

角層内の脂質充填構造と水の挙動に着目した 経皮吸収型製剤の開発

An approach for development of transdermal delivery system focused on lipid lamellar structure and water behavior in stratum corneum

小幡誉子^a, 八田一郎^b, 太田昇^b, 井上勝晶^b, 八木直人^b

Yasuko Obata^a, Ichiro Hatta^b, Noboru Ohta^b, Katsuaki Inoue^b, Naoto Yagi^b

^a星薬科大学, ^b高輝度光科学研究センター

^aHoshi University, ^bSPRING-8/JASRI,

【目的】

経皮吸収型製剤の有用性は今日医療に従事する誰もが知るところであり、あたらしい経皮吸収型製剤の開発は、多くの問題を抱える今後の医療に貢献するための重要な課題である。第15改正日本薬局方に経皮吸収型製剤が新規収載された背景には、これまでに臨床で用いられてきた市販製剤の高い評価がある。しかしながら、今後あらたな薬物の経皮吸収型製剤を開発していくにあたっては解決しなければならない問題がいくつもあり、新しい製剤開発は容易ではない。まず最大の問題は、一般的にみて薬物の皮膚透過性は小さいことである。すなわち通常の状態では治療に必要な量の薬物を皮膚から体内へ送達することは難しい。多くの薬物にとって角層の透過が皮膚透過全体の律速段階であることが以前から知られており、これまでに角層の透過性改善のために種々の方法が試されてきた。なかでも、薬物の吸収を増大させる化合物を製剤成分として処方に組み込む方法は、応用性も高く、投与のための特別な装置を必要とせず簡便であり治療効果の向上に寄与できる。角層は皮膚表面の厚さわずか20 μ m程度の薄い膜であるが、体内の水分蒸散や体外からの異物侵入に対して極めて高い障壁能を持っている。レンガモルタル構造として模式化される角層のモルタルに相当する細胞間脂質は、セラミドやコレステロールの混合物であり、一定の周期をもったラメラ構造が六方晶あるいは斜方晶といった充填構造で規則正しく配列し、このことが水分蒸散や異物侵入から生体を守るために重要な役割を果たしている。そこで細胞間脂質が形成する構造が製剤成分の適用により変化する様子を調べることは非常に興味深い。細胞間脂質は角層全体の約1割程度であることを考慮すると、構造解析の手段として用いられる実験室のX線回折装置では細胞間脂質の構造を観察することは難しい。また、角層は細胞間脂質のみならず多くの物質から構成される複雑な混合物であるため、角層を試料として測定を行う際には、夾雑物由来の信号と細胞間脂質由来の信号の分離が困難な場合も少なくない。このような問題を解決するために、近年、放射光X線回折を利用した細胞間脂質の構造解析の手法が確立され、ラメラ構造の周期、熱特性、ラメラ周期と充填構造の関連¹⁾および製剤成分の適用によるラメラ構造の変化²⁻⁴⁾等が次々と明らかになっている。さらに、機器測定で得られる重畳した信号から細胞間脂質由来の信号を抽出する方法や、代表的な脂質による細胞間脂質モデルの構築などの研究も興味を持たれている。また、経皮吸収型製剤の投与部位としての皮膚は、同時に化粧料の適用部位でもあることを考えると、角層の構造研究は化粧料の開発にとっても重要となり、疾病治療の目的だけに留まらず、健全なひとびとに対してもその生活の質

を向上させるための商品開発に利用できる。皮膚を健やかに保つためあるいはより爽やかな皮膚の感触を得るために適用する化粧料の成分と角層の変化の関連についても同様の手法で知ることが可能だからである。このように、細胞間脂質の構造に対する化合物の影響を調べることは今後の製剤開発にとってより広い分野で重要な基盤技術となると考えられることから、本課題では、特に、半固形製剤では製剤の多くの割合を占めていて、また生体の恒常性維持に不可欠な「水」とラメラ構造の関係を種々の動物において明確にする。

【実験方法】

角層の剥離・処理：ヘアレスマウス、ヘアレスラット、ブタおよびヒト皮膚からトリプシン処理により、角層を剥離した。剥離した角層は洗浄・乾燥後、予め25%の水分量に調節して溶液セルに充填し、種々の化合物をセル内に注入して直ちに測定を開始した。

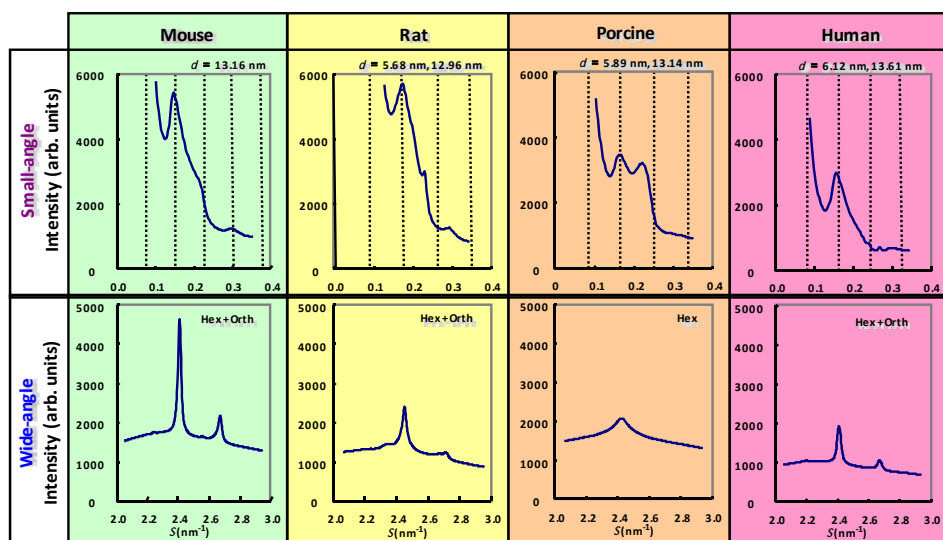


Fig.1 種々の動物の角層細胞間脂質の小角・広角X線回折プロファイル

X線回折測定：

SPring-8 ビームライン BL40B2 において小角・広角 X 線回折測定を行った。波長 0.1nm (12keV)、試料から検出器までの 400 mm を真空引きし、300 mm×300 mm のイメージングプレートを用いて回折像を取得し解析を行った。

【結果、考察】

Fig.1 に示すように、実験に使用した動物のうち、ラット、ブタ、ヒトでは約 13nm の長周期ラメラおよび 6nm の短周期ラメラ由来の回折が認められた。これに対して、マウスでは、13nm の長周期ラメラの回折のみが観察された。また、マウス、ラット、ヒトでは細胞

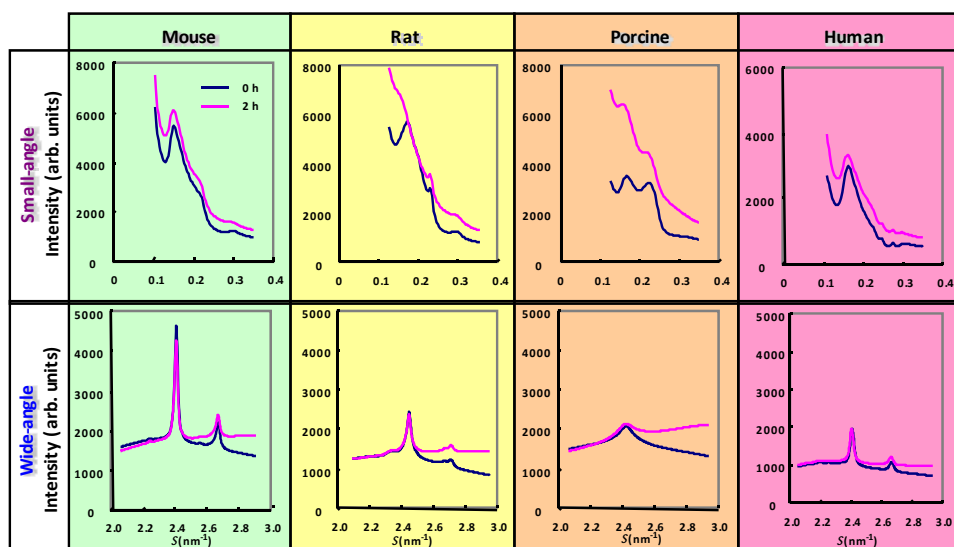


Fig.2 水の適用による回折プロファイルの変化

間脂質の充填構造には六方晶ならびの斜方晶の両方が認められたが、ブタでは六方晶のみの存在が確認された。したがって製剤開発の皮膚透過実験においてヒト皮膚と透過性が類似しているとして繁用され

るブタ角層では、細胞間脂質の構造はヒト角層とは異なることが明らかになった。さらに、これらの角層に水を2時間適用後の回折変化を Fig.2 に適用前のプロファイルと合わせて示した。いずれの動物角層においても小角・広角ともに水の散乱を含んだ回折となったが、とくに短周期ラメラのピーク位置がわずかに

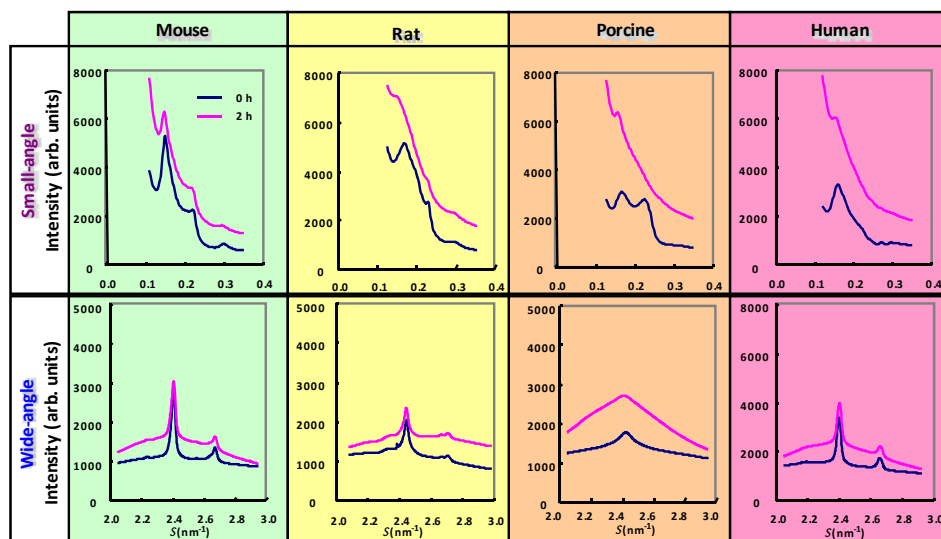


Fig.3 エタノールの適用による回折プロファイルの変化

低角側に移行した。この結果はすべての動物角層で共通しており、すでに報告されている実験結果と一致した⁵⁾。このことは、動物に依らず水の適用によりラメラ周期が伸長することを意味しており、細胞間脂質が形成する層間に水が入り込む可能性がある。今回の実験の結果から、すでに報告されているマウスのみならず、ラット、ブタ、ヒトにおいても短周期ラメラの層間に水が入ると考えることができる。一方、Fig.3 に示すようにエタノールを適用した場合においても、ラメラ周期の変化が認められており、水を適用した場合と概ね同様の傾向を示した。またエタノールは皮膚から脂質の抽出作用を持つことが知られており、適用2時間後のプロファイルは脂質由来のピークが小さくブロードになり角層中の脂質量の減少によるものと考察できる。エタノールの適用によるラメラ周期の伸長については、エタノール自身が細胞間脂質の配列中の水素結合に影響を与えた、あるいは主として角層細胞に分布している水がエタノールの適用により細胞間脂質領域に移行した形で二次的に作用したなどの可能性が考えられるが、今回の実験からはいずれであるかの判断はできない。今後、水やエタノールの散乱を除いた回折プロファイルからラメラ周期の変化を定量的に解析して、ラメラ周期に影響を与える製剤成分と薬物の吸収性との関連を明らかにすることで、より効果の高い製剤開発を行っていきたいと考えている。

【参考文献】

- 1) I.Hatta, N.Ohta, K.Inoue, N.Yagi, Coexistence of two domains in intercellular lipid matrix of stratum corneum, *Biochim.Biophys.Acta*, **1785**, 1830-1836 (2006).
- 2) Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, K.Kunizawa, N.Yagi, K.Takayama, Combined effects of ethanol and *l*-menthol on hairless rat stratum corneum investigated by synchrotron X-ray diffraction, *J.Contr.Rel.*, **115**, 275-279 (2006).
- 3) 小幡誉子、平成 18 年度先端大型研究施設戦略活用プログラム成果報告書 S-SPRING-8 戦略活用プログラム (2006B) pp.20-22.
- 4) 小幡誉子、平成 19 年度先端大型研究施設戦略活用プログラム成果報告書 S-SPRING-8 戦略活用プログラム (2007A) pp.9-10.
- 5) N.Ohta, S.Ban, H.Tanaka, S.Nakata, I.Hatta, Swelling of intercellular lipid lamellar structure with short repeat distance in hairless mouse stratum corneum as studied by X-ray diffraction, *Chem.Phys.Lipids*, **123**, 1-8 (2003).