パルス型超音波による薬物の経皮吸収促進

—照射面積および周波数の影響—

浅野順二・大江利治^{*1)}, 川崎直子・宮崎正三^{*2)}

Enhancement of transdermal absorption of drugs by pulsed output ultrasound: Effect of radiating area and frequency

The effect of radiating area and frequency of pulsed output ultrasound with an on/off ratio of 1 : 2 on transdermal absorption of indomethacin from an ointment was studied in rats. Ultrasonication was produced by a commercially available ultrasound system approved for human use which has two different sizes of transducer, large head (4.4 cm²) and small head (0.7 cm²). We did not find any difference in transdermal absorption of indomethacin between two transducer (effective radiating areas). Ultrasound should be generated by a small head since a small head enables the rats to administer the treatment. The frequency of the pulsed ultrasound was suggested to play an important role in the transdermal phonophoretic delivery system of indomethacin; 1 MHz appeared to be more effective than 3 MHz in improving the transdermal absorption.

Junji Asano・Toshiharu Ohe^{*1)},Naoko Kawasaki・Shozo Miyazaki^{*2)}

key words : phonophoresis, pulsed output ultrasound, radiating area, frequency

超音波は、古くから皮膚病や炎症関節の治療に用いられてきた。しかし、経皮的に投与された薬物の吸収促進(phonophoresis)に着目されたのはごく最近のことである¹⁻⁴⁾。そして、超音波照射条件(周波数、照射強度、照射時間、照射法)や経皮吸収剤の種類と吸収促進効果の関係、皮膚刺激性、促進機構などについては、まだよく知られて

いない。

筆者らは先に、温熱効果やマッサージ効果を目的に、臨床で用いられている超音波治療器(1 MHz)を用いて薬物の経皮吸収を改善する試みを行い、通常の超音波治療に用いられる程度の超音波パワーでゲル軟膏からのモデル薬物(消炎剤)の経皮吸収が促進されることを報告した⁵⁻⁸⁾。また、経皮吸収に対するパルス波の影響を検討し、適切なパルス比のパルス波により皮膚温度の上昇を抑えて超音波の機械的振動作用により、薬物の皮膚透過性を促進できる可能性を示唆した⁹⁾。さらに、周波数が異なると超音波の皮膚透過性も異なるため、薬物の皮膚内拡散性も変化することが推測された^{2,3,10,11)}。

そこで本研究では、超音波による経皮吸収促進に対する各種パラメーターの影響に関する研究の一環として、周波数の影響をインドメタシゲル軟膏を用いて検討した。また、超音波の照射面積が異なると至適条件や皮膚温度の変化(皮膚損傷)も変わってくることが予想されたので、照射面積の影響についても検討を加えた。

方 法

(1) 実験材料

インドメタシゲル軟膏は、住友製薬[®]のインデバンR軟膏(1% w/w)を用いた。インドメタシン原末は、Sigma 社から購入したものを使用した。その他の試薬は、すべて特級試薬を用いた。

(2) 超音波照射による経皮吸収実験

経皮吸収に対する超音波の影響を、筋肉痛、腰痛、神経痛、関節炎などの治療に用いられている周波数1 MHz および3 MHz の超音波治療器(Therasonic 1032, Electro-Medical Supplies 社)

^{*1)} Division of Pharmacy, NTT Sapporo Hospital NTT 札幌病院薬剤科

^{*2)} Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Science University of Hokkaido 北海道医療大学薬学部
Offprint requests to : Shozo Miyazaki, Ph. D., Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Science University of Hokkaido, 1757 Kanazawa, Toubetsu-cho, Ishikari-gun, Hokkaido 061-0293

表1 Comparison of radiating area among different sizes of transducer (treatment head)

Transducer	Diameter (cm)	Radiating area (cm ²)	Ultrasonic frequency (MHz)
Small head	1.7	0.7	1.1
		0.6	3.3
Large head	3.5	4.4	1.1
		3.9	3.3

を用いて検討した。この超音波発生装置には、直径 3.5 cm の大ヘッドと、直径 1.7 cm の小ヘッドの 2 種類のトランスデューサーがある(表 1)。

実験には約 9 週齢(体重 250~350 g)の Wistar 系雄性ラットを用いた。実験は、室温 21~23°C で行った。実験前日に、ペントバルビタール(ネプタール注射液, 50 mg/kg, i. p.)麻酔下、電気バリカンおよび電気カミソリを用いて腹部を除毛した。ラットを背位固定し、1%インドメタシンゲル軟膏(0.4 g)を直径 1.7 cm あるいは 3.5 cm の面積に塗布した。塗布面をサランラップで覆った後、エコーゲル(Echo Jelly, アロカ株)を用いて超音波プローブを固定し、超音波を照射した。

超音波照射終了後は、エコーゲルは取り除いた。薬物適用後、1 時間ごとに頸静脈より 0.6 ml 採血した。薬物の経皮吸収に対する超音波照射効果は、血漿中薬物濃度を対照と比較することにより評価した。インドメタシンの血漿中濃度の測定は HPLC 法により、先の方法¹²⁾に準じて行った。

測定値は、すべて 4 例の平均±標準誤差(mean±SE)で示した。薬物投与後 4 時間までの血中濃度-時間曲線下面積(AUC)を、山岡ら¹³⁾の血中濃度モーメント解析法に準じて算出した。また、AUC は Student's t-test により検定を行い、危険率 5%をもって統計学的に有意とした。

(3) 皮膚温度の測定

超音波を適用したときの皮膚(皮下)温度の変化は、サーミスターデジタル温度計(D613, 宝工業株)により測定した。熱電対(SZL-67)は、ラット腹部を小切開して皮下に挿入した。

結果と考察

(1) 有効照射面積の影響

動物を用いた超音波照射実験法として、十分満足できるものは現在まだ確立されていない。そこで、実験動物(ラット)を用いた超音波照射実験法を確立するために、麻酔法、採血法、除毛法、エコーゲルの適用量、有効照射面積などの実験条件を再検討した。この際、皮膚温度の上昇(火傷)を抑えて照射効果を最大にするには、超音波トランスデューサーの皮膚への適用に十分注意して、皮膚温度をモニターしながら実験することが必要ながわかった。

本研究で用いた超音波発生装置には、直径 3.5 cm の大ヘッドと、直径 1.7 cm の小ヘッドの有効照射面積の異なる 2 種類のトランスデューサーがある(表 1)。実験に際して照射部が平坦でないために照射ヘッドが皮膚面に密着しない場合は、間隙の空気に妨げられて内部には作用しない。またこのような間隙があるとそこで反射が起こり、その部分の皮膚面が強く加温されて火傷を起こすことがある。したがって、この場合は不適当なので、照射ヘッドの大きさを変えることが必要となる。さらに、ラットではヒトにくらべて体重あたりの適用面積が大きくなることから、得られる血中濃度は極端に高くなる。照射ヘッドのサイズが異なると至適条件や皮膚温度の変化(皮膚損傷)も変わってくることが予想されたので、有効照射面積の影響について検討した。

ラットの腹部皮膚に直径 1.7 cm、有効照射面積 0.7 cm²の小ヘッドあるいは直径 3.5 cm、有効照射面積 4.4 cm²の大ヘッドを適用し、照射時間を 15 分、照射強度を 1.0 W/cm²としてパルス波(パルス比=1:2)を照射したときの結果を図 1 に示した。なお、周波数は 1 MHz で行った。

表 2 は、図 1 の結果から算出した血中濃度-時間曲線下面積(AUC)と、コントロールとおのおのの AUC 比(enhancement factor)を示したものである。いずれの場合も、超音波を照射しないコントロールにくらべ、照射したときの血漿中薬物濃度は増加した。吸収量の指標となる AUC の増加は同じ(2.3~2.4 倍)だった。

図1 Effect of radiating area on the plasma levels of indomethacin from an ointment in rats

Ultrasound was generated with 1 : 2 pulsed mode for 15 min at 0 (○) and 1.0 W cm⁻² (●) and a frequency of 1 MHz. Each value is the mean ± SE of 4 experiments.

a : Small head (0.7 cm²). b : Large head (4.4 cm²)

表2 Comparison of AUC values for various treatments

Transducer	Frequency (MHz)	Radiation mode	AUC ^{a)} (µg · h/ml)	Enhancement ^{b)} factors
Small head	—	Control	4.19 ± 0.56	1.0
	1 MHz	1 : 2 pulsed (1.0 W × 15 min)	9.65 ± 1.32 ^{d)}	2.3
	3 MHz	1 : 2 pulsed (1.0 W × 15 min)	5.99 ± 0.58 ^{e)}	1.4
	1 MHz	Continuous (0.5 W × 10 min)	7.62 ± 0.43 ^{c)}	1.8
	3 MHz	Continuous (0.5 W × 10 min)	6.45 ± 0.38	1.5
	—	Control	11.59 ± 2.08	1.0
Large head	—	1 : 2 pulsed (1.0 W × 15 min)	28.38 ± 4.01 ^{d)}	2.4

^{a)} Each value represents the mean ± SE of 4 experiments. ^{b)} Enhancement factor relative to AUC from the control. ^{c)} $p < 0.005$, ^{d)} $p < 0.01$, ^{e)} $p < 0.05$ vs. controls, by Student's t-test

筆者らは先に、直径3 cmのトランスデューサー(朝日電子超音波治療器, AU-1)を用いた経皮吸収促進効果と超音波(連続波)照射条件との検討から、0.5 W/cm²で10分間の連続照射によりもっとも効果的に経皮吸収を促進できることを報告した⁵⁻⁶⁾。本研究においても、直径3.5 cmのトランスデューサーでは、同じ条件(連続波, 0.5 W/cm², 10分間)でAUCが2.5倍増加し、直径3 cmのヘッドを用いた先の結果(2.7倍)とほぼ一致することを確認した。

これらのトランスデューサーの比較から、有効照射面積は吸収促進効果に影響しないことが示唆

された。実験動物であるラットの腹部が平坦でないことや体表面積を考慮すると、小ヘッドのほうが望ましいことから、以後の研究ではラットの腹部皮膚に直径1.7 cmの小ヘッドを適用し、周波数の影響を検討した。

(2) 周波数の影響

超音波エネルギーが生体組織に浸透する距離は、周波数に反比例する。生体に適用する場合には低周波数の超音波ほど、より生体の深部に到達し、組織単位容積あたりのエネルギーは大きくなる。マッサージや血行促進を目的に、通常の超音波治療に用いられている周波数は20 kHz~10

図2 Effect of frequency of pulsed ultrasound on the plasma levels of indomethacin from an ointment in rats

○: 0 MHz. △: 1 MHz. □: 3 MHz

Ultrasound was generated by a small transducer, with 1:2 pulsed mode for 15 min at 1.0 W cm^{-2} . Each value is the mean $\pm$ SE of 4 experiments.

図3 Effect of frequency of continuous ultrasound on the plasma levels of indomethacin from an ointment in rats

○: 0 MHz. △: 1 MHz. □: 3 MHz

Ultrasound was generated by a small transducer, with continuous mode for 10 min at 0.5 W cm^{-2} . Each value is the mean $\pm$ SE of 4 experiments.

MHzである¹⁻³⁾。phonophoresisに関する研究はこれまでほとんどが1 MHz~3 MHzの周波数で検討されているが⁴⁾、最適な周波数は明らかにされていない。そこで、1 MHzおよび3 MHzのパルス超音波を用いて、薬物の経皮吸収に対する周波数の影響を検討した。

図2は、照射時間を15分、照射強度を 1.0 W/cm^2 としてパルス比1:2のパルス超音波を照射したときの血漿中薬物濃度を比較したものである。1 MHzおよび3 MHzいずれの場合も、血漿中薬物濃度はコントロールにくらべ増加することを示している。1 MHzのパルス波を照射した場合のAUCの増加は2.3倍で、3 MHz(1.4倍)より有意($p < 0.05$)に大きかった。

本研究ではさらに、総エネルギー量、すなわち単位時間あたりの超音波エネルギー(照射強度×照射時間)が $5 \text{ W} \cdot \text{min/cm}^2$ となる連続波(0.5 W/cm^2 , 10 min)に対する周波数の影響についても検討を加えた(図3)。1 MHzおよび3 MHzの連続波を照射した場合、AUCの増加はそれぞれ1.8倍および1.5倍だった。

超音波エネルギーの浸透する距離は周波数に反

比例するので、生体に適用する場合には低周波数ほどより体の深部に到達する。そして、周波数が異なると超音波の皮膚透過性も異なるため、薬物の皮膚内拡散性も変化する²⁾。また、皮膚に対してさまざまな作用を及ぼす機械的振動効果や音圧効果なども超音波周波数に依存している。

Levyらは¹⁴⁾、0.5 MHz~1.5 MHzがphonophoresisに適した周波数であることを指摘している。Bensonらは¹⁰⁾、1.5 MHz(1:1パルス波)と3.0 MHz(連続波)が経皮吸収速度の改善にもっとも効果的な周波数であり、1.5 MHzおよび3.0 MHz(1:1パルス波)の超音波が薬物吸収量の改善にもっとも効果的な周波数であることを報告している。

Bommannanらは¹¹⁾、サリチル酸の経皮吸収に対する高周波超音波の影響を2, 10および16 MHzで検討している。2 MHzではサリチル酸の吸収に変化がなかったが、10および16 MHzではサリチル酸の吸収が有意に増加し、拡散のラグタイムは減少したことを報告している。一方Bensonらは¹⁵⁾、ベンジダミンの経皮吸収には、対照群と各種周波数の超音波照射群では有意差のないこ

とも報告している。本研究でパルス比 1:2 のパルス超音波を照射したときは、3 MHz より 1 MHz の吸収促進効果が大きかった。しかし、総エネルギー量が等しい連続波照射時の超音波の効果には有意差はなかった。

以上のパルス波と連続波の比較から、総エネルギー量が等しくても超音波の効果は異なり、周波数、エネルギー(強度、時間)、照射法などの各種パラメーターを適切に設定すれば、超音波照射による経皮吸収促進効果をさらに改善できる可能性のあることが示唆された。

文 献

- 1) Skauen DM, Zentner GM: Phonophoresis. *Int. J. Pharm.* 20: 235-245, 1984.
- 2) Tyle P, Agrawala P: Drug delivery by phonophoresis. *Pharm. Res.* 6: 355-361, 1989.
- 3) Singh S, Singh J: Transdermal delivery of drugs by phonophoresis: A review. *Drug Design and Delivery* 5: 259-265, 1990.
- 4) Meidan VM, Walmsley AD, Irwin WJ: Phonophoresis—is it a reality? *Int. J. Pharm.* 118: 129-149, 1995.
- 5) Miyazaki S, Mizuoka H, Oda M, Takada M: External control of drug release and penetration: Enhancement of the transdermal absorption of indomethacin by ultrasound irradiation. *J. Pharm. Pharmacol.* 43: 115-116, 1991.
- 6) Miyazaki S, Mizuoka H, Kohata Y, Takada M: External control of drug release and penetration: Enhancing effect of ultrasound on the transdermal absorption of indomethacin from an ointment in rat. *Chem. Pharm. Bull.* 40: 2826-2830, 1992.
- 7) 宮崎正三, 木幡由美, 高田昌彦: インドメタシンの経皮吸収に対する超音波の影響——連続照射とパルス照射. *薬剤学* 52: 264-271, 1992.
- 8) 宮崎正三, 木幡由美, 飛山 毅, 高田昌彦: 外用剤からの非ステロイド系抗炎症薬の経皮吸収に対する超音波の影響. *薬剤学* 53: 277-281, 1993.
- 9) Asano J, Suisha F, Takada M, Kawasaki N, Miyazaki S: Effect of pulse output ultrasound on the transdermal absorption of indomethacin from an ointment in rat. *Biol. Pharm. Bull.* 20: 288-291, 1997.
- 10) Benson HAE, McElnay JC, Harland R: Phonophoresis of lignocaine and prilocaine from Emla cream. *Int. J. Pharm.* 44: 65-69, 1988.
- 11) Bommannan D, Menon GK, Okuyama H, Elias PM, Guy RH: Sonophoresis: I. The use of high-frequency ultrasound to enhance transdermal drug delivery. *Pharm. Res.* 9: 1043-1047, 1992.
- 12) Miyazaki S, Yokouchi C, Nakamura T, Hashiguchi N, Hou W-M et al.: Pluronic F-127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin. *Chem. Pharm. Bull.* 34: 1801-1808, 1986.
- 13) Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T, Uno T: Pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharmacobio-Dyn.* 4: 879-885, 1981.
- 14) Levy D, Kost J, Meshulam Y, Langer R: Effect of ultrasound on transdermal drug delivery to rats and guinea pigs. *J. Clin. Invest.* 83: 2074-2078, 1989.
- 15) Benson HAE, McElnay JC, Whiteman J, Harland R, Hadgraft J: Lack of effect of ultrasound on the percutaneous absorption of benzydamine. *J. Pharm. Pharmacol.* 38: 73, 1986.