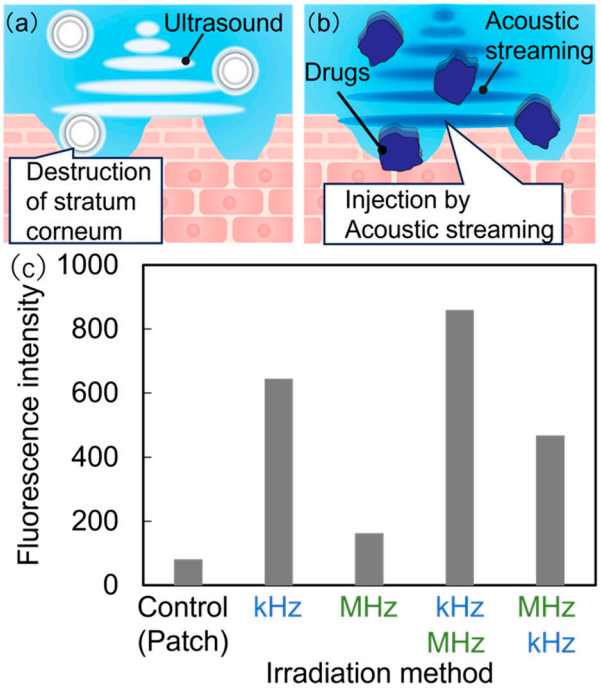
170　超音波の重畳照射による経皮薬剤投与の効率化	倉科　佑太

【目的】生体高分子薬剤はその特異性から高い薬効と副作用の少ない治療を可能にする薬剤として注目されており、その主な投与方法は注射による投与である。これは生体高分子薬剤の表面特性と分子量の大きさにあり、消化器からの吸収や皮膚の角質層の通過が難しいことから､経口投与や塗布などの経皮投与が困難なためである。このため、生体高分子薬品の投与には、侵襲性の高い注射が用いられている。この侵襲性の高い注射に代わる低侵襲な投与方法の１つとしてニードレスで薬剤を経皮投与可能なソノフォレシスが注目されている｡本研究では、生体高分子薬剤の経皮投与を改善し、侵襲の少ない治療方法を提供する。しかし、従来のソノフォレシス技術では、薬剤の安定な投与が難しく、投与量も制限されていた。そこで、超音波照射方法を改良し、生体高分子薬剤の経皮投与効率を向上させることを本研究の目的とした。

【方法】生体高分子薬剤モデルを使用して、ブタ皮膚に対する音響流の影響を評価した。本研究では、ランジュバン型振動子とピエゾ素子を用いて超音波を照射し、その照射条件を kHz 帯と MHz 帯を種々の組み合わせで順次照射することによる薬剤投与の効率を検証した。なお、薬剤投与量を定性的・定量的に評価するために、蛍光修飾したオボアルブミンを薬剤モデルとして用いて実験を実施した。

【結果】従来の kHz のみを照射する手法を、本研究のコンセプトである kHz 帯と MHz 帯を両方とも照射する方法と比較することで、その優位性を確かめた。その結果、kHz 帯と MHz 帯の順次照射による薬剤モデルの投与量が、従来の手法よりも効果的に増加することを明らかとした。これにより、生体高分子薬剤の経皮投与効率を向上させるために､超音波照射方法の改良が有効であることが示された｡これに加えて､理論計算から MHz 帯の照射距離が長くなるほど音響流の流速が上昇する特徴を用いて、超音波を照射する距離を調節する実験を実施した。その結果、薬剤投与量が増加する結果が得られた。このことから、音響流の付与がソノフォレシスの薬物投与量の向上に寄与することが示唆された。本研究によって、将来的にはより安全で効果的な経皮治療法の開発に貢献することを期待している。

超音波照射による薬剤投与のコンセプトと皮膚に投与された生体高分子の定量評価



170. 超音波の重畳照射による経皮薬剤投与の効率化

倉科　佑太

東京農工大学 工学研究院 先端機械システム部門

Key words：超音波，経皮薬剤投与，生体高分子，ソノフォレシス，音響流

緒　言

生体高分子薬剤は、その特異性から高い薬効と副作用の少ない治療を可能にする薬剤として注目されており、その一般的な投与方法は注射による投与である。これは生体高分子薬剤の表面特性と分子量の大きさにあり、消化器からの吸収や皮膚の角質層の通過が難しいことから経口投与や塗布などの経皮投与が困難なためである［1］。ゆえに、生体高分子薬品の投与には、侵襲性の高い注射が用いられている。そこで、低侵襲な投与方法の 1 つとしてニードレスで薬剤を経皮投与可能なソノフォレシスが注目されている。ソノフォレシスは低周波（kHz 帯）の超音波により誘起されるキャビテーションバブルの崩壊により経皮投与を阻害する皮膚表面の角質層の破壊と、それに誘起されるマイクロジェットにより、高分子量の物質も投与可能な方法である。しかし、従来の技術ではキャビテーションバブルから誘起されるマイクロジェットがランダムに生じることから、安定した薬剤投与は困難であり、従来技術による薬剤投与量は限られている。これは、キャビテーションバブルの発生に必要な気泡核が生じる位置が一定ではないため、指向性を持たないためである。

本研究ではソノフォレシスにおける超音波照射方法を提案し､効率的な生体高分子薬剤の経皮投与を実現する。そのため、機械的作用として高周波（MHz 帯）の超音波により誘起され、指向性を持つ音響流に着目した。そこで、kHz 帯と MHz 帯の超音波の順次照射によりキャビテーションと音響流の相乗効果を生み出し、薬剤投与量の増加を実現する（図 1）。また、音響流を付与することがソノフォレシスにおいて有効であることを示す。薬剤投与には、蛍光（Cyanine5 carboxylic acid）修飾オボアルブミン（生体高分子薬剤モデル）を使用し、その投与量を定性・定量的に測定する。

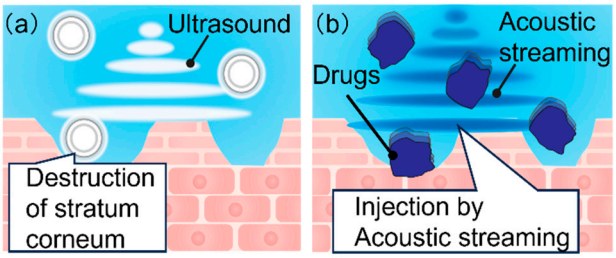


図 1. 本研究の経皮投与手法のコンセプト
kHz 帯（a）と MHz 帯（b）の連続照射による生じる現象の模式図。

方　法

1. kHz 帯と MHz 帯の順次照射の有効性の検証

kHz 帯と MHz 帯の順次照射が薬剤投与量に与える影響を調べるため、4 つの照射条件でブタ皮膚に生体高分子薬剤モデルの投与を行った。超音波照射デバイスに固定したブタ皮膚に 100 μL のナノ薬剤モデルを滴下し、

各条件で超音波を照射した。超音波は 10 分間照射し、(i) kHz 帯のみ、(ii) MHz 帯のみ、(iii) kHz 帯 (5 分) を照射した後に MHz 帯 (5 分) を照射、(iv) MHz 帯 (5 分) を照射した後に kHz 帯 (5 分) を照射した条件を検討した。なお、比較として超音波の順次照射後、各条件の皮膚を溶解した皮膚溶液の蛍光強度を分光蛍光光度計で測定することで、生体高分子薬剤モデルの投与量を定量的に評価した。また、超音波照射後の皮膚表面の写真を比較することで薬剤投与量を定性的に評価した。

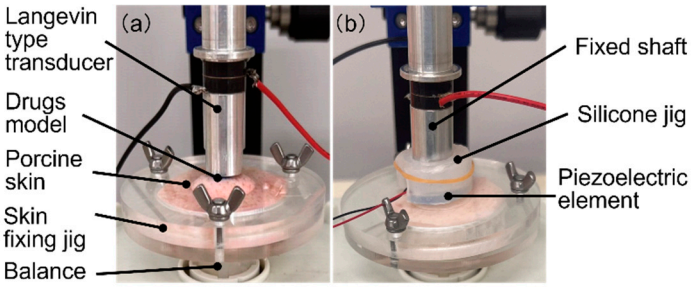


図 2. ブタ皮膚への超音波照射の様子
kHz 帯 (a) および MHz 帯 (b) の超音波照射装置。

2. ソノフォレシスにおける音響流の有効性の検証

kHz 帯と MHz 帯の順次照射による音響流 (MHz 帯) の有効性を検証するため、ヒトの皮膚と構造・厚さなどの点で類似しているブタ皮膚への生体高分子薬剤モデルの経皮投与実験を行った。ここでは、音響流の照射距離が薬物投与量に及ぼす影響を評価した。超音波照射デバイスに固定したブタ皮膚に 100 μL の生体高分子薬剤モデルを滴下し、各条件で超音波を照射した。超音波照射は以下の 4 つの条件で行った。(i) 従来の方法として、kHz 帯域の超音波を 10 分間照射した (control)。(ii) ～ (iv) 提案した方法として、kHz 帯と MHz 帯の超音波をそれぞれ 5 分間順次照射した。MHz 帯は、(ii) 1 mm、(iii) 2 mm、(iv) 3 mm の距離で照射した。超音波の順次照射後、各条件の皮膚を溶解し、溶解した皮膚溶液の蛍光強度を分光蛍光光度計で測定することで、生体高分子薬剤モデルの投与量を定量的に評価した。また、超音波照射後の皮膚表面の写真を比較することで薬剤投与量を定性的に評価した。

結果および考察

1. kHz 帯と MHz 帯の順次照射の有効性の検証

皮膚溶液の蛍光強度の定性・定量評価の結果から、kHz 帯で 5 分照射後、MHz 帯で 5 分照射した条件が最も投与量が多いことがわかる (図 3)。この結果により、従来の kHz 帯のみの照射と比較して、本研究で提案した kHz 帯と MHz 帯の順次照射が有効であることが示唆される。また、MHz 帯を先に照射することは、投与効率の上昇につながらないことも示された。

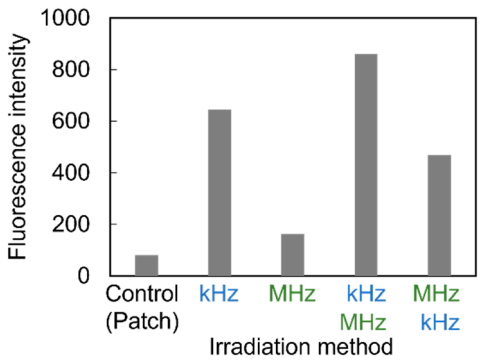


図 3. 種々の超音波照射条件による蛍光修飾オボアルブミン投与量の評価
薬剤を塗布、kHz のみ、MHz のみ、kHz のあと MHz、MHz のあと kHz を照射する超音波条件。

2. ソノフォレシスにおける音響流の有効性の検証

超音波照射デバイスは 2 種類の振動子を用いて構築した。kHz 帯の照射には共振周波数 45.9 kHz のランジュバン型振動子［2］を搭載し、MHz 帯の照射には共振周波数 1.97 MHz のピエゾ素子をシリコーンゴムの治具で挟み込み、皮膚に固定して超音波を照射した。皮膚にかかる圧力を等しくするため、皮膚の下に設置した秤が 0 を示すように調整して照射した（図 2）。音響流の流速 u は、運動量フラックスの関数 f と音響流の幅 $S1$、$S2$ で表される（式 1）［3］。

$$u(0,0) = e\sqrt{\frac{2f(X)}{\pi S_1 S_2}}$$

関数から得られた結果は、本研究の条件下では、MHz 帯の照射距離が長くなるにつれて流速が上昇することを示唆している（図 4）。つまり、本実験の条件下では薬剤投与量が 1 mm から 3 mm の範囲で増加することを示している。また、皮膚内の薬剤モデルの蛍光強度の定量評価の結果から、kHz 帯の超音波照射後、3 mm の照射距離で MHz 帯の超音波を照射した場合に、最も高い薬物投与量が得られることが示唆された（図 5）。さらに、理論値と同様に、照射距離が長くなるにつれて薬物投与量は有意に上昇した。また、皮膚写真からも 3 mm の照射距離で MHz 帯の超音波を照射した場合に最も高い薬剤投与量が得られることがわかる。これらの結果は、kHz 帯と MHz 帯の順次照射が、従来の kHz 帯域のみの照射よりも効果的であることが定性的・定量的に示せた。従って、音響流（MHz 帯）は、ソノフォレシスの薬物投与量の向上に寄与していると示唆される。

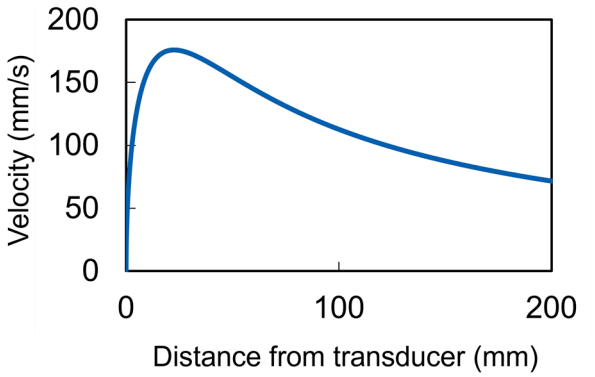


図 4. 本研究で使用した圧電素子から発生する音響流の速度
先行研究の理論式から算出した理論値。

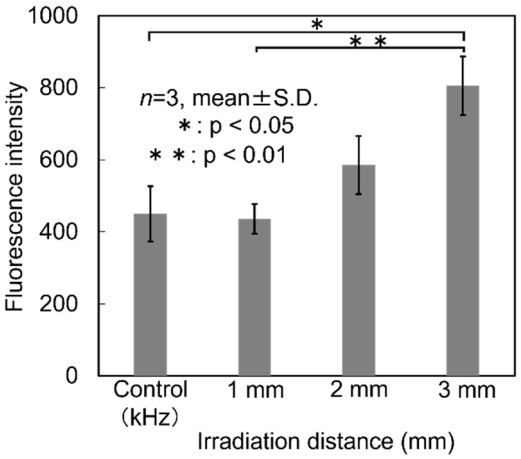


図 5. 照射距離を調節して超音波を照射して投与した蛍光修飾オボアルブミン量の評価
分光蛍光光度計による定量測定の結果。統計処理は、Student t-test で実施した。

本研究では、ソノフォレシスにおける超音波照射方法を確立し、効率的な生体高分子薬剤の経皮投与を実現した。具体的には、音響流の照射距離を検討することでソノフォレシスにおいて音響流を付与することが有効であることを確認した。さらに、kHz 帯と MHz 帯の順次照射が従来手法やその他の超音波照射手法より効率的に薬剤投与可能であることが示唆された。これらの結果は、ソノフォレシスを注射に代わる新たな生体高分子医薬品の投与方法として用いることができるツールとなることに期待される

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、東京慈恵会医科大学の再生医学研究部の岡野ジェイムス洋尚と皮膚科学講座の伊藤宗成である。

謝　辞

1） Nina Dragicevic, Howard I. Maibach, Percutaneous Penetration Enhancers Physical Methods in Penetration Enhancement, Springer Berlin, Heidelberg 2017 DOI: 10.1007/978-3-662-53273-7.
2） Xue Xie, Yuta Kurashina, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Munenari Itoh, Hirotaka J. Okano, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, Yoshitaka Kitamoto, Transdermal delivery of bFGF with sonophoresis facilitated by chitosan nanocarriers, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 75, 103675, 2022 DOI: 10.1016/j.jddst.2022.103675.
3） Michael B. Dentry, Leslie Y. Yeo, James R. Friend, Frequency effects on the scale and behavior of acoustic streaming, Physical Review E, 94, 059901, 2014 DOI: 10.1103/PhysRevE.89.013203.