薬物の経皮経粘膜吸収——Overview

特集 経皮経粘膜吸収と DDS

杉 林 堅 次*

Transdermal and transmucosal absorption of drugs—overview

In most drug formulations except injections, the drug must be absorbed through skin or epithelial mucosa. The drug may have a local effect in the skin, mucosae or their surrounding area, or a systemic action after taking up by the local vessels to migrate into the systemic circulation. Sustained drug action can be achieved by controlling the drug release from the formulations. Much success has already been made in the oral and topical formulations. On the other hand, increase in the transdermal and transmucosal absorption is achieved by enhancement of the membrane permeability. Prodrug approach, use of chemical enhancers and application of iontophoresis are the examples to improve the absorption rate of drugs. Active transport of drugs through the membranes has also been paid attention, since biological or biotechnological advances were made on the drug transporters in the epithelial membranes. Broad and active efforts for the moment on this area may give future development of many transdermal and transmucosal DDSs.

Kenji Sugibayashi*

key words : transdermal absorption, transmucosal absorption, sustained release, penetration enhancement

注射剤以外の医薬品製剤のほとんどでは、含有した薬物が粘膜上皮または皮膚上皮を介して吸収されてはじめて薬効を発揮する可能性が生じる。したがって、医薬品製剤の評価や開発には、薬物の経皮経粘膜吸収とそれらに与える種々要因について十分に理解しておく必要がある。

表1に薬物の適用部位または吸収部位とそれぞれに対する代表的剤形を列挙する。これらの薬物吸収バリアーはすべて上皮細胞膜によって成り立っているが、部位によってその構造は大きく異なっている。したがって、表1には上皮細胞膜の特徴も付記した。

局所作用と全身作用

“全身作用を示す製剤”という用語にはあいまいな意味も含まれている。そこで、ここではこれを“薬物が上皮細胞膜を透過し、全身循環系に移行して薬効を発揮する製剤”と考えることにする。現在まで

表1 薬物の吸収部位と代表的剤形

適用部位	剤 形	上皮粘膜の構造
皮膚	貼付剤 塗布剤(軟膏剤, ゲルなど)	重層扁平上皮(表面は角質化)
胃腸管	経口製剤(錠剤, カプセル剤, 液剤, 散剤など)	単層円柱上皮
口腔	貼付剤 塗布剤(軟膏剤, ゲルなど) トローチ パッカール	重層扁平上皮(一部表面は角質化)
直腸	坐剤	単層円柱上皮
鼻	点鼻剤 噴霧剤	多列絨毛上皮
気道(気管, 肺)	吸入剤	気管: 単層円柱絨毛上皮 肺泡: 単層扁平上皮
眼	点眼剤 眼軟膏剤 挿入剤(オキュサート)	重層扁平上皮
子宮・膈	坐剤	重層扁平上皮

のところ、表1に示した眼以外の投与部位では全身作用を有する(期待する)製剤が存在する。

一方、上皮細胞膜内への薬物の移行や上皮細胞膜を通過して全身循環系以外の組織への薬物の移行もまた“経皮経粘膜吸収”ととらえている場合が多い。そこで、本稿ではこれらの薬物移行によって薬効を

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University 城西大学薬学部

図 1 皮膚に適用した薬物の理想的な移行動態

あらわすものを“局所作用を期待する製剤”として記述する。表 1 に示したほとんどすべての吸収部位に、対応する局所製剤が存在する。皮膚、口腔、直腸、鼻、眼、および子宮・腔にはそれぞれ従来から多くの局所製剤が存在するし、胃でも最近研究が進んでいるヘリコバクターピロリ菌の除去を目指す製剤¹⁾や大腸を含む消化管の潰瘍に対する治療薬も局所製剤といえる。

薬物の経皮吸収では、このような製剤と作用部位の関係、さらにはそのときの理想的な薬物の動きがきわめてはっきりしている。図 1 に、いわゆる全身作用を示す薬物(ニトログリセリン)、投与部位下の皮下や筋肉の炎症を抑えることを目的とする薬物(インドメタシン)、および皮膚特に表皮で薬効や作用を示すと思われるもの(cosmeceutics²⁾)に関する理想的な薬物移行を示す。このうち、ニトログリセリンのケースを全身作用と解釈し、インドメタシンと cosmeceutics のケースを局所作用と考えるのが妥当と思われる。このとき、2 番目の範疇にあるインドメタシンなどの薬物の動態はきわめて複雑である。すなわち、皮下や筋肉に製剤から直接移行した薬物と全身循環血から分布した薬物の両方が薬効に寄与するからである。また、さらに複雑なことに、これらの作用部位に移行した薬物はいずれ全身循環系に吸収される可能性がある。筆者らは寒天ゲルを皮下に埋め込んだラットを用いて、製剤から皮下および製剤から全身循環系への移行フラクションについて、また、皮下に移行した薬物のうちどの程度の薬物が製剤または全身循環系から移行したかについて調べ³⁾、さらにはこれらの皮内・皮下動態に及ぼす添加

剤や薬物の種類の影響について調査した^{4,5)}。この結果、これらの試験に用いた中心的薬物であるフルルビプロフェンでは、皮膚に浸透した薬物量のほとんど(99%)が直接全身循環系に吸収されるものの、血管系をバイパスして皮下組織に移行する薬物も存在すること、また、全身循環系から皮下に分布する薬物量より、製剤から皮膚を経て直接皮下に行く薬物量のほうが多いことが明らかになった。経粘膜吸収でもここに示した経皮吸収と同様な考え方を利用することができよう。

しかし、粘膜層は薄く、またすぐに全身循環系に接しているので、経粘膜吸収では経皮吸収でのインドメタシンと cosmeceutics のようなともに“局所作用”薬の区別(図 1 参照)はつきにくい。

経皮経粘膜吸収とターゲティング

DDS の機能の一つであるターゲティングは、ここで示した経皮経粘膜吸収を示す局所製剤できわめて効率的に成り立つ。すなわち、病巣またはその近傍に製剤を適用して薬物のターゲティングを期待するのは、きわめて理にかなったことである。しかし、前述のように適用した薬物のうち多くがすぐに全身循環系に吸収されていくことも考慮しておく必要がある。さらに、最近鼻腔から脳脊髄液(CSF)に直接薬物が移行することが報告され⁶⁾、脳への薬物ターゲティングが鼻腔投与によって可能であることがわかってきた。

経皮経粘膜吸収の制御

1. 徐放性の付与

薬物の膜透過性(線速度)を制御する(下げる)ことは基本的に不可能である。薬物の経皮経粘膜吸収速度の減少は剤形を工夫修飾することによってなされている。これらの工夫がなされた、いわゆる徐放性製剤は経口製剤でもっとも汎用されている。これらの製剤は、薬物の放出メカニズムの違いによって、薬物リザーバーを有する膜透過制御型製剤と、薬物の溶出または放出速度が遅いマトリックス製剤に分かれる。さらに、比較的特殊なものとして浸透圧を利用したオスモティックポンプや胃内滞留性製剤がある。この部分の詳細については成書⁷⁾にゆだねる。いずれにせよ DDS の二つ目の機能である徐放性(コントロールドリリース)は経皮経粘膜吸収による製剤に幅広く応用されている。

2. 粘膜付着性の付与

粘膜付着機能を有する剤形がいくつか市販されている。粘膜付着性は薬物の持続的な放出を得るためにも使用されるが、製剤からの安定な薬物供給が主な目的である場合もあるので、前項とは区別して論じる。

粘膜付着性製剤としては、口内炎の治療に用いる付着錠や鼻粘膜に用いる付着性パウダーが有名である。これらは粘膜付着性を有する水溶性高分子(たとえばヒドロキシプロピルセルロースやカルボキシビニルポリマー)が用いられている⁸⁾。一方、皮膚適用製剤に用いる感圧接着剤(pressure sensitive adhesives)もこの範疇に加えることができると考えられる。現在、アクリル系、ゴム系、およびシリコーン系のものが市販されている。

3. On-off 制御

必要なときにだけ薬物を放出させる on-off 機能を有する製剤の研究が進んでいる。これらには温度、pH、電場、光、超音波、化学物質などに感応して構造を変える高分子ゲルなどが素材として利用される⁹⁾。この機能については、その多くが埋め込み剤や

表 2 ラット皮膚および各上皮粘膜の水透過性と電気抵抗値

投与部位	水透過速度 ¹⁰⁾ ($\mu\text{L}/\text{min}$)	pore 径 ¹⁰⁾ (nm)	電気抵抗値 ¹¹⁾ ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)
皮膚	0.606 $\pm$ 0.0219	0.69 $\pm$ 0.60	997 $\pm$ 60
口腔			84 $\pm$ 4
十二指腸	32.5 $\pm$ 2.2	1.37 $\pm$ 0.64	50 $\pm$ 2
空腸			49 $\pm$ 2
回腸			51 $\pm$ 3
上部結腸			149 $\pm$ 7
下部結腸	15.9 $\pm$ 2.4	1.30 $\pm$ 0.70	100 $\pm$ 7
直腸	111.2 $\pm$ 15.8	0.66 $\pm$ 0.30	40 $\pm$ 2
鼻			

注射剤に応用できるものであるが、発熱した時のみ解熱剤を放出する坐剤や、保存中は安定で涙液により活性体(吸収されやすい形)となる点眼剤など、すぐにも応用できるアイデアも多く、今後の展開が十分期待できる。

経皮経粘膜吸収の促進

皮膚および各粘膜の薬物透過バリアー能はこれらの構造の違い(表 1 参照)に起因している。表 2 に各生体膜の水の透過係数¹⁰⁾、理論的な pore 径¹⁰⁾、および電気抵抗値¹¹⁾を示す。電気抵抗値は単純には水溶性物質の透過性に反比例するパラメータと考えてよい。皮膚や角化が進んでいる口腔粘膜の水の透過性が低く、電気抵抗値が高いことが明らかである(一部のデータは測定条件を統一することができなかったため記載していない)。また、図 2 に水と適当な物質の生体膜透過から計算にて求めた各生体膜中の pore の大きさと密度を模式的に示す¹⁰⁾。粘膜に比べて皮膚の pore 径は小さく、かつその密度も低いことが明らかである。また、これがほかの粘膜に比べ薬物の皮膚透過性が低い原因でもある。

さらに、粘膜間で比較すると、鼻粘膜が比較的薬物透過性が高い部位であるといえる。小腸粘膜はほかの粘膜に比べ特に高い(単位面積あたりの)薬物透過性を示すわけではないが、絨毛や微絨毛が発達しているため吸収面積が大きく、総合的にみればきわめて吸収性の高い部位であることが納得できる。また、吸収面積を考えれば、肺胞も薬物の新規投与部位として応用が十分期待できる。

皮膚および上皮粘膜を介する受動拡散による生体

図 2 皮膚および各粘膜の pore 径の比較

膜透過には、以下の式がよく用いられる。すなわち、定常状態における薬物の生体膜透過速度 dQ/dt は

$$dQ/dt = DKC_v/L$$

という式で示される。ここで、 D 、 K 、 C_v は薬物の生体膜バリアー中の拡散係数、基剤から生体膜への分配係数、および基剤中の薬物濃度である。また、 L は生体膜の厚みである。したがって、基剤中の薬物濃度を変えることなく生体膜透過を促進させるには、 D と K をあげる必要がある。この式も考慮しながら、以下各促進法について述べる。

1. プロドラッグ化¹²⁾

薬物の化学構造を修飾して経皮経粘膜透過を改善する試みが古くからなされ、すでに多くの成功例がある。一般には脂溶性にして生体膜への分配性 K を向上させたり、融点を下げて熱力学的活性を上げる。プロドラッグのなかでは、redox システムを利用した脳へのデリバリー¹³⁾はきわめてユニークである。上皮細胞膜への応用が期待される。また、そのほか皮膚内で作用を発揮したのち副作用がほとんどない物質に変換(代謝)されるアンテドラッグなども実用化されている。

2. 吸収促進剤

皮膚や上皮粘膜を介する薬物透過性の促進には、種々化学促進剤が利用されている。それらの主な吸収促進メカニズムとしては、生体膜を形成している脂質のゆらぎを引き起こすことがあげられている。

表 3 経皮経粘膜吸収促進剤

投与部位	促進剤	備 考
皮膚	低級アルコール 脂肪酸エステル 尿素 サリチル酸類 モノテルペン類 ピロチオアカン	溶媒流の効果 ケラチン軟化作用 ケラチン軟化作用
胃腸管	脂肪酸胆汁酸混合ミセル 蛋白分解酵素阻害剤	ペプチド送達に有効
口腔	脂肪酸エステル 胆汁酸類	
直腸	カプリン酸	アンピシリン坐剤への利用
鼻	キトサン ポリ L アルギニン 胆汁酸類 胆汁酸類	細胞間ルートに作用
気道 (気管, 肺)		

この場合、生体膜バリアー中の拡散係数 D の上昇だけでなく膜への分配性 K も上げることができる¹⁴⁾。皮膚などの角質化上皮は、その表面が角化したいわゆる死細胞層でおおわれ、またこれらが最大のバリアーとして機能しているので、吸収促進剤の使用がきわめて有用であると考えられる。しかし、ほかの上皮粘膜への吸収促進剤の使用に際しては、組織刺激性に特に注意が必要となる。表 3 に現在実用化ならびに盛んに研究が行われている吸収促進剤を列挙する。このなかでも、上皮細胞間に作用すると考えられるキトサン¹⁵⁾などは経粘膜吸収促進剤として注目される。

消化管内で分解を受けやすい薬物の場合は、分解を抑えることによって吸収性が増大する。ペプチド

図3 イオントフォレシスの電極、
製剤の設置図と薬物の流れ

などのバイオバイラビリティを改善するため蛋白分解阻害剤であるカルモスタットなどが有効であることが報告されている¹⁶⁾。これらの分解阻害剤なども広義の吸収促進剤とみなすことができる。

3. イオントフォレシスとエレクトロポレーション

電気のエネルギーを用いて薬物の経皮経粘膜透過を促進させる方法がある。イオントフォレシスは比較的低い電圧・電流(たとえば 10 V, 0.2 mA/cm²程度)の数分から数時間の適用でイオン性薬物の生体膜透過を促進させる^{17,18)}。図3に皮膚にイオントフォレシス処理を行ったときの製剤、通電装置のセット図、および薬物の動きなどを模式的に示す。アニオン性薬物ならば陰極槽に、逆にカチオン性薬物ならば陽極槽に薬物を封入する。図にも示したように、イオントフォレシスでの薬物の生体膜透過促進ではイオン性薬物が中心となる。しかし、電極槽に含まれる水が陽極から陰極に向かって移動しやすいため、この動きを利用して解離しない薬物の経皮送達にも応用されている¹⁹⁾。なお、イオントフォレシスでは生体膜表面に適用した陽極と陰極間を直接電流が走ることを防ぐ必要があり、常に wet な状態にある粘膜などにはイオントフォレシスは適用しにくい。しかし、現在歯科領域にもイオントフォレシスが応用されているので、将来眼や口腔の粘膜にも応用が期待される。

一方、エレクトロポレーションは細胞や組織への遺伝子導入に用いられたものを転用したものである²⁰⁾。これも経皮膚送達への応用が盛んで、イオント

フォレシスに比べてはるかに高い電圧(～数百 V)を適用するが、その適用時間はマイクロセカンドオーダーである(たとえば、1回/1分で60回パルス投与される)。そのメカニズムとしては、規則正しく脂質がならんでいる脂質二重膜中に小孔を形成させることにある。赤血球や大腸菌への適用では作用の可逆性(形成された小孔は瞬時にもとの構造にもどる)が証明されているが、流動性が低い脂質から成り立っている皮膚角質層への可逆性はいまのところ証明されていない。現在、エレクトロポレーションの効果に影響する種々因子などが検討されている^{21,22)}。研究開始後、まだあまり時がたっていないが、将来はイオントフォレシスなどとの併用によりインスリンなどのペプチドの経皮経粘膜吸収の促進への応用が期待されている。

4. 無針注射器

無針注射器はその字のごとく針のない注射器である。これを皮膚に適用し、そのバリアーに小孔を形成させて、その上に製剤を適用し薬物の皮膚透過性を改善することができる。筆者らは実用化されている無針注射器の前処理によってゲンタマイシンなどの経皮吸収が著しく増大したことを報告した²³⁾。最近では百ミクロン程度の針が無数にある microneedles を用いた経皮吸収促進手段²⁴⁾や、皮膚のごく微小な部位に熱を発生する電気エネルギーを適用して角質層に孔を空けて薬物の吸収を高める方法(MicroPorTM, Altea Development Corporation)も紹介されている。

5. そのほかの吸収促進法

超音波のキャピテーション効果を利用するフォノフォレシス(ソノフォレシス)^{25,26)}は皮膚透過の促進に利用されている。また、混合ミセルなどが直腸やほかの粘膜などを介した薬物の透過促進に利用されている¹⁶⁾。なお、効果に関しては研究者間でばらつきがあるものの、リポソームなどのリン脂質小胞体の利用の報告²⁷⁾もある。

DDS 機能の一つである生体膜バリアーの透過性改善は、まさに経皮経粘膜に関するものであるといえる。すなわち、経皮経粘膜吸収を介する DDS は DDS の 3 大機能をすべて含むことがある。

トランスポータと DDS

皮膚の透過バリアーは角質層にあり、能動輸送の寄与はほとんどないと考えられているが、消化管をはじめとする上皮粘膜の場合はトランスポータに介在される能動輸送の寄与を無視できない。核酸構造をもつ制癌剤や葉酸拮抗物質などのように、生体膜透過が能動輸送によると常識的に考えられる薬物だけでなく、現在すでに実用化されている薬物のなかにも β ラクタム抗生物質やカプトプリルなど能動輸送系によって吸収されるものが多い。これらはジペプチドトランスポータを介して吸収されることがわかっている。たとえば、このトランスポータの一つである PepT 1 の cDNA がクローニングされており、PepT 1 の発現系で基質認識性の高いプロドラッグを選ぶことにより、吸収性を改善できる可能性がある²⁸⁾。したがって、今後はトランスポータの存在を考慮しながら薬物の設計やその送達法を考える試みも必要となっている。

薬物耐性(多剤耐性, MDR)の原因の一つに膜透過性の減少が考えられ、近年この原因因子の一つとして排出蛋白である P 糖蛋白の存在がクローズアップされている。ドキソルビシンなどの治療にほとんど薬効を示さないカルシウム拮抗剤を用いて、P 糖蛋白の機能を飽和する試みなどがなされている²⁹⁾。近年では、MDR 遺伝子のクローニングも進んでおり、MDR トランスポータを回避する薬物や製剤群の検討も行われるだろう。

おわりに

薬物の経皮経粘膜吸収における DDS は近年広範囲に研究が進んできた。特に、低分子の合成薬物のみでなくインスリンを始めとする種々ペプチドやアンチセンスなどのオリゴヌクレオチドへの応用も検討されている。さらには、経口や経皮ワクチン³⁰⁾の検討も進行中である。皮膚や粘膜は患者が薬を摂取するのにもっとも簡便な吸収部位であるため、患者の QOL や薬の適正使用を押し進めるためにも、種々薬物の経皮経粘膜吸収について今後とも継続的に研究していく必要があろう。

文 献

- 1) Burton S, Washington N, Steele RJ, Musson R, Feely L : Intragastric distribution of ion-exchange resins : a drug delivery system for the topical treatment of the gastric mucosa. *J Pharm Pharmacol* 47 : 901-906, 1995.
- 2) Vermeer BJ, Gilchrist BA : Cosmeceuticals. A proposal for rational definition, evaluation, and regulation. *Arch Dermatol* 132 : 337-340, 1996.
- 3) Yanagimoto G, Hayashi T, Seki T, Juni K, Sugibayashi K, Morimoto Y : A new *in-situ* experimental method to evaluate the cutaneous disposition of flurbiprofen after topical application in hairless rats. *Pharm Pharmacol Commun* 4 : 261-265, 1998.
- 4) Yanagimoto G, Hayashi T, Hasegawa T, Seki T, Juni K, Sugibayashi K, Morimoto Y : Skin disposition of drugs after topical application in hairless rats. *Chem Pharm Bull* 47 : 749-754, 1999.
- 5) Sugibayashi K, Yanagimoto G, Hayashi T, Seki T, Juni K, Morimoto Y : Analysis of skin disposition of flurbiprofen after topical application in hairless rats. *J Control Release* 62 : 201-208, 1999.
- 6) Sakane T, Akizuki M, Taki Y, Yamashita S, Sezaki H, Nadai T : Direct drug transport from the rat nasal cavity to the cerebrospinal fluid : the relation to the molecular weight of drugs. *J Pharm Pharmacol* 47 : 379-381, 1995.
- 7) 例えば、夢の薬剤 DDS(堀 了平監修, 橋田充編集), じほう, 1991.
- 8) Lenaerts V, Gurny R(eds) : Bioadhesive Drug Delivery Systems, CRC Press, Inc, Boca Raton, 1990.
- 9) Okano T, Yoshida R : Intelligent polymeric materials for drug delivery. *Biomedical Applications of Polymeric Materials*(eds Tsuruta T, Kimura Y), CRC Press, Inc, Boca Raton, 1993, p 407-428.
- 10) Hosoya K, Kubo H, Natsume H, Sugibayashi K, Morimoto Y, Yamashita S : The structural barrier of absorptive mucosae : site difference of the permeability of fluorescein isothiocyanate-labeled dextran in rabbits. *Biopharm Drug Disp* 14 : 685-696, 1993.
- 11) Hatanaka T, Manabe E, Sugibayashi K, Morimoto Y : An application of the hydrodynamic pore theory to percutaneous absorption of drugs. *Pharm Res* 11 : 654-658, 1994.
- 12) Sloan KB(ed) : Prodrugs. *Topical and Ocular Delivery*,

Marcel Dekker, Inc, New York, 1992.

- 13) Bodor N, Brewster ME : Improved delivery through biological membrane XV Sustained braine delivery of berberine. *Eur J Med Chem* 18 : 235-240, 1983.
- 14) Yamashita F, Yoshioka T, Koyama Y, Okamoto H, Sezaki H, Hashida M : Analysis of skin penetration enhancement based on a two-layer skin diffusion model with polar and nonpolar routes in the stratum corneum : dose-dependent effect of 1-geranylazacycloheptan-2-one on drugs with different lipophilicities. *Biol Pharm Bull* 16 : 690-697, 1993.
- 15) Illum L, Farraj NF, Davis SS : Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs. *Pharm Res* 8 : 1186-1189, 1994.
- 16) Yamamoto A, Umemori S, Muranishi S : Absorption enhancement of intrapulmonary administered insulin by various absorption enhancers and protease inhibitors in rats. *J Pharm Pharmacol* 46 : 14-18, 1994.
- 17) Pillai O, Nair V, Poduri R, Panchagnula R : Transdermal iontophoresis. part II : peptide and protein delivery. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 21 : 229-240, 1999.
- 18) Numajiri S, Sugibayashi K, Morimoto Y : Constant current and constant voltage iontophoretic transport of morphine hydrochloride through hairless rat skin *in-vitro*. *Pharm Pharmacol Commun* 4 : 529-534, 1998.
- 19) Gangarosa LP, Park NH, Wiggins CA, Hill JM : Increased penetration of nonelectrolytes into mouse skin during iontophoretic water transport (iontohydrokinesis). *J Pharmacol Exp Ther* 212 : 377-381, 1980.
- 20) Neumann E, Rosenheck K : Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *J Membr Biol* 10 : 279-290, 1972.
- 21) Mori K, Watanabe T, Hasegawa T, Sato S, Kenji Sugibayashi K, Morimoto Y : Effect of cathode and anode positions, frequency of applied pulse, and electrode materials at electroporation on the *in vitro* skin permeation of mannitol : comparison with iontophoresis. *Drug Delivery System* 14 : 485-490, 1999.
- 22) Yoshida M, Mori K, Watanabe T, Hasegawa T, Sugibayashi K : Effect of application voltage and cathode and anode positions at electroporation on the *in vitro* permeation of benzoic acid through hairless rat skin. *Chem Pharm Bull* 39 : in press, 2000.
- 23) Inoue N, Kobayashi D, Kimura M, Toyama M, Sugawara I, Itoyama S, Ogihara M, Sugibayashi K, Morimoto Y : Fundamental investigation of a novel drug delivery system-A transdermal delivery system with jet injection. *Int J Pharmaceut* 137 : 75-84, 1996.
- 24) Henry S, McAllister DV, Allen MG, Prausnitz MR : Microfabricated microneedles : a novel approach to transdermal drug delivery. *J Pharm Sci* 87 : 922-925, 1998.
- 25) Mitragotri S, Blankschtein D, Langer R : Ultrasound-mediated transdermal protein delivery. *Science* 269 : 850-853, 1995.
- 26) Ueda H, Isshiki R, Ogihara M, Sugibayashi K, Morimoto Y : Combined effect of ultrasound and chemical enhancers on the skin permeation of aminopyrine. *Int J Pharmaceut* 143 : 37-45, 1996.
- 27) Ceve G, Gebauer D, Stieber J, Schätzlein A, Blume G : Ultraflexible vehicles, Transfersomes, have an extremely low pore penetration resistance and transport therapeutic amounts of insulin across the intact mammalian skin. *Biochim Biophys Acta* 1368 : 201-215, 1998.
- 28) Lee VH, Chu C, Mahlin ED, Basu SK, Ann DK, Bolger MB, Haworth IS, Yeung AK, Wu SK, Hamm-Alvarez S, Okamoto CT : Biopharmaceutics of transmucosal peptide and protein drug administration : role of transport mechanisms with a focus on the involvement of PepT1. *J Control Release* 62 : 129-140, 1999.
- 29) Nogae I, Kohno K, Kikuchi J, Kuwano M, Akiyama S, Kiue A, Suzuki K, Yoshida Y, Cornwell MM, Pastan I, Gottesman MM : Analysis of structural features of dihydropyridine analogs needed to reverse multidrug resistance and to inhibit photoaffinity labeling of P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol* 38 : 519-527, 1989.
- 30) Babiuk S, Baca-Estrada M, Babiuk LA, Ewen C, Foldvari M : Cutaneous vaccination : the skin as an immunologically active tissue and the challenge of antigen delivery. *J Control Release* 66 : 199-214, 2000.