

平成 21 年 6 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18590159

研究課題名（和文）メカニズムに基づいた PK - PD 解析モデルによる医薬品の最適投与設計

研究課題名（英文）Optimization of Dosage Regimens Using a Mechanism-based PK-PD Model

研究代表者 掛見 正郎 (KAKEMI MASAWO)

大阪薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00019134

**研究成果の概要：**

本研究は、sufonylurea (SU) 系糖尿病治療薬 tolbutamide (TB) の血糖降下効果を、病態 (高血糖・糖尿病) 時で、しかも血糖恒常系の日内変動が存在する中で検討し、その結果得られた情報を基に、SU 剤の全く新しい最適投与計画を策定しようとするものである。今回は、成人型糖尿病として 2 型糖尿病 (NIDDM) に焦点を絞り、二種類の自然発症病態モデル動物を用いて検討を行った。一つは非肥満型 NIDDM モデルである GK Rat、もう一つは肥満型 NIDDM モデルである ZDF Rat である。このうち GK Rat は膵ランゲルハンス島  $\beta$  細胞からの insulin の分泌が成長にしたがって速やかに低下するとともに、insulin 抵抗性を獲得する病態動物である。これに対し ZDF Rat は、肥満発症とともに insulin の分泌が徐々に低下し、insulin 抵抗性も獲得する病態動物である。これら自然発症病態動物を本研究で用いた理由は、アロキサン糖尿病ラットやストレプトゾトシン糖尿病ラットなどの化学物質誘導病態と異なり、今回用いた TB などの SU 剤に感受性があるばかりでなく、血糖恒常系自体も維持されていると考えられたからである。実際、GK Rat、ZDF Rat とも血糖値は正常ラットに比べ有意に高いものの、血糖値の日内リズムは規則正しく刻まれている、すなわち血糖恒常系が維持されていることが明らかとなった。GK Rat における血糖値の概日リズムは、リズム平均 (Mesor) = 119 mg/dL、振幅 (Amplitude) = 6.91 mg/dL、頂点位相 (Acrophase) = 18 時 30 分となり、正常ラットに比べ、振幅が有意に大きくなると同時に、頂点位相が約 3 時間後方にずれることが判った。一方 ZDF Rat における血糖値の概日リズムは、リズム平均 (Mesor) = 121.9 mg/dL、振幅 (Amplitude) = 25.37 mg/dL、頂点位相 (Acrophase) = 19 時 20 分であった。この値は正常ラットに比べ、振幅が大きくなり、また頂点位相も約 4 時間後方にずれていることが判った。このように本研究によって、これら糖尿病病態時の血糖値、血漿中 insulin 濃度の日内変動動態を、詳細に明らかにすることが出来たことは、大きな成果であると考えている。またこれら病態時の血糖恒常系の中で、TB の薬理効果を検討した結果、投与時刻によって薬理効果が著しく変動することを明らかにした。特に GK Rat では、明期(休息期)に TB を投与しても薬理効果(血糖降下効果)はほとんどないのに対し、暗期(活動期)に投与すると著しく薬効が現れることが明らかとなり、生体の持つ概日リズムの重要性が改めて浮き彫りとなった。また、ZDF Rat においても、暗期(活動期)に TB を投与する方が、明期(休息期)に投与するよりも、薬理効果が大きくなること、さらに糖尿病病態では、薬理効果発現が遅延することが明らかになった。今後これらの現象の原因を追究するとともに、当初の目的である “Mechanism - based PK-PD Model” を設計し、定量化を目指すとともに、これら結果を組み込んだ、全く新しい薬物投与計画の設定、さらにはこれを応用した DDS 製剤の新しい概念を提唱したいと考えている。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1800,000	0	1800,000
2007年度	1000,000	300,000	1300,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3500,000	510,000	4010,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬効解析学、糖尿病治療薬、NIDDM、トルブタミド、PK-PD、概日リズム、糖尿病自然発症モデル、

### 1. 研究開始当初の背景

近年「時間薬理学(chronopharmacology)」に関する研究の必要性がようやく認識されるようになり、生体恒常系の日内変動(circadian rhythm：概日性リズム)を考慮した薬物投与計画の設定、あるいはDrug Delivery System(DDS)製剤の設計などが行われるようになった。このことは、DDSの創始者と言われるA.Zaffaroniが提唱して以来約35年間にわたって不変であったDDS製剤開発の基本的概念、すなわち「特定の部位に選択的、効率的に、しかも量的にもより多くの薬物を到達させ、その部位において出来る限り『一定の濃度』を保つ製剤の開発」が、徐々にではあるが確実に終焉を迎えつつあることを意味する。今日ではこれに替わって、患者個人の遺伝情報を含む生理学的要因、例えば内分泌系を含む生体恒常系のフィードバック調節系、薬物受容体における情報伝達系、薬物代謝酵素変動、などを積極的に解析モデルに組み入れた薬物投与計画の設計が試みられている。本研究はこれらのうち、特に生体恒常系のフィードバック調節系に着目し、投与された薬物の生体内動態(pharmacokinetics: PK)と、薬理効果(pharmacodynamics: PD)との関係を、生体恒常系の日内変動(circadian rhythm)を含めた「メカニズムに基づいたPK-PD解析(mechanism-based PK-PD analysis)」を行うことで定量化し、これを使用して新しい投与計画設定法の確立を目指したものである。これが実現すれば、患者個人の生体恒常系、とりわけ日内変動に対応した「薬理効果(治療効果)の最適化」が可能となり、そのときの「最適な薬物体内動態」を具体化する製剤設計、新規剤形開発など、「薬理効果のメカニズムに

基づいたDDS製剤設計」に向けた新しい情報の提供が可能となると考えている。

### 2. 研究の目的

これまで、ヒトにおいて血糖恒常系、血圧恒常系、血漿中カルシウム恒常系、体温調節系などに著しい日内変動が報告されており、したがって糖尿病治療薬、高血圧治療薬、骨粗鬆症治療薬など、長期にわたる投与が必要な医薬品の投与計画やDDS製剤の設計には、「これら生体恒常系の日内変動を含めたフィードバック調節系を積極的に考慮する必要がある」と考えられている。しかしながら現実には、これらを考慮した薬物投与計画は、これまで何一つ具体的に提唱されることはなかった。その原因の一つには、日内変動を含めた生体恒常系の「数学モデル化」が比較的困難なこと、概日リズムの実体が近年に至るまであまり明らかになっていなかったためである。最近になって、細胞のDNA複製や有糸分裂などのタイミングが生体恒常系の日内変動に制御されていることが明らかとなり、ガン細胞の増殖能や腫瘍細胞の血管新生に24時間の概日性リズムが存在すること、その結果抗ガン剤の「投与時刻」を考慮することによって、抗ガン作用の増強と副作用の軽減を企図する「時間薬物治療の考え方」が、大戸や小柳らによってはじめて具体的に提唱されるに至った。現在では、概日性リズム自体については、その中枢が脳内の視交叉上核(suprachiasmatic nucleus: SCN)に位置すること、これらはBMAL1やCLOCKなどの「時計遺伝子群」によって制御されていることが明らかにされ、これら体内時計の分子機構解明についても各方面で研究が続けられている。しかしながら一方、

具体的な医薬品の投与計画については、抗ガン剤を除くと、生体恒常系、薬物体内動態 (PK)、薬理効果 (PD) 及びその相互関係を詳細に解析し検討した報告は、未だ殆どない状態である。古くから臨床的に汎用されてきた sulfonylurea (SU) 系糖尿病治療薬 tolbutamide (TB) でさえ、概日性リズムによって薬理効果ばかりでなく、薬物体内動態まで著しく変動していたことは、最近私たちに

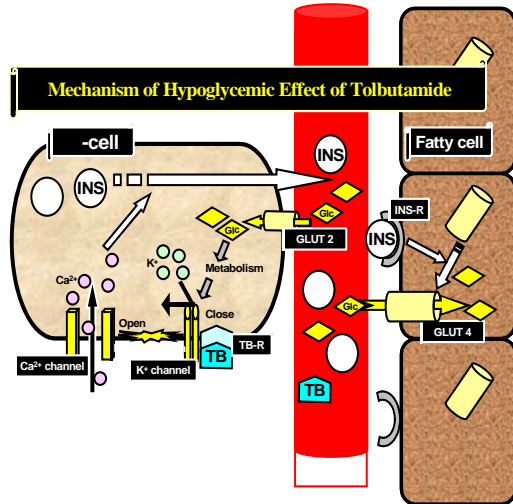


図1 SU剤の薬理効果発現機序

よって明らかにされるまで殆ど知られていなかった事実である。この他最近になって、循環器疾患の治療にも概日性リズムを考慮すべきことが明らかにされている。本研究は、長期にわたる投与が一般的に行われている医薬品の内から、糖尿病治療薬 (tolbutamide, insulin) に焦点を絞り、これら薬物を複数の病態モデル動物に投与した後、血漿中薬物濃度の時間的変化、薬理効果の消長を、血糖恒常系、血圧調節系を含む循環器系の日内変動の中で検討を行うものである。さて、TBを含むSU剤の薬理効果は、膵ランゲルハンス島細胞にあるATP感受性K<sup>+</sup>チャンネル近傍の sulfonylurea receptor にTBがまず結合し、K<sup>+</sup>エフラックスを阻害することによって膵

細胞の脱分極へと導き、膜電位感受性Ca<sup>2+</sup>チャンネルが開き、細胞からinsulinが放出されることが知られている(図1)。このATP感受性K<sup>+</sup>チャンネルはD-glucoseによっても作動し、最近の私たちの研究によって、このglucose依存性insulin放出にも、時刻による作動特性の変動が明らかにされている。また、K<sup>+</sup>チャンネル近傍sulfonylurea receptor感受性にも日内変動があることを私たちは認めている。したがって古くから臨床的に汎用されてきたTBの投与計画の設定でさえ、従来から考えられてきたより遙かに複雑で、単に血漿中濃度を一定に維持するだけでは、最適な治療には結びつかないこと、すなわち投与計画全体の再評価が必要となっ

ていることを示している。そこで、本研究の目的は、複数の病態モデルを用いて血糖恒常系に関して、最新の生理学的/薬理的知見に基づいて数学モデル化すること、糖尿病治療薬のPKおよびPDに及ぼすこれら血糖恒常系の影響をmechanism-based PK-PD modelを用いて検討すること、これら血糖恒常系のフィードバック調節系を積極的に考慮した「最適な血漿中濃度時間推移」を決定すること、「薬理効果のメカニズムに基づいたDDS製剤」設計のための具体的な情報を得ることである。本研究は、以下3つの手順に従って検討することとした。

**(1) 病態モデル動物における血糖恒常系の検討** これまで私たちの研究室では、正常ラットにおいて、血糖値と血漿中insulin濃度に有意な日周リズムがみられることを報告してきた。すなわち血糖値については、リズム平均 (Mesor) = 112.1 mg/dL、振幅 (Amplitude) = 6.0 mg/dL、頂点位相 (Acrophase) = 15時19分、血漿中insulin濃度については、リズム平均 (Mesor) = 14.0 μU/mL、振幅 (Amplitude) = 2.76 μU/mL、頂点位相 (Acrophase) = 18時10分であった。このとき、6時(血糖値の日内極小値の時刻)と18時(血糖値の日内極大値の時刻)で、glucoseによる膵ランゲルハンス島細胞からのinsulinの放出、および末梢 (skeletal muscleまたはadipocyte) 細胞表面におけるinsulinのreceptorへの結合性あるいは末梢細胞におけるglucose取り込みに差があり、これが血糖恒常系の日内変動をおこす直接

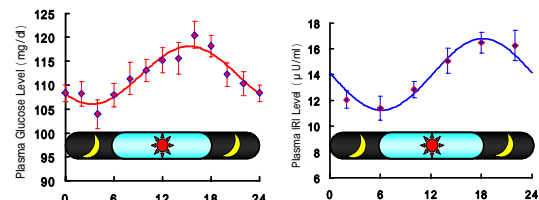


図2 正常ラットにおける血糖値、血漿中insulin濃度の日内リズム

の原因になっていることを明らかにした(図2)。

本研究では、複数の病態モデル動物を用いるが、これらにおいては、血糖値、血漿中IRIの概日性リズムは全く検討されていない。そこで、先ず血糖値、血漿中IRIの概日性リズムが、先に示した正常ラットの概日性リズムとどのように相違しているのかを明らかにし、ヒトとの相関性を考慮しながら検討を行うこととする。

**(2) 病態モデル動物における糖尿病治療薬の pharmacokinetics (PK) の検討** これまで、正常ラットにおいて、SU系糖尿病治療薬TB及びglibenclamideのPK自体に著しい日内変動があることを報告してきた。そこで、病態

モデル動物においても同様な日内変動が存在するかどうか検討を行うこととする。

**(3) 病態モデル動物における糖尿病治療薬の pharmacodynamics (PD) の検討** 私たちは既に正常ラットにおいては図3に示した通り、TBのin vivo 血糖降下効果が、同じ投与量でも6時が小さく、18時が大きいことを報告している。今回2種類の型糖尿病モデル動物を用いるが、これらにおいても先の正常ラットと同様の日内変動が観察できるかどうかを検討する。

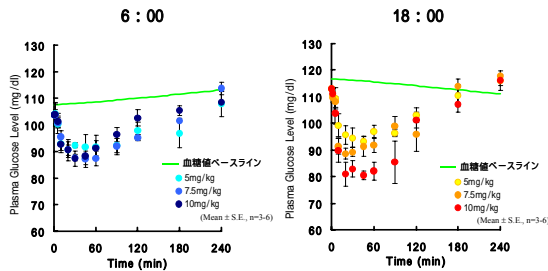


図3 正常ラットにおけるTBの血糖降下効果に及ぼす投与時刻の影響

### 3. 研究の方法

実験動物：実験動物には一種類の正常ラット（雄性 Wistar Rat）と、二種類の雄性2型糖尿病(NIDDM)ラットを用いた。すなわち、非肥満性糖尿病モデル動物である後藤・柿崎ラット（GK Rat）と肥満性糖尿病モデル動物である Zucker Diabetic Fatty-Leprfa /CrI CrIj ラット（ZDF Rat）である。これらはともに自然発症のNIDDMである。これらのラットは、12時間の昼夜サイクル（06:00点灯 / 18:00消灯）下で1週間以上飼育馴化を行い、実験には18時間の絶食後に用いた。また実験前々日には麻酔下に頸静脈および腹部大動脈にカニューレを施した。血液の採取と薬物投与はこれらのカニューレから無麻酔、非拘束下で行った。実験は絶食状態で2時間毎24時間に亘って採血し、血糖値の circadian rhythm を測定した。血糖リズムの最高値と最小値を示す時刻には、耐糖能試験(IVGTT)あるいは insulin 感受性試験 (IVITT) を行った。すなわち IVGTT においては、D-Glucose を頸静脈から 1g/kg の投与量で i.v. bolus 投与し、血糖値あるいは血漿中 insulin 濃度を経時的に測定した。また、IVITT では、ヒト insulin を i.v. bolus 投与 (0.5 IU/kg) 後、血糖値あるいは血漿中 insulin 濃度を経時的に測定した。

糖尿病治療薬：薬物として tolbutamide (TB) を用いた。TB は 60% Polyethylene glycol 400 水溶液に溶解し、06:00、10:00、18:00、22:00 のいずれかの時刻に大腿静脈より単回 i.v. bolus 投与 (7.5 mg/kg または 10 mg/kg) した。

血漿中 TB, insulin および glucose 濃度の定量：薬物投与後、血液を頸静脈より経時的に採取し遠心分離により血漿を得た。血漿中 TB 濃度は HPLC-UV 法で、血漿中 glucose 濃度はムタロターゼ-GOD 法で、血漿中 insulin 濃度は ELISA 法でそれぞれ測定した。

データ解析：血糖基底値はコサイナーモデル解析を行い、有意水準は5%とした。

### 4. 研究成果

#### (1) GK Rat

**血糖値の日内変動とTBの薬理効果：2型糖尿病モデル動物GK Ratにおける血糖値の日内変動を**図4に示した。この図からも明らかのように、GK Rat (赤のシンボル)においても、正常ラットと同様、有意な日周リズムがみられることが判った。このときリズム平均 (Mesor)=119 mg/dL、振幅 (Amplitude)=6.91 mg/dL、頂点位相 (Acrophase)=18時30分となり、正常ラット(青のシンボル)に比べ、振幅が有意に大きくなると同時に、頂点位相が約3時間後方にずれることが判った。また、GK RatにおけるTBの血糖低下効果を図5に示した。GKRatにおいてTBの薬理効果(血糖降下効果)は、明期(休息期:6時、10時)ではほとんど認められないが、暗期(活動期:18時、22時)では認められ、特に血糖リズムの

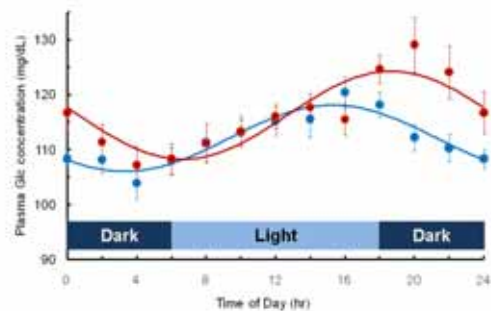


図4 GK rat における血糖値の日内変動  
赤: GK rat 青: 正常ラット

最高値を示す22時には大きな血糖降下効果を示すことが判った。すなわち、TBの薬理効果は、正常ラットの場合と同様、暗期に増強する傾向が認められた。なお図中の実線は日内変動を含めた基底値 (Basal Line) を表している。



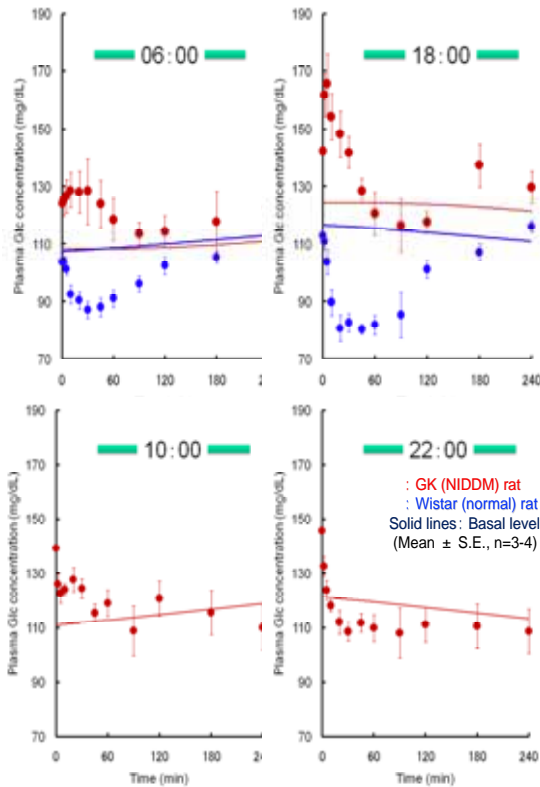


図5 GK rat における TB の血糖降下効果に及ぼす投与時刻の影響  
赤: GK Rat 青: 正常ラット

**TB 静注後の血漿中TB濃度:** 図6は、GK RatにTBを 10mg/kgで明期(6時)あるいは暗期(18時)にそれぞれ静脈内bolus投与後の血漿中TB濃度(赤シンボル)を表している。図からも明らかなように、投与時刻による顕著な差は認められなかったが、正常ラット(青シンボル)と同様に明期においてわずかに消失が遅れる傾向が認められた。

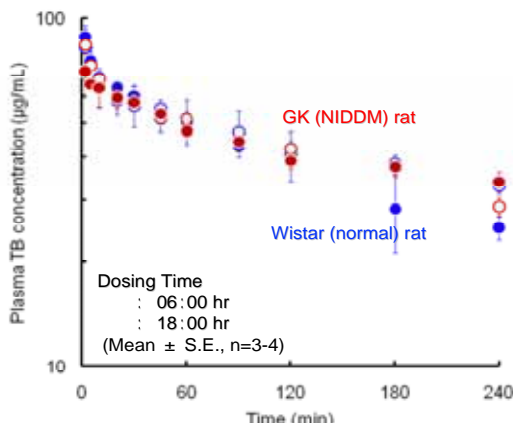


図6 静脈内 bolus 投与後の血漿中 TB 濃度推移  
赤: GK rat 青: 正常ラット  
: 6時投与、 : 18時投与

**耐糖能試験 (IVGTT):** 図7は耐糖能試験IVGTTを行った後の血糖値変動を表している。GK Rat (赤色)の場合、明期の血糖値が暗期よりも高く、insulinの作用が明期に低下している(あるいは暗期にinsulinの作用が亢進している)ことを示している。図8は、図7より求めた「血糖低下率」を示している。血糖降下率は明期(6時)に比べ暗期(18時)が亢進しているものの、22時には逆に低下している、すなわちGK Ratでは、血糖リズムの最も高い22時にinsulinの作用が最も低下

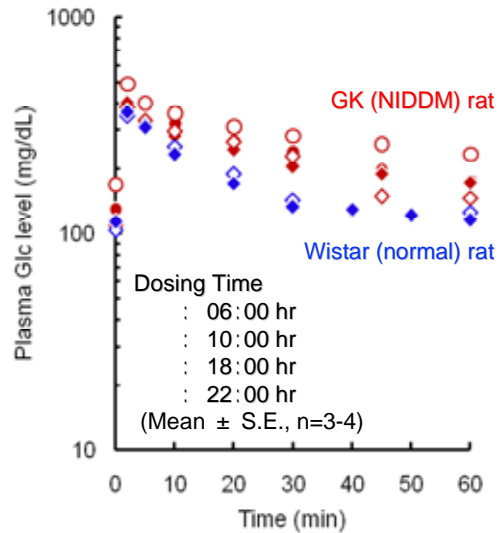


図7 GK Rat における耐糖能試験 (IVGTT) 後の血糖値の変化

しているという結果となった。このことは、GK RatにおいてTBの薬理効果が22時に最大になる先の結果と、矛盾した結果となった。

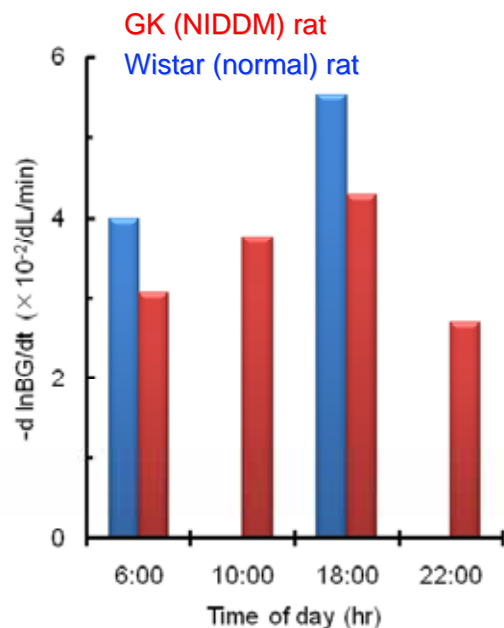


図8 IVGTT から得られた血糖降下率の日内変動

IVGTT時に、血漿中insulin濃度を測定していないので、確たる証拠はないが、体内insulin分泌能あるいはinsulin感受性に時刻差があるのではないかと示唆される。

**insulin 負荷試験 (IVITT):** 投与時刻によるinsulin感受性の変動を調べるため、GK Ratに、ヒトinsulinを静脈内bolus投与(0.5 IU/kg: IVITT)して、血糖値の動向を測定した。結果を図9に示した、22時>18時>10時>6時の順に血糖降下効果が大きくなる傾向を示したが有意差はなく、insulinの血糖低下効果、すなわち感受性自身には殆ど時刻差はないことが示唆された。

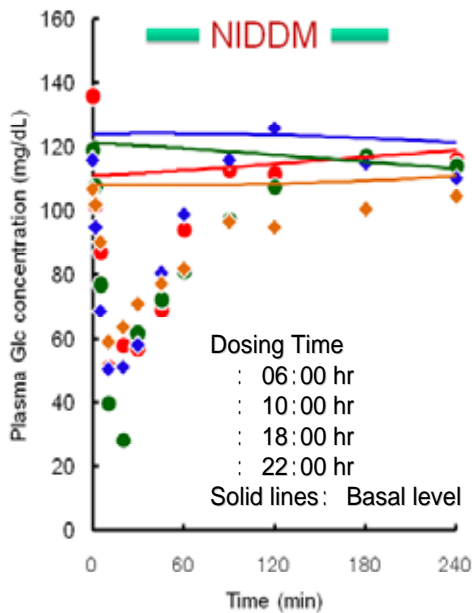


図9 GK Rat にヒト insulin(0.5 IU/kg) i.v. bolus 投与後の血糖値変化に及ぼす、投与時刻の影響

**GK RatのPK-PDに関するまとめ:** 2型糖尿病(NIDDM)モデル動物の一つであるGK Ratを用いて、血糖恒常系のcircadian rhythmを測定するとともに、sulfonylurea系糖尿病治療薬tolbutamide(TB)を投与して、その時間薬理的、時間薬物動態学的検討を、正常ラットとの比較で行った。その結果、血糖値のcircadian rhythmはリズム平均(Mesor)=119 mg/dL、振幅(Amplitude)=6.91 mg/dL、頂点位相(Acrophase)=18時30分となり、正常ラットに比べ、頂点位相が約3時間後方にずれていることが判った。血糖リズムの最高値を示す22時と最小値を示す10時にそれぞれ耐糖能試験(IVGTT)を行ったところ、10時のIVGTTの方が血糖減少速度が緩やかで、体内insulin分泌能あるいはinsulin感受性に時刻差があることが示唆された。しかしながら、同時刻にインスリン感受性試験

(IVITT)を行ったところ、22時の方がやや血糖降下効果が大きいものの、インスリンの感受性自身には殆ど時刻差はないことが判った。GK Ratは元々肝からの糖放出が亢進して高血糖を示すが、肥満は呈さない特徴を持っている。またGK Ratは、insulin分泌能がかなり低下していることが知られている。従って、今回TBに対する感受性(薬理効果)が正常ラットに比べ著しく小さかったことは、このことを支持する結果である。本研究はまず、GK Ratの血糖恒常系に関する基礎データ集積に焦点を絞り研究を行ったが、ほぼ目標通りの成果を得たと考えている。

## (2) ZDF Rat

**血糖値の日内変動とTBの薬理効果:** 今度は、先のGK Ratとは全く異なるタイプの2型糖尿病(NIDDM)モデル動物であるZucker Diabetic Fatty Rat(ZDF Rat)を用いて、先と同様の検討を行った。その結果、図10に示した通り、ZDF Rat(青シンボル)の血糖値は、

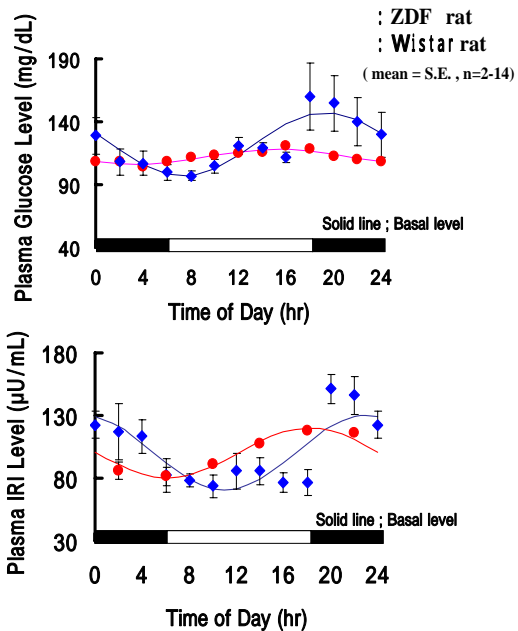


図10 ZDF Rat および正常ラットにおける血糖値と血漿中 insulin 濃度の日内変動  
:ZDF Rat :正常ラット

有意な日周リズムが認められ、リズム平均(Mesor)=121.9 mg/dL、振幅(Amplitude)=25.37 mg/dL、頂点位相(Acrophase)=19時20分であった。この値は、先に私たちが報告した正常ラット(赤シンボル)に比べ、有意に振幅が大きくなり、また頂点位相も約4時間後方にずれていることが判った。また、血漿中insulin濃度においても有意な日周リズムが認められ、リズム平均(Mesor)=180.3 µU/mL、

振幅 (Amplitude) = 54.18 $\mu$ U/mL、頂点位相 (Acrophase) = 22 時 33 分であった。ZDF ラットにおいて、TBを 10mg/kgあるいは 7.5mg/kg i.v. bolus投与後の血糖低下効果を、図 11 に示した。正常ラットの場合と同様、暗期 (活動期) に増強する傾向が見られた。血糖低下効果の反応性は、明期・暗期にかかわらず、正常ラットとほぼ同程度の降下度を示したが、効果自体が顕著に遅延する傾向が見られた。この原因は今のところ不明である。

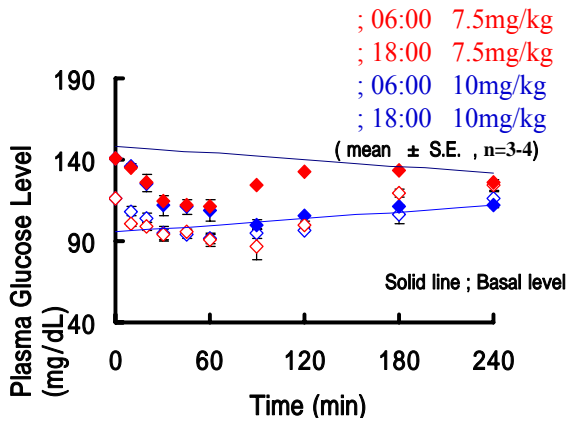


図 11 ZDF Rat における TB の血糖降下効果に及ぼす投与時刻の影響  
 ○:暗期(18時)投与      ●:明期(6時)投与

**TB投与後の血漿中TB濃度:** ZDF Rat に TBを 10mg/kg i.v. bolus 投与後の血漿中TB濃度を図 12 に示した。ZDF RatにおけるTBの血漿中濃度(青のシンボル)は、正常ラット(赤のシンボル)に比べやや低く推移したが、投与時刻における差はほとんど見られなかった。先に、ZDF Ratにおいては、TBの血糖降下効果が正常ラットに比べ有意に遅延することを示したが(図 11)、TBのPKはほとんど遅延していないことから、TBのPDすなわち

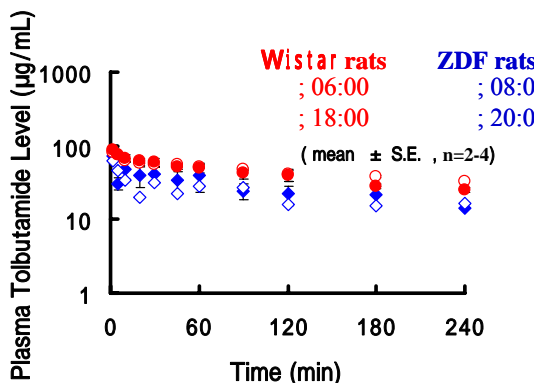


図 12 TB を静脈内 bolus 投与後の血漿中濃度推移  
 ○:ZDF Rat      ●:正常ラット

内因性insulinの分泌、あるいは作用にこれら

遅れの原因があるのではないかと示唆された。

**TB投与後の血漿中insulin濃度:** 一般に、インスリン分泌量は明期 (休息期) に比べて暗期 (活動期) に増強する傾向が見られ、またインスリン投与後の血糖低下効果も明期 (休息期) に比べて暗期 (活動期) に増強することが知られている。そこで、ZDF Rat において、TB投与後の内因性insulin分泌動態を測定した。その結果を図 13 に示したが、ZDF Ratにおいてもinsulin分泌は明期 (休息期) に比べて暗期 (活動期) に増強する傾向が認められたが、insulin分泌自体に顕著な遅れは認められなかった。さらに、ZDF Ratにinsulinを投与してその血糖降下の感受性を検討した (IVITT)。

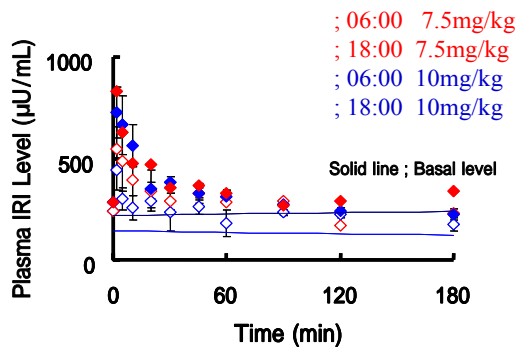


図 13 TB 投与後の血漿中 insulin 濃度変化に及ぼす投与時刻の影響

**insulin 負荷試験 (IVITT):** IVITTの結果を図 14 に示した。IVITT後、ZDF Ratにおける血糖低下効果は正常ラットに比べやや遅れる傾向を示した。このような時間的な遅

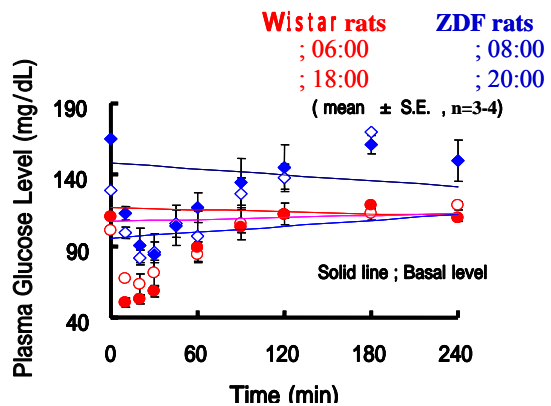


図 14 IVITT に及ぼす投与時刻の影響  
 ○:ZDF Rat      ●:正常ラット

れは、インスリン抵抗性の増大を示唆するも

のである。

**ZDF RatのPK-PDに関するまとめ:** 2型糖尿病(NIDDM)のもう一つモデル動物であるZDF Ratを用いて、血糖恒常系のcircadian rhythmを測定するとともに、sulfonylurea系糖尿病治療薬tolbutamide(TB)を投与して、その時間薬理学的、時間薬物動態学的検討を、正常ラットとの比較で行った。その結果、血糖値の circadian rhythm はリズム平均(Mesor) = 121.9 mg/dL、振幅(Amplitude) = 25.37mg/dL、頂点位相(Acrophase) = 19時20分であった。この値は正常ラットに比べ、有意に振幅が大きくなり、また頂点位相も約4時間後方にずれていることが判った。この結果は先のGK Ratに比べても、振幅がさらに大きく、頂点位相も1時間後方にずれていることを示している。また、血漿中insulin濃度においても有意な日周リズムがみられ、リズム平均(Mesor) = 180.3  $\mu$ U/mL、振幅(Amplitude) = 54.18  $\mu$ U/mL、頂点位相(Acrophase) = 22時33分であった。ZDF RatにおいてTB投与後の血糖低下効果は、正常ラットの場合と同様、明期(休息期)に比べて暗期(活動期)に増強する傾向が見られたが、血糖低下効果の反応性は、正常ラットと同程度であり、また明期暗期にかかわらず、顕著に遅延する傾向が見られた。TBを i.v. bolus 投与後の血漿中TB濃度変化は、ZDF Ratと正常ラットでほとんど差はなく、投与時刻における差もほとんど見られなかった。従ってZDF Rat におけるTBに対する薬理効果の遅延は、pharmacokineticsに起因するものではないことが明らかとなった。また、ZDF Rat にTBを i.v. bolus 投与後のinsulin分泌は明期(休息期)に比べて暗期(活動期)に増強する傾向が認められたが、insulin分泌自体に顕著な遅れは認められなかった。これに対し、IVITTの結果、ZDF Ratにおける血糖低下効果は正常ラットに比べやや遅れる傾向を示した。このような時間的な遅れは、インスリン抵抗性の増大を示唆するものである。すなわち、ZDFラットの正常時とは異なる血糖基底値等の日周リズムは、インスリン抵抗性の増大がキーなるものと考えられ、現在これについてさらに検討中である。本研究はまず、ZDF Ratの血糖恒常系とTBの薬理効果に関する基礎データ集積に焦点を絞って研究を行ったが、ほぼ目標通りの成果を得たと考えている。

### (3) 研究全体のまとめと今後の展望

本研究は、sulfonylurea (SU)系糖尿病治療薬 tolbutamide (TB) の血糖降下効果を、病態(高血糖/糖尿病)時で、しかも血糖恒常系の日内変動が存在する中で検討し、全く新しい最適投与計画を策定するための情報を得ようとするものである。今回は成人型糖尿病とし

て2型糖尿病(NIDDM)に焦点を絞り、二種類の自然発症病態モデル動物を用いた。1つは非肥満型 NIDDM モデルである GK Rat、もう一つは肥満型 NIDDM モデルである ZDF Rat である。このうち GK Rat は膵ランゲルハンス島 細胞からの insulin の分泌が成長にしたがって速やかに低下するとともに、insulin 抵抗性を獲得する病態動物である。これに対し ZDF Rat は、肥満発症とともに insulin の分泌が徐々に低下し、insulin 抵抗性も獲得する病態動物である。これら自然発症病態動物を本研究で用いた理由は、アロキサン糖尿病ラットやストレプトゾトシン糖尿病ラットなどの化学物質誘導病態と異なり、今回用いた TB などの SU 剤に感受性があるからだけでなく、血糖恒常系自体も維持されていると考えられたからである。実際、GK Rat、ZDF Rat とともに血糖値は正常ラットに比べ有意に高いものの、血糖値の日内リズムは規則正しく刻まれている、すなわち血糖恒常系が維持されていることが明らかとなった。本研究によって、これら病態時の血糖値、血漿中 insulin 濃度の日内変動動態を、詳細に明らかにすることが出来たことは、大きな成果であると考えている。またこれら病態時の血糖恒常系の中で、TB の薬理効果を検討した結果、投与時刻によって、薬理効果が著しく変動することを明らかにした。特に GK Rat では、明期(休息期)に TB を投与しても薬理効果(血糖降下効果)はほとんど無いのに対し、暗期(活動期)に投与すると、著しく薬効が現れることが明らかとなり、生体の持つ概日リズムの重要性が改めて浮き彫りとなった。また、ZDF Rat においても、暗期(活動期)に TB を投与する方が、明期(休息期)に投与するよりも、薬理効果が大きくなること、さらに糖尿病病態では、薬理効果発現が遅延することが明らかになった。今後これらの現象の原因を追究するとともに、当初の目的である

“Mechanism - based PK-PD Model”を設計し、定量化を目指すとともに、これら結果を組み込んだ、全く新しい薬物投与計画の設定、さらにはこれを応用した DDS 製剤の新しい概念を提唱したいと考えている。

### 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)

[雑誌論文](計4件)

- (1) Kazunori Iwanaga, Toshihiro Kushibiki, Makoto Miyazaki and Masawo Kakemi : Disposition of Lipid-Based Formulation in the Intestinal Tract Affects the Absorption of Poorly Water-Soluble



- Drugs: Biol. Pharm. Bull., 29 (3), 508-512, (2006). 査読あり
- (2) 西村知佐子, 南田望至, 宮崎 誠, 岩永一範, 掛見正郎: エトポシドの消化管吸収における薬物相互作用の解析, TDM研究, 23 (4), 272-275, (2006). 査読あり
- (3) T. Kushibiki, R. Tomoshige, K. Iwanaga, M. Kakemi, and Y. Tabata: Controlled release of plasmid DNA from hydrogels prepared from gelatin cationized by different amine compounds, *J. Control. Release*, **112**, 249-256 (2006) 査読あり
- (4) T. Kushibiki, R. Tomoshige, K. Iwanaga, M. Kakemi, and Y. Tabata: In vitro transfection of plasmid DNA by cationized gelatin prepared from different amine compounds, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **17**, 645-658 (2006) 査読あり

〔学会発表〕(計5件)

- (1) 山瀬大雄, 近藤弘美, 宮崎 誠, 岩永一範, 掛見正郎: 高血圧治療薬セリプロロールによるインスリンの血糖低下効果への影響第18回日本医療薬学会年会、2008年9月、(札幌)
- (2) 後北桃子, 宮崎 誠, 岩永一範, 掛見正郎: PK-PD Assessment of Antihypertensive Dugs in Spontaneously Hypertensive Rats - A Correlation between Hypotensive Effect and Beta-Blocking Activity -, 第23回日本薬物動態学会年会、2008年10月、(熊本)
- (3) 宮崎 誠, 松岡恵美子, 岩永一範, 掛見正郎: ビタミンB12の体内動態における日周リズムと体温リズムへの影響 第15回日本時間生物学会学術大会 2008年11月(岡山)
- (4) 宮崎 誠, 武田伸弘, 藤井俊樹, 岩永一範, 掛見正郎: Is glucose transporter associated with circadian variation in hypoglycemic effect of tolbutamide?, 第21回日本薬物動態学会年会、2006年11月、(東京)
- (5) 成橋真也, 宮崎 誠, 岩永一範, 掛見正郎, Interaction of prazosin and metoprolol in spontaneously hypertensive rats - pk-pd assessment based on blood pressure regulatory system - 第21回日本薬物動態学会年会、2006年11月、(東京)

〔図書〕(計1件)

掛見正郎(編)「広義薬物動態学」第8章、「時間薬理学と時間治療」、京都廣川書店、

381-408、(2009)。

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕  
なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
掛見正郎 (KAKEMI MASAWO)  
大阪薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 00019134

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし