

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 10日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791958

研究課題名（和文） 無痛的抗菌剤局所急速送達法の開発—交流矩形波を用いたイオン導入法—

研究課題名（英文） The new painless local application of antibiotics by use of iontophoresis with alternative current

研究代表者

脇田 亮 (WAKITA RYO)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：60376712

研究成果の概要（和文）：我々は交流イオントフォレーシスを用いた長時間の抗菌剤など薬剤局所投与を目的としてその通電条件を検討した。印加する波形は直流成分を含む変動電場が、薬剤担持材として用いるアルギン酸の濃度は1%以下が適していると思われた。しかし交流矩形波と正弦波では現在の条件下ではそれぞれ有利な点があり、今後さらに条件を検討する必要がある。

研究成果の概要（英文）：We have investigated the energized condition for the purpose of antimicrobial drug administration to the intradermal tissue for a long time using an AC iontophoresis. These results indicated that a variable electric field with a DC component were ideal for waveform to be applied and 1% or less concentration of alginate were suitable as the drug retention material. But we also revealed there are advantages in a sine wave and a square wave, respectively. Therefore it is necessary to examine more optimal conditions of iontophoresis using alternating current.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 2011年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2012年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,100,000 | 930,000 | 4,030,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：歯科麻酔学

1. 研究開始当初の背景

イオントフォレーシス（IOP）とはイオン化した薬物に電流をかけることにより泳動させ組織内へ薬物を浸透させる方法を言う。申請者らは、ニューロパシクペインなどの慢性疼痛に対する治療法として局所麻酔薬を用いた IOP を、局所除痛法として実際の臨床

においてもすでに用いている。しかし、通常 IOP に用いる直流電流では、皮膚（粘膜）への発赤・腫脹・火傷など副作用や、電気分極による通電時間の制限、pH の上昇などの問題が生じる。そこで我々は、変動電場である交流電流を用いた IOP（AC-IOP）を使用することによりこれらの問題が解消され、さらに薬

剤の浸透効率を高めることが可能であることを示した

申請者らは IOP の応用によりさまざまな薬物の皮下への浸透が可能であることを報告してきた。しかし、局所感染症の急性増悪の緩解を目標とした皮下（粘膜下）感染組織への抗生物質の浸透の研究は実験の困難もあり未だ行われていない。全身投与とは全く異なり経皮（経粘膜）的に薬剤を浸透させ患者の心理肉体的負担を大きく軽減させることが可能となると考えた。しかし薬物送達を目的として顎口腔領域に IOP を応用するためには、複雑な形態や運動に対応する電極開発の問題、薬物の電極への担持法、電流条件等のさまざまな技術的問題があり、その開発は困難と考えられてきた。しかし申請者らは東京工業大学との共同開発により新規に薬剤担持が可能電極デバイスを試作し、交流矩形波の通電により *in vivo* で薬物を移動させる事に成功した。この電極は金属である電極とアルギン酸が化学的に結合しており高効率な薬剤送達が期待されるが使用されるカチオンやアルギン酸の影響は未解決の部分も多い。現在は薬剤担持材として不織布が用いられているが、生体への適合性密着性の向上のため、我々はこのアルギン酸ゲルを用いた薬剤担持型の電極の応用を試みることにした。

2. 研究の目的

本研究の最終目的は、安全かつ無侵襲な顎口腔領域への抗生物質局所送達法の開発と臨床応用にある。そのため適切な薬剤・通電条件や部位を問わず使用可能な電極など、確実な効果を得るために薬物送達システム全般の開発が必要であり、その内容は次の通りである。

1) 適切な薬剤：申請者たちの研究班はこれまで主に分子量 200-300Da の物質の送達に成功してきた。そのため通電条件などの条件検索には従来使用しており、薬剤送達が確認済みでデータの比較が可能なりドカインを中心に研究を始める。

2) 部位：IOP は電気通電により薬剤を送達させるため、湿潤環境では技術的困難が伴う。まずは角化上皮を対象に研究を実施し、次いで口腔内環境に準じ粘膜上皮への応用を模索する。

3) 薬剤担持剤：東京工業大学と共同で研究中のアルギン酸電極は、金属である電極とアルギン酸が化学的に結合しており、高い皮膚追従性および通電安定性が期待される。しかし電極となる金属シートとの結合方式や金属イオンの添加による通電特性・為害性の変化が想定され、この点に関して検討が必要である。またアルギン酸自体の性状や含有カチオン等問題も有しており、この電極の特

性の検討も併せて検討する。

4) 通電条件：現在用いている交流矩形波だけでなく、様々な変動電場を用いた IOP における薬剤送達効率および発熱や pH 変化を測定し周波数/duty cycle 等、最適条件の検討を目的とする。

5) 複数薬剤の送達：一種の薬剤だけでなく抗炎症/鎮痛効果など複数の薬剤を投与出来る可能性を模索する。

3. 研究の方法

(1) 両端に白金電極を有する平行平板型アクリル製セルを使用し一方に 1% リドカイン水溶液、他方に超純水を満たしセロハン膜で隔て通電を行った。既存のファンクションジェネレータを用い交流矩形波を通電する。用いた波形は交流矩形波・交流正弦波・直流波等とし、平均電圧を等しくするよう。電圧を設定し、通電時間は 240 分とした。測定薬剤はリドカイン、ペニシリン、ホスホマイシンとする。測定法は 10 分毎 60 分まで陰極セルよりサンプルをマイクロダイアリスプローブを用い 100 μ l 採取し、移送薬剤量を測定する。また陰極セル内の温度および pH も同時に測定する。移送薬剤・pH 測定は既存の HPLC 及び分光光度計・pH メーターを用いる。電圧は 1~10V、周波数は 10~1000Hz、Duty cycle は 50~100% の間で pH/温度変化が小さく薬剤移送効率の高い条件を検討する。

(2)

皮膚に損傷のない 5 週齢のヘアレスラットを用い、動物実験規則に基づいた取り扱いを行う。研究はラットの片側背部皮膚を用いて皮下への薬剤浸透効果および炎症性反応の変化を検討する。左側側皮膚を実験側とし右側背部を対照側とする。薬剤浸透量は左側背部皮下に事前に埋入したマイクロダイアリスプローブより経時的に回収する。回収された組織液を HPLC および電気化学検出器を用いて浸透薬液量を定量/測定する。

・マイクロダイアリスプローブの埋入：IOP 1 日前にペントバルビタールによる全身麻酔下にラット背部皮下にマイクロダイアリスプローブを侵襲を可及的に避けて埋入する。

・電極：薬剤担持材として不織布を用いアルミニウム薄膜を電極として用いる（従来型電極）。貼付直前に薬液を不織布に浸透させる。また試作薬剤担持型アルギン酸電極使用の場合、前日に 20×20×2mm のアルギン酸ゲルを薬液内に 1 昼夜浸漬する。

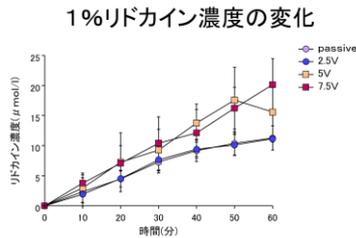
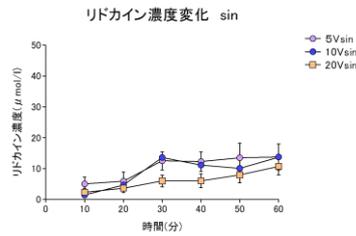
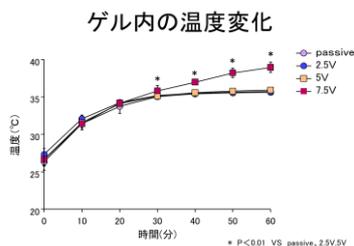
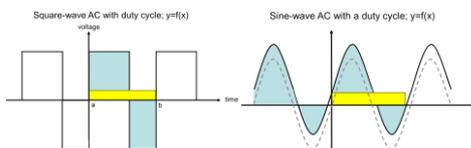
・通電及び検体の採取：全身麻酔下に薬剤

を担持した電極（従来型または試作アルギン酸電極）を左側背部皮膚（プローブ埋入部近傍）に密着させ、既存の交流矩形波通電装置を用い 120 分間通電する。印加した電場は異なる波形の変動電場としたがその平均電圧が等しくなるよう電圧を設定した。通電直後よりマイクロダイアリスプローブを用いて経時的に 10 分毎 120 分後まで還流液を回収する。回収された還流液は HPLC および電気化学検出器を用いて検体中浸透試薬質量・を定量/測定する。通電終了後検体採取後プローブを抜去し、全身麻酔を終了する。

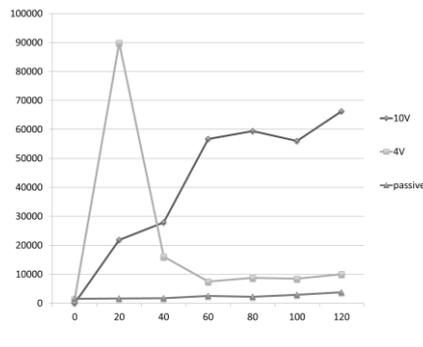
(3) アルギン酸濃度が通電および薬剤移送量に与える影響を検討するため、0.5~1.5% の濃度の異なるアルギン酸ゲルを作成し、薬剤移送量、温度およびゲル自体の変化を観察した。ゲル化の際のカチオンとしてカルシウムイオンを用いた。通電は既存のファンクションジェネレータを用い交流矩形波を通電する。用いた波形は duty cycle 80%、1kHz の交流矩形波とし、平均電圧を 2.5 および 5V に設定した。通電時間は 60 分、測定薬剤はリドカインとした。測定法は 10 分毎 60 分まで陰極セルよりサンプルをマイクロピペットを用い 100 μ l 採取し、移送薬剤量を分光光度計を用い測定する。また陰極セル内の温度を 30 分毎に測定し、薬液 pH を通電前後に pH メーターを用いて測定する

4. 研究成果

(1) リドカインと平行平板型アクリル製電極を用いた結果、リドカインの送達効率に矩形波と正弦波による差異はなかった。しかし平均電圧を印加した場合、矩形波では電圧依存性に送達薬液量が増加した。一方温度・pH は変動電場では変化が少なかった。更に矩形波より正弦波の方が変化は少なく低 pH や温度の上昇などの問題を回避するためには正弦波が有効と考えられることから、平均電圧が陽性の交流正弦波が生体に印加する波形として有効と考えられた。



(2) in vitro での変動電場の有効性が明らかとなったため、in vivo での薬剤の浸透に関して直流と比較検討した。直流は短時間の通電で比較的多量の薬液を送達できるが、その後は送達量が低下することが判明した。一方変動電場を用いた場合、長時間の通電で継続的に薬液送達量は増加し続けた。リドカインを用いた場合、変動電場では長時間の連続的薬剤送達が可能なだけでなく、総送達量も直流を用いた場合と比べて多い傾向があった。また平均電圧が陽性の交流正弦波を用いることで pH や温度の上昇などの問題を回避できる可能性も明らかとなった。また通電側の皮膚において直流群の多くで発赤や皮下組織の血管拡張が確認された。一方変動電場群では発赤が確認されないものも少なかった。この違いが皮下に送達した薬剤の局在に影響を与えた可能性がある。即ち直流では速やかに皮下組織から血中へ移行し、全身に分布した一方、変動電場では拡散が見られなかったため局所濃度が高まったと考えられた。以上より、直流成分を印加した変動電場を用いた IOP は長時間の持続的局所的薬剤投与に適している可能性が示唆された。本研究で明らかになった長時間通電の条件を応用し抗生物質投与のための条件およびラット局所感染モデルを用いる浸透効率を検討中である。

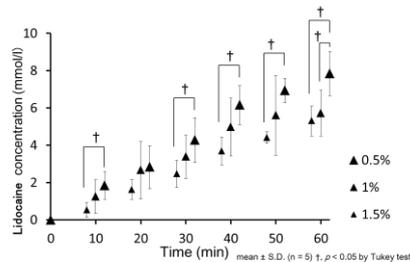


(3) アルギン酸ゲルを薬剤担持材として用いた場合、従来の水溶液を用いた研究と同様に経時的に薬剤送達量の増加が確認できた。また時間の経過とともに低アルギン酸濃度ゲルでさらに送達量の増加がみられた。しかしその量は水溶液の場合よりも低値であった。またアルギン酸の架橋構造あるいはアルギン酸と薬液（リドカイン）の科学的電気的結合のため変動電場による薬剤の振動とそれに伴う運動量増加が阻害された可能性がある。その一方薬剤が電極中に効率的に貯蔵される可能性もあり、今後電極中の総薬液量に関しても検討の必要がある。通電による温度変化はアルギン酸濃度によって変化しなかった一方、pHは高濃度のアルギン酸や高電圧の付与で上昇がみられ、一部のゲルは変形も見られた。pHの変化を抑制するため、リン酸緩衝液等を薬剤の溶媒とした場合、緩衝液の存在によりカルシウムイオンによるアルギン酸の架橋形成阻害による物性の異常、遊離イオンにより目的薬剤の移動が競合な阻害による送達量の低下が生じた。そのためアルギン酸を用いた場合水溶液の場合より印加する電圧に更に制限が必要であり、2.5V以下が適していると考えられた。またアルギン酸濃度は1.0%が薬液送達と物性の両面において適していると考えた。現在はアルギン酸と電極は一体ではないが、今後一体型電極の特性も検討する必要がある。

Table 1 pH changes in receptor chamber

| Voltage (V) | Concentration of alginate acid (%) | | | | | |
|-----------------------|------------------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | 0.5 | | 1.0 | | 1.5 | |
| Time (min) | 0 | 60 | 0 | 60 | 0 | 60 |
| 0 (passive diffusion) | 7.41 ± 1.08 | 5.96 ± 0.31 | 7.20 ± 0.77 | 6.07 ± 0.26 | 7.10 ± 0.80 | 5.80 ± 0.15 |
| 2.5 | 7.26 ± 0.80 | 7.32 ± 0.10 | 6.86 ± 0.05 | 7.03 ± 0.27 | 7.08 ± 0.33 | 7.31 ± 0.08 |
| 5 | 7.25 ± 0.74 | 8.27 ± 0.16 | 7.88 ± 0.53 | 10.22 ± 0.41 | 7.48 ± 0.85 | 10.76 ± 0.11 |

mean ± S.D. (n = 5), † p < 0.05 versus 0 min.



Changes in lidocaine concentration in 0.5% (4a), 1.0% (4b) and 1.5% (4c) alginate acid gel groups with AC square-wave application with 80% duty cycle.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1. Wakita R, Nakajima A, Haida Y, Umino M, Fukayama H. The relation between the duty cycle and anesthetic effect in lidocaine iontophoresis using alternating current. Pain Practice 11(3): 261-6, 2011
2. Haida H, Ando S, Ogami S, Wakita R,

Kohase H, Saito N, Yoshioka T, Ikoma T, Tanaka J, Umino M, and Fukayama H. In vitro evaluation of calcium alginate gels as matrix for iontophoresis electrodes. Journal of Medical and Dental Sciences 59(1): 9-16, 2012.

[学会発表] (計 3件)

1. 中島淳, 脇田亮, 灰田悠, 安藤寧, 深山治久. 交流イオントフォーシスを用いたリドカイン送達における波形の影響. 第38回日本歯科麻酔学会総会, 2010年10月8日, 神奈川
2. N. Saito, T. Yoshioka, T. Ikoma, N. Ohashi, H. Haida, S. Ogami, R. Wakita, H. Kohase, M. Umino and J. Tanaka. Electrochemical Deposition of Alginic Acid on Metal Surfaces for the Development of Iontophoresis Electrode. Fourth international conference on the science and technology for advanced ceramics (STAC-4). 2010年6月21日, 神奈川
3. R. Wakita, A. Nakajima, H. Haida, H. Fukayama. THE EFFICACY OF IONTOPHORESIS USING THE BIPOLAR SQUARE WAVE WITH DUTY CYCLE. the 30th Annual ESRA Congress. Sep 8, 2011, Germany

6. 研究組織

(1) 研究代表者

脇田 亮 (WAKITA RYO)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・助教
研究者番号: 60376712

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: