

補助事業番号 2020M-197

補助事業名 2020年度ランジュバン型振動子を用いた超音波経皮浸潤効果の検討とニードルレス薬剤投与デバイスの開発補助事業

補助事業者名 東京工業大学 物理理工学院 倉科 佑太

1 研究の概要

ワクチンなどの注射による薬剤投与に代わる新たな経皮投与方法として超音波投与の効率的な手法を確立した。具体的には、ナノ薬剤の懸濁液を皮膚に塗布し、超音波を照射することで皮下に投与した。照射条件を検討できるように超音波発信機を具備した超音波照射デバイスを開発し、経皮浸潤効果のメカニズムを解明した。さらに、先の検証結果に基づき、高分子医薬品を超音波により経皮投与可能とするために、新たな超音波とナノキャリアを用いた新たな薬剤投与の系を確立した。これにより、従来では自身の不安定性から経皮投与が困難であった線維芽細胞成長因子(bFGF)を高効率で生体に投与することに成功した。

2 研究の目的と背景

本研究の目的は、ニードルレスで薬剤を投与するための超音波照射デバイスを構築することである。初年度では、ナノ薬剤を皮下に投与するための超音波照射条件や周囲の照射環境、ナノ粒子の投与可能なサイズなど基礎的な検討を行った。本年度は新たな振動デバイスの構築と、照射する音圧を測定装置の製作、そしてこれを用いた振動特性の評価を検討した。また、投与する目標の生体高分子の一つであるbFGFを含有したキトサンナノキャリアの生成を検討した。最後に、bFGF含有キトサンナノキャリアをマウスの皮膚への投与可能かを検討した。

3 研究内容

(1) 超音波によるナノマテリアルの経皮浸潤効果の基礎的検討

(<https://web.tuat.ac.jp/~kurashina/research/>)

超音波を照射することで皮下にナノ薬剤を投与可能な超音波照射装置を製作した(図1)。これを用いて、ポリスチレン、シリカ、金のナノ粒子をマウス皮膚に投与した(図2)。その際、皮下に異なる音響特性の裏地(筋肉や骨に近い音響特性)を配置して、ナノ粒子の浸潤効果を検討した。

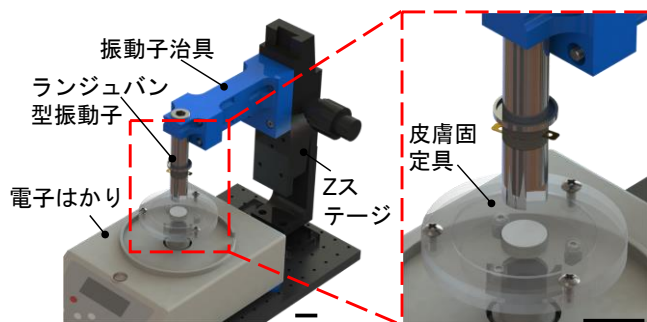


図1 超音波照射装置の製作

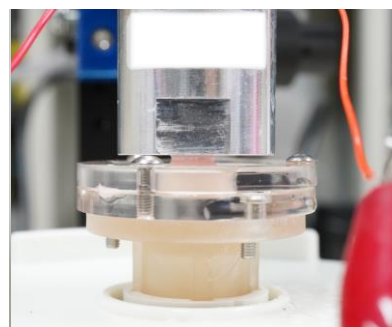


図2 マウス皮膚への超音波照射

(2) 生体高分子を超音波投与するためのナノキャリアの製作

(<http://2022-03spring.jspe.or.jp/wp/wp-content/uploads/pdf/22-03-program.pdf>)

生体高分子の一つである線維芽細胞成長因子を超音波により効率的に皮下に投与するために、キトサンを用いたナノキャリアを製作し、成長因子をカプセル化することで成長因子の安定性を増加させて皮下への投与効率の向上に成功した(図3, 4).

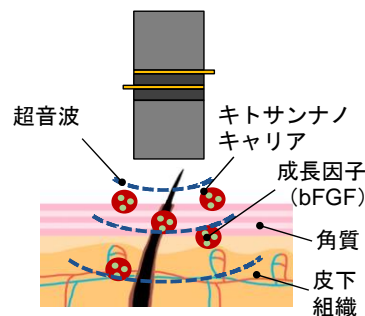


図3 キトサンナノキャリアによる投与

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究が社会実装されることにより、糖尿病患者やワクチンなど薬剤の経皮投与を必要とする患者に対して注射とは異なるニードルレスな投与方法を提示することが可能である。糖尿病の患者数は300万人を超え、インフルエンザワクチンの製造量が年間2500万本を超え、最近では新型コロナウイルスのワクチンの摂取量が全国民の80%を超えるなど、薬剤の経皮投与の需要は年々増加傾向にある。こうした患者に対して注射による苦痛を低減することや使い捨ての自己注射や在宅自己注射指導管理料を必要としない患者の負担を低減した薬剤経皮投与手法の確立により患者の精神的、肉体的な苦痛を取り除く未来に期待することができる。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

事業者は、生体の活性向上やそのメカニズムを分析するため、主に超音波をアクチュエータとして生体に照射するバイオメカニクスの研究に従事してきた。加えて、マイクロ加工を基盤とした細胞培養システムやDDSデバイスを開発し、バイオメディカルデバイスに新たな機械要素を取り入れる研究に従事してきた。本研究を遂行することで、超音波がナノマテリアルや生体に及ぼす影響について深い知見を得ることができた。すなわち、これまでのマイクロスケールでの生体に及ぼす超音波研究に加えて、ナノスケールでの生体に及ぼす超音波研究を実施することができた。これらの研究成果が評価されることで、2022年度からは研究室の主催研究者(PI)として新たな研究室を立ち上げることができた。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

・ Yuta Kurashina, Risa Asano, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Keita Ando, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, Yoshitaka Kitamoto, **Ultrasound in Medicine and**

Biology, 2022 [in press].

- ○[Yuta Kurashina](#), Risa Asano, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, and Yoshitaka Kitamoto, The 42nd Symposium on Ultrasonic Electronics, (online), 2021/10/27.
- ○[Yuta Kurashina](#), Risa Asano, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, Yoshitaka Kitamoto, The 12th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics, Online, 2021/7/7
- ○[Yuta Kurashina](#), Risa Asano, Makoto Matsui, Takahiro Nomoto, Kentaro Nakamura, Nobuhiro Nishiyama, Yoshitaka Kitamoto, International Ultrasonic Symposium, Las Vegas (Online), NV, USA, 2020/9/10.
- ○[倉科佑太](#), “超音波照射が植物の成長や線虫の記憶に及ぼす影響,” 日本材料学会 第62回生体・医療材料部門委員会, オンライン, 2021/8/23.
- ○[倉科佑太](#), “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,” 精密加工学会 春季大会学術講演会 キーノートスピーチ, オンライン, 2022/3/15.

7 補助事業に係る成果物

(1) 補助事業により作成したもの

題目: Quantitative analysis of acoustic pressure for sonophoresis and its effect on transdermal penetration, 雑誌: Ultrasound in Medicine & Biology

ARTICLE IN PRESS

Ultrasound in Med. & Biol., Vol. 00, No. 00, pp. 1–12, 2022
Copyright © 2022 World Federation for Ultrasound in Medicine & Biology. All rights reserved.
Printed in the USA. All rights reserved.
0969-6029/22/\$ - see front matter
<https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2022.01.021>

● Original Contribution

QUANTITATIVE ANALYSIS OF ACOUSTIC PRESSURE FOR SONOPHORESIS AND ITS EFFECT ON TRANSDERMAL PENETRATION

YUTA KURASHINA,^a RISA ASANO,^a MAKOTO MATSUI,^b TAKAHIRO NOMOTO,^c KEITA ANDO,^c KENTARO NAKAMURA,^d NOBUHIRO NISHIYAMA,^e and YOSHITAKA KITAMOTO^f

^aDepartment of Materials Science and Engineering, School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology, Midori-Ku, Yokohama, Japan, ^bLaboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, Midori-Ku, Yokohama, Japan, ^cDepartment of Mechanical Engineering, Faculty of Science and Technology, Keio University, Kohoku-Ku, Yokohama, Japan, and ^dLaboratory for Future Interdisciplinary Research of Science and Technology, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology, Midori-Ku, Yokohama, Japan

(Received 13 May 2021; revised 28 January 2022; in final form 31 January 2022)

Abstract—Ultrasound facilitates the penetration of macromolecular compounds through the skin and offers a promising non-invasive technique for transdermal delivery. However, technical difficulties in quantifying ultrasound-related parameters have restricted further analysis of the sonophoresis mechanism. In this study, we devise a bolt-clamped Langevin transducer-based sonophoresis device that enables us to measure with a thin lead stannate titanate (PZT) sensor. One-dimensional acoustic theory accounting for wave interaction at the skin interface indicates that the acoustic pressure and cavitation onset on the skin during sonophoresis are sensitive to the subcutaneous support, meaning that there is a strong need to perform the pressure measurement in an experimental environment replicating the human body. From a series of the experiments with our new device, the transdermal penetration of polystyrene, silica and gold nanoparticles is found to depend on the size and material of the particles, as well as the hardness of the subcutaneous support material. We speculate from the acoustic pressure measurement that the particles' penetration results from the mechanical action of cavitation. (E-mail: kurashina.y.aa@m.titech.ac.jp) © 2022 World Federation for Ultrasound in Medicine & Biology. All rights reserved.

Key Words: Sonophoresis, Acoustic pressure, Nanoparticles, Acoustic impedance, Transdermal penetration.

INTRODUCTION

The skin protects the body from pathogens (Meitz et al. 2008) and physical/chemical stimuli (Chuong et al. 2002) caused by external stress. Specifically, the stratum corneum, the outermost skin tissue acting as a strong barrier, prevents transdermal penetration of drugs applied on the skin (Fitzma and Morgan 1999; Trommer and Neubert 2006). While drugs with small molecular weights (MW <500) can easily penetrate the skin (van der Maaden et al. 2012), there is a need to devise a technique that allows for transdermal delivery of larger materials (such as macromolecular drugs and nanoparticles) through the stratum corneum (Guy and Hadgraft 2002). In this regard, several researchers have developed methods using physical action that include electricity (iontophoresis and electroporation (Chien et al. 1990; Choi et al. 1999)), magnetism (magnitophoresis [Murthy et al. 2010]) and ultrasound (sonophoresis [Mitragori et al. 1995; Yamashita et al. 1997]). Among these methods, sonophoresis (Azagury et al. 2014) can be applied to the delivery of various molecules including non-ionized or non-magnetic materials, which can increase the skin permeability of molecules such as insulin (Kost et al. 2000), morphine (Momi et al. 2001), glucose (Merino et al. 2003), lidocaine (Becker 2005) and tetanus toxoid vaccine (Ogura et al. 2008) in addition to nanosized materials such as liposomes (Rangsimavong et al. 2018), polymeric micelles (Polat et al. 2012), gold nanoparticles (Xu et al. 2019), quantum dots (Paliwal et al. 2006) and iron oxide nanoparticles (Lee et al. 2010). Sonophoresis has thus extended its application target in chemotherapy, tissue engineering, immunotherapy and gene therapy (Polat et al. 2010).

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301562922000448>)

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

題目: Transdermal delivery of large nanoparticles via ultrasonic irradiation in low-frequency range.

学会名: 2020's IEEE International Ultrasonics Symposium

(https://2020.ieee-ius.org/sites/ius20/files/2020-09/IUS%202020%20Final%20Program2_0.pdf)



<p>Introduction</p> <p><<Transdermal Penetration>></p> <ul style="list-style-type: none"> Stratum corneum prevents transdermal penetration of drugs Only drugs with low molecular weight (MW < 500) can penetrate the skin¹⁾ <p>Sonophoresis has increased the skin permeability of various molecules, expanding its application in chemotherapy, tissue engineering, immunotherapy, and gene therapy</p> <p>Previous researches</p> <ul style="list-style-type: none"> Insulin²⁾ Polystyrene nanoparticles³⁾ <p>1) K. Maier et al., <i>J. Control. Release</i> (2012)</p> <p>2) N. Yamahita, et al., <i>Anal. Rec.</i> (1997)</p> <p>3) N. Zhang, et al., <i>Biomed. Res.</i> (2011)</p> <p><<Purpose>></p> <p>We fabricate a sonophoresis device that penetrated nanoparticles through stratum corneum by ultrasonic irradiation, and demonstrate the transdermal effect using various linings and nanoparticles</p> <p><<How to irradiate ultrasound>></p> <p>C Topical application of nanoparticles</p> <p>D Heavy adjustment</p> <p>E Ultrasonic irradiation</p>	<p>Penetration of fluorescence nanoparticles</p> <p>Penetration conditions</p> <p>Lining: HDPE, LDPE Nanoparticles: Polystyrene (PSNPs: 30, 200 nm) Size (SNPs: 30, 200 nm)</p> <p>Frozen sections of skin penetrated with nanoparticles by ultrasound were prepared and observed by a fluorescence microscopy</p> <p>Control</p> <p>Penetrated nanoparticles were shown by white arrows</p> <ul style="list-style-type: none"> 200 nm-PSNPs were penetrated in hard lining (HDPE) 200 nm-SNPs were not penetrated, but PSNPs were penetrated
<p><<Design of sonophoresis device>></p> <ul style="list-style-type: none"> Ultrasonic transducer, both-clamped Langevin (BL) transducer The electric balance can detect the moment when the BL transducer touches the harvested skin <p><<Vibration conditions>></p> <p>Max amplitude: 1.3 μm</p> <p>Frequency: 42 ± 1 kHz</p> <p>Duration time: 5 min</p> <p>Using high or low-density polyethylene (HDPE or LDPE) as a lining, which has similar acoustic impedance to cartilage and muscle</p>	<p>Penetration of gold nanoparticles</p> <p>Penetration conditions</p> <p>Lining: HDPE Nanoparticles: Gold (AuNPs: 20, 40, 100, 200 nm)</p> <p>AuNPs penetrated in the skin were sensitized and stained with Mayer's hematoxylin and observed by a phase contrast microscope</p> <p>Gold-sensitized frozen skin section</p> <p>Measuring the amount of transdermal penetration of 20 nm-AuNPs (black arrows) by ICP-MS</p> <p>Amount of AuNPs penetrated in skin</p> <p>Since the amount of penetration did not change regardless of stratum corneum, the AuNPs were penetrated into stratum granulosum</p> <p>This sonophoresis device shows that the penetration behavior of the system changed with the differences in particles and lining</p> <p>This work was partially supported by MZuho Foundation and JKA</p>

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 東京農工大学工学部機械システム工学科

(トウキョウノウコウダイガクキカイシステムコウガクカ) * 2022年4月現在

住所: 〒184-0012

東京都小金井市中町2-24-16 6号館 401号室

担当者: 倉科佑太・准教授(クラシナユウタ)

担当部署: 機械システム工学科

E-mail: kurashina@go.tuat.ac.jp

URL: <https://web.tuat.ac.jp/~kurashina/>