

実験課題番号 2006A0101
実験課題名 外用剤製剤成分適用による皮膚角層脂質の構造および熱挙動の変化
実験責任者 星薬科大学 小幡誉子
使用ビームライン BL40B2

【目的】

皮膚の物質透過性を支配するといわれている角層は厚さ $20\mu\text{m}$ 程度の薄い膜であり、積層する十数層の角質細胞の間隙を脂質ラメラが埋めている構造で、角層の存在により哺乳類をはじめとする生物は異物侵入や体内水分蒸散から体を守り、恒常性の維持が可能になっている。これまでの研究によりこの脂質ラメラの規則正しい構造が角層の障壁能の本体であることが明らかにされている。皮膚は、外用剤の適用部位であるが近年では、消炎鎮痛のような局所作用だけでなく喘息治療のように全身作用を目的とした経皮吸収型製剤の適用部位としても再認識されるに至っている。しかしながら、薬物の皮膚透過は角層の障壁能によって制御され、通常の状態では治療上有効な量の薬物を皮膚から体内へ送達することは困難である。したがって、角層の脂質ラメラの構造や、外用剤の成分がラメラ構造に与える影響を調べることは、今後の外用剤および経皮吸収型製剤の開発にとって重要と考えられる。すでに SPring-8 で行われた実験では、薬物の透過実験で繁用されるヘアレスラットの角層が、一定の周期をもつラメラ構造を有し、外用剤の製剤成分として広く用いられているエタノールや *l*-メントールの適用により角層脂質由来の回折ピークの強度が減少することを見出した¹⁾。さらに、*l*-メントールとエタノールの適用は、密な構造を形成する脂質量を減少させて、その結果として薬物の透過経路を拡大している可能性が示唆された²⁾。そこで今回は、相転移を含めた角層脂質の熱挙動に対するエタノールや *l*-メントールの影響を検討した。

【実験方法】

角層の剥離・処理：ヘアレスラット腹部摘出皮膚をトリプシン溶液 (0.1%) に 24 時間浸漬後、角層を剥離した。剥離した角層は洗浄・乾燥して実験に供した。予め定めた条件に調製したエタノール溶液あるいは *l*-メントールのエタノール溶液中に角層を浸漬し、 37°C に加温した恒温槽中に静置した。所定時間後に、角層を取り出し目標の水分量に調製しガラス管 ($\phi 1\text{mm}$) に充填して X 線回折測定用試料とした。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。加熱ステージシステム (メトラ社製：FP84HT) を、試料ホルダーとして使用しながら液体窒素を冷媒として温度走査を行った。波長 0.08nm (15keV)、試料から検出器までの 400mm を真空引きし、 $300\text{mm} \times 300\text{mm}$ 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】

ヘアレスラット角層の広角X線領域における温度走査プロファイルの等高線図を Fig. 1 に示した。2.4nm⁻¹ (d=0.41nm) 付近に非常に強い回折ピークがあり、また 40°C付近でこのピーク強度が著しく減少し温度上昇により相転移する様子が認められた。2.4nm⁻¹ (d=0.41nm) 付近の回折ピークは、脂質の六方晶および斜方晶の格子面間隔の大きい構造由来と考えられており、2.7 nm⁻¹ 付近 (d=0.37nm) の回折強度の変化と合わせて考えると、ヘアレスラットの角層においても 40°C付近で斜方晶が消失することが明らかである³⁾。

次に 2.4nm⁻¹ (d=0.41nm) 付近のピークについて詳細な解析を行った。各温度における回折プロファイルをローレンツ関数で近似して、積分強度、ピーク位置および半値幅を求め、さらに、角層脂質の大半が固体状態として存在すると考えられる 10°Cにおける積分強度をもとに回折強度の変化率を求めた。まずコントロールの角層では、相転移点である 40°Cを中心として、10°Cから 40°Cおよび 40°Cから 70°Cにかけて二相性の上に凸の曲線が得られた (Fig. 2(a))。これに対してエタノールおよび *I*-メントールを 8 時間適用した角層では 40°Cから 70°Cにかけての強度はすべてでコントロールより減少した。したがって、エタノールや *I*-メントールの適用は、高温型六方晶の形成に対して影響をおよぼす可能性が示唆された。また、2% *I*-メントールを適用した角層では、10°Cから 40°Cにおいても他の試料と異なり、温度の上昇に伴う速やかな強度の減少が認められた。このことから 2% *I*-メントールを適用した場合には、室温から体温領域での脂質の構造も *I*-メントール分子が脂質ラメラ構造内に入り込むことにより脆弱化して、温度上昇に対してより液状化しやすい状態であると推察される。我々はすでに、25°Cにおける回折強度の変化から *I*-メントールの適用により六方晶が減少することを報告しているが⁴⁾、今回の実験から室温付近はもとより広い温度領域において *I*-メントールの適用により六方晶が減少することが明らかになった。一方、ピーク位置の変化 (Fig. 2(b)) は、相転移温度付近まで僅かに格子面間隔が増大する傾向を示し、また 50°C付近からも同様に形成された高温型六方晶において温度上昇に伴ってその格子面の間隔が増大した。また、温度に対する半値幅の変化はすべての試料で同じ傾向だったが、2% *I*-メントールの適用では相転移温度以下の領域で、他の試料に比較して大きな値を示した。さらに、斜方晶の格子面間隔の小さい構造 (d=0.37nm) に関しても 2% *I*-メントールの適用で格子面間隔増大の傾向が認められたことから、脂質の構造全体が分布をもった脆弱な状態となっている可能性がある。

以上の結果から、エタノールや *I*-メントールのような外用剤製剤成分は外部から加えられる熱に対して角層脂質がその充填性を維持する機能を低下させ、障壁としての緻密な構造を脆弱化させることにより結果的に薬物の皮膚透過促進に寄与していると考えられる。

【引用文献】

- 1) Y.Obata et al., SPring-8 User Experiment Report No.15 (2005A), p.189.
- 2) 小幡誉子、平成 17 年度先端大型研究施設戦略活用プログラム成果報告書 SPring-8 戦略活用プログラム (2005B)、p.90.
- 3) I.Hatta, et al., Thermochemica Acta, **431**, 94-97 (2005).
- 4) Y.Obata et al., J.Contr.Rel., in press.

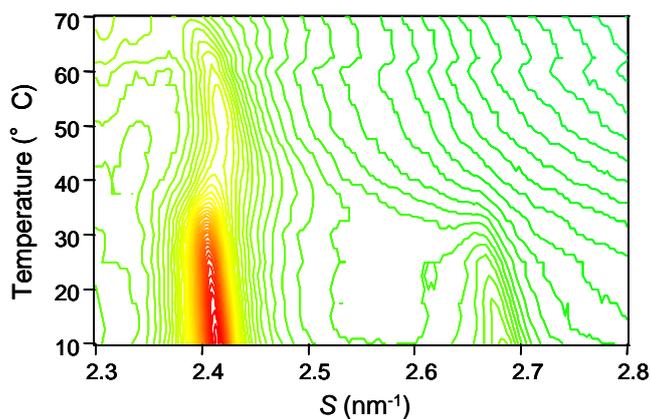


Fig.1 Intensity contour map of wide-angle X-ray diffraction of hairless rat stratum corneum. Contour line is described every 100 arb.units.

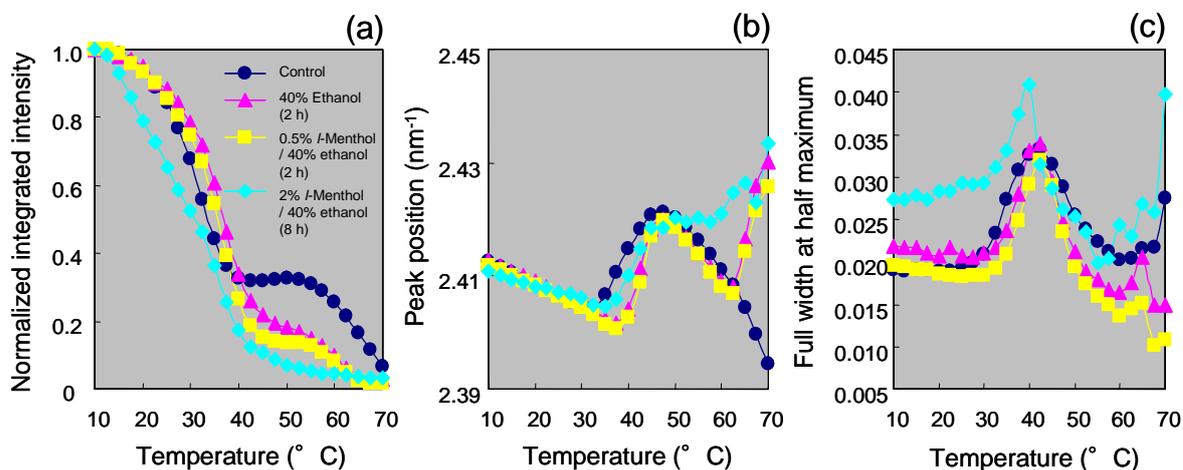


Fig.2 Change of normalized integrated intensity (a), peak position (b) and full width at half maximum (c) of the diffraction peak of the lipids at 2.4 nm^{-1} treated with water (control), 40% ethanol, 0.5% *l*-menthol / 40% ethanol or 2% *l*-menthol / 40% ethanol.