

経皮吸収型製剤の開発における皮膚角層脂質ラメラ構造の動的変化の利用

○小幡蒼子¹, 八田一郎², 太田昇², 井上勝晶², 八木直人²
(¹星薬大, ²SPring-8/JASRI)

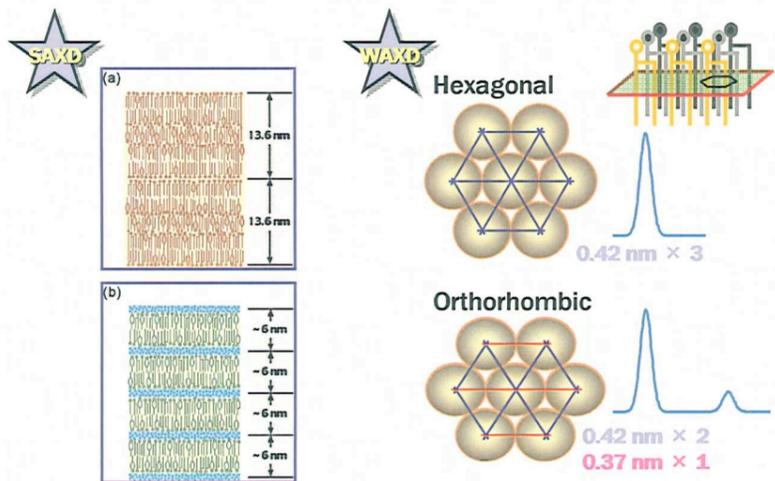
Introduction

生体の恒常性維持のために、皮膚には外来異物の侵入防御や体内水分蒸散防止の機能が備わっているが、この機能の中心的役割を果たしているのは角層細胞間脂質の規則正しい配列である。第15改正日本薬局方に「経皮吸収型製剤」が新規収載され、皮膚は、従来行われてきた局所治療目的の外用剤の適用部位としてだけでなく全身治療を目指した薬物の投与部位として見直され、多くの関心を集めている。しかしながら、薬物の皮膚透過は脂質の規則正しい配列すなわちラメラ構造によって制御され、通常の状態では治療上有効量の薬物を皮膚から体内へ送達することは難しい。そこで、薬物の皮膚透過を促進する化合物を併用することにより、薬物吸収性を増大させる試みが数多く行われているが、適用した化合物による効果の大小や間接的な作用機構の検討の報告例はあるものの分子レベルで作用部位の角層脂質の構造変化を直接観察した例はほとんどなかった。そこで、我々は、SPring-8の放射線X線回折を利用することにより、薬物の透過実験で頻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メントール等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^{1,2)}。さらに、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^{2,3)}。また、製剤成分を適用した角層の温度走査実験の結果、高温型六方晶の出現が認められなくなった³⁾。高温型六方晶は、室温～体温領域では斜方晶として存在すると考えられていることから⁴⁾、製剤成分は斜方晶に影響を及ぼす可能性がある。しかしながら、これまでは予め製剤成分を適用した角層を乾燥して構造観察を行ったため、個体差による角層の回折プロファイルの違いに左右されて、回折プロファイルの微細な変化に基づく構造変化の議論が困難であった。そこで、溶液状態の化合物を角層に直接適用しながら経時的に回折プロファイルを得ることが可能な溶液セルが考案された^{5,6)}。これは、皮膚表面近傍に製剤適用時の状況を再現しながらその構造変化の測定ができる画期的な方法である。本研究では、溶液セルを用いて実験を行うことにより経皮吸収促進剤が影響を及ぼす脂質構造を直接明らかにして、これまでに知られている作用機構との関連を明らかにした。

References:

- 1) Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, K.Inoue, N.Yagi, N.Kunizawa, SPring-8 User Experiment Report No.15 (2005A), p.189.
- 2) Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, N.Kunizawa, N.Yagi, K.Takayama, J.Contr.Rel., **115**, 275-279 (2006).
- 3) 小幡蒼子、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.
- 4) I.Hatta, N.Ohta, K.Inoue, N.Yagi, Biochim.Biophys.Acta, **1758**, 1830-1836 (2006).
- 5) 特願2006-239164 (発明者: 八田一郎、浦井義一)
- 6) 小幡蒼子、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 SPring-8戦略活用プログラム (2006A)、p.1.

Representation of X-ray diffraction of stratum corneum lipids



Experimental

角層の剥離: トリプシン溶液 (0.1%) にヘアレスラット (12週齢, 雄) 腹部摘出皮膚を24時間浸漬し、剥離した角層を洗浄・乾燥して実験に供した。

化合物の適用: 種々の化合物を角層に直接適用して、室温で経時的にX線回折測定を行った。

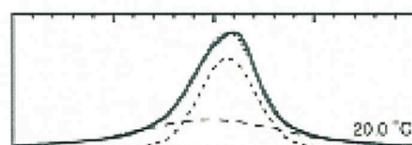
X線回折測定: SPring-8ビームラインBL-40B2において小角・広角X線回折測定を行った。

測定条件

検出: IP 標準物質: AgBh 波長: 1.0 Å カメラ長: 約400mm (小角・広角)

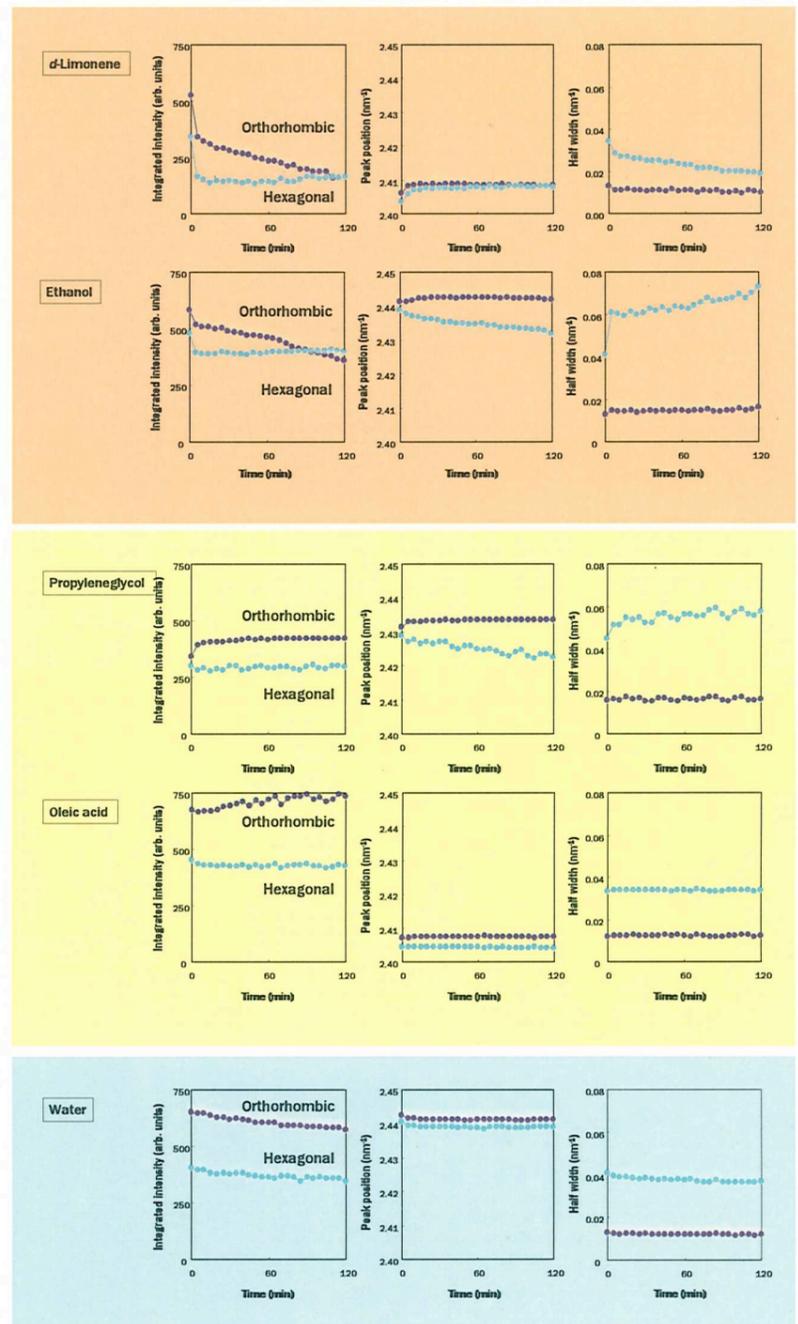
Data analysis

$$I = I_1 \exp \left[-\frac{(S - S_1)^2}{2\sigma_1^2} \right] + I_2 \exp \left[-\frac{(S - S_2)^2}{2\sigma_2^2} \right]$$



Peak 1: Orthorhombic
Peak 2: Hexagonal

Effect of chemicals on the lateral packing of hairless rat stratum corneum lipids



Conclusions

広角領域にあらわれる回折ピークに着目して、角層脂質の充填構造の変化を調べるため、室温では $S=2.4\text{nm}^{-1}$ に重なってあらわれる斜方晶の格子面間隔の大きい構造由来のピークと六方晶のピークをカーブフィッティングにより分離した。その結果、 α -リモネンやエタノールでは、斜方晶のピークのみが減少し、六方晶のピーク強度にはほとんど変化が認められなかった。これらの化合物は、これまで目的薬物の皮膚中での「拡散の増大」に寄与するものと考えられてきたが、角層脂質の充填構造に由来する回折ピーク強度の減少は、透過障壁となっている構造化した細胞間脂質が溶解あるいは液晶化することによって皮膚の透過抵抗が減少することを意味している。一方、薬物の皮膚表面への分配の増大を引き起こすといわれているオレイン酸を用いて同様の検討を行ったところ、斜方晶のピークの回折強度が僅かに増大し、また六方晶の回折強度には変化がなかった。これは、一般的にオレイン酸の適用により角層脂質の流動性が増大するといわれているが、細胞間脂質の構造の観点から考えるとX線回折で観測される斜方晶および六方晶から成る比較的構造化したドメインにあまり影響を及ぼさず、オレイン酸が相分離を生じて油滴となっている部分に薬物が溶解することによって皮膚表面へのみかけの分配が増大し、結果的に薬物の皮膚透過が増大するものと考えられる。