

論文審査の結果の要旨

氏名：宮坂 美行

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名： レシチン逆紐状ミセルのレオロジー特性と水溶性薬物の毛包を介した皮膚浸透に関する研究

審査委員：(主査) 教授 田口博之

(副査) 教授 鈴木豊史 教授 橋崎 要

化粧品・薬用化粧品（医薬部外品）等のスキンケア品は、有効性と安全性が求められ、その両立には機能発現部位において有効成分を適切な濃度に制御する必要がある。一方、機能発現部位における有効成分の濃度は、皮膚に塗布された有効成分が当該部位へ到達する速度と量に左右され、これらの制御には有効成分と投与基剤の物理化学的性質並びにそれらが皮膚浸透に及ぼす影響を明らかとすることが必須である。皮膚に塗布された有効成分は浸透ルートの影響も受け、特に水溶性薬物は毛包などの皮膚付属器官等を介し皮膚深部まで浸透することは既に報告されているが、有効成分と同時に適用された基剤の物理化学的性質が毛包浸透に与える影響に関する報告は少ない。

レシチン逆紐状ミセル（LRW）は、レシチンが油中で形成する分子集合体の一種であり、レシチン、極性物質、油剤の3つの成分を混合することにより得られる粘弾性体である。また、様々な薬物を可溶化できるため、LRWは経皮適用製剤として期待されている。

本論文では、油剤として皮膚に塗布できる流動パラフィン（LP）及び皮膚透過促進作用を有するミリスチン酸イソプロピル（IPM）を用いたLRWのレオロジー特性並びに水溶性薬物のモデルとして蛍光物質である6-カルボキシフルオレセイン（CF）を配合したLRWからのCFの皮膚透過及び毛包浸透に与える影響について検討が行われ、以下の成果を示した。

第1章では、レシチン逆紐状ミセルのレオロジー特性に及ぼす流動パラフィンの物理化学的性質の影響について示された。

皮膚適用製剤に用いられる代表的な油剤であるLP（粘度グレードが異なる5種類；LP-A, -B, -C, -D, -E）と代表的な極性物質である水からなるLRWの生成範囲とレオロジー特性について検討が行われた。LPの動粘度は分子量の増加に伴い上昇し、分子量の小さいLP-Aは少量の水でLRWを形成したが、分子量の大きいLP-D及びLP-Eは水の濃度に関係なくLRWを形成しなかった。LPへのレシチンの溶解度は分子量の小さなLPの方が高く、LP-Aでは5%であったが、LP-D及びLP-Eでは約0.1%であり、レシチンの油剤への溶解度がLRWの形成のしやすさに影響することが明らかにされた。

LRWのレオロジー特性について、定常流粘度測定及び周波数分散測定により検討が行われた。LRWの粘度は特定のせん断速度までは一定でありニュートン流動を示し、高いせん断速度では減少し非ニュートン流動を示した。また、LRWのゼロせん断粘度は、水の濃度の増加とともに増加した後は減少し、最大となるときの水の濃度はLP-A>LP-B>LP-Cの順であった。このことから、LRWの形成に分子量の大きいLPを用いたときは、少量の水で三次元ネットワークの形成に十分な長さのLRWが生成することが示された。一方、周波数分散測定の結果より、弾性を反映する貯蔵弾性率（ G' ）と粘性を反映する損失弾性率（ G'' ）はある周波数で交差し、交点より低周波数側では粘性が優位となり、高周波数側では弾性が優位となる粘弾性体の挙動を示した。

以上のことから、LPの分子量がLRWの形成のしやすさとレオロジー特性に影響を与えることが示唆された。また、LRWは低周波数領域では粘性挙動を示し、高周波数領域では弾性挙動を示す粘弾性体であることが明らかにされた。すなわち、LRWは容器からの取り出し時は固体の様であるが、皮膚に乗せた後は液体の様に振る舞うことが予想され、取扱のしやすさと皮膚上での広がりやすさを兼ね備えた製剤であることが見出された。

第2章では、水溶性薬物の皮膚透過に与えるレシチン逆紐状ミセルのレオロジー特性と組成の影響について示された。

一部の水溶性薬物は水に不安定であるため、これらの薬物の安定性を確保するために、水を含まない製剤が必要である。そこで、水の代わりにグリセロール（GL）及びD-リボース（RI）を極性物質としたLRW

が調製された。なお、油剤には、IPM と物理化学的性質が近く最も分子量の小さい LP-A を LP として用いた。皮膚透過試験には、水溶性薬物のモデルとして CF を、油剤のトレーサーとして脂溶性カルボシアニン色素 (DiI) が使用された。LRW (GL2.4LP、GL5.6IPM、RI3.0IPM) 及び一般的な油性基剤であるワセリンに CF と DiI を各 0.1% 添加した製剤 (VA) のレオロジー特性を調べたところ、製剤保管時の温度として 25°C 及び皮膚表面の温度である 32°C のいずれの温度においても VA は周波数の増加に伴い複素粘度 (η^*) が減少する非ニュートン流動を示した。その他の試料は、ある周波数までは一定の η^* を示し、その後減少する LRW に特徴的な変化を示した。また、いずれの温度においても VA は測定範囲において G' が優位である一方、LRW は低周波数領域で G'' が優位であり、皮膚上ではシワや毛包などの細かな皮膚構造へ浸透しやすいことが示唆された。

GL2.4LP、GL5.6IPM、RI3.0IPM 及び VA をフランツ型拡散セルに装着した食用ブタ耳皮膚に 24 時間適用し、CF の累積透過量、皮膚内 CF 量が測定された。適用後 24 時間における CF 累積量は、VA では $17.2 \pm 11.3 \text{ ng/cm}^2$ と低く、GL2.4LP においても VA と同様に低かった。RI3.0IPM ではやや改善はみられるものの有意差はなく、GL5.6IPM では $131 \pm 130 \text{ ng/cm}^2$ と有意な上昇がみられた。皮膚内 CF 量は、VA に比較して GL5.6IPM と RI3.0IPM が、また、GL5.6IPM と比較しても RI3.0IPM が有意に高く、GL5.6IPM は皮膚透過を促進し、RI3.0IPM は皮膚内に留まりやすいことが示された。LRW の組成の違いが、水溶性薬物の皮膚透過や皮膚内滞留性に影響することが明らかにされた。また、一般的な皮膚透過理論では、皮膚へ分配しやすく皮膚内薬物濃度が高くなるほど皮膚透過速度は高くないが、CF の累積透過量と皮膚内濃度の順は一致せず、分配と拡散以外の他の透過ルートへの寄与が示唆された。そこで、透過ルートを確認するため適用後 24 時間の皮膚断面の共焦点顕微鏡観察が行われた。GL5.6IPM 及び RI3.0IPM 適用群においては、角層に強い CF に由来する緑色及び DiI に由来する赤色の蛍光が認められ、表皮及び真皮において CF が認められた。さらに毛包内では CF 及び DiI が認められた。これらのことから、CF は IPM と共に角層に浸透し、その後表皮と真皮に浸透することが示された。また、毛包内に CF 及び DiI の強い蛍光が認められたことから毛包ルートへの寄与が示唆された。毛包と類似した大きさである $70 \mu\text{m}$ の細孔を有する脂溶性の膜であるポリプロピレンフィルターを用いた透過試験を行った結果、DiI の透過は、VA では全く認められなかったが、いずれの LRW でも認められ、 η^* が低いほど早いことが示された。しかし、高い毛包浸透性が予測される GL2.4LP の毛包浸透性は低く、レオロジー特性のみでは皮膚透過試験の結果を説明できなかった。毛包内には皮脂が分泌されており、基剤と皮脂との混和性が薬物の毛包への送達に影響することや、IPM は皮脂の相転移に大きく影響されることから、IPM を用いた LRW は、IPM による角層ルートへの透過促進効果に加え、そのレオロジー特性及び皮脂との相互作用により、毛包へ浸透することが明らかにされた。

以上、本論文は、LRW の経皮適用製剤としての有用性並びに水溶性薬物の毛包を介した皮膚浸透メカニズムについて貴重な知見を示しており、有効性と安全性を両立した経皮適用製剤の開発に有用な情報を提供した。

よって本論文は、博士 (薬学) の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 6 年 1 月 1 1 日