

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590042  
 研究課題名（和文） 抗癌薬や遺伝子の空間的・時間的分布を制御する肝臓表面適用製剤の開発  
 研究課題名（英文） Development of formulation for liver surface application to control distribution and period of anticancer drugs and gene medicines  
 研究代表者  
 西田 孝洋（NISHIDA KOYO）  
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
 研究者番号：20237704

研究成果の概要：肝臓表面からの吸収を利用して、抗癌薬や遺伝子の精密な肝臓内挙動を可能とする肝臓表面投与製剤の開発のための基礎的段階として、抗癌薬 5-fluorouracil や高分子化合物 FITC-dextran をモデルとして、肝血流や吸収促進剤の薬物の肝臓内動態に及ぼす効果、さらに癌モデル動物での動態や遺伝子治療に対する基礎知見を明らかにした。特に、血流を抑えることにより、肝臓内局所への薬物分布を高められることを証明した。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：製剤学

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノム解析計画など生命科学の進展に伴い、各種生理活性物質や遺伝子治療薬が肝疾患治療薬の候補として検討されているが、生体内での安定性や副作用などの問題点があるため、従来の投与方法では十分な治療効果が得られていない。病巣部位に薬物を送達させる研究が、国内外で活発に展開されているものの、病巣部位における薬物濃度の精密な空間的・時間的コントロールには成功していないのが現状である。そこで、肝臓表面から肝細胞内部へ薬物を浸透させる投与形態では、病巣部位近傍に薬物が滞留する可能性

が極めて高いと推測し、これまでに下記に示す知見を得てきた。

(1) 円筒状の拡散セルを試作して、ラットの肝臓表面から薬物を直接投与することにより、吸収部位が肝臓表面に限定された実験系を確立し、肝臓表面からの薬物吸収を世界で初めて実証した。

(2) モデルとして用いた有機アニオン系色素 phenolsulfonphthalein (PSP, 図 2) や FITC デキストランを拡散セルを用いて肝臓表面へ投与したところ、投与部位近傍に高度に集積することを明らかにした。

(3) 物性の異なるモデル化合物が、脂溶性

や分子量などの物理化学的性質に基づいて肝臓表面より吸収されることを明らかにした。

(4) 肝臓表面からの薬物吸収動態に及ぼす投与薬液の容量や適用面積、および粘性添加物の影響を調べ、実用化のため製剤条件の基盤を構築した。

一方、肝臓での取り込みや分解を規定する電荷や分子サイズ等の物性あるいは糖残基導入の影響を検討し、薬物の肝臓内動態を微視的なレベルで制御するための分子設計指針を、これまでに得ている。

## 2. 研究の目的

癌治療においては、経カテーテル動脈塞栓療法など様々な投与の工夫が試みられている。しかし、全身や臓器内非病巣への抗癌薬の分布に伴う重篤な副作用の発現が重要な課題となっており、有効な治療システムの確立が望まれている。この問題を解決する手段として、病巣部局所への直接投与が考えられる。例えば、臓器表面から薬物が良好に吸収された場合、薬物が臓器中の病巣近傍に滞留する可能性は極めて高いが、経口投与や静脈内投与が臨床において主流であり、臓器表面からの薬物吸収を利用した病巣部位の選択的治療を目指した癌化学療法に関する報告例は見当たらない。

そこで本研究においては、肝臓表面からの薬物吸収に基づく新規投与形態ドラッグデリバリーシステムの開発を目指し、各種生理活性物質や遺伝子治療薬への応用を推進する。

## 3. 研究の方法

(1) 肝臓表面からの 5-フルオロウラシルの吸収および肝臓内動態について、円筒状のガラス製拡散セルをラットの肝臓表面に装着して、吸収部位を限定した実験系を用いて検討した。さらに、抗癌薬の肝臓内特定部位への移行性を、生理学的モデルに基づいて速度論的に解析し、血中および他臓器への分布を考慮して、抗癌活性および副作用の程度を予測した。

(2) 肝臓表面からの薬物吸収を促進すると考えられる各種添加剤の前処理後あるいは共存下で、拡散セルを用いてラットの肝臓表面から各種抗癌薬を投与し、その吸収促進効果を検討した。吸収促進効果が認められたものについては、最も促進効果が得られる添加剤濃度や時間、臓器障害性、抗癌薬との相互作用を考慮して投与条件を設定した。

(3) 癌細胞移植により肝臓癌病態モデル動

物を作製し、肝臓表面からの抗癌薬 5-FU の吸収性と肝臓内分布を調べた。

## 4. 研究成果

(1) 円筒状のガラス製拡散セルを用いて 5-FU をラットの肝臓表面へ投与したところ、360 分までに投与量の約 70 % が一次速度式に従って吸収された。また、5-FU の肝臓表面からの吸収速度について、これまでに検討したモデル薬物と比較したところ、見かけの透過係数  $P_{app}$  と分子量の平方根の逆数との間に高い相関性が得られた (Fig. 1)。

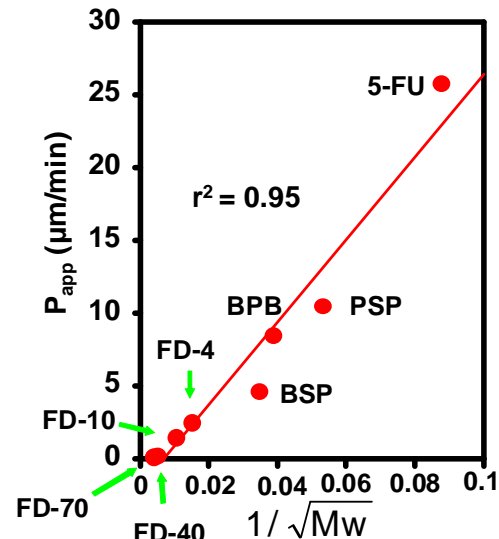


Fig. 1 各種モデル薬物の肝臓表面からの見かけの透過係数と分子量の平方根の逆数との関係

PSP, phenolsulfonphthalein; BPB, bromphenol blue; BSP, bromosulfonphthalein; FD, FITC-dextran

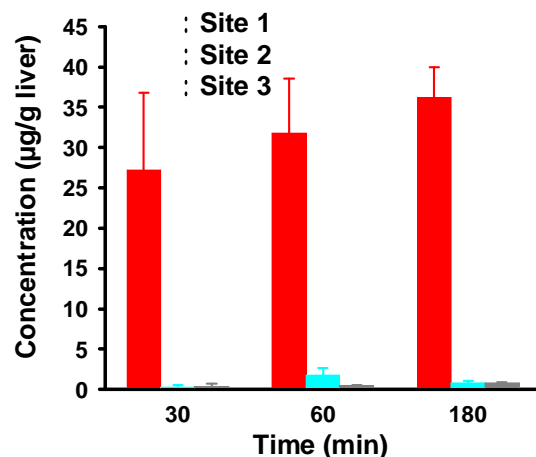


Fig. 2 担癌ラットにおける 5-FU 肝臓表面投与後の肝臓内分布

Site 1: 投与部位 (拡散セル直下)  
Site 2: 投与部位以外の外側左葉  
Site 3: 非投与葉

(2) 腫瘍細胞として walker256 ラット乳癌細胞を肝臓に移植した担癌ラットを作製し、同様な 5-FU の吸収実験を試みた。肝実験腫瘍に装着した拡散セルからの 5-FU の吸収は良好で、Papp は正常ラットと同等の値が得られた。一方、投与部位周辺の 5-FU 濃度は、正常ラットと比べて 10 倍以上に飛躍的に高まった (Fig. 2)。

(3) 肝実験腫瘍の結果から、血流が肝臓表面投与後の分布に大きな影響を与えたと考えられた。したがって、肝血流を低下させる血管収縮薬 epinephrine による 5-FU の肝臓内分布の制御を試みた。5-FU と epinephrine を肝臓表面へ併用同時投与した場合、5-FU の肝臓表面からの吸収速度は、コントロールと比較して若干低下したものの、肝臓内の投与部位近傍 (Site 1) の 5-FU 濃度は高い値を示した (Fig. 3)。さらに、epinephrine 濃度の増大に伴い、site 1 中の 5-FU 濃度は高くなった。また、epinephrine の前処理投与でも、肝臓内の投与部位近傍における 5-FU 濃度は、コントロールと比較して有意に高い値を示した。

(4) 肝血流が肝臓表面から吸収された後の薬物分布に影響を及ぼすことが明らかとなったので、肝血流を上昇させる血管拡張薬 hydralazine との併用効果を検討した。円筒状のガラス製拡散セルを用いて 5-FU を hydralazine と併用してラットの肝臓表面へ投与したところ、5-FU の肝臓表面からの吸収速度は、コントロールとほぼ同じ値を示し、肝臓内の 5-FU 濃度に部位差はほとんど見られなかった (Fig. 3)。血管収縮薬である epinephrine を併用した場合は、肝臓内の投与部位近傍における 5-FU 濃度は、コントロールと比較して有意に高い値を示しており (Fig. 3)、大きく異なる結果が得られた。

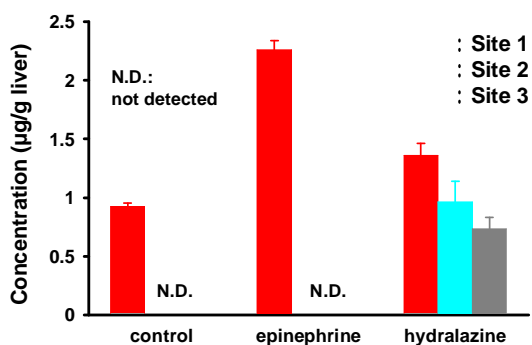


Fig. 3 血管収縮薬 epinephrine および血管拡張薬 hydralazine を併用して 5-FU 肝臓表面投与時における肝臓内分布  
Site 1: 投与部位 (拡散セル直下)  
Site 2: 投与部位以外の外側左葉

### Site 3: 非投与葉

(5) 遺伝子医薬品を肝臓表面へ適用する場合は、分子量の影響で吸収速度が極端に遅くなる可能性がある。そこで、従来より経皮吸収などで利用されている吸収促進剤による、高分子化合物 FITC-dextran (FD-4, Mw:44,00) の肝臓表面からの吸収促進効果について検討した。15 分前処理または併用投与で、saponin および sodium caprate が高い吸収促進効果を示した。さらに、濃度が 1% を越えると、吸収促進効果が減弱した。sodium salicylate では、30 分前処理で高い吸収促進効果が得られた。これらの結果から、肝臓表面において吸収促進剤を使用する際には、適切な吸収促進剤と処理条件の選択が重要であることが示された。

### 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 2 件)

K. Nishida, M. Okazaki, R. Sakamoto, N. Inaoka, H. Miyake, S. Fumoto, J. Nakamura, M. Nakashima, H. Sasaki, M. Kakumoto and T. Sakaeda, Change in pharmacokinetics of model compounds with different elimination processes in rats during hypothermia, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 30, 1763-1767, 2007, 査読有

Y. Kodama, S. Fumoto, J. Nishi, M. Nakashima, H. Sasaki, J. Nakamura, K. Nishida, Absorption and distribution characteristics of 5-fluorouracil (5-FU) after an application to the liver surface in rats in order to reduce systemic side effects, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 31, 1049-1052, 2008, 査読有

[学会発表](計 1 件)

西田孝洋, 兒玉幸修, 近藤理美, 西村知沙, 麓伸太郎, 中嶋幹郎, 佐々木均, 中村純三, 肝臓表面投与後の 5-FU の肝内分布に及ぼす血流や癌の影響, 日本薬物動態学会第 23 回年会、熊本、2008

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/lab/dds/index-j.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西田 孝洋 (NISHIDA KOYO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：20237704

### (2) 研究分担者

麓 伸太郎 (SHINTARO FUMOTO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：70380988

兒玉, 幸修 (NISHIDA KOYO)

長崎大学・医学部・歯学部附属病院・教務職員

研究者番号：50448510

### (3) 連携研究者