

令和 5 年 5 月 10 日現在

機関番号：34311

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15324

研究課題名（和文）腫瘍DDS技術の機能対効果分析を可能とするPK/PDモデル評価系の確立

研究課題名（英文）Establishment of a Pharmacokinetics-Pharmacodynamics modeling evaluation system to enable function vs. efficacy analysis of anticancer drug delivery systems

研究代表者

山下 修吾（Yamashita, Shugo）

同志社女子大学・薬学部・助教

研究者番号：30845730

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究はDDSによるがん治療の実現に不可欠な低分子抗がん剤の腫瘍移行性に関する正確な情報を明らかにすることを目的に、より生体に近い環境で高分子ミセルからの薬物放出性および腫瘍滞留性を評価可能な分析手法を確立した。加えて、担癌ラットと腫瘍マイクロダイアリシスを組み合わせた体内動態分析手法を活用することで、高分子ミセルに担持された抗がん剤に焦点を当てた薬物動態解析が実施でき、DDS技術の機能対効果を評価可能とするPK/PDモデルの確立に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が考案した分析手法を活用することで、これまで解析が困難であった薬物キャリアに担持された低分子抗がん剤の腫瘍移行性に関する正確な速度論的情報の取得が期待できる。こうした薬物キャリアではなく担持された低分子に焦点を当てた速度論的情報は、DDS機能を客観的に評価するパラメータとして活用でき、DDS開発を加速させる方法論になり得る。以上のように、高精度なPK/PDモデルの構築を目指す本研究はDDS技術の機能対効果を多角的に評価可能にし、DDSの臨床応用へ向けた橋渡し研究への活用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed an analytical method to evaluate drug release and tumor retention from polymeric micelles in an environment closer to the biological environment with the aim of accurately determining the pharmacokinetics information about tumor distribution of small-molecule anticancer drugs, which is essential for achieving DDS-based cancer therapy. In addition, by utilizing a pharmacokinetic analysis method that combines tumor-bearing rats and tumor microdialysis, we were able to conduct a pharmacokinetic analysis focusing on anticancer drugs loaded on polymeric micelles and successfully established a PK/PD model that enables evaluation of the function versus effect of DDS technology.

研究分野：薬物動態

キーワード：腫瘍組織内動態 体内動態制御 高分子ミセル コンパートメントモデル PK/PD

## 1. 研究開始当初の背景

がん薬物療法において、抗体医薬品は、抗体工学の技術革新によりその開発が進み、国内外で医薬品売上高の上位を占めるほど隆盛を誇る。しかしながら、治療革新を生んだ抗体医薬品も、がん組織が性質の異なる変異細胞の集合体であるため、抗体応答性が不均質であることから根本治療には至っていないのが現状である。すなわち、特定の標的分子の識別に頼る戦略は、抗体耐性を有するがんが再発するリスクを伴う。そうした背景から、高分子を利用するアプローチで低分子抗がん剤の体内動態を制御するドラッグデリバリーシステム(DDS)が再び脚光を集めている。DDSは、薬物の物性や薬理学的特性、疾患の病理的特徴、患者のQOLなど、種々の要因を考慮した製剤設計論および創剤技術の総称である。がんDDSの領域においては、抗体医薬品に加え、がん組織への選択的分布が容易な高分子、およびがん組織内での拡散性が良好な低分子を組み合わせたハイブリッド製剤に関する研究が盛んで、こうしたがんDDSを活用したがんの根本治療の実現を目指している。

しかしながら、がんDDSの製剤設計において、腫瘍動物モデルでの薬効と臨床試験における薬効の間に乖離があることがしばしば問題となっており、その原因としてDDS製剤中の抗がん剤の腫瘍移行性、および抗がん作用の速度論的解析の不十分さが挙げられる。前者の問題について、Zamboniらはcisplatin封入PEG化リポソームとcisplatin単独投与を比較し、腫瘍間質におけるcisplatin暴露量の違いについて、マイクロダイアリシスを用いて評価したところ、腫瘍滞留性が良好なPEG化リポソーム製剤の治療効果が期待通りでないのは、腫瘍間質でリポソームから薬物が放出されていないこと、リポソームが腫瘍細胞に取り込まれていないことが原因であると初めて明らかにした。このようにDDSによるがん治療を確立するためには、低分子抗がん剤の腫瘍移行性に関する正確な情報を明らかにすることが喫緊の課題である。

こうした薬物キャリアの製剤設計の適否を包括的に評価する研究手法として、薬物動態学的情報および薬力学的情報を解析し、その相関性を数学モデルとして表現するPK/PD理論は最適であると考えられ、薬物キャリア取り込みクリアランスや組織滞留性といった製剤の体内動態特性が、抗がん剤の薬効発現に反映されているかを評価するPK/PD解析論の確立もまた非常に重要な課題と言える。

## 2. 研究の目的

本研究は機能性薬物キャリアの腫瘍移行性と抗がん作用に関連するパラメータからDDSの機能対効果が評価可能なPK/PDモデルを構築し、その原因解明を目指す。本報告では第一段階として、能動輸送型高分子ミセルをモデル薬物キャリアとして用いた能動輸送機能を評価可能なコンパートメントモデル確立の成果について述べる。

## 3. 研究の方法

本研究では単離腫瘍灌流実験を用いたアクティブターゲティング型高分子ミセルの腫瘍内動態を評価した。得られた結果を基にコンパートメントモデルを構築することで、より生体に近い環境で高分子ミセルからの薬物放出性および腫瘍滞留性を評価可能な分析手法を確立した。その方法を下記に述べる。

### ・高分子ミセルの合成

PEG-ペプチドブロック重合体(PEG-poly(D/F)<sub>n</sub>; PPDF)へアミド結合を介してドキソルビシン(DOX)を担持させ、DOX封入高分子ミセル(PPDF-DOX)を調製した。PPDF-DOXに葉酸(FA)修飾PPDFと混和することで、アクティブターゲティング型高分子ミセル(FA-PPDF-DOX)を調製した。

### ・単離腫瘍灌流実験

雌性Wistarラットの卵巣近傍脂肪組織にWalker256細胞を播種して腫瘍を得た。FA-PPDF-DOXを添加した灌流槽および腫瘍をチューブで接続し、単離腫瘍灌流実験装置を作製した(図1参照)。腫瘍に微小透析プローブを挿入し、経時的に灌流液を回収した。灌流液中の遊離DOXをLC/MS/MSにて定量した。

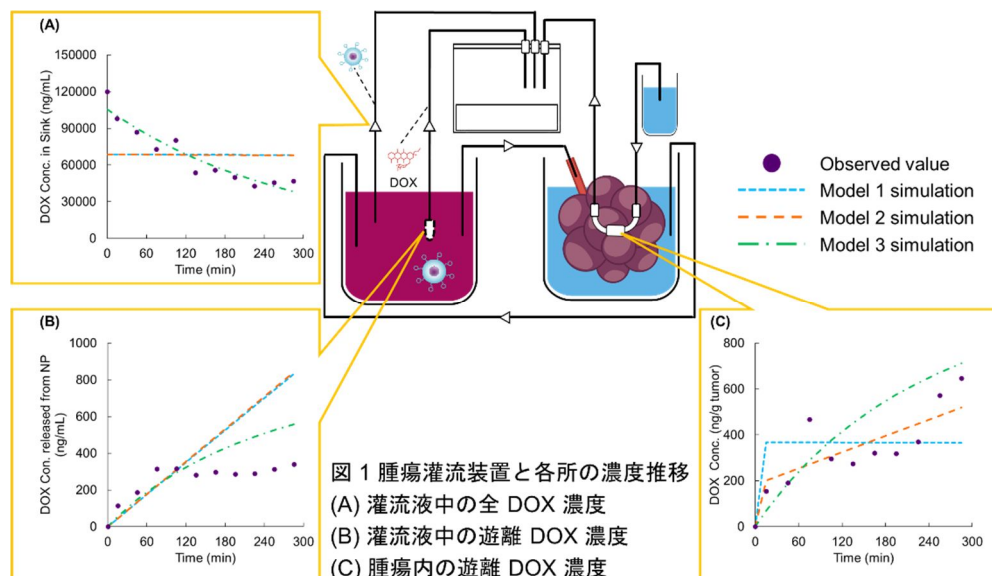
### ・コンパートメントモデル解析

解析に用いるコンパートメント(COM)モデルは、灌流液COM/腫瘍COMを基本として再灌流を制限した2-COMモデル(Model1)、灌流液COM/腫瘍COMを更に高分子ミセルと遊離DOXで区別した4-COMモデル(Model2)、Model2を基本に腫瘍COMにおけるDOX遊離方向の収支関数にガンマ分布遅延関数を利用したModel3を構築した。Phoenix WinNonlin(Ver. 8.3)にて構築したモデルによるコンパートメントモデル解析を実施した。

## 4. 研究成果

### (1) 単離腫瘍灌流によるアクティブターゲティング型高分子ミセルの腫瘍内動態

図1に灌流実験装置を用いてFA-PPDF-DOXを灌流した際の灌流液中DOX濃度および腫瘍内DOXの時間的濃度推移を示した。(A)は高分子ミセルに保持されたDOXと遊離したDOXを合計した濃度推移を、(B)は高分子ミセルから放出されたDOXのみの濃度推移を示している。灌流開始より約60%の高分子ミセルが灌流槽から消失した(図1A)。一方で、高分子ミセルから腫瘍内に放出されたDOXは5時間で6.6%と低値であることが明らかとなった。また、腫瘍から灌流槽へ再流入したDOXは5時間で3.12%だった。



### (2) コンパートメントモデルの最適化

得られたFA-PPDF-DOX濃度推移プロファイルを基に3種のコンパートメントモデル(Model 1-3)を用いてモデルシミュレーション解析を実施した。シミュレーションの結果はグラフの点線で示している。DOX単独、パッシブターゲティング型高分子ミセルのPPDF-DOXに対しても同様の解析を実施した。3種のコンパートメントモデルの当てはまりの良さの指標である赤池情報量基準(AIC)の値は、Model 3(AIC=473.75)が最も低く、次いでModel 2(AIC=482.75)、Model 1(AIC=508.17)の順であった。以上のことから、ガンマ分布遅延関数を利用したModel 3が今回検討したコンパートメントモデルの中で最も当てはまりが良いことが示された。Model 3の当てはまりの良さは、DOXの細胞外マトリックスの浸潤性やDOX-ミセル間の結合が切断されるまでの仮想的な生体内反応をガンマ分布遅延関数によって表現できたことが要因と解釈できる。

### (3) モデルシミュレーションによるパラメータ解析

Model 3を用いたシミュレーション結果より得られた推定パラメータ値について、高分子ミセルの腫瘍集積性の指標である腫瘍COMの分布容積( $V_{tum}$ )を比較したところFA-PPDF-DOXの $V_{tum}$ はPPDF-DOXのそれと比較して1.14倍高いことが示された。また、灌流槽から腫瘍への移行性の指標である腫瘍移行速度定数( $k_{NPst}$ )についてFA-PPDF-DOXはPPDF-DOXより2.45倍高く、逆方向の灌流槽移行速度定数( $k_{NPts}$ )についてFA-PPDF-DOXはPPDF-DOXより0.19倍低値を示した。加えて、腫瘍COMにおける高分子ミセルからのDOX放出性指標であるDOX放出速度定数( $k_r$ )について、FA-PPDF-DOXはPPDF-DOXより1.68倍と高値を示した。これらパラメータ値の結果はFA修飾によるアクティブターゲティング能を客観的に評価した指標であると解釈できる。以上の結果より、ガンマ分布遅延関数を用いた本腫瘍灌流モデル解析手法は、より生体に近い環境で高分子ミセルからの薬物放出性および腫瘍滞留性を評価可能な分析手法と位置付けられる。これらの成果はDDSによるがん治療を実現するための、低分子抗がん剤の腫瘍移行性に関する正確な情報を明らかにする方法論として基礎的な情報を提供するものと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 勝見英正、山下修吾、森下将輝、山本 昌	4. 巻 58
2. 論文標題 アミノ酸修飾を利用したターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 粉体工学	6. 最初と最後の頁 376-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita Shugo, Katsumi Hidemasa, Sakane Toshiyasu, Yamamoto Akira	4. 巻 19
2. 論文標題 Phosphorylated Serine-Modified Polyamidoamine Dendrimer as an Osteoid Surface-Targeting Drug Carrier	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 2573 ~ 2582
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.molpharmaceut.2c00271	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kiriya Akiko, Kimura Shunsuke, Yamashita Shugo	4. 巻 51
2. 論文標題 Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Models of an Alzheimer's Drug, Donepezil, in Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Disposition	6. 最初と最後の頁 329 ~ 337
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1124/dmd.122.001061	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山下修吾、勝見英正、木村峻輔、喜里山暁子
2. 発表標題 慢性腎臓病に伴う-骨ミネラル代謝異常治療を目的とした温熱感受性骨ターゲティング型ミセルの開発
3. 学会等名 日本薬学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村峻輔、犬伏紗和子、山下修吾、喜里山暁子
2. 発表標題 新規膜透過機構を基盤とするシプロフロキサシン粉末吸入製剤の開発
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会（千葉）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 修吾、東 かれん、田中 優花、木村 峻輔、喜里山 暁子
2. 発表標題 PEG-ペプチド高分子ミセルの体内動態に及ぼす疎水性イオン対パターンの影響
3. 学会等名 日本薬学会第142年会（オンライン）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中優花、山下修吾、東かれん、木村峻輔、喜里山暁子
2. 発表標題 インドメタシン封入高分子ミセルの体内動態に及ぼす疎水性イオンペアリングパターンの影響
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会（京都・オンライン）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村峻輔、山下修吾、喜里山暁子
2. 発表標題 溶解度に依存しない新規膜透過メカニズムを応用した粉末吸入製剤の可能性
3. 学会等名 日本薬剤学会第37年会（京都・オンライン）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下修吾、東かれん、田中優花、木村峻輔、喜里山暁子
2. 発表標題 内核組成の異なるインドメタシン封入高分子ミセル表面に形成されるタンパク質コロナの変化
3. 学会等名 日本薬学会第143年会（札幌）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 喜里山暁子、榎谷祐香梨、松尾真奈、比連崎好美、山下修吾、木村峻輔
2. 発表標題 アルツハイマー型認知症治療薬・ドネペジルのラットにおけるPK/PD解析
3. 学会等名 日本薬学会第143年会（札幌）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------