

令和元年6月3日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18947

研究課題名（和文）低体温療法時の薬物組織移行性の変動要因解明と組織中薬物濃度予測法の構築

研究課題名（英文）Evaluation for factors affecting on tissue distribution of drugs under hypothermia

研究代表者

宮元 敬天 (MIYAMOTO, Hiroataka)

長崎大学・医歯薬学総合研究科（薬学系）・助教

研究者番号：20619481

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では低体温療法時に生じる薬物の組織移行性変化の要因解明を行った。ウシ血清アルブミンと薬物の結合性に及ぼす温度低下の影響について解析したところ、温度低下時においてはタンパク遊離型薬物濃度が上昇した。また、温度低下がタンパク結合に及ぼす影響は薬物のタンパク結合率によって異なることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低体温療法中における薬物の体内動態変動要因について組織移行に着目した解析を行い、温度低下がタンパク結合に及ぼす影響を明らかにしたことで、組織への薬物移行の予測を行うための基盤となる情報が得られた。薬物の効果には目的臓器組織中の濃度が重要であるため、本研究結果より低体温時における薬物の組織移行性変化を予測するために必要な情報が得られたことから、投与最適化につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the effect of hypothermia on drug distribution. The binding of drugs with bovine serum albumin was decreased under low temperature. In addition, the impact of temperature on protein binding was altered depend on protein binding ratio.

研究分野：薬物動態学

キーワード：低体温療法 組織移行性 タンパク結合

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

低体温療法は米国心臓協会が2010年に公表したガイドラインにおいて、院外心停止心室細動患者や低酸素性虚血性脳症の新生児に対し推奨されている治療法である(*Circulation* 2010; **122**: 640-656)。脳虚血時の低体温療法による脳神経保護作用の機構が解明され(*Nat. Rev. Neurosci.* 2012; **13**: 267-278)、国内外における大規模臨床試験より有効性が既に確認されている(*N. Engl. J. Med.* 2002; **346**: 549-556)。低体温療法中にはシバリング(震え)などの合併症が生じるため、合併症を予防・治療するために鎮静薬や麻酔薬の投与が不可欠となる。しかし、低体温療法中に常用される鎮静薬であるミダゾラムの血漿中濃度は正常体温時での投与と比較して低体温時には高くなることが報告されており(*Drug Metab. Dispos.* 2010; **38**: 781-788)、標的臓器への薬物到達の問題および薬効の低下が懸念される。したがって、低体温療法中に使用される薬物の最大の薬効を発揮させるために、薬物の体内動態変動の要因をまず解明する必要がある。

これまで薬物の体内動態については、主に薬物の代謝・排泄過程の解析が重点的に行われてきている。申請者の研究においても、消失過程の異なる各種薬物を用い、温度低下時のラット肝臓における薬物の動態変化について明らかにしてきた経緯がある。(Miyamoto H et al. *J. Pharm. Pharmacol.* 2012; **64**: 848-854, Miyamoto H et al. *J. Pharm. Pharmacol.* 2013; **65**: 1536-1540)。しかし、治療時の薬効を決定づける最も重要なファクターは薬物の組織中濃度である、という点に立ち返ると、当該研究領域では薬物投与後の臓器組織における薬物分布変化についての知見が乏しい現状にある。申請者はこの点に着目した研究を進めており、低体温療法時に鎮静薬として常用されるミダゾラムは、低体温ラットにおいて組織移行性が低下することを見出した(Miyamoto H et al. *Biopharm. Drug Dispos.* 2015; **36**: 481-489)。薬物の組織中濃度は薬効に直接影響を与えるため、作用部位の薬物濃度に基づく投与量の調節を行うことが副作用の軽減や有効性の向上のために有益であると考えられるが、いまだこのような概念に基づく薬物の投与設計法は構築されていない。そのため、低体温時における薬物の組織移行性変化の要因を解明し、組織中濃度の予測に基づく適切な薬物投与設計が望まれると考えられる。

2. 研究の目的

薬物の組織移行性は(1)血中および組織中タンパクとの結合、(2)組織血流量、(3)細胞への取り込み(受動輸送、能動輸送)(4)薬物トランスポーターの発現量などの要因によって複合的に決定づけられる。組織内で薬効を示す薬物は組織中タンパクと結合していない遊離型の薬物のみであることから、本研究ではまず、温度低下によるこれらの各要因への影響を定量的・定性的に評価する。さらにそれらのデータを低体温療法時における薬物組織移行性の予測に繋げ、最終的には組織中の薬物濃度を指標とした薬物投与設計を行うための基盤を構築することを目指す。

3. 研究の方法

薬物のタンパク結合率に与える温度低下の影響評価

4%のウシ血清アルブミン(BSA)と評価対象薬物を混合し、セルロース性透析膜内に封入し、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中にて37、32、28℃で18時間透析を行った。透析後の透析膜内外の薬物濃度を定量し、タンパク遊離型分率を算出した。さらに、異なる濃度で同様の実験を行い、Scatchard-plotを作成し、薬物とBSAの結合定数および結合部位数を求めた。評価対象薬物にはミダゾラム、ラニチジン、フェノールスルホンフタレイ、インドメタシンを用いた。

バンコマイシンの体内動態に及ぼす体温低下の影響評価

実験動物にはWistar系雄性ラット(日本SLC)を用いた。実験計画は、長崎大学動物実験委員会の承認を受け(承認番号:1505011222-10)、関係する規則を遵守して実施した。

Wistar系雄性ラットの大腿動脈に麻酔下にてヘパリンで満たしたポリエチレンチューブをカニューレションした。ヒートランプもしくはアイスパックを用いて、ラットの体温を37℃もしくは32℃に維持したうえで、頸静脈よりバンコマイシン溶液を単回投与した。VCM投与後から経時的に採血を行い、血漿サンプルを得た。また、投与2時間後までの尿を全量回収した。血漿中および尿中バンコマイシンをHPLC-UVにて定量した。得られた血漿中濃度時間曲線に対しモーメント解析を行い、各種速度論パラメータを算出した。

4. 研究成果

薬物のタンパク結合率に与える温度低下の影響評価

低体温時におけるミダゾラムの体内動態変動要因を解析する中で、低体温時においてミダゾラムのタンパク遊離型分率が正常体温時の約2倍まで増大することを見出していた。(Miyamoto H et al. *Biopharm. Drug Dispos.* 2015; **36**: 481-489)。血漿中の代表的な薬物結合性タンパクとしてアルブミンが知られており、アルブミンと薬物の結合性に及ぼす温度低下の影響について解析した。Scatchard-plotよりミダゾラムとBSAの結合定数、結合部位数を算出したところ、32℃において37℃と比較し結合定数が減少することが明らかとなった。

温度低下時における薬物のタンパク結合率変化がミダゾラムに限らず生じる現象かを確認す

るために物性や結合部位が異なるラニチジン、フェノールスルホンフタレイン、インドメタシンを用いて同様の評価を行った。すると、変化の程度は異なるものの低温時にはこれらのタンパク遊離型分率が増大しており、低温時には薬物とタンパクの結合性が変化すると考えられた。

バンコマイシンの体内動態に及ぼす体温低下の影響評価

低体温時において薬物の組織移行性が変化することがこれまでの研究により明らかになっている。本研究課題においては低体温時における薬物の組織移行性変化の要因を解明することを目的としているが、組織中の薬物濃度が薬効に影響する薬物に着目し解析を進めることでより臨床において有用な知見が得られると考えた。ここで、抗菌薬は薬効と体内動態パラメータとの関係が研究されている薬物であり、組織中の薬物濃度が薬効に影響を与えるだけでなく、不十分な薬物濃度であった場合に耐性菌出現といった重大な問題を生じるものである。そこで、抗菌薬の体内動態に及ぼす体温低下の影響について評価を行った。

評価対象薬物としては低体温療法時に使用されることがある抗 MRSA 薬であるバンコマイシンを選択した。バンコマイシンは MRSA に対する抗菌薬であり、適切な投与を行わない場合腎障害や第 8 脳神経障害を生じることが知られている。低体温モデルラットにバンコマイシンを投与したところ、投与初期から血漿中濃度が正常体温と比較し上昇することが明らかとなった。さらに、血漿中からの消失も遅延する傾向が見られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Wang S, Fumoto S, **Miyamoto H**, Tanaka M, Nishida K, Edaravone, a cytoprotective drug, enhances transgene expression mediated by lipoplexes in HepG2 cells and mice, *Int J Pharm.* 548(1): 173-181, 2018、査読有、DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.068
2. Kodama Y, Horishita M, Tokunaga A, **Miyamoto H**, Fumoto S, Sasaki H, Nakamura J, Nishida K, Influence of vasomodulators and tumor transplantation on the disposition of 5-fluorouracil after application to the liver surface in rats, *Biopharm Drug Dispos.* 38 (6): 367-372, 2017、査読有、DOI: 10.1002/bdd.2073
3. Peng J, Fumoto S, **Miyamoto H**, Chen Y, Kuroda N, Nishida K, One-step formation of lipid-polyacrylic acid-calcium carbonate nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and curcumin, *J Drug Target.* 25 (8): 704-714, 2017、査読有、DOI:10.1080/1061186X.2017.1315687
4. **Miyamoto H**. Evaluation for factors affecting on the drug disposition under hypothermia. *The Japanese Journal of Antibiotics*, 70: 301-311(2017)、査読無
5. Shimokawa K, Wakasugi K, Tomonaga R, Utsunomiya K, **Miyamoto H**, Fumoto S, Nishida K: Effect of metabolic inhibitors on the hepatic disposition of 5-fluorouracil after application to the rat liver surface, *Biol Pharm Bull.* 39 (3) :361-367, 2016、査読有、DOI:10.1248/bpb.b15-00757
6. Hirata H, Fumoto S, **Miyamoto H**, Nakashima M, Nakayama M, Nishida K: Evaluation for Peritoneal Injury at an Early Stage Using Dual Macromolecular Markers, *Biol Pharm Bull* 39 (10): 1581-1587, 2016、査読有、DOI:10.1248/bpb.b15-01042

〔学会発表〕(計 7 件)

1. **Hirota Miyamoto**, Ayako Tokunaga, Akihiro Moritsuka, Shintaro Fumoto, Koyo Nishida: Effect of hypothermia on drug disposition of FITC-dextran and vancomycin in rats, 2018 International Meeting on 22nd MDO and 33rd JSSX, Kanazawa (2018) poster presentation
2. **Hirota Miyamoto**, Ayako Tokunaga, Touko Ide, Shintaro Fumoto, Koyo Nishida: Prediction for plasma concentration after repeated oral administration using estimated absorption rate constant from parameters described in package insert, 日本薬物動態学会第 32 年会, 1P-39, 東京(2017) ポスター発表
3. **宮元 敬天**: 低体温療法時におけるバンコマイシン投与最適化に向けた組織移行性変化の要因解明, メディカルサイエンスセミナー, 公益財団法人日本感染症医薬品協会 奨励賞受賞講演, 東京(2017)、招待講演
4. 徳永 彩子, **宮元 敬天**, 麓 伸太郎, 西田 孝洋: 腎虚血・再灌流モデルラットにおけるミダゾラム動態評価および変動要因の解析, 日本薬学会第 137 年会, 仙台(2017)、ポスター発表
5. **宮元 敬天**, 高橋 由紀奈, 森塚 暁裕, 麓 伸太郎, 西田 孝洋: 腹腔内投与したバンコマイシンの吸収性に与える腹膜障害の影響評価とその予測, 日本薬学会第 137 年会, 仙台(2017)、ポスター発表

6. **Hiroataka Miyamoto**, Ayako Tokunaga, Shi Nanzi, Hisashi Hamasaki, Shintaro, Fumoto and Koyo Nishida: Preparation of the Excel template for estimation of ka and illustration the plasma concentration time curve after repeated oral administration of drugs, 日本薬物動態学会第31年会, 長野 (2016) ポスター発表
7. **Hiroataka Miyamoto**, Ayako Tokunaga, Akihiro Moritsuka, Mariko Taniguchi, Shintaro Fumoto and Koyo Nishida: Evaluation for Effect of Hypothermia on Midazolam Disposition in Rats, The 1st Workshop for Japan-Korea Young Scientists on Pharmaceutics, Kyoto (2016) poster presentation

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔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)研究分担者
なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：西田 孝洋
ローマ字氏名：NISHIDA, Koyo

研究協力者氏名：麓 伸太郎
ローマ字氏名：FUMOTO, Shintaro

研究協力者氏名：徳永 彩子
ローマ字氏名：TOKUNAGA, Ayako

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。