

超音波の重畳照射による核酸医薬品の経皮無芯投与

東京農工大学 工学研究院 先端機械システム部門

倉科 佑太

1. はじめに

近年、薬物療法の進歩にともない、微量で強力な治療効果を発現する反面、副作用も強く投与に工夫が必要な薬物が数多く開発されてきた。このような創薬研究の中で“有効性”と“安全性”さらに“信頼性”に関して高い保証を与えるように、薬物の投与形態を最適な形に設計する“薬物投与の最適化”という考え方が強く意識されてきた。そのため、医薬品を標的作用部位へ任意のタイミングで必要な量を送り届ける技術である薬物送達システム（DDS）は現代医療において大きく注目を集めている。

薬物の投与経路は、治療効果を作用する重要な要因の1つである。一般に、薬物投与には、経口投与と注射による投与が用いられている。前者の場合には患者自身による服用の簡便さに優れているものの、消化管における吸収や肝臓において分解される傾向があり、有用性が低い。一方で後者の場合も即効性という利点があるが、患者の苦痛ならびにアレルギーやアナフィラキシーショックの発現などの問題を抱えている。したがって、現在ではこうした従来型の投与方法に替わる薬物の新しい投与経路の1つとして、皮膚を利用する経皮薬物送達システム（TDDS）がある。

経皮送達における最大の課題は、限られた薬物しか適用できないことである。現在、皮膚に投与される薬物は低分子量（ $< 500 \text{ Da}$ ）、親油性であること、さらに少量投与で効果があることを満たさなければならない。薬物の経皮吸収を改善する方法は、大きく化学的方法と物理的方法に分類される。前者には吸収促進剤の併用やプロドラッグ化が挙げられ、後者にはイオントフォoresis、ソノフォoresis、マイクロニードル法などが挙げられる。

こうした手法の中で、本研究では物理的に薬剤を投与できるソノフォoresis に着目した。超音波を用いた TDDS における機構の詳細はいまだに明らかになっていないが、主にキャビテーションが寄与していると考えられている。ソノフォoresis には、 20 kHz – 16 MHz の範囲のさまざまな周波数の超音波が使用されており、使用される超音波周波数に基づいて低周波（ $< 3 \text{ MHz}$ ）、治療用（ $1\text{--}3 \text{ MHz}$ ）、高周波超音波（ $> 3 \text{ MHz}$ ）に分類される。そのメカニズムは、急激な圧力変動により発生するキャビテーションの気泡崩壊により衝撃波が放出され、角質層に構造的な変化を引き起こすことと、発生するマイクロジェットにより薬剤が皮下に投与されることの2つが生じるためである。

2. ソノフォoresisの課題

分子量の大きな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高侵襲な注射投与である。これは生体高分子薬剤の表面特性と分子量の大きさから、皮膚表面の角質層の通過が難しいことにより、経皮投与が困難なためである。ゆえに、生体高分子薬剤の投与には、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つとしてニードル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．ソノフォレシスは上記に示したように低周波（kHz 帯）の超音波により発生するキャビテーションバブルの崩壊に誘起される衝撃波とマイクロジェットによって経皮投与を可能にする．具体的には衝撃波により，経皮投与を阻害する皮膚表面の角質層を破壊する．また，マイクロジェットの作用により，高分子量の生体高分子薬剤も投与可能な方法である¹⁾．しかし，従来の技術ではマイクロジェットが指向性を持たないことから，安定した薬剤投与は困難であり，従来のソノフォレシスでは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散発的であるためである．このため，核酸医薬品をはじめとする生体高分子薬剤の経皮投与は注射以外では困難であった．

そこで，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，マイクロジェットの代替として高周波（MHz 帯）の超音波により誘起され，指向性に優れている音響流に着目した．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（Fig.1）．また，モデル薬剤としてオボアルブミンを用いた本コンセプトでの皮膚への薬剤投与を実施した．加えて，核酸医薬品の導入に用いるためのウェアラブルデバイスの最適化を実施した．

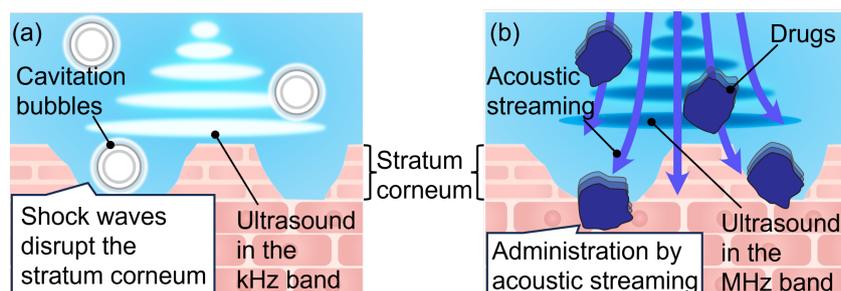


Fig. 1 Concept of administration of transdermal drugs by sequential ultrasound irradiation in the (a) kHz and (b) MHz band.

3. 異なる周波数の超音波の順次照射実験

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，5つの照射条件でブタ皮膚に生体高分子薬剤モデルを投与した．超音波照射デバイス（Fig. 2）に固定したブタ皮膚に 100 μ L 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．比較として (v) 超音波を照射しない塗布（10 分）を用意した．超音波照射後，各条件の皮膚を溶解し，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．本実験を実施するための超音波照射デバイスは，2つの振動子を用いて構築した．kHz 帯の照射には共振周波数 46 kHz のランジュバン型振動子^{2,3)}を搭載し，MHz 帯の照射には共振周波数 2 MHz の piezoelectric 素子をシリコンゴムの治具で挟み込み，皮膚

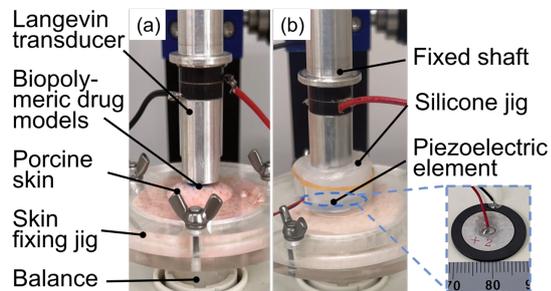


Fig. 2 Ultrasound irradiation devices with (a) kHz and (b) MHz band irradiation.

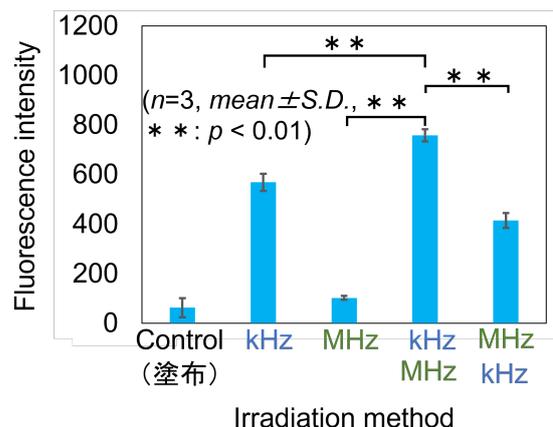


Fig. 3 Fluorescence-modified ovalbumin administered by various ultrasound irradiation conditions. Relationship between frequency and fluorescence intensity.

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 (Fig. 2)。

皮膚溶液の蛍光強度測定の結果 (Fig. 3) 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。この結果から、従来の kHz 帯のみと比較して、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た。また、MHz 帯を先に照射した条件では、kHz のみの超音波照射と比較して投与量が減少することが示された。このことから、kHz 帯の超音波を先に照射することが重要であることが示された。

4. 核酸医薬投与のためのウェアラブルデバイスの製作

上記の実験を踏まえて、核酸医薬を投与できるように複数の超音波振動子を用いた投与ではなく、振動子一つを用いて超音波経皮薬剤投与を実現するためのウェアラブルデバイスを設計した。ディスク型のチタン酸ジルコン酸鉛 (PZT) は kHz 帯と MHz 帯に共振周波数をもつことから、単一の振動子で kHz 帯と MHz 帯の順次照射に期待できる。しかし、PZT は kHz 帯において、ランジュバン型振動子よりも出力が小さい。このため、超音波経皮投与を可能とするだけの音圧を得ることが難しく、発生するキャビテーションバブルが少なくなることから、ソノフォレシスによる薬剤投与効率が低下する。

そこで本研究では、PZT に金属板を貼り付けることで、ユニモルフ型 PZT を製作した。これにより単一振動子で kHz 帯と MHz 帯の超音波を高出力で照射可能な超音波デバイスを実現した。具体的には、PZT の片面に真鍮板を圧着するユニモルフ構造により、面外方向への変位を屈曲変位へ変換することで振幅を増幅させ、kHz 帯においても高出力で照射可能なデバイスを開発した (Fig. 4a)。PZT と 3 種類の異なる大きさや厚さの真鍮板を使用して作製した。その際、振動子と真鍮板は、接着後に 3 N/mm² の力で 24 時間圧着した。なお、製作した振動子の共振周波数はインピーダンスアナライザによって計測した。さらに、共振時の振動モードを把握するため、有限要素解析ソフト (COMSOL Multiphysics) によりモード解析を行なった。

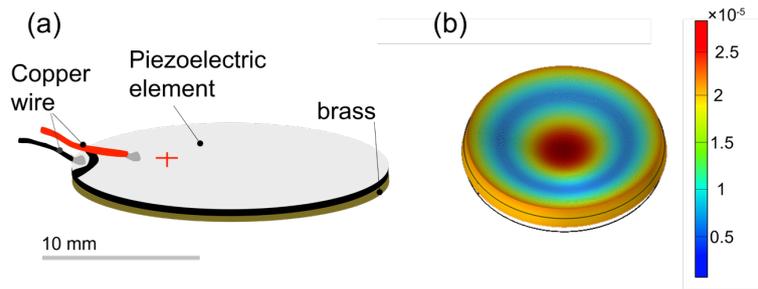


Fig. 4 Fabricated device and analysis of the device. (a) An unimorph piezoelectric device with 1 mm thickness and 20 mm diameter of brass disk plate. (b) Modal analysis by finite element method using the unimorph piezoelectric device.

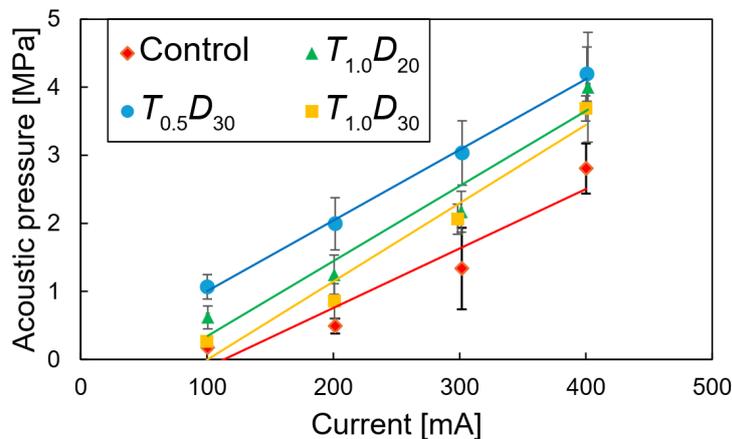


Fig. 5 Relationship between the output current of each device and acoustic pressures. T and D are thickness of brass disk plate and diameter of brass disk plate, respectively. Note that control is only PZT plate with 0.5 mm thickness (mean \pm SD, $n=10$).

はじめに、ユニモルフ型 PZT を製作する際に、励振される振動モードを有限要素法によるモーダル解析により求めた。その結果から、圧着後のデバイスの振動の様子を観察し、屈曲振動モードで共振することを確認した (Fig. 4b)。真鍮板を含む全体が屈曲する力が働くことで振幅が増幅し、kHz 帯の超音波の出力が高くなることが示唆された。また、それぞれのデバイスの出力は、光ファイバ型音圧プローブによる振動子中央部分の音圧測定によって評価した。音圧測定の結果において、PZT 単体に比べて各ユニモルフ型 PZT の音圧が約 2 倍となった (Fig. 5)。この音圧は、ランジュバン型振動子で必要だった音圧よりも高い音圧を示しており、ウェアラブル型に小さくして、かつ一つの振動子に統合したとしても十分に用いることができることが示された。

5. まとめ

本研究では、核酸医薬の超音波経皮投与を目的として、2つの異なる周波数の超音波を照射することで、効率よく高分子薬剤モデルが経皮投与できることを示した。これに加えて、実際の投与に適したウェアラブル型のデバイスを製作し、ユニモルフ構造とすることで音圧

の増幅に成功した。実験を通じて、このユニモルフ構造のデバイスが、先述した異なる周波数の超音波を順次照射するデバイスと同等の出力が可能であることを示した。すなわち、ウェアラブル型デバイスにおいて、所望の超音波を照射できることから、今後、核酸医薬を投与することに期待できるデバイスの製作が可能であることを示した。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、公益財団法人天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました。ここに記して謝意を示します。

参考文献

- 1) Nina Deagicevic *et al.*, “Percutaneous Penetration Enhancers Physical Methods in Penetration Enhancement,” *Springer*, 495, 2017
- 2) Yuta Kurashina *et al.*, “Quantitative Analysis of Acoustic Pressure for Sonophoresis and Its Effect on Transdermal Penetration,” *Ultrasound Med Biol*, 48, 2022.
- 3) Xue Xie *et al.*, “Transdermal delivery of bFGF with sonophoresis facilitated by chitosan nanocarriers,” *J Drug Deliv Sci Technol*, 75, 2022.