

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01272

研究課題名（和文）重畳化した超音波照射による生体高分子の経皮薬剤送達システムの構築

研究課題名（英文）Transdermal drug delivery system of biomacromolecules by multiple ultrasonic irradiation

研究代表者

倉科 佑太（Kurashina, Yuta）

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：40801535

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：副作用が少なく、優れた薬効に期待できる生体高分子薬剤を低侵襲で投与できる可能性がある超音波経皮投与手法は、kHz帯の超音波により誘起されるキャビテーションバブルの崩壊により薬剤を投与する方法である。しかし、キャビテーションバブルが散発的に生じることから、誘起されるマイクロジェットは不安定であり、従来技術において薬剤投与量は限られている。そこで、本研究では新たな超音波照射方法を提案し、効率的な経皮薬剤投与手法を構築した。その結果、薬剤モデルの投与量が有意的に増加し、薬剤モデルが従来よりも深くまで投与可能であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、注射針を用いることなく、薬剤を皮膚から投与できる超音波薬剤投与の研究を実施し、新たに効率的に投与できる手法を開発した。従来の超音波投与手法よりも飛躍的に投与量が増加することや、より深く投与できた結果から、これまで実用化が困難であった超音波経皮薬剤投与システムを構築するための基礎的な知見を得ることができた。また、本現象がどのように生じるかというメカニズムについても議論することができた。この超音波による投与は注射針の安全性や侵襲性のリスクから解放される手法として用いることが考えられ、例えば常用投与を必要とする薬剤や発展途上国での使用など様々な応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：A minimally invasive method of transdermal ultrasound administration of biopolymeric drugs with few side effects and excellent efficacy is an approach in which drugs are administered by the collapse of cavitation bubbles induced by ultrasound waves in the kHz band. However, the amount of drug administered by conventional methods is limited because cavitation bubbles are generated sporadically and the induced microjets are unstable. In this study, we proposed a new ultrasound irradiation method and developed an efficient transdermal drug administration method. As a result, the administration of the drug model was significantly increased, and the drug model reached a deeper depth than the conventional method.

研究分野：超音波工学

キーワード：超音波 高分子医薬品 薬剤送達 経皮投与 ソノフォレシス

### 1. 研究開始当初の背景

感染症の新たなワクチンとして注目されている抗体医薬の開発をはじめとしたいわゆる“バイオ医薬品”と呼ばれる生体高分子薬剤は、従来の低分子薬剤と異なり、特異性が高いことから劇的な薬効と副作用の少ない治療が可能であると期待されている。一方で、親水性が高いために細胞膜を透過できず、消化器からの吸収が難しいため、経口投与が容易にはできない。医療従事者の処置を必要とせず、自ら薬剤を投与できる安全な投与ル

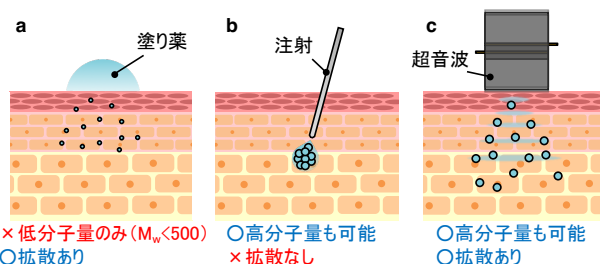


図1 経皮投与方法。(a)塗布, (b)注射, (c)超音波

ートとして他には皮膚からの経皮投与があるが、皮膚は体内と体外を隔てる境界臓器であり、外界に対して微生物や物理化学的な刺激から生体を防御するバリアとしての性質(角質層)を持つため、分子量が大きい生体高分子薬剤を浸透させることは困難である。すなわち、体内へ薬剤を投与するためには皮膚の角質層を突破する必要があるが、皮膚表面に薬剤を塗布(図1a)しても分子量の極めて小さい( $M_w < 500$ , 約1 nm以下)物質しか角質層を突破することができない(K. Maaden *et al.*, *J. Controlled Release* 2012)。一方で、注射による直接投与(図1b)では、局所的な投与は可能だが、体内での拡散には期待できず、基本的には医療従事者による投与が求められる。また痛みをともない患者に多大なストレスを与えるため、生体高分子薬剤の実用化には、全く新しい薬剤浸潤方法を提案することが急務である。このため、本研究では上記の方法に変わる超音波を用いた投与方法(図1c)に着目した。超音波は、腹部超音波検査や骨折治療器など様々な医療機器に取り入れられている物理的な刺激である。1990年代にはインスリンを含んだ溶液に浸漬させたマウスに超音波照射することで血糖値が下がる(K. Tachibana, *Pharm Res.* 1992; S. Mitragotri, *et al.*, *Science* 1995)ことが報告されており、この超音波による経皮浸潤現象はソノフォレシスと呼ばれる。これらの浸潤の生じるメカニズムは超音波により発生するキャビテーションの化学的・機械的な作用にある(図2a)。具体的には、キャビテーションにより発生した気泡が急激に収縮することで局所的な高温・高圧状態を生じ、i) この状態により発生するフリーラジカルと2次的に誘起される高活性の化学物質が角質に空孔を作り、ii) 気泡の急激な収縮とリバウンドにより引き起こされる衝撃波が細胞に機械的な作用を付与できることが報告されている(N. Dragicevic, 978-3-662-53271-3 2017)。

### 2. 研究の目的

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こととした。

### 3. 研究の方法

はじめに、本研究のコンセプトを示すために、kHz帯とMHz帯の超音波を照射する実験を実施した。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の投与を行った。超音波照射デバイス(図2)に固定したブタ皮膚に100  $\mu$ 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。

さらに、音響流(MHz帯)の照射距離が薬剤投与量に与える影響を評価することでソノフォ

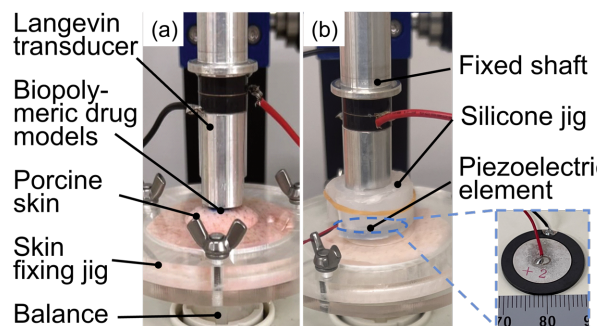


図2 製作した超音波照射装置。(a) kHzと(b) MHz帯の超音波を照射する装置。

レシスにおける音響流の有効性を評価した。4つの照射条件でブタ皮膚に生体高分子薬剤モデルの投与を行った。超音波照射デバイスに固定したブタ皮膚に100  $\mu\text{L}$  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。超音波照射は以下の4つの条件で行った。(i) 従来の方法として、kHz帯域の超音波を10分間照射した(control)。(ii)~(iv) 提案した方法として、kHz帯とMHz帯の超音波をそれぞれ5分間順次照射した。MHz帯は、(ii) 1 mm, (iii) 2 mm, (iv) 3 mmの距離で照射した。超音波の順次照射後、各条件の皮膚を溶解し、溶解した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。

#### 4. 研究成果

はじめに、本研究コンセプトが有効であるかを確かめるために、超音波照射デバイスを2つの振動子により製作した。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を搭載し、MHz帯の照射には共振周波数2 MHzのピエゾ素子をシリコーンゴムの治具で挟み込み、皮膚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(図2)。皮膚溶液の蛍光強度測定の結果(図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帯を先に照射する方法では、投与効率は向上せず、kHzからMHzへ順次照射することが重要であることも示された。

このkHzとMHzによる超音波照射による投与量向上の要因を調べるために、本研究で用いた周波数の音響流の流速の理論値を計算した。音響流の流速 $u$ は、運動量フラックスの関数 $f$ と音響流の幅 $S_1, S_2$ で表される(式1)。

$$u(0,0) = e \sqrt{\frac{2f(X)}{\pi S_1 S_2}} \quad (1)$$

関数から得られた結果は、本研究の条件下では、MHz帯の照射距離が長くなるにつれて流速が上昇することを示している(図4)。つまり、本実験の条件下では薬剤投与量が1~3 mmの範囲では増加することが示された。その後、実際に蛍光強度の定量評価を実施した。結果(図5)から、kHz帯の超音波照射後、3 mmの照射距離でMHz帯の超音波を照射した場合に、最も高い薬剤投与量が得られた。理論値では、照射距離を長く伸ばすことで流速が向上することから、流速の増加が薬剤の投与量を有意に向上した。

加えて、投与した後の皮膚から凍結切片を製作して、共焦点顕微鏡により投与深度を確認した。その結果、角質と表皮を突破して、真皮まで到達していることを確認した。血管の存在する真皮まで到達したことから、血中内に薬剤を投与できる可能性を示唆する結果を得られた。

これらの結果から、kHz帯とMHz帯の順次照射が、従来のkHz帯域のみの照射よりも効果的であることが定量的に示された。kHz帯とMHz帯を組み合わせた投与方法は、ソノフォレシスによる薬剤投与量の向上に寄与していることが示唆された。今後の研究では、さらに実践的な薬剤の投与研究や装置の小型化を目指し、社会に広く普及することを目指している。

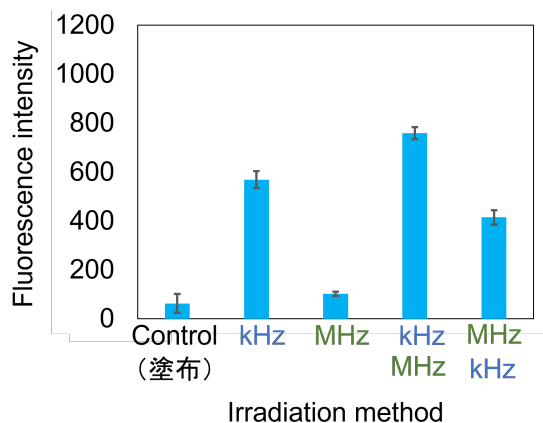


図3 様々な超音波照射条件による蛍光修飾オボアルブミンの投与結果。超音波の照射条件と蛍光強度の関係。

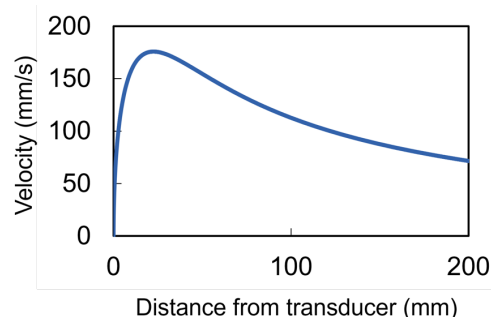


図4 本研究の照射条件と振動子から発生する音響流の流速の理論値

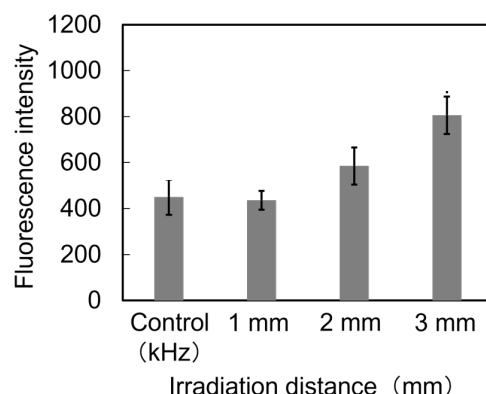


図5 超音波の照射距離と薬剤投与の関係。薬剤モデルとして蛍光修飾オボアルブミンを投与した際の蛍光強度。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Xie Xue, Kurashina Yuta, Matsui Makoto, Nomoto Takahiro, Itoh Munenari, Okano Hiroataka J., Nakamura Kentaro, Nishiyama Nobuhiro, Kitamoto Yoshitaka	4. 巻 75
2. 論文標題 Transdermal delivery of bFGF with sonophoresis facilitated by chitosan nanocarriers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Drug Delivery Science and Technology	6. 最初と最後の頁 103675 ~ 103675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jddst.2022.103675	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurashina Yuta, Asano Risa, Matsui Makoto, Nomoto Takahiro, Ando Keita, Nakamura Kentaro, Nishiyama Nobuhiro, Kitamoto Yoshitaka	4. 巻 48
2. 論文標題 Quantitative Analysis of Acoustic Pressure for Sonophoresis and Its Effect on Transdermal Penetration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 933 ~ 944
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ultrasmedbio.2022.01.021	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Orita Yasuhiko, Shimanuki Susumu, Okada Satoshi, Nakamura Kentaro, Nakamura Hiroyuki, Kitamoto Yoshitaka, Shimoyama Yusuke, Kurashina Yuta	4. 巻 94
2. 論文標題 Acoustic-responsive carbon dioxide-loaded liposomes for efficient drug release	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ultrasonics Sonochemistry	6. 最初と最後の頁 106326 ~ 106326
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ultsonch.2023.106326	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurashina Yuta, Asano Risa, Matsui Makoto, Nomoto Takahiro, Ando Keita, Nakamura Kentaro, Nishiyama Nobuhiro, Kitamoto Yoshitaka	4. 巻 48
2. 論文標題 Quantitative Analysis of Acoustic Pressure for Sonophoresis and Its Effect on Transdermal Penetration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ultrasound in Medicine & Biology	6. 最初と最後の頁 933 ~ 944
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ultrasmedbio.2022.01.021	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 倉科佑太
2. 発表標題 超音波アクチュエータを活用したバイオメディカルデバイスの開発
3. 学会等名 精密加工学会 春季大会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉科佑太, XueXie, 松井誠, 野本貴大, 伊藤宗成, 岡野ジェームス洋尚, 中村健太郎, 西山伸宏, 北本仁孝
2. 発表標題 ハイドロゲルナノカプセルを用いた生体高分子の超音波経皮徐放
3. 学会等名 日本機械学会 Dynamics and Design Conference 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuta Kurashina, Risa Asano, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, and Yoshitaka Kitamoto
2. 発表標題 Measurement and calculation of acoustic pressure on the effect of transdermal penetration by sonophoresis
3. 学会等名 The 42nd Symposium on Ultrasonic Electronics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 倉科佑太
2. 発表標題 超音波アクチュエータを活用したバイオメディカルデバイスの開発
3. 学会等名 精密加工学会 春季大会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuta Kurashina, Risa Asano, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, Yoshitaka Kitamoto
2. 発表標題 Effect of sonophoresis with various nanoparticles on transdermal drug delivery
3. 学会等名 The 12th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kengo Matsubara, Yuta Kurashina
2. 発表標題 Effects of Sequential Ultrasound Irradiation in The KHz and MHz Bands on Transdermal Administration of Biopolymeric Drugs
3. 学会等名 The 2024 MRS Spring Meeting & Exhibit
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 [1]経皮薬剤投与システム, 経皮薬剤投与方法及び経皮薬剤投与装置	発明者 倉科佑太, 松原健悟	権利者 倉科佑太, 松原健悟 国立大学法人 東京農工大学
産業財産権の種類、番号 特許、2023-184230	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野本 貴大  (Nomoto Takahiro)  (00734732)	東京大学・大学院総合文化研究科・准教授   (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------