

令和元年5月31日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04085

研究課題名(和文) マイクロプラズマ照射による薬剤類経皮吸収促進の研究

研究課題名(英文) Study of transdermal delivery of drug using plasma irradiation

研究代表者

清水 一男 (Shimizu, Kazuo)

静岡大学・イノベーション社会連携推進機構・准教授

研究者番号：90282681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は大気圧マイクロプラズマを角質層へ照射し、薬剤類を経皮吸収促進する研究である。2種類の薬剤類を用いてマイクロプラズマ照射の経皮吸収促進効果を評価し、プラズマ照射による角質層への影響を解析、観察し以下の知見を得ることが出来た。
 (1) レチノイン酸トコフェリルを用いて経皮吸収実験を行い、マイクロプラズマ照射によって累積透過量が 70.2 ± 3.20 nLから 141 ± 38.4 nLに増加し、おおよそ2倍程度増加した(2)XPSによる皮膚の表面解析を行ったところ、マイクロプラズマ照射が角質層内の分子結合へ影響を与えていることが確認された。これによって角質層の脂質組成が変化していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はプラズマ照射のみでは困難と考えられてきた様々な疾患をも含めた医薬学領域への展開および医療行為におけるQOL向上を目的として、プラズマ照射による薬剤類の経皮吸収促進を目的とするものである。基礎過程としてプラズマ照射時における皮膚組織の物理化学変化分析による皮膚組織の改質プロセスの解明と実用技術として薬剤類導入時における皮膚バリア機能へのプラズマ照射作用を探求する事で、従来、皮膚への作用が困難とされてきた高分子薬剤など各種薬剤の非侵襲な経皮吸収促進、いわゆるプラズマドラッグデリバリーという実用応用技術という二つの側面を持ち、各種薬剤との相乗効果による多様な症状への適応可能性を検討した。

研究成果の概要(英文)：Atmospheric plasma is attracting interest for medical applications and clinical phases. We adduce the following questions to guide the future plasma medicine.
 In this study, we explored the feasibility of using atmospheric microplasma irradiation to enhance percutaneous absorption of drugs, as an alternative delivery method to conventional hypodermic needles, to treat various symptoms, such as those associated with Alzheimer's disease. Pig skin was used as a biological sample, exposed to microplasma irradiation, and analyzed by attenuated total reflection-Fourier transform infrared spectroscopy. The results show that the stratum corneum could be chemically and physically modified by microplasma irradiation. Physical damage to the skin by microplasma irradiation and plasma jets was also assessed by observing the skin surface. The results suggest that microplasma irradiation has the potential to enhance percutaneous absorption.

研究分野：マイクロプラズマ応用

キーワード：マイクロプラズマ 経皮吸収 ドラッグデリバリー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

プラズマプロセスは高真空中での半導体製造プロセスにおいて産業界に大きな役割を果たしてきたが、昨今、激しい半導体業界の競争環境の中、簡易な大気圧プラズマプロセスが注目を浴びるようになってきた。それらはプラズマ応用技術として異業種の農業分野あるいはプラズマ医療分野として展開され国内外で注目されてきている。現在もプラズマ医療分野では国内外において生体への直接的なプラズマジェット照射や液体培地などへのプラズマ照射による間接的なガン細胞処理などを中心にプラズマ医療に関する研究の質と量は年々、拡大してきている。

研究代表者グループもプラズマ照射が細胞死誘導や細胞活性化という相反する作用を生体に及ぼすこと、すなわちプラズマ照射条件により、生体細胞への作用は大きく異なることを見出してきた(R. Takahashi, K. Shimizu, Odontology, 2015 など)。しかしながら生体におけるプラズマ照射による作用機序はプラズマによる多様な効果(紫外線、電界、活性種など)と生体分子におけるシグナル伝達機構、生体自身の活性化(代謝物質産生・発現)など複雑な反応経路を伴うため未だ不透明な部分が多い。現状では ROS (Reactive Oxygen Species), RNS (Reactive Nitrogen Species)などの活性種の効果によるとされているが、それらの反応機構は未だ明らかではないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究はプラズマ照射を殺菌やガン細胞のアポトーシス誘導など従来のプラズマ医療研究における対象・症例を、適切な薬剤類とプラズマとの相互作用により拡張し、従来、プラズマのみでは困難と考えられてきた様々な疾患をも含めた分野への展開および医療行為における QOL 向上を目的とする。具体的にはプラズマ照射による薬剤類の経皮吸収促進、すなわち新たなドラッグデリバリー手法の開発でありプラズマを非接触かつ非侵襲でありながらも「注射針」の代替技術とすることを旨とする。最終的には人体を対象として治療を行うため、痛みを生じないプラズマ照射による薬剤導入時のプラズマと皮膚組織との相互作用を明らかにしていく。プラズマ医療研究を多様な疾患に適応させる事はプラズマを医療への実用応用に供し、新たな展開をもたらすための挑戦でもあり、プラズマ医療として確立するには不可欠でもある。

3. 研究の方法

本研究課題ではプラズマ照射時の皮膚バリア機能性に焦点を当て、単にプラズマ照射による症状の改善だけではなく、プラズマ照射時間や投入線量は必要最小限度に留め、プラズマ照射の安全性に対する閾値を明らかにしながら、積極的な各種薬剤との相乗効果による多様な症状への適応可能性と本質的な医療効果への発展へ道筋をつけるべく、プラズマ照射による安全性確認として次の項目を検討した。

- 1) Vivo サンプルならびに小動物でのプラズマ照射効果および安全性
- 2) 皮膚バリア機能を定量評価するテープストリッピングテストとの比較

上記項目の検討により将来の実用応用も見越した安全性を確保すべくプラズマジェットと比べて 1/10 程度の駆動電圧で低温プロセスかつ皮膚表面電位も低いマイクロプラズマ照射との安全性と作用機構について明らかにした。Vivo モデルでは個体差が大きいため、試験結果にも差が出てくるのが想定されるが、その場合には妥当性を見出すためサンプル数を増やすなどして対処した。また申請時点までは比較的安価なピッグスキンを用いて予備的検討を行ってきたが、本研究ではヒト皮膚を本格的に導入して安全性やその皮膚バリア機能へのプラズマ照射の作用機構を基礎的に探索した。

4. 研究成果

本研究では大気圧マイクロプラズマを角質層へ照射し、N-アセチル-4-ヒドロキシプロリンとレチノイン酸トコフェリルの2つの薬剤を用いて経皮吸収実験を行ない、マイクロプラズマ照射の経皮吸収促進効果を評価した。また各種装置を用いて照射による角質層への影響を解析、観察し以下の知見を得ることが出来た。

(1) 分子量 173 g/mol で水溶性の薬剤である N-アセチル-4-ヒドロキシプロリンを用いて経皮吸収実験を行ったところ、マイクロプラズマ照射によって累積透過量が $10.8 \pm 1.29 \mu\text{g}$ から $13.2 \pm 3.42 \mu\text{g}$ に増加し、おおよそ 1.2 倍程度増加したことからマイクロプラズマ照射による経皮吸収性促進効果が確認された。

- (2) 分子量713 g/molで脂溶性の薬剤であるレチノイン酸トコフェリルを用いて経皮吸収実験を行ったところ、マイクロプラズマ照射によって累積透過量が 70.2 ± 3.20 nLから 141 ± 38.4 nLに増加し、おおよそ2倍程度増加したことからマイクロプラズマ照射による経皮吸収性促進効果が確認された。
- (3) FT-IR装置を用いて、マイクロプラズマ照射による角質層への影響を調べたところ、非対称伸縮 asym(CH₂)ピークのピーク位置がより高い波数へシフトしていることが確認され、角質層内の脂質鎖の立体配座構造が変化している事が示唆された。
- (4) 赤外線サーモグラフィを用いて、マイクロプラズマ照射時の皮膚表面温度を測定したところ、温度の大きな変化はなく、7分照射で表面最高温度は36.9 となった。このことから熱による角質層内の脂質への影響は少ないことが示唆された。
- (5) XPSによる皮膚の表面解析を行ったところ、マイクロプラズマ照射が角質層内の分子結合へ影響を与えていることが確認された。これによって角質層の脂質組成が変化していることが示唆された。
- (6) マイクロプラズマ照射をした皮膚の断面観察を行ったところ、照射による角質層の厚さの減少が確認された。また、角質層の剥離などが確認できず、均一に減少していたことから皮膚の損傷は少ないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

1. J. Kristof, T. Aoshima, M. Blajan, K. Shimizu, "Surface Modification of Stratum Corneum for Drug Delivery and Skin Care by Microplasma Discharge Treatment", Plasma Science and Technology, (Vol. 21, No. 6, 2019) DOI [10.1088/2058-6272/aafde6](https://doi.org/10.1088/2058-6272/aafde6). (査読有)
2. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan, and K. Shimizu, "Pharmacokinetics of Cyclosporine A of Transdermal Delivery Using Microplasma and Oral Administration", Recent Advances in Technology Research and Education, Proceedings of the 16th International Conference on Global Research and Education Inter-Academia 2017, pp. 161-168, (2017). (査読有)
3. J. Kristof, H. Miyamoto, An N. Tran, M. Blajan, and K. Shimizu, "Feasibility of transdermal delivery of Cyclosporine A using plasma discharges", Biointerphases, Vol. 12, No. 2, 02B402 (2017).(査読有)
4. J. Kristof, An. N. Tran, M. Blajan, and K. Shimizu, "A study of the Influence of Plasma Particles for Transdermal Drug Delivery", Advances in Intelligent Systems and Computing, Vol. 519, pp.167-173, (2016) (査読有)
5. K. Shimizu, An. N. Tran, K. Hayashida, and M. Blajan, "Comparison of atmospheric microplasma and plasma jet irradiation for increasing of skin permeability", J. Phys. D: Applied Physics, Vol. 49, No. 31, 315201, (2016). (査読有)
6. K. Shimizu, An. N. Tran, and M. Blajan, "Effect of microplasma irradiation on skin barrier function", Jpn. J. App. Phys., Vol. 55, No. 7S2, 07LG01, (2016). (査読有)
7. K. Shimizu, "Biological Effects and Enhancement of Percutaneous Absorption on Skin by Atmospheric Microplasma Irradiation", Plasma Medicine, Vol. 5, Issues 2-4, pp. 205-221, (2016). (査読有)

[学会発表](計 14 件)

1. T. Aoshima, J. Kristof, M. Blajan, and K. Shimizu, "Investigation of Atmospheric Pressure Microplasma Treatment for Transdermal Drug Delivery", 36th Symposium on Plasma Processing(SPP36)/The 31th Symposium on Plasma Science for Materials(SPSM31), (2019).
2. J. Kristof, T. Aoshima, M. Blajan, and K. Shimizu, "Surface Modification of Stratum Corneum for Drug Delivery and Skin Care by Microplasma Discharge Treatment", The 7th International Conference on microelectronics and Plasma Technology, (ICMAP2018), (2018).
3. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan and K. Shimizu, "Effect of Plasma Treatment on Lipid Molecules in Stratum Corneum", The 45th IEEE International Conference on Plasma Science (ICOPS2018), (2018).
4. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan, and K. Shimizu, "Effect of Plasma on Structure and Permeability of Epidermal Layer of Pig Skin", 2018 Annual Meeting of the Electrostatics Society of America, (2018).
5. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan, and K. Shimizu, "Transdermal Drug Delivery Using Microplasma", The 4th International Symposium toward the Future of Advanced Researches in Shizuoka University 2018, (2018).
6. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan, K. Shimizu, "Microplasma-Skin Interaction in Transdermal Drug Delivery", The 10th EU-Japan Joint Symposium on Plasma Processing JSPP2017, (2017).
7. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan, and K. Shimizu, "Pharmacokinetics of Cyclosporine A of Transdermal Delivery Using Microplasma and Oral Administration", Inter-Academia 2017, (2017).
8. J. Kristof, H. Miyamoto, M. Blajan, and K. Shimizu, "Feasibility of transdermal delivery by microplasma discharge", European Advanced Materials Congress,(Advanced Materials Laureate 2017), (2017).
9. J. Kristof, A. N. Tran, H. Miyamoto, M. Blajan, and K. Shimizu, "Skin permeability and transdermal drug delivery by plasma irradiation", The 18th Takayanagi Kenjiro Memorial Symposium, (2016).
10. J. Kristof, An. N. Tran, M. Blajan, and K. Shimizu, "Spectroscopic study of permeability of stratum corneum by plasma treatment for transdermal drug delivery", AVS 63th International Symposium & Exhibition, (2016).
11. J. Kristof, An. N. Tran, M. Blajan, and K. Shimizu, "A study of the influence of plasma particles for transdermal drug delivery", 2016 Inter-Academia in Warsaw, (IA2016), (2016).
12. K. Shimizu, An. N. Tran, K. Hayashida, and M. Blajan, "Feasibility study of plasma drug delivery for improving precutaneous absorption of skin", 6th International Conference on Plasma Medicine, (ICPM-6), (2016) ,(Invited talk).
13. J. Kristof, An. N. Tran, M. Blajan, and K. Shimizu, "Study of interaction between plasma and stratum corneum for transdermal drug delivery for improving precutaneous absorption of skin", 6th International Conference on Plasma Medicine, (ICPM-6), (2016) .
14. K. Shimizu, An. N. Tran, J. Kristof, and M. Blajan, "Investigation of atmospheric

microplasma for improving skin permeability”, 2016 Electrostatics Joint Conference, (2016).

〔図書〕(計 4 件)

1. K. Shimizu, J. Kristof, M. Blajan, “Atmospheric Pressure Plasma”, edited by Dr. Anton Nikiforov, Chapter 26, “Applications of Dielectric Barrier Discharge Microplasma”, pp. 14-20, Intech OpenAccess Publisher, ISBN: 978-953-307-511-2, (2018).
2. K. Shimizu, J. Kristof, “Plasma Medicine - Concepts and Clinical Applications”, edited by Y. Tutar, L. Tutar, Chapter 6, “Microplasma Drug Delivery”, pp. 101-120, Intech OpenAccess Publisher, ISBN: 978-1-78923-113-7, (2018).
3. 「高度物理刺激と生体応答」, 佐藤岳彦 大橋俊朗 川野聡恭 白樫了, 清水一男, “マイクロプラズマ照射による薬剤経皮吸収性向上の検討”, pp. 125-131, 発行 (株)養賢堂, 2017 年
4. K. Shimizu, and J. Kristof, “Advanced Technology for Delivering Therapeutics”, Edited by S. Maiti and K. J. Sen, Chapter 6, “Enhancement of Percutaneous Absorption on Skin by Plasma Drug Delivery Method”, pp. 111-136, Intech OpenAccess Publisher, ISBN 978-953-51-3122-9 (2017).

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://shimizu-lab.cjr.shizuoka.ac.jp/Researches/research.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者 無

(2)研究協力者

研究協力者氏名: Jaroslav KRISTOF

ローマ字氏名: Jaroslav KRISTOF

研究協力者氏名: 宮本 秀人

ローマ字氏名: MIYAMOTO Hideto

研究協力者氏名: 青島 知道

ローマ字氏名: AOSHIMA Tomomichi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。