

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 4 月 22 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590193

研究課題名(和文) 限局的薬効発現型薬物送達システムの開発に向けた局所動態評価の基盤構築

研究課題名(英文) Evaluation of focal availabilities of drugs by monitoring of dynamic diffusion and clearance processes of unbound drug concentrations

研究代表者

黒崎 勇二 (KUROSAKI, Yuji)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：90161786

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：先端薬物療法においては、局所に限局した薬効発現を時間経過の中で高度に保証することが臨床応用への重大な課題となる。局所に限局した薬効発現(薬物療法の空間的制御)とあらかじめ企画された局所薬物濃度推移(薬物療法の時間的制御)を高度に科学的に保証するための研究基盤の構築を目的とし、微小透析法によりモニタした筋肉内の拡散・全身循環移行動態から局所における遊離形薬物利用率による評価系の構築を試みた。

研究成果の概要(英文)：To realize a well-controlled regionally confined drug action, a new scientific platform that covers topical bioavailability and topical pharmacokinetics has been required. In this study, lateral diffusion and systemic clearance processes of drugs applied to the abdominal muscle of the rat was monitored by microdialysis (MD) and a new concept, focal bioavailability, based on unbound drug concentration profiles in specific site is evaluated with its pharmacokinetic model.

研究分野：製剤設計評価学

キーワード：局所薬物動態 局所利用率 ドラッグデリバリーシステム マイクロダイアリシス 微小透析 ファーマコキネティクス 拡散モデル

## 1. 研究開始当初の背景

局所作用型ドラッグデリバリーシステム (DDS) の分野では、標的組織における遊離形薬物濃度を長時間高濃度に保ち、かつ非目的部位への薬物送達の指標となる血漿中薬物濃度を低減させ、これらを高度に保証する製剤の開発が望まれている。薬物適用後の時間経過の中で局所に限局した薬効発現を高度に保証することは、遺伝子医薬や再生医療などを支援する先端薬物療法の臨床応用へ向けての重大な課題と考えられる。本研究では、あらかじめ企画された局所薬物濃度推移 (薬物療法の時間的制御) のもとでの局所に限局した薬効発現 (薬物療法の空間的制御) について、高度に、かつ科学的に保証するための研究基盤の構築を目的として、筋肉内に定速投与された薬物の筋肉内拡散・全身循環移行動態の解析から局所における遊離形薬物濃度推移に基づく局所薬物利用率の評価系の構築を試みた。

## 2. 研究の目的

局所作用型DDSの開発における局所に限局した薬効発現を高度に科学的に保証するための評価系の構築を目的とし、(1)申請者が考案した平行還流微小透析法 (右図) を用いて局所 (筋肉) から側方への薬物拡散および全身循環血流への消失動態を速度論的に解析する速度論モデルを構築し、(2) 薬物送達期間中および薬物送達中止後の局所動態について速度論モデルを用いて解析し、(3) 微小透析法による遊離形薬物の局所動態モニタリングに基づく局所薬物利用率の評価の意義を明らかにし、(4) 局所冷却による局所薬物利用率/全身循環利用率の改善と局所動態パラメータ特性について明らかにすることを旨とする。

## 3. 研究の方法

局所 (筋肉) に送達された薬物の in vivo における薬物の拡散・移行・消失過程を速度論

的に解析し、局所薬物利用率を定義し、評価するために以下の研究を実施した。

### (1) 筋肉内における in vivo 薬物拡散・消失動態評価

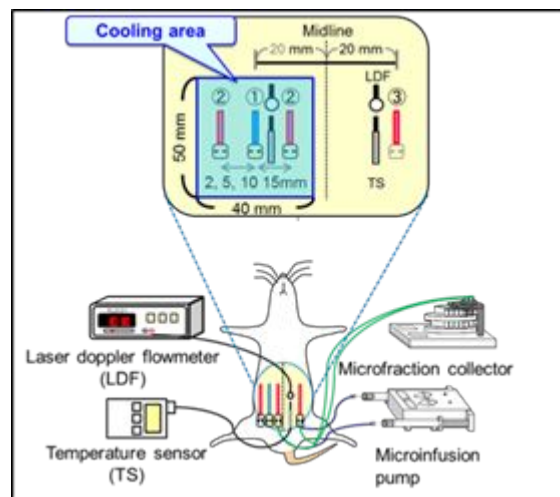
麻酔下の実験動物 (ラット) を用いて、薬物供給源と平行に留置した複数の微小透析プローブによる微小透析 (MD) (平行還流微小透析法) により薬物送達期間中および送達中止後の局所薬物濃度をモニタし、腹部筋肉内における薬物の拡散・移行・消失動態を評価した。

### (2) 速度論モデルによる筋肉内における in vivo 薬物拡散・消失動態の解析

薬物送達位置からの距離ごとに得た濃度変化データについて筋肉内拡散過程と全身循環系への消失過程を組み込んだ速度論的動態モデルを構築し、(1)で得たデータを解析する。

### (3) 局所薬物利用率に及ぼす局所冷却の効果

Cooling pad を用いた局所冷却 (下図) により惹起した局所血流低下状況での局所薬物動態を解析し、局所薬物利用率を評価する。

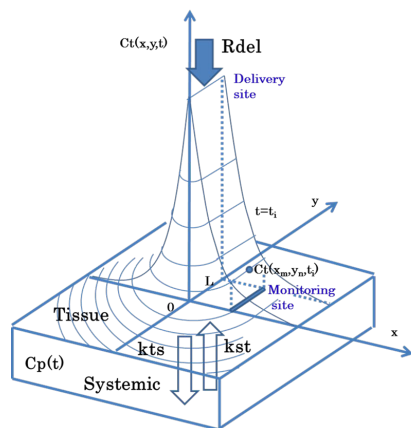


### 局所冷却筋肉内定速薬物送達に利用した実験系

## 4. 研究成果

(1) 筋肉内における in vivo 薬物拡散・消失動態評価と DDS 機能としての限局性  
実験動物 (ラット) を用いて、アンチピリン (ANP) をモデル薬物として選び、薬物供

給用プローブから送達された ANP の筋肉内の拡散・移行・消失動態を、薬物送達部位からの距離が異なる部位での局所遊離形薬物濃度を平行還流微小透析法（前頁右図）によりモニタし、これに基づく局所利用率を定義した。ANP の筋肉内遊離形薬物濃度の濃度 - 時間曲線下面積（AUC）は、送達用プローブから 2 mm の位置では静脈内投与（iv）時と比べ約 21 倍に、5 mm および 10 mm の位置ではそれぞれ 3.6 倍および 1.8 倍に増大したが、15 mm の位置ではほぼ iv 時の AUC に等しいことが明らかとなり、局所作用型 DDS の製剤機能評価としての限局性評価に遊離形薬物濃度による局所利用率の評価は極めて有用と考えられた。

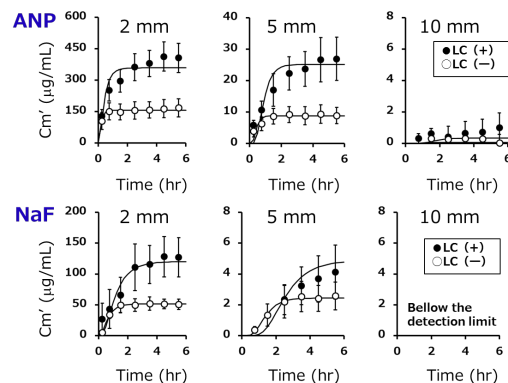


組織内側方拡散移行モデル  
(Lateral Diffusion And Clearance Model)

## (2) 筋肉内における in vivo 薬物拡散・消失動態に及ぼす局所冷却の効果

局所冷却により筋肉表面血流量を約 50% に減少した。局所冷却のもとで局所定速送達した ANP の定常状態における局所遊離形濃度の AUC は、非冷却時に比べ 2 mm の位置で約 13 倍に、5 mm および 10 mm の位置では何れも約 5 倍に増大したのに対し、血漿中濃度の AUC は約 80% に低下した。局所冷却は、全身循環系への薬物移行性の低下だけでなく、薬物送達部位から周辺部位への拡散に

も影響し、特に薬物送達部位近傍の局所利用率を向上させ、同時に血漿中薬物利用率を低下させること、さらに、薬物ごとに筋肉から全身循環への移行速度および定常状態における局所送達時の限局性が異なることを明らかにした。得られた局所薬物濃度プロファイルについて、in vivo 拡散モデルを構築し、数理的解析を行った。



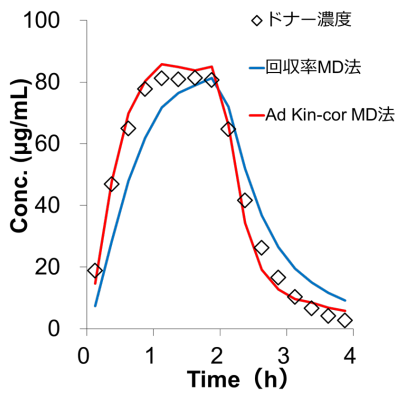
アンチピリン（ANP）およびフルオレセイン-Na（NaF）の筋肉内非結合型濃度推移に及ぼす局所冷却の効果と LDAC model によるフィティング（○ 非冷却、● 局所冷却）

## (3) 局所動態モニタリングへの適用に向けた Zero-net-flux 法の改善に関する検討

微小透析法を応用した局所薬物動態評価として、これまで実質的には定常状態の試料に対してのみ適用可能な手法とされてきた Zero-net-flux 法の改善法として考案した「同時灌流 Zero-net-flux 法」のモニタ特性についての速度論的評価を行った。

## (4) 微小透析法におけるモニタ遅れの補正

MD 法を用いて親油性薬物の濃度をモニタする際の問題点として、モニタプロファイルの時間的な遅れが挙げられる。時間遅れに対する新規補正法（吸着動態補正 MD 法, Adsorption Kinetics-correcting MD 法）を考案し、その有用性評価した結果、親油性薬物が比較的高い薬物のモニタ精度を有意に改善することを明らかにした。



吸着動態補正MD (Adsorption Kinetics-correcting MD) 法によるモニタプロファイルの補正の有用性 (エチルパラベン)

本研究で得られたこれらの知見は、標的組織における遊離形薬物濃度を長時間高濃度に保ち、かつ非目的部位への薬物送達の指標となる血漿中薬物濃度を低減させ、これらを高度に保証する局所作用型ドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発において、局所作用型 DDS 適用後の限局的な薬効発現の高度な保証に向けて有益な研究成果と考えられる。

## 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)

[学会発表](計 6件)

1. 皆川貴彰、飯田千尋、黒崎勇二: 微小透析時のモニタ遅れに対する吸着動態補正MD法の有用性. 日本薬剤学会第30年会, 5.21-23, 2015 (長崎市)
2. 皆川貴彰、崎山達矢、黒崎勇二: In vitro 回収動態を重み関数とする微小透析法におけるモニタ遅れの補正. 日本薬剤学会第29年会, 5.20-22, 2014 (さいたま市)
3. 崎山達矢、皆川貴彰、黒崎勇二: 微小透析法を応用した局所薬物動態評価: 同時灌流 Zero-net-flux 法の可能性. 第52回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 10.26-27, 2013 (松

山市)

4. 宇都野 侑史、牧之段 敬一、長永 淳史、合葉 哲也、黒崎 勇二: 遊離形薬物濃度モニタに基づく筋肉内局所利用率の評価: 局所冷却時の in vivo 拡散モデルによる数理的解析. 日本薬剤学会第28年会, 5.23-25, 2013 (名古屋市)
5. Atsushi Osanaga, Keiichi Makinodan, Tatsuya Sakiyama, Tetsuya Aiba, Yuji Kurosaki: Evaluation of dynamic diffusion process for developing focally acting DDSs: Improvement of focal bioavailability by topical cooling. 第6回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 11.23-24, 2012 (京都市)
6. 牧之段 敬一、東恩納 司、崎山 達矢、合葉 哲也、黒崎 勇二: Microdialysis 法を用いた薬物の筋肉内局所動態評価: 局所冷却による局所薬物利用率の増大. 第28回日本DDS学会学術集会, 7.4-5, 2012 (札幌市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

黒崎 勇二 (KUROSAKI YUJI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号: 90161786

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

川崎 博己 (KAWASAKI HIROMU)

松山大学・薬学部・教授

研究者番号: 60125151

合葉 哲也 (AIBA TETSUYA)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号: 00231754