



| | |
|--------------|--|
| Title | シス型高級不飽和脂肪酸の皮膚透過促進作用とそのメカニズムに関する研究 |
| Author(s) | 田口, 賢二 |
| Citation | 大阪大学, 2000, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/42705 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

| | |
|------------|------------------------------------|
| 氏名 | た 口 賢二 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (薬 学) |
| 学位記番号 | 第 15699 号 |
| 学位授与年月日 | 平成12年8月24日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 学位論文名 | シス型高級不飽和脂肪酸の皮膚透過促進作用とそのメカニズムに関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 真弓 忠範 |
| | (副査) 教授 馬場 明道 教授 大森 秀信 教授 小林 祐次 |

論文内容の要旨

皮膚は、これまで薬物の適用部位として用いられてきたが、生体の恒常性を保持する機能と外的因子に対するバリアー機能を有するため、外因性物質の吸収性は一般に乏しく、皮膚への薬物投与は局所部位、つまり皮膚もしくは、皮膚表面近傍の皮下組織（筋肉など）を対象としたものに限られていた。近年、薬物送達システム（Drug Delivery System；DDS）に関する研究の発展に伴い、皮膚は局所治療のみならず全身治療を目的とした薬物投与経路のひとつとして注目を集めており、経皮吸収製剤の開発が活発に進められている。

皮膚は表皮、真皮および皮下組織から構成され、汗腺や毛嚢などの付属器官が表皮から真皮を貫通している。皮膚バリアー機能の中心的役割を果たしているのは表皮の最外層にある角質層であり、薬物を皮膚に適用しても容易に全身循環血に移行しない。薬物は角質層への分配・拡散を経て、表皮層、真皮へ移行・拡散しながら真皮中に存在する毛細血管へ浸透、ここではじめて全身循環系に移行する。つまり薬物の経皮吸収の全行程のうち、角質層が薬物の透過に最大の障壁であり透過の律速段階である。この角質層は、ケラチンや纖維状蛋白質で満たされたエンピロープ状の細胞とその細胞間隙の脂質多重層とから構成されており、通常 5～50 μm の厚さをもっているため、特定の薬物を除いて、全身性の作用を期待して薬物を皮膚に適用する場合には、角質層のバリアー機能を一時的に低下させて、皮膚透過性を改善させることが不可欠となる。薬物の皮膚透過性を改善するひとつとして、皮膚透過促進剤（エンハンサー）を用いる方法がある。エンハンサーの皮膚透過促進作用に関する研究の多くは、in vitro における薬物の皮膚透過および in vivo における薬物の血中濃度を指標としたものである。その他、角質層の構造変化をフーリエ変換式赤外分光光度計/減光全反射法（FT-IR/ATR 法）などで測定して、エンハンサーの機能を評価する試みもこれまでにいくつか報告されている。これまでの FT-IR/ATR 法を用いた研究では、エンハンサーが角質層脂質の構造に及ぼす影響について研究されてきただけであり、角質層の下部の生きた表皮および真皮も含めた皮膚全体の構造変化を指標とした研究は報告されていない。真皮内には無数の毛細血管が通っており、真皮層を完全に通過しなくとも血中へ薬物は吸収されるため、角質層を透過してきた物質の真皮内での挙動を研究することは、薬物の経皮吸収におけるエンハンサーの役割を明らかにする上で非常に有用であると考えられる。

そこで著者は、薬物の経皮吸収促進作用を有する構造中に二重結合をひとつもつシス型高級不飽和脂肪酸をモデルとして、その角質層および真皮内の組織構造に対する影響および基剤として用いたプロピレングリコール（PG）の真皮内への移行挙動を追跡することによって、シス型高級不飽和脂肪酸のエンハンサーとしての作用メカニズムを

FT-IR/ATR 法を用いて明らかにすることを目的に本研究を行った。実験は、エンハンサーを PG に溶解し、これらを除毛したラットの腹部皮膚に適用して行った。その結果、FT-IR/ATR 法を用いることによって、角質層の変化のみならず PG の真皮内移行挙動、および真皮内の蛋白構造の変化を直接測定できること見出し、これらを指標することにより、エンハンサーの作用メカニズム、およびその作用力を評価できることを明らかにした。つまり、シス型高級不飽和脂肪酸の皮膚透過促進作用メカニズムは、シス型高級不飽和脂肪酸による角質層脂質の引き抜きと、それら脂肪酸の角質層内への移行による脂質構造の再構築、さらにはシス型高級不飽和脂肪酸によって真皮内に移行した PG による蛋白質の構造を乱す作用が考えられ、これらシス型高級不飽和脂肪酸の作用力は、構造中の二重結合の存在位置によって大きく影響を受けることを明らかにした。さらに、これらの *in vitro* における実験結果は、*in vivo* での経皮吸収性と相關するものであったことから、このような角質層を透過してきた物質の挙動や真皮内の構造変化を指標としたエンハンサーの作用の評価は、薬物の経皮吸収メカニズムだけでなく、エンハンサーの能力を明らかにする上で有用な手法であることを証明できた。

また、同じ炭素数を有するシス型高級不飽和脂肪酸であるオレイン酸とペトロセリン酸をモデルエンハンサーとして、分子力学的モデルによる角質層脂質との相互作用力を比較した結果、角質層を構成している飽和脂肪酸のユニットセル内での相互作用力は、オレイン酸に比較してペトロセリン酸の方が大きかった。この相互作用力の強さは、*in vitro* および *in vivo* の透過実験結果とよく対応していた。従って、このような分子力学的モデルによる角質層構成脂質とシス型高級不飽和脂肪酸の相互作用に関する研究が、シス型高級不飽和脂肪酸のエンハンサーとしての機能を予測する手段として有用である可能性を示した。

本研究で取り上げたシス型高級不飽和脂肪酸の機能は、化学構造に起因した構造物性により発現されるが、構造物性から機能の追求はほとんど行われていないのが現状である。本研究で示した、エンハンサーとしてのシス型高級不飽和脂肪酸類の作用能力の差異は、シス型高級不飽和脂肪酸の構造物性に起因する機能を示すひとつの結果と考える。

現在、経皮吸収製剤はニトログリセリン、硝酸イソソルビド、エストラジオール、ニコチンなどを含有したものが市販されており、近い将来には皮膚はまさに消化管に匹敵する薬物の投与部位として、また高齢者社会の患者の QOL 向上を目指した薬物適用部位として利用できる可能性もでている。本研究で得られたシス型高級不飽和脂肪酸に関する皮膚透過促進物質としての知見が、今後の薬物の経皮吸収製剤の開発に貴重なデータとして活用されることを望む。

論文審査の結果の要旨

薬物送達システム (DDS) 研究の発展に伴い、皮膚は局所治療のみならず、全身治療を目的とした薬物投与経路の一つとして注目を集めている。しかし、皮膚は外的因子に対するバリアー機能を有するため、薬物吸収性は極めて乏しい。したがって、全身作用を期待して薬物を皮膚に適用する場合には、皮膚透過促進剤を用いて、皮膚のバリアー機能を一時的に低下させる事が不可欠となる。真皮内には無数の毛細血管が存在している。したがって、薬物は真皮層を完全に通過しなくとも血中へ吸収されるため、角質層を透過した薬物の真皮内挙動を研究することは、薬物の経皮吸収における皮膚透過促進剤の役割を明らかにする上で極めて有用である。しかるに従来の研究では、生きた表皮、真皮をも含めた皮膚全体の構造変化を指標とした研究は報告されていない。そこで著者は、シス型高級不飽和脂肪酸をモデルとしてその皮膚組織構造に対する影響、および基剤の皮膚内挙動を追跡することにより、シス型高級不飽和脂肪酸の皮膚透過促進剤としての作用および作用メカニズムを FTIR/ATR 法を用いて明らかにすべく研究を行った。その結果、以下の成果が得られた。

- 1) 皮膚内に移行したシス型高級不飽和脂肪酸および基剤として用いたプロピレングリコールの皮膚内挙動を、FTIR/ATR 法で直接測定する評価方法を開発した。
- 2) シス型高級不飽和脂肪酸の内、炭素数が同じで二重結合の位置が異なるペトロセリン酸とオレイン酸を比較した結果、ペトロセリン酸が皮膚透過促進剤として極めて優れていることを明らかにした。本作用は FTIR/ATR 法により、メチル基側鎖の疎水性の増大により角質層脂質との相互作用が増し、角質層構造が著しく乱された為と考えられ

た。

3) 炭素数が異なり、分子内二重結合を1つ有するシス型高級不飽和脂肪酸の皮膚透過促進作用は、鎖長比（ Δ 鎖/ ω 鎖の比）が小さいほど増大することを明らかにし、 Δ 鎖/ ω 鎖比は皮膚透過促進作用を支配する重要な構造的因子であることを示した。

4) シス型高級不飽和脂肪酸の分子容と皮膚透過促進作用強度の関係から、皮膚透過促進剤としての至適分子容を見出した。

5) *in vivo* におけるインドメタシンの皮膚透過性は、ペトロセリン酸で著しく増大し、オレイン酸の作用は相対的に弱いことを見出した。これらペトロセリン酸、オレイン酸と角質層脂質構成飽和脂肪酸（パルミチン酸、ステアリン酸）との相互作用を分子力学的に解析し、ペトロセリン酸がオレイン酸に比較して、飽和脂肪酸との相互作用が大きいことを示した。

以上の成果は、シス型高級不飽和脂肪酸をモデルに、経皮吸収促進剤の作用を角質層のみならず真皮組織についても総合的に評価するシステムを提示しており、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。