保存による有効成分の有意な放出速度の変化は認められなかった。S-MP は冷蔵庫等で保管して使用前に常温に戻すことで 1 ヶ月以内であれば塗布

性が維持され、C-MP は常温保存で少なくとも 1 ヶ月は製剤学的物性が安定であることを明らかにした。本研究は、処方改良 Mohs ペーストは、臨床現場において院内製剤の事前調製が可能となったことを裏付けたという点で非常に重要である。

第 4 章では、処方改良 Mohs ペーストの吸水特性および腫瘍組織における固定効果を評価した。吸水特性評価として、3 時間吸水後の吸水性、性状および硬度を測定した結果、水分保持能力に有意な差は認められないが、吸水後の性状は S-MP は硬度が低下して液状化し、C-MP は有意な硬度変化は示さずに形状を保持する吸水特性が見出された。皮膚担がん腫瘍マウスを作成し、Mohs ペースト塗布後、6 時間と 24 時間の腫瘍組織を CT で観察し、組織固定深達度を計測した結果、S-MP の組織固定効果は O-MP と同等で、C-MP は有意に高い固定効果を有することが見出された。C-MP は短時間で時間依存的に腫瘍組織を固定させ、液状化による患部からの流動リスクが軽減された製剤であることを明らかにした。

ここに報告する第 1 章から 4 章までの研究は、Mohs ペーストの物性変化の要因が処方中のデンプンであることを明らかにし、新規製剤設計した処方改良 Mohs ペーストが、臨床現場における利便性を向上し得る根拠となる重要な知見を得た。本研究により、Mohs ペーストの問題点であった粘度や硬度等の物性が安定して塗布性を大幅に改善することができた。C-MP は吸水後の液状化が抑制されたことで周囲組織への障害リスクが軽減し、さらに保存安定性が向上したことにより事前調製が可能となり、塗布性の向上、流水除去の効率化、固定時間の短縮化につながることを明らかにした。以上、本研究によって得られた知見は、患者の体位拘束等の心身の負担や、医療従事者の負担の軽減が期待され、臨床上、利便性の高い Mohs ペースト製剤の設計に貢献することができた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご指導とご鞭撻を賜りました岐阜薬科大学実践薬学大講座病院薬学研究室 教授 寺町 ひとみ先生に深甚なる謝意を表します。

本研究活動全般に渡り、格別なるご指導とご高配を賜りました岐阜医療科学大学・大学院保健医療学研究科保健科学部 教授 重山 昌人先生、愛知学院大学薬学部製剤学講座 教授 山本 浩充先生に甚大なる謝意を表します。

本論文の審査にあたり、有益なご助言を賜りました岐阜薬科大学薬物送達学大講座製剤学研究室 教授 竹内 洋文先生、岐阜薬科大学医療薬剤学大講座薬物動態学研究室 教授 北市 清幸先生ならびに岐阜薬科大学実践薬学大講座薬局薬学研究室 准教授 井口 和弘先生に深く感謝いたします。

また、本研究に際し、ご指導を賜りました岐阜薬科大学実践薬学大講座病院薬学研究室 准教授 舘 知也先生に感謝いたします。

本研究を実施する機会を与えていただき、ご理解とご協力を賜りました横浜薬科大学の皆様には厚く御礼申し上げます。

最後に、これまで応援してくれた両親と夫と息子たちに心から感謝します。

引用文献

- 1) Mohs FE, Gryer M. Pre-excisional fixation of tissue in the treatment of cancer in rats, *Cancer Res*, **1**, 49-51 (1941)
- 2) Mohs FE. Chemosurgery: A micro scopically controlled method of cancer excision, *Arch Surg*, **42**, 279-295 (1941)
- 3) Mohs FE. Chemosurgical treatment of melanoma: A micro-scopically controlled method of excision, *Arch Derm Syphilol*, **62**, 269-279 (1950)
- 4) Mohs FE. Chemosurgery, *Clin Plast Surg*, **7**, 349-360 (1980)
- 5) Mohs FE. Chemosurgical techniques, *Otolaryngol Clin North Am*, **15**, 209-224 (1982)
- 6) Phelan JT, Milgrom H. The use of Mohs' Chemosurgery technique in the treatment of skin cancers, *Surg Gynec Obstet*, **125**, 549-560 (1967)
- 7) Robins P, Menn H. Chemosurgery of the treatment of skin cancer, *Hosp Prac*, **5**, 40-50 (1970)
- 8) 森 俊二. 化学外科療法 (Mohs 氏法), マルホ皮膚科セミナー, **21**, 8-11 (1981).
- 9) 大久保恒正, 重山昌人, 岡本清尚. ケモサージカル軟膏, 高山赤十字病院紀要, **24**, 8-11 (2000)
- 10) 宇宿一成, 福重智子, 久保洋一, 中釜秀樹. Mohs surgery で治療した有棘細胞癌の 1 例, 臨床皮膚科, **58**, 772-774 (2004)
- 11) 北村昌紀, 大塚正樹, 藤原規広, 吉川周佐, 清原祥夫, 鬼塚哲郎. Mohs chemo-surgery で QOL の改善と完全寛解を得た有棘細胞癌の 1 例, *Visual Dermatology*, **6**, 736-739 (2007)
- 12) 馬淵恵理子, 辻 真紀, 甲斐裕美子, 井上千津子. 肛門管癌の直接浸潤に対する Mohs'paste 使用経験, 臨床皮膚科, **61**, 934-936 (2007)

- 13) 高橋明仁. Mohs ペーストが有効であった原発不明癌の 1 例, 皮膚科の臨床, **50**, 110-111 (2008)
- 14) 小川久貴. 切除不能乳癌局所病巣への Mohs Paste 外用の試み, 癌と化療, **35**, 1531-1534 (2008)
- 15) 上田喬士, 田辺健一, 白井京美, 齊藤典充, 高須 博, 勝岡憲生, 冨澤 淳, 朝比奈昭彦. 悪性黒色腫に対する Mohs ペーストの使用経験, 皮膚科の臨床, **50**, 1197-1200 (2008)
- 16) 安 成根, 新田悠紀子, 嘉陽織江, 大野稔之, 影山潮人, 森谷鈴子. Mohs ペーストが有効であった顔面の有棘細胞癌の 1 例, 皮膚悪性腫瘍研究会機関誌, **24**, 40-43 (2009)
- 17) 桑原広昌, 古川洋志, 池田正起, 北村 孝, 塩谷隆太, 菊地慶介. 切除不能な皮膚悪性腫瘍に対する Mohs ペーストの使用経験, 皮膚悪性腫瘍研究会機関誌, **25**, 61-64 (2010)
- 18) 重山昌人, 大萱豊秋, 大久保恒正. 患者の QOL 向上と薬剤師の関わり PART I . 院内製剤 (34) 各種疾患に対する特殊院内製剤設計と臨床応用～手術不能例に対する chemosurgical treatment への参画～, 医薬ジャーナル, **41**, 2289-2294 (2005)
- 19) 吉田有紀, 前川直輝, 山中一星, 國行秀一. 転移性皮膚腫瘍に対する治療－Mohs ペーストによる QOL の改善－, 皮膚科の臨床, **50**, 167-170 (2008)
- 20) 武内有城. Mohs ペーストが出血・浸出液コントロールに有効であった進行癌皮膚浸潤・転移の 2 例, 日本臨床外科学会雑誌, **71**, 1909-1915 (2010)
- 21) 渡邊英里香, 加藤直子, 村田純子, 斎藤奈央, 氏家英之, 田中寛之. Mohs 氏軟膏療法を試みた原発性および転移性皮膚悪性腫瘍の 6 例, 臨床皮膚科, **64**, 605-608 (2010)

- 22) 渡辺啓太郎, 木下寛也, 久能木裕明, 阿部恵子, 松本禎久, 喜多嶋拓士. 症状緩和目的で Mohs paste を使用し、QOL が改善した食道癌皮膚転移の 1 例, 臨床外科, **65**, 1169-1172 (2010)
- 23) 南 和彦, 長谷川直子, 福岡修, 宮島千枝, 角田玲子, 深谷 卓. Mohs 軟膏を用いた頭頸部腫瘍の出血、疼痛制御, 日本耳鼻咽喉科学会会報, **57**, 558-562 (2011)
- 24) 南 和彦, 宮崎拓也, 西村一成, 綾田寅之進, 市丸和之, 佐藤進一, 土師知行. 緩和治療における Mohs 法の応用, 頭頸部外科, **22**, 247-253 (2012)
- 25) 吉福孝介, 西元謙吾, 川俣洋生, 金澤絵莉, 高濱哲也, 松崎 勉. 出血を繰り返す中咽頭癌後発リンパ節転移症例に対する Mohs 軟膏の有用性, 耳鼻と臨床, **60**, 67-71 (2014)
- 26) 菊池絵里, 飯村仁美, 橋口宏司, 藤澤 順. 悪性腫瘍の皮膚自壊創に対する Mohs' paste の使用経験, 共済医報, **62**, 51-54 (2013)
- 27) 大井裕子, 小穴正博, 林 裕家, 相家明憲, 山崎章郎, 石巻静代, 鈴木道明, 近藤百合子, 山本美和. 緩和ケア領域における Mohs'ペーストの有用性-出血コントロールの観点から-, 日本緩和医療学会誌, **42**, 346-350 (2009)
- 28) 竹森康子, 安部美穂, 沖山良子, 佐藤勘治, 饗場伸作, 金子 聡, 豊田 隆. 低濃度モーズ軟膏を使用した原発性および転移性皮膚悪性腫瘍の 3 例, 日本病院薬剤師会雑誌, **46**, 783-786 (2010)
- 29) 中西敏博, 武内有城, 伊奈研次, 長尾清治. Mohs ペーストの塗り方を改良した Mohs ガーゼ法が有用であった転移性皮膚腫瘍の 1 例, 日本緩和医療学会誌, **6**, 324-329 (2011)
- 30) 井ノ内直良, 平島 円. “食品ハイドロコロイドの開発と応用”, 西成勝好監修. シーエムシー出版, pp150-167 (2007)

- 31) 出雲信夫, 重山昌人, 田口真穂, 長嶋大地, 長野将大, 菊池絵里, 橋口宏司, 藤澤 順, 村田実希郎, 磯部隆史, 梶原康宏, 五十鈴川和人, 埴岡伸光, 渡邊泰雄, 寺町ひとみ. 自壊乳がん巨大腫瘍における Mohs ペースト止血症例と薬理学的作用機序の解明, 医療薬学, **42**, 246-254 (2016)
- 32) 高岡佑三子, 小嶋綾子, 濱井公平, 松井美萌, 堀 哲雄. 鈴木雄治. 転移性皮膚腫瘍に対する Mohs ペーストにより QOL の改善を認めた 1 例, 皮膚の科学, **12**, 203-206 (2013)
- 33) 水柿典子, 高橋宏征, 加賀谷真起子, 高橋博之. Paraneoplastic Syndrome を合併した Rhabdoid 型有棘細胞癌の 1 例, 西日本皮膚科, **77**, 225-229 (2015)
- 34) 菊池絵里. 自壊創における Mohs 変法と看護ケア, プロフェッショナルがんナーシング, **3**, 286-292 (2013)
- 35) 佐々木尚美. 皮膚・排泄ケア モーズ軟膏使用時の看護ケア, Nursing today, **25**, 6-8 (2010)
- 36) 山中敏彰, 森本千裕, 福田多介彦, 岡本英之, 家根旦有, 細井裕司. 緩和医療における Chemosurgery の施行例—転移性皮膚癌に対する Mohs'ペーストの使用経験—, 頭頸部癌, **35**, 322-327 (2009)
- 37) 出光俊郎, 中村考伸, 木村正彦, 山田朋子, 中村哲史, 正木真澄, 飯田絵理, 大場伸江, 塚原理恵子, 永島和貴, 加倉井真樹, 梅本尚可, 堀口久光, 堂本隆志. Mohs 変法が QOL の改善に極めて有用で、原発巣の完全切除が可能であった進行期足底悪性黒色腫 1 例, SKIN SURGERY, **25**, 145 -149 (2016)
- 38) 高塚 聡, 新川寛二, 貝崎亮二, 藤原有史. Mohs ペーストが著効した局所進行乳癌の 1 例, 日本外科系連合学会誌, **37**, 1096-1101 (2012)
- 39) 大橋洋之, 松岡摩耶, 大石佳奈, 岡野達郎, 武藤真悠子, 久保悠, 齋藤千尋, 門野岳史, 川上民裕, 相馬良直, 生野雅也. 悪性黒色腫の皮膚転移からの出血

- に対し経カテーテル動脈塞栓術と Mohs ペーストが有効であった 1 例, *Skin Cancer*, **30**, 108-112 (2015)
- 40) 吉福孝介, 西元謙吾, 川俣洋生, 金澤絵莉, 高濱哲也, 松崎 勉. 出血を繰り返す中咽頭癌後発リンパ節転移症例に対する Mohs 軟膏の有用性, *耳鼻と臨床*, **60**, 67-71 (2014)
- 41) 高久史麿, 矢崎義雄監修. 皮膚外用療法の基本戦略, “治療薬マニュアル”, 医学書院, 東京, pp 1911-1913 (2013)
- 42) 小玉直樹, 児玉泰光, 田中英一郎, 小菅健裕, 谷口裕重, 高木律男. 末期口腔癌皮膚転移症例に対する Mohs paste の使用経験, *日本口腔外科学会雑誌*, **57**, 558-562 (2011)
- 43) 増田建一, 新 弘一, 大島久智, 森藤隆史, 花嶋 純, 寶積克彦. 頬部扁平上皮癌を Mohs chemosurgery で治療したアルツハイマー型認知症の 1 症例, *日本老年医学会雑誌*, **47**, 75-78 (2010)
- 44) 日本薬局方解説書編集委員会. 親水クリーム, “第十六改正 日本薬局方解説書”, 廣川書店, 東京, pp 1358-1359 (2011)
- 45) 日本薬局方解説書編集委員会. マクロゴール軟膏, “第十六改正 日本薬局方解説書”, 廣川書店, 東京, pp 4691-4692 (2011)
- 46) 日本薬局方解説書編集委員会. マクロゴール 400, “第十六改正 日本薬局方解説書”, 廣川書店, 東京, pp 4679-4684 (2011)
- 47) 神野直子, 村田紗葵子, 福屋泰子, 常深祐一郎, 川島 眞. Mohs 軟膏療法により良好な局所コントロールを得た乳房外 Paget 病の 1 例, *臨床皮膚科*, **69**, 130-134 (2015)
- 48) 前田 学, 市川 慶, 澤木綾子, 小口 優, 坂本 仁, 田中 学. モーズ法が奏効した眼瞼部腫瘍の高齢女性例, *皮膚科の臨床*, **59**, 1133-1136 (2017)

- 49) 藤原恵美子, 田村恵子, 杉田智子, 大塚俊宏, 國久智成. 皮膚浸潤をきたした乳癌患者の QOL 向上を目指した Mohs ペースト療法, *STOMA*, **21**, 33-39 (2014)
- 50) 日本病院薬剤師会監修. モーズペースト, “病院薬局製剤 第 6 版”, 薬事日報社, 東京, pp 151 (2009)
- 51) 荒木裕子, 松原 肇, 矢後和夫. 患者ベネフィットを追求した院内製剤 Mohs ペースト, 月刊薬事, **51**, 1281-1285 (2009)
- 52) 菊池絵里, 田口真穂, 橋口宏司, 藤澤 順, 重山昌人. Mohs ペーストでの治療中に複合性局所疼痛症候群を呈したと疑われた局所進行乳癌の一例, 日本創傷・オストミー・失禁管理学会誌, **20**, 358-362 (2016)
- 53) 菊池絵里, 田口真穂, 橋口宏司, 藤澤 順, 重山昌人, 寺町ひとみ. 新規製剤設計を行ったソルビトール添加 Mohs ペーストの使用経験, 日本創傷・オストミー・失禁管理学会誌, **22**, 303-308 (2018)
- 54) 佐藤淳也, 藤澤 晨, 茂庭美希, 工藤賢三. モーズペーストの利便性改善に向けた研究～基剤変更が組織深達度に及ぼす影響～, 日本緩和医療薬学雑誌, **9**, 11-16 (2016)
- 55) Fukuyama Y, Kawarai S, Tezuka T, Kawabata A, Maruo T. The palliative efficacy of modified Mohs paste for controlling canine and feline malignant skin wounds, *Vet Q*, **36**, 176-182 (2016)
- 56) 清水 篤. Mohs ガーゼ法を用いて自壊した乳腺腫瘍の大幅な減容積を行ったダックスフンドの一例, 獣医臨床皮膚科, **23**, 57-61 (2017)
- 57) 渡辺淳平, 後藤伸之, 久保田康生, 政田幹夫, 松浦克彦, 山川雅之, 渡部一宏. 院内製剤の市販化に向けた日本病院薬剤師会の取り組み, 薬剤学, **72**, 35-38 (2012)

略 語

A-MP	Cellulose-Absorptive cream Mohs paste without starch
C-MP	Cellulose Mohs paste without starch
CT	Computed tomography
FISH	Fluorescence in situ hybridization
H-MP	Cellulose-Hydrophilic cream Mohs paste without starch
M-MP	Cellulose-Macrogol Mohs paste without starch
NRS	Numerical rating scale
O-MP	Original Mohs paste
QOL	Quality of life
S-MP	D-Sorbitol-added Mohs paste
TNM	Tumor Nodes Metastasis