

経皮吸収型製剤の開発における皮膚角層細胞間脂質 ラメラ構造の動的変化の利用

星薬科大学 小幡誉子

【目的】

生体を外界から隔てる皮膚は、恒常性維持のために優れた障壁能を持っている。この障壁能は、皮膚表面の角層の細胞間脂質が形成する規則正しい配列、すなわちラメラ構造に由来することが近年の研究で明らかになった。皮膚は従来薬物の適用部位として、また化粧料の適用部位としても非常に重要な位置づけにあり、最近では欧米に限らず日本国内でも、「経皮吸収型製剤」が広く利用され、医療の現場で高い評価を受けている。このような背景のなかで、第15改正日本薬局方（2006年3月31日公示）に「経皮吸収型製剤」が新規記載され、皮膚は、これまでの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ている。

しかしながら、物質の皮膚透過は角層細胞間脂質のラメラ構造によって制御されているため、通常の状態から皮膚から薬物を体内に送達して治療域の体内薬物濃度を確保することは容易ではない。そこで、製剤中に薬物の皮膚透過を促進する化合物を共存させて、吸収改善を図る「経皮吸収促進剤」の研究が広く行われ、吸収促進剤の効果について多くの薬物を用いて検討されてきた。またその作用機序についての研究も多数報告されている。我々はこれまでに、天然物であり食品等にも利用され、また医薬品、医薬部外品、化粧品など広く製品に配合されている *l*-メントールを中心としてまたその関連化合物について、様々な性質の薬物の経皮吸収を促進することを明らかにし、これらの化合物がそれぞれの薬物の皮膚表面への分配や皮膚中での拡散の増大に寄与することも報告してきた¹⁾。しかし、これまでのところ障壁能の中心である角層細胞間脂質の構造と吸収促進効果の関連を分子レベルで調べた例は僅かである²⁾。様々な化合物が角層細胞間脂質のラメラ構造に及ぼす影響を検討することは、経皮吸収型製剤の開発に留まらず、皮膚表面の状態を健やかに保つ目的で適用される化粧料の開発においてもその基盤技術に寄与するものである。

すでに行われた実験で放射光 X 線回折は角層細胞間脂質の構造解析に有用なツールであることが明らかになっているが³⁾、角層のような生体由来の試料の回折測定では、ときとして回折プロファイルの個体差により適用した化合物の惹起する変化に焦点をあてた議論が困難な場合もある。そこで、あらたに開発された溶液セルを使用した実験では、固定した角層に液体を直接適用して回折プロファイルの経時変化を求めることによって個体差を排除した評価が可能となった⁴⁾。さらに、化合物の適用前の回折プロファイルとの差分を求める解析により、適用した化合物の影響をより高精度に感知することができると考え、今回は実験動物の角層を用いて、適用する化合物と細胞間脂質の動的変化の関連を推定した。

【実験方法】

角層の剥離・処理：ヘアレスマウス、ヘアレスラットあるいはブタ摘出皮膚をトリプシン溶液に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。

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】

薬物の経皮吸収促進作用を示すことが知られている *d*-リモネンや 1,8-シネオールおよびメントールエチルエーテル誘導体のような化合物の適用では、適用時間の経過に伴って、細胞間脂質由来の回折ピークの減少が認められ、差分解析の結果から、これらの化合物が細胞間脂質に大きな影響を与えていることが明らかになった。また、これらの化合物はすでに、薬物の皮膚中での拡散を増大させて薬物の皮膚透過を促進することが知られていて、角層中の透過障壁として働く細胞間脂質の構造変化により障壁能が低下すると考えることにより、作用機構と細胞間脂質の構造変化はよく対応するといえる。

また、オレイン酸やプロピレングリコールの適用では広角領域にあらわれる充填構造由来の回折ピークの強度変化は小さいものの、小角領域で観察されるラメラ構造由来の回折ピークの差分解析では強度減少を示していることから、細胞間脂質の構造に対して少なからず影響をおよぼすものと推察した。

これに対して、エタノール、イソプロパノール、*N*-メチル-2-ピロリドンなどの適用では、広角領域の脂質由来の回折ピークの付近のブロードにあらわれるソフトケラチンの回折が大きな変化を生じていることが明らかとなった。さらに、小角領域では、ビームストップに近い低角で得られる回折の強度が時間とともに増大した。すなわち、これらの化合物の適用では脂質の回折ピークの強度が多少影響を受ける一方で、ソフトケラチンの構造が大きく変化している可能性が示唆された。また、広角領域の変化に限ってはプロピレングリコールの適用においても同様の現象が認められた。したがって、これらの化合物は構造化した細胞間脂質への働きかけの度合いは相対的に小さく、液晶化している細胞間脂質に作用している可能性が考えられる。

以上のように、今回実験で角層に適用した化合物は、差分解析の結果から細胞間脂質に影響を与える化合物と、ソフトケラチンへの影響の大きい化合物に大別されることが明らかになったが、それぞれの化合物の角層に対する挙動はヘアレスマウス、ヘアレスラット双方の角層で一致した。さらに、ブタ角層でも同様の傾向が認められた。加えて、代表的な脂質抽出溶媒として知られているクロロホルム：メタノール混液 (**2:1 in volume**) の適用では、ヘアレスマウス角層ではその細胞間脂質由来の回折強度は一次反応に従って減少した。一方、ヘアレスラット角層では細胞間脂質の溶出は非常に迅速で適用直後に充填構造由来の回折が消失した。この結果から、ヘアレスラット角層細胞間脂質は抽出溶媒に対して非常に溶解しやすい性質を持っている可能性が示唆された。

今後は、ヒト角層での種々の化合物の影響を評価することにより、経皮吸収型製剤や化粧品に繁用される化合物と角層細胞間脂質の構造変化の関連を明らかにして、より高い効果と安全性を備えた製品開発に役立てたいと考えている。

【参考文献】

- 1) Y.Obata, Y.Maruyama, K.Takayama, *Pharm.Res.*, **23**, 392-400 (2006).
- 2) Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, N.Kunizawa, N.Yagi, K.Takayama, *J.Contr.Rel.*, **115**, 275-279 (2006).
- 3) I.Hatta, N.Ohta, K.Inoue, N.Yagi, *Biochim.Biophys.Acta*, **1758**, 1830-1836 (2006).
- 4) 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 **SPring-8** 戦略活用プログラム (2006B)、p.20-22.