

## 親水性化合物の経皮吸収促進のための超音波の利用に関する研究

武藤香絵

経皮的な薬物投与は使用の簡便さや血中濃度の維持等の点から、患者の QOL やコンプライアンスの向上が期待できる有益な薬物投与方法である。しかし、薬物の皮膚からの吸収性は低いため、この投与方法を多くの薬物へと拡大するためには吸収性を改善する必要がある。これまでに、化学的促進法、物理的促進法、さらにこれらの方法を組み合わせたシステムが検討されており、特に外部駆動力を利用する物理的促進法はその駆動力を制御することにより、必要に応じた薬物送達を可能にする on demand 型の製剤設計に利用できることから、Drug Delivery System の中でも sophisticated method として注目を浴びている。

超音波エネルギーを利用したソノフォレーシスもまた物理的促進法の 1 つであり、20 kHz–16 MHz の周波数を用いて薬物の皮膚透過に対する促進効果が研究され、最近の研究で MHz 領域の高周波数に比べ低周波数の超音波で促進効果の高いことが明らかとなっている。また、低周波数超音波は皮膚の電気伝導度を非可逆的に増大し、それに伴い親油性化合物よりも親水性化合物の皮膚透過を増大することから、その促進効果は親水性経路を新たに形成することによると考えられている。さらに、超音波は薬物の皮膚透過促進に対する駆動力として利用できることを示唆する報告があるにもかかわらず、そのような効果に関する系統的な研究は行われていない。

本論文では、超音波が親水性化合物の皮膚透過促進に対する駆動力として利用可能であるかを検討し、さらに透過経路の検討および超音波物理現象の 1 つであるキャビテーションの関与を評価することで、親水性化合物に対する超音波の皮膚透過促進効果について 3 章にわたり詳細に検討した。

第 1 章では、低周波数 (41–445 kHz)、低強度 (60–240 mW/cm<sup>2</sup>) の超音波を用いて、親水性化合物の皮膚透過に対する促進効果について検討した。超音波照射によって親水性モデル化合物カルセイン (MW 623) の皮膚透過が一過的に促進され、その効果は周波数により異なり低い周波数でより高いことが明らかとなった。41 kHz 超音波では適用強度の増加に伴って促進効果も有意に増加したが、158 および 445 kHz では強度によらずほぼ一定の促進効果を示した。以上の結果から、照射する超音波の周波数や強度によりカルセインの透過促進効果が大きく異なることが明らかとなった。41 kHz、120 mW/cm<sup>2</sup> の超音波照射によって非常に高い透過促進効果が得られ、皮膚電気抵抗値もコントロールの約 1/2 に低下したが、超音波照射中の透過係数は抵抗値から予測される値よりも有意に高くなっていたことから、促進効果は角質層構造の変化や水和の亢進のみでは説明することができなかった。さらに、カルセインの透過性が溶媒の透過性と良好な相関を示し、その透過は超音波伝播方向に特異的に促進されることから、透過には超音波照射時のみに発生する溶媒流が付加的な駆動力として関与していることが考えられた。一方、角質層が直接超音波に暴露されない条件では、超音波を照射してもカルセインの透過は増大せず、皮膚抵抗値も変化しなかった。以上の結果より、本章で用いた超音波は伝播方向へ溶媒流を発生させ、その溶媒牽引効果により親水性化合物の透過を一過

的に促進していることが明らかとなり、さらにこの効果には角質層構造の部分的な変化や水和の亢進も関与しているものと考えられ、超音波が照射条件を工夫することで必要時にのみ必要量の薬物を経皮透過させる駆動力として利用できる可能性が示唆された。

第2章では、41 kHz 超音波により促進されている親水性化合物の透過経路について、カルセイン、FD-4 (MW 4400)、およびFD-40 (MW 38000) をモデル化合物として用いて考察した。まず、水力学的細孔理論を用いて、溶質透過と溶媒透過の関係から考察した結果、41 kHz の超音波照射によりカルセイン透過と溶媒透過の間に良好な相関関係が認められ、回帰直線の傾きは1となったことから、超音波照射時の溶質の動きと溶媒の動きが完全に一致していることが明らかとなった。さらに、FD-4 およびFD-40 でも同様の結果が得られたことから、41 kHz 超音波によって促進されている透過経路の大きさはこれらの溶質よりも有意に大きいことが考えられた。次に、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて水溶性高分子FD-40 がどのように透過しているのかを評価した。超音波 horn 直下領域ではFD-40 は角質層全体（脂質二重層およびコルネオサイト）を非特異的に深部まで浸透しており、このとき角質層表面に部分的な裂け目様の構造変化を認めたが、角化細胞の六角形構造の崩壊や消失は起こっていなかった。また、horn 周辺領域では角質層構造の変化もFD-40 の浸透も認められなかった。以上の結果より、超音波に直接暴露されている領域では超音波が角質層中への溶媒の移動を非特異的に増大し、さらに新たな透過経路を形成することにより、少なくとも分子量4万までの分子が容易に皮膚を透過できることが明らかとなった。一方、脂溶性化合物ローダミンBを用いた同様の観察では、超音波直下領域でも皮膚への浸透増大は全く認められなかったが、これは溶質の水への溶解性によるものであると考えられた。

第3章では、促進効果に対する超音波物理現象の1つであるキャビテーションの関与を調査した。はじめにバルク中でのキャビテーション発生量を種々条件下で測定した結果、41 kHz で最も多く、周波数の増大に伴って減少した。また、41 kHz では照射強度の増大に伴って発生量も増加したが、158 および445 kHz では有意な変化を示さなかった。脱気水に41 kHz 超音波を照射した場合、120 および240 mW/cm<sup>2</sup> の強度でキャビテーション発生量が有意に低下した。バルク中キャビテーション発生量とカルセイン透過性の間に良好な相関が認められたことから、溶媒中に発生しているキャビテーションが透過促進効果に関与していることが明らかとなった。キャビテーションは固体-液体界面で圧壊されるとき、固体表面方向にマイクロジェットと呼ばれる流れを発生させ、これが方向性のある透過促進効果に主に関与していることが考えられるため、次にゼラチン層を用いて固体-液体界面でのマイクロジェットの発生をデジタルカメラおよび共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて確認した。その結果、41 kHz 超音波照射により、ゼラチン内部方向へ色素の局所的な貫入が認められ、その部位の表面でキャビテーション圧壊による壊食が起こっていることが明らかとなった。以上の結果より、本研究で用いた超音波による促進効果には媒質中でのキャビテーション発生、特に皮膚表面での非対称圧壊に伴って一過的に発生するマイクロジェットが関与していることが示唆された。

以上、本研究で得られた知見から、キャビテーションを発生しやすい低周波数超音波を利用した経

## 学位論文要旨

皮送達システムは、必要に応じた薬物投与を可能とする駆動力として利用でき、さらにこれまで皮膚からの治療域濃度までの送達が困難であると考えられていた生理活性ペプチドやタンパク性医薬品の経皮送達を可能にする有益な促進方法であると考えられる。