

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15739

研究課題名（和文）経口投与用リポソーム薬物キャリアのステルス機能向上のための研究

研究課題名（英文）The effect of stealth-typed midazolam-encapsulating nano drug carrier on bioavailability of midazolam following oral administration

研究代表者

宮脇 卓也（Miyawaki, Takuya）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00219825

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題は、ステルス機能を持った薬物キャリアであるミダゾラム封入リポソームを細粒化する条件について検討し、細粒化がミダゾラムの効果およびバイオアベイラビリティに及ぼす影響を調べることを目的として計画された。その結果、細粒化の方法によってリポソームの粒子径および封入率に影響があることがわかり、適切な条件を見出すことができた。さらに、リポソームを細粒化することで消化管からの吸収が高められたことによって、バイオアベイラビリティが高くなることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the present study was to find the appropriate condition to produce miniaturized midazolam-encapsulating liposome as a stealth-typed drug carrier and to evaluate the effect of the miniaturized liposome-encapsulated midazolam on the bioavailability of midazolam and investigate its mechanism. As a result we found the appropriate condition to produce miniaturized midazolam-encapsulating liposome. The miniaturized midazolam-encapsulating liposomes produced in that condition increased the bioavailability of midazolam on oral administration, and the mechanism was suggested to be due to the increase of absorption of miniaturized midazolam-encapsulating liposomes in the intestine.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：歯学 薬理学 麻酔薬 リポソーム

1. 研究開始当初の背景

新薬の開発と平行して、薬物を生体に効果的に作用させるための薬物キャリアの開発は不可欠である。リポソームは古くから薬物キャリアとして注目されており、生体の細胞膜成分と同様の脂質膜であることから、生体に安全であることが最も優位な点である。さらに、脂溶性薬物のみならず、親水性薬物も封入することができること、リポソーム膜にターゲティングなどの機能を付与することができることなどの利点があり、すでに、静注用医薬品に应用されている。しかし、いずれも静注用製剤の開発であり、経口投与用製剤の開発は進んでいない。

歯科麻酔で多用されている静脈麻酔薬であるミダゾラムは静注用であるが、診療室の現場では、麻酔の導入薬として小児あるいは知的障害者に投与する際には、静注が困難なため経口投与されることが多い。しかし、本薬物は苦みが非常に強いこと、消化管および肝臓での初回通過効果によってバイオアベイラビリティが大きく低下することが欠点である。そこで、本申請者は、経口投与用薬物キャリアとして、ミダゾラムをリポソームに封入した「経口投与用リポソーム製剤」を開発した (Tomoyasu Y, et al, Liposome-encapsulated midazolam for oral administration, J Liposome Res, 2011, 21: 166-172.)。

2. 研究の目的

当施設で開発した経口投与用リポソーム製剤は、ポリエチレングリコール (PEG) で外包 (PEG 化) し、ナノレベルまで細粒化することで、ミダゾラムのバイオアベイラビリティが上昇することは、当施設ですでに実証している (宮脇卓也, 経口投与用ミダゾラム封入ステルス型ナノ薬物キャリアの開発, 科学研究費助成事業, 基盤研究 (C), 2012~2014, 課題番号 24593055)。しかし、リポソームの細粒化の方法の違いと PEG 化と細粒化の方法の違いが、封入率に影響を与えていると考えられるため、PEG 化の有無と細粒化の方法 (超音波による破碎の条件) がリポソーム粒径および封入率に及ぼす影響について評価することが必要である。そこで、本研究では、まず、ミダゾラム封入リポソームを作成する際に、PEG 化と細粒化の方法 (超音波による破碎の条件) の違いが細粒後のリポソーム粒径および封入率に及ぼす影響について検討した (実験 1)。

また、当施設で開発した経口投与用リポソーム製剤を経口投与した際の鎮静効果についても評価する必要がある。さらに、ミダゾラムを封入したリポソームを細粒化することによってミダゾラムのバイオアベイラビリティが上昇する機序について検討する必要がある。通常、薬物が経口投与された場合、消化管および肝臓で初回通過効果 (Cytochrome P450 などによる代謝) があり、

高い割合で薬物は代謝されてしまう。これに対して、本申請者が開発した経口投与用リポソームによる薬物キャリアは、その代謝をすり抜ける効果 (ステルス効果) を有している可能性があり、リポソーム自体による消化管でのステルス効果、および細粒化によって、消化管での吸収の増加および消化管でのステルス効果の増強効果考えられる。そこで、本研究では、ミダゾラム封入リポソームの鎮静効果の評価と細粒化によってバイオアベイラビリティが上昇する機序について検討した (実験 2)。考えられる機序のひとつである腸管から吸収の増加を証明するために、カイロミクロンに特異的な構造タンパク質であるアポリポ蛋白 B-48 (ApoB-48) の血中濃度の変化を評価することとした。

3. 研究の方法

(1) 実験 1

ミダゾラム封入リポソームの PEG 化がリポソームの粒子径およびミダゾラムの封入率に及ぼす影響

ジパミトイルホスファチジルコリン (DPPC, Sigma, St Louis, USA)、コレステロール (Sigma, St Louis, USA)、ジパミトイルホスファチジン酸 (DPPA, Sigma, St Louis, USA)、ミダゾラム (Wako Pure Chemical Industries, 大阪) をクロロホルムとメタノール混合溶媒 (クロロホルム:メタノール = 2:1) で希釈し、DPPC:コレステロール:DPPA = 47.6:47.6:4.76 の mol% 比で混和し、ミダゾラム溶液を加えた。この混合溶液を、エバポレーター (45℃) を用いて溶媒を除去し、脂質フィルムを作製した。この脂質フィルムを 1 時間真空ポンプにかけ乾燥させた後、0.1 N 塩酸溶液を加え、ウォーターバス (50℃) の中で振盪させることにより、脂質フィルムからミダゾラム封入リポソームを浮遊させることによって従来型ミダゾラム封入リポソームの懸濁液を作製した。作製したミダゾラム封入リポソーム懸濁液に 0.2 M トリス-塩酸緩衝溶液 (pH7.6) を 6ml 加え中性溶液とした。

PEG 化ミダゾラム封入リポソームは、DPPC、コレステロール、DPPA、およびミダゾラムの混合溶液に、L-α-ホスファチジルエタノールアミンメトキシポリエチレングリコール (DSPE-PEG, Sigma, St Louis, USA) を総脂質 mol 量の 9 mol% になるように加え、従来型ミダゾラム封入リポソームと同様の過程で作製した。

従来型ミダゾラム封入リポソームおよび PEG 化ミダゾラム封入リポソームは、遠心分離器 (TX-160 TOMY, 東京) を用いて、15000G, 4℃ の条件下で 20 分遠心分離を行った。分離後上清を取り出し、ミダゾラム封入リポソームの沈殿物に 800 μl のメタノール及び 0.2 M トリス-塩酸緩衝溶液 (pH7.6) を 7.2ml 加え、ミダゾラム封入リポソーム抽出溶液の作製を行った。分取した従来型ミダゾラム封入リ

ポソームおよび PEG 化ミダゾラム封入リポソームにそれぞれ 8 ml の 0.2 M トリス-塩酸緩衝溶液 (pH7.6) を加え、動的光散乱システム (Zetasizer nano ZSP, Malvern 社, Malvern, UK) を用いて粒子径を測定した。動的光散乱システムとは、溶液中をブラウン運動する粒子群へレーザー光をあて、その結果生じる散乱光の強度を測定し、その強度の時間的変動から粒子径や粒子分布を求めるシステムである。

遠心分離前のミダゾラム封入リポソーム溶液および遠心分離後のミダゾラム封入リポソーム抽出溶液中のミダゾラム濃度を、高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC) を用いて測定した。HPLC の移動相をアセトニトリル、蒸留水および 0.01M リン酸二水素カリウムの混合液とし、流速は 1.0 ml/min とした。カラムは TSK gel ODS-80Ts (Tosoh, 東京) を用いた。ミダゾラムの定量計算には、ジアゼパムのピーク面積に対するミダゾラムのピーク面積の比を算出する内部標準法を用いた。内部標準として、ジアゼパム (Wako Pure Chemical Industries, 大阪) を用いた。内部標準法にて算出したミダゾラム濃度を用い、ミダゾラム封入リポソーム沈殿物中のミダゾラム濃度をミダゾラム封入リポソーム溶液中のミダゾラム濃度で除することでミダゾラム封入率を算出した。

PEG 化ミダゾラム封入リポソームの細粒化の方法がリポソームの粒子径およびミダゾラムの封入率に及ぼす影響

先の実験と同様の方法で、PEG 化ミダゾラム封入リポソームを作成し、中性リポソーム溶液から 2 ml 採取し、浴槽型の密閉式超音波破碎装置 (BioruptorUCD-200TM, コスモバイオ社, 東京) を用いて細粒化を行い、PEG 化細粒化ミダゾラム封入リポソームを作製した。まず室温下で、超音波の条件を 200 W で 20 KHz とし、処理時間を 5 分、10 分、20 分、30 分行った。さらに、室温下での超音波処理時の超音波装置の浴槽内温度変化の影響を考慮し、超音波装置の浴槽内温度を 10 程度の一定に維持し、同様に細粒化を行った。

細粒化した PEG 化ミダゾラム封入リポソームは、分子量が小さく遠心分離による分取ができないため、ゲル濾過クロマトグラフィーを用いて分取を行った。ゲル濾過クロマトグラフィー法は、直径 2.4 cm、長さ 25 cm のカラムにゲル Sephadex G-50 fine (GE Healthcare, 東京) を充填し、移動相として 1M トリス-塩酸緩衝溶液 (pH7.6) を用い、流速は 0.5 ml/min とした。密閉式超音波破碎装置による超音波処理を行った溶液 2 ml をゲル上端に添加した後、カラム下端からの溶出液を 2 ml ずつ連続して 50 fraction 回収した。

ゲル濾過クロマトグラフィーにて分取した溶液の fraction において最も濃度の濃い fraction の溶液を、動的光散乱システム

(Zetasizer nano ZSP, Malvern 社, Malvern, UK) を用いて測定した。

PEG 化・細粒化ミダゾラム封入リポソームは、ゲル濾過クロマトグラフィーにより分取した溶液 50 fraction 中のミダゾラム濃度を、実験 1 と同様の方法で HPLC を用いて測定し、ミダゾラム封入率を算出した。

また、抽出したミダゾラム封入リポソーム溶液をネガティブ染色し、透過電子顕微鏡 (H-7650, 日立, 東京) を用い、細粒化前後のミダゾラム封入リポソームの観察を行った。

統計学的分析

統計学的分析には統計専用ソフト (PrismR, Version 6.0c, Graphpad Software, Inc., La Jolla, USA) を用い、2 群間の比較には、Mann-Whitney test を用いて検定し、3 群以上の群間比較には Kruskal Wallis test に post-hoc テストとして Dunn ' s test を用いて検定した。有意水準は 5% 未満とした。

(2) 実験 2

ミダゾラム封入リポソーム溶液、細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液、およびミダゾラム原液を経口投与した際のミダゾラム血中濃度および鎮静効果の評価

ジパミトイルホスファチジルコリン (DPPC, Sigma, St Louis, USA)、コレステロール (Sigma, St Louis, USA)、ジパミトイルホスファチジン酸 (DPPA, Sigma, St Louis, USA)、ミダゾラム (Wako Pure Chemical Industries, 大阪) をクロロホルムとメタノール混合溶媒 (クロロホルム:メタノール = 2:1) で希釈し、DPPC:コレステロール:DPPA = 47.6:47.6:4.76 の mol% 比で混和し、ミダゾラム溶液を加えた。この混合溶液をエバポレーター (45) を用いて溶媒を除去し、脂質フィルムを作製した。この脂質フィルムを 1 時間真空ポンプにかけ乾燥させた後、0.1 N 塩酸溶液を加え、ウォーターバス (50) の中で振盪させることにより、脂質フィルムからミダゾラム封入リポソームを浮遊させることによってミダゾラム封入リポソームの混濁液を作製した。作製したリポソーム混濁液から 0.5 ml を取り出し、pH7.6 の 0.2 M トリス-塩酸緩衝溶液を 7.5 ml 加え、ミダゾラム封入リポソーム混濁液を遠心分離器 (TX-160 TOMY, 東京) を用いて、15000 G、4 の条件下で 20 分遠心分離した。分離後上清を取り出し、リポソームの沈殿物に 0.2 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.6) を 8 ml 加え、ミダゾラム封入リポソーム溶液の作製を行った。さらに、動的光散乱システム (Zetasizer nano ZSP, Malvern, UK) を用いてミダゾラム封入リポソームの粒子径を測定した。

ミダゾラム封入リポソームと同様の方法で作製したミダゾラム封入リポソーム抽出溶液を、実験 1 の方法を参考に、浴槽型の密閉式超音波破碎装置 (BioruptorUCD-200TM,

コスモバイオ社、東京)を用いて、浴槽内の水温を10 程度の低温に保ち、200 Wで20 KHzの超音波条件下で20 分間超音波処理を行い、細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液を作製した。

対象として、10~11 週齢、体重 2.08 ± 0.14 kg (1.94-2.20 kg)の雄クリーンニューゼーランドホワイトウサギ(日本エスエルシー株式会社、浜松市)を13 匹使用した。岡山大学動物実験委員会の指針に従い、同委員会の承認(No. OKU-2013029)を得て行った。室温は25 の飼育室にて固形飼料と水を与えながら1 週間の予備飼育後、実験した。また実験3 日前より固形飼料をAIN93M(オリエンタル社)の成分中のセルロースをアルファルファ(繊維質30.0%以下)と置換したものに變更し、実験18 時間前より水のみを与え、絶食させた。

ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液のいずれの試験薬についてもミダゾラムの投与量が2 mg/kgとなるように、さらに溶液のpHが7.6となるように調整し、ミダゾラム原液は生理食塩水で、ミダゾラム封入リポソーム溶液と細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液は生食とトリス-塩酸緩衝溶液で10 mlに希釈して、投与用は10 mlに統一した。試験薬投与前の準備として、ウサギをイソフルラン2.5%~3.5%で麻酔し、末梢動脈から持続的に採血するために、鼠径部より大腿動脈にカテーテルを挿入した。また試験薬を投与するために、鼻から14 cmの長さを目安に6 Frの胃管チューブを挿入した。最終的な胃管チューブの挿入長さは、送り込んだ空気音を聴診器で聴取して決定した。イソフルラン吸入による麻酔終了後60 分以上経過してから、ウサギの脚の動きや開眼の状態から判断してウサギが覚醒したことを確認し、胃管チューブから試験薬を60 秒間かけて経口投与し、その後2 mlの生食で10 秒間かけてチューブ内の溶液を後押しした。試験薬投与前(0 分)、投与後5、10、20、30、60、90、120、180、および240 分に1.5 mlずつ大腿動脈より採血した。採血後、1500 G、室温で10 分間遠心分離を行い、分離した血漿をサンプルとして-30 で冷凍保存し、HPLCを用いて血中ミダゾラム濃度を測定した。

試験薬投与後の鎮静レベルの評価のために、採血時にウサギの両眼の上眼瞼下垂の状態を実験協力が写真撮影し、Verrillのサインを参考にした評価方法に従って評価した。鎮静レベルは4段階に分類され、レベル0は上眼瞼の下垂が全く見られない状態、レベル1は上眼瞼の下垂が少しみられる状態、レベル2は上眼瞼の下垂が眼の半分程度にいたる状態、レベル3は眼のほとんどが隠れる程上眼瞼の下垂がみられる状態とした。レベル1は鎮静が全くみられない状態であり、数字が大きくなる程深い鎮静状態にあるとし

た。

ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液を経口投与した際のApoB-48の血中濃度の測定

ミダゾラム封入リポソーム溶液および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液の作製は先の実験と同様に行った。対象動物もと同様に10~11 週齢、体重 2.08 ± 0.15 kg(1.9-2.2 kg)の雄クリーンニューゼーランドホワイトウサギ(日本エスエルシー株式会社、浜松市)を15 匹使用し、試験薬(ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、または細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液)は先の実験と同様に鼻から挿入した胃管チューブをとおして、60 秒間かけて投与し、その後2 mlの生食で10 秒間かけてチューブ内の溶液を生理食塩水で後押しした。投与量は10 mlに統一した。血液サンプルは、実験2-1と同様に、あらかじめ挿入しておいた大腿動脈カテーテルから、試験薬投与前(0 分)、投与後60、120、および180 分に1.5 mlずつ採取し、1500 G、室温で10 分間遠心分離をした後、血漿をサンプルとして-35 で冷凍保存した。血中のApoB-48濃度は、専用のELISAキット(Rabbit Apo B-48, シバヤギ)を用いて測定した。投与直後、0分のApoB48の血中濃度100%として、経時的な濃度変化を、0分に対する%で示した。血中ApoB48濃度変化の群間比較は先の実験と同様に行った。

統計学的分析

統計学的分析には、統計処理ソフト(PRISM®Version4.0c, GraphPad Software, San Diego, USA)を使用し、血中ミダゾラム濃度の比較にはTwo-way ANOVAとTurkey's multiple comparisons testを用い、各測定時における鎮静レベルの群間比較にはKruskal-Wallis testを用い、危険率5%未満($P < 0.05$)で有意差ありとした。

4. 研究成果

(1)実験1

ミダゾラム封入リポソームのPEG化がリポソームの粒子径およびミダゾラムの封入率及ぼす影響

従来型ミダゾラム封入リポソームとPEG化ミダゾラム封入リポソームの粒子径の比較を行ったところ、従来型ミダゾラム封入リポソームの平均粒子径は 962.7 ± 140.4 nm ($n=5$)、PEG化ミダゾラム封入リポソームの平均粒子径は 1039.1 ± 128.0 nm ($n=5$)であり、両者に有意差はみられなかった。一方、従来型ミダゾラム封入リポソームのミダゾラム封入率は 81.2 ± 5.0 % ($n=5$)、PEG化ミダゾラム封入リポソームでは 80.5 ± 5.5 % ($n=5$)であり、両者に有意差はなかった。以上の結果から、ミダゾラム封入リポソームはPEG化によって、粒子径およびミダゾラム封入率に影響

響がないことが示された。

PEG 化ミダゾラム封入リポソームの細粒化の方法がリポソームの粒子径およびミダゾラムの封入率に及ぼす影響

PEG 化ミダゾラム封入リポソームを、室温下で、200 W で 20 KHz の超音波の条件下で細粒化を行った場合、ミダゾラム封入リポソームの粒子径は、5 分、10 分、20 分、および 30 分間の超音波処理で、それぞれ 103.2 ± 6.0 nm、 120.9 ± 6.9 nm、 218.6 ± 71.9 nm、および 326.3 ± 485.2 nm であった。5 分後の粒子径と比較して、20 分および 30 分後の粒子径は有意に大きくなっていた。室温下での超音波処理時の超音波装置の浴槽内温度変化は、超音波処理 5 分で 22.0 ± 2.6 、10 分で 27.7 ± 0.6 、20 分で 38.3 ± 3.8 、30 分で 47.7 ± 5.8 で、超音波処理時間に比例して上昇していた。一方、PEG 化ミダゾラム封入リポソームを、室温（24 付近）下で、200 W で 20 KHz の超音波条件下にて細粒化を行った場合、ミダゾラム封入率は超音波処理時間 5 分では 29.3 ± 7.8 %、10 分では 42.3 ± 7.9 %、20 分では 39.3 ± 13.4 %、30 分では 35.5 ± 12.0 % で、群間に有意差は認められなかった。

PEG 化ミダゾラム封入リポソームを低温下で細粒化した際の粒子径への影響

超音波装置の浴槽内温度を 10 程度の低温にコントロールし、200 W で 20 KHz の超音波条件下で、PEG 化ミダゾラム封入リポソームの細粒化した結果、ミダゾラム封入リポソームの粒子径は、5 分、10 分、20 分、および 30 分間の超音波処理で、それぞれ 206.3 ± 65.6 nm、 103.3 ± 8.0 nm、 95.8 ± 10 nm、および 91.4 ± 3.6 nm であった。5 分後の粒子径と比較して、20 分および 30 分後の粒子径は有意に小さくなっていた。

PEG 化ミダゾラム封入リポソームを低温下で細粒化した際のミダゾラム封入率への影響

超音波装置の浴槽内の水温を 10 程度の低温にコントロールし、200W で 20KHz の超音波条件下で、PEG 化ミダゾラム封入リポソームの細粒化を行った結果、ミダゾラム封入率は、超音波処理時間 10 分では 38.4 ± 18.7 %、20 分では 50.9 ± 9.0 %、30 分では 44.7 ± 3.6 % であり、群間に有意差は認められなかった。

透過電子顕微鏡による観察結果

透過電子顕微鏡でリポソームを観察した結果、PEG 化ミダゾラム封入リポソームを細粒化する前の像と比較し、室温下で超音波処理 5 分後のリポソームは小粒子化が認められたが、30 分後にはリポソームが凝集した像がみられた。一方、低温にコントロールして超音波処理したリポソームには凝集像はなく、小粒子化が認められた。

以上の結果より、ミダゾラム封入リポソームは PEG 化によって、粒子径およびミダゾラム封入率に影響がないことが示された。また、室温下で PEG 化ミダゾラム封入リポソームを超音波処理すると、時間の経過とともに粒子径が大きくなる傾向があるのに対して、超音波装置の浴槽内の水温を 10 程度の低温にコントロールし、200W で 20KHz の超音波条件下で、20 分以上超音波処理することで 100nm 以下の粒子径に保たれ、ミダゾラムの封入率の低下はみられなかった。透過電子顕微鏡で観察すると、室温下での超音波処理でリポソームの凝集がみられたが、低温下ではみられなかった。よって、細粒化の最適な条件を設定することができた。

(2) 実験 2

ミダゾラム封入リポソーム溶液、細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液、およびミダゾラム原液を経口投与した際のミダゾラム血中濃度および鎮静効果の評価

作製したミダゾラム封入リポソームの封入率は 82.0 ± 7.5 %、粒子径は $1017.0 \sim 2294.0$ nm ($86.9 \sim 100.0$ %)、細粒化ミダゾラム封入リポソームの封入率は 77.7 ± 7.7 %、粒子径は $125.6 \sim 134.0$ nm ($13.1 \sim 20.0$ %)、 $1084.0 \sim 1208.0$ nm ($76.3 \sim 80.1$ %) であった。ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液をそれぞれウサギに経口投与した時の、血中ミダゾラム濃度の経時的変化については、ミダゾラム封入リポソーム溶液では投与後 20、30、および 60 分においてミダゾラム原液と比較して血中ミダゾラム濃度が有意に高値であった。さらに、細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液では投与後 20、30、60、および 90 分においてミダゾラム原液と比較して血中ミダゾラム濃度が有意に高値であり、ミダゾラムをリポソームまたは細粒化リポソームに封入することによってミダゾラムのバイオアベイラビリティは高くなった。ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液をそれぞれウサギに経口投与したときの、上眼瞼下垂の中央値の経時的な変化については、3 群とも投与後 20～60 分に鎮静効果がみられた。全般的な鎮静効果については 3 群間で有意な差はみられなかったが、効果発現時間および効果時間に違いがみられ、細粒化リポソーム投与後に鎮静効果が早く現れる傾向がみられた。

ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液を経口投与した際の ApoB-48 の血中濃度の測定

ミダゾラム原液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液をそれぞれウサギに経口投与した

ときの、血中 ApoB-48 の経時的変化については、ミダゾラム封入リポソーム溶液およびミダゾラム原液間に有意な差はみられなかった。細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液では 120 および 180 分においてミダゾラム原液と比較して血中 ApoB-48 が有意に高値に維持されていた。

以上の結果から、ミダゾラムをリポソームに封入することによって、ミダゾラムのバイオアベイラビリティが高くなり、さらに細粒化することによってミダゾラムの鎮静効果が早く現れ、バイオアベイラビリティがより高くなることがわかった。次に、ミダゾラムを封入していないリポソーム溶液、ミダゾラム封入リポソーム溶液、および細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液をそれぞれウサギに経口投与し、アポリポ蛋白-48 (ApoB-48) の血中濃度の推移を評価した結果、ミダゾラムを封入していないリポソーム溶液およびミダゾラム封入リポソーム溶液では、血中 ApoB-48 濃度は投与前と比較して投与後低下したが、細粒化ミダゾラム封入リポソーム溶液では血中 ApoB-48 濃度が高値に維持されていたことが示された。ApoB-48 は消化管からの脂質の吸収を反映している蛋白であることから、リポソームを細粒化することで消化管からの吸収が高められたことによって、ミダゾラムの鎮静効果が早く現れ、バイオアベイラビリティが高くなったのではないかと示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 4 件)

谷村博史、ミダゾラム封入リポソームおよび細粒化ミダゾラム封入リポソームの鎮静効果の検討、第 44 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会、2016 年 10 月 29 日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市白石区東札幌)。

谷村博史、ウサギを用いたミダゾラム封入リポソームの鎮静効果の検討、第 31 回日本歯科麻酔学会中国・四国歯科麻酔研究会、2016 年 7 月 31 日、広島大学歯学部(広島市南区霞)。

森 恵、ポリエチレングリコール修飾(PEG 化)および細粒化したミダゾラム封入リポソームの粒径の検討、第 43 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会、2015 年 10 月 31 日、学術総合センター(東京都千代田区一ツ橋)。

森 恵、ポリエチレングリコール修飾(PEG 化)および細粒化したミダゾラム封入リポソームの粒径の検討、第 30 回日本歯科麻酔学会中国・四国歯科麻酔研究会、2015 年 6 月 28 日、岡山大学歯学部(岡山市北区鹿田町)。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

宮脇 卓也 (MIYAWAKI, Takuya)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：00219825

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

森 恵 (MORI, Megumi)
谷村 博史 (TANIMURA, Hiroshi)