

エレクトロポレーションによる薬物の経皮吸収促進に関する研究

森 健二

薬物の投与部位として皮膚を用いる経皮吸収型製剤が注目され、現在までニトログリセリン、硝酸イソソルビド、エストラジオール、テストステロン、フェンタニル、ツロブテロール等の薬物を含有した経皮吸収型製剤が上市に至っている。しかし、薬物の経皮吸収性は低く、これを改善する試み（促進法）が数多くなされている。なかでも、電気エネルギーを用いたイオントフォレーシス、超音波を利用したフォノフォレーシス、極小の針を用いて角質層に孔を空け吸収を高めるマイクロニードルの利用等の物理的促進法が注目を浴びている。また、これらの他にエレクトロポレーションを利用した物理的促進法が報告されている。エレクトロポレーションは従来、細胞への遺伝子導入方法として用いられてきた技術で、数十から数百ボルトをマイクロ秒からミリ秒単位の極短時間負荷することにより細胞膜に可逆的な孔を生じさせ、そこから細胞内へ遺伝子を導入させる。近年、皮膚を介した薬物送達にもこの技術を応用した研究が報告され始めたが、その促進に関与する因子や解析はほとんど検討されていない。

そこで、本研究では非イオン性のマンニトールとイオン性の安息香酸ナトリウム（またはジクロフェナックナトリウム）を用いて、これらのヘアレスラット *in vitro* 皮膚透過性に及ぼすエレクトロポレーションの有用性を評価した。また、有限因子法による3次元電流密度解析や2次元電場解析を行ってエレクトロポレーションの効果に関与する電気的パラメータを調べ、効率よく促進効果を得るための溶液系や電極の適用条件や形状について考察した。さらに、得られた最適条件を用いて、実用に耐える経皮エレクトロポレーション適用製剤を試作した。

最初に、リング型とニードル型電極を用いてマンニトールの皮膚透過性に及ぼすエレクトロポレーションの効果調べた。その結果、エレクトロポレーション発生装置の電気容量を増す（パルス電流適用時間を長くする）ことで、マンニトール透過量は増加し、エレクトロポレーションのような極短時間の電圧適用であっても、促進効果は電圧適用時間に依存することがわかった。また、パルスの頻度も促進効果に影響し、パルス適用回数が多いほど促進効果が増加することがわかった。しかし、電極材料（分極性・非分極性）や電極適用位置（対電極を角質層上に配置、または一方を角質層上にもう一方を真皮側に配置）を変えてもエレクトロポレーション促進効果はほとんど変化しなかった。

次に適用条件の影響を調べるため適用電解質濃度（0%、0.9%、9%NaCl）、電極形状（ニードル電極、ポイント電極、リング電極）、電極と皮膚表面との距離（0 または 5 mm）を変えて、安息香酸の皮膚透過性に及ぼすエレクトロポレーションの促進効果を比較した。その結果、電解質濃度が高くなるほど安息香酸透過量は減少する傾向が見られた。さらに、両電極を皮膚に接して設置した方が高い透過性が見られた。また、電極を皮膚から離れた場合は、ニードル電極、ポイント電極がほぼ同等の透過を示したものの、電極を皮膚上に設置した場合は、ポイント電極の方が高い透過性を示し

た。

そこで次に、角質層と適用溶液中の電流密度や電場強度を3次元解析し、さらにエレクトロポレーションパルス波形を測定した。その結果、電極を皮膚から離すと電流密度が電解質濃度の増加に伴って高くなったが、電極を皮膚に接した場合は電解質濃度によらず一定値を示した。しかし、電場強度はいずれの電極でも電解質濃度の影響を受けなかった。また、エレクトロポレーション適用時の初期電圧は450 Vにセットしたが、電極の形状や電解質濃度により皮膚に負荷される初期電圧は129～457 Vとなった。加えて、時定数も適用する電極形状により異なり、ポイント電極>ニードル電極となり、また、電解質濃度を上げることで短くなった。一方、エレクトロポレーション負荷で生じる安息香酸の透過性は、イオントフォーシスとは異なり電流には依存しなかった。しかし、皮膚透過性と電場強度には高い相関関係が見られ、角質上に負荷される電場がエレクトロポレーションの透過促進の一因であることが示唆された。そこでさらに、2次元の電場解析により皮膚バリアー中における電場分布と皮膚バリアー中への安息香酸の取り込み分布を調べた。その結果、電場強度の高い部位ほど皮膚に取り込まれる安息香酸量は多く、電場強度と安息香酸取り込み量はよく相関した。次に電極形状の影響を調べた結果、同じ電圧を負荷しているにもかかわらず、安息香酸の透過は電極形状により著しく異なり、プレートプレート電極が最も優れていた。さらに、皮膚に負荷される2次元電場強度やパルス波形を測定したところ、これらも電極形状により異なることが明らかになり、電場時間曲線下面積（総電場量）と安息香酸透過性が良く相関した。この現象は安息香酸に特異的ではなく、ジクロフェナックの透過性に関しても同様であった。

以上の結果をもとに、最後に電場の負荷に最適であったプレート電極を組み込んだリザーバー型製剤とマトリックス型製剤を試作し、これを用いてジクロフェナック透過性を調べた。その結果、溶液で適用した場合とほぼ同等の透過を得ることができ、ヒトへ適用可能な実用的なエレクトロポレーション経皮適用製剤を得ることができた。

以上、本研究からエレクトロポレーションが皮膚透過性を促進するのに有効であることが明らかになった。また、エレクトロポレーション適用時のより良い適用条件も明らかになり、これらの結果を元に試作した製剤が実用的にも十分使用できることが確認された。