

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：32723

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15526

研究課題名(和文)薬物放出量を決定するインテリジェント製剤の開発：UGT1A1に着眼した戦略

研究課題名(英文)Development of intelligent formulations for controlling drug release: a UGT1A1-based strategy

研究代表者

磯部 隆史 (Isobe, Takashi)

横浜薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：30440530

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者など併用薬が多い患者では、薬物による代謝酵素の誘導及び阻害が起こりやすく、酵素活性の予測が困難です。そのため、薬物代謝酵素の活性に合わせて投与量を調節するインテリジェント製剤の開発が期待されています。本研究では、腸内のビリルビン濃度から肝臓におけるUDP-グルクロン酸転移酵素1A1(UGT1A1)活性を把握して薬物放出量をコントロールする経口投与製剤の開発を目指し、ビリルビン濃度によって薬物放出量が変化するアルギン酸ゲルビーズの調製を試みました。その結果、アルギン酸の分子量、調製時のカルシウム濃度及びゲル化時間が、ビリルビン存在下の薬物放出挙動に影響を与えていることを明らかにしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界に先駆けて超高齢化社会に突入した日本において、高齢者への安全な薬物療法は国民のQOL(生活の質)の向上を考える上で重要です。服用薬が多く、薬による代謝酵素の変動を予測しづらい高齢者は副作用発生のリスクも高くなる傾向にあります。本研究で得られた成果は、患者ごとの代謝酵素の変動を把握し適切な量の薬物を放出するインテリジェント製剤の開発において有益な情報であり、この成果が高齢者など副作用発生リスクの高い患者への安全安心な薬の提供に役立つと考えております。

研究成果の概要(英文)：It is difficult to predict the activity of metabolic enzymes in patients taking multiple concomitant drugs (e.g., elderly patients) owing to the drugs' possible effects on induction and inhibition of metabolic those enzymes. Therefore, intelligent formulations are being developed that adjust drug release based on metabolic enzyme activity. In the present study, we aimed to develop an oral formulation that controls drug release by assessing uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1 activity in the liver based on intestinal bilirubin concentration. We prepared alginate gel beads that released drugs at varying rates depending on the bilirubin concentration. Results showed that the drug release profile of alginate gel beads in the presence of bilirubin was affected by the molecular weight of alginate, calcium concentration at the time of preparation, and gelation time.

研究分野：薬物代謝学、製剤学

キーワード：アルギン酸 UGT1A1 ビリルビン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

医薬品などの生体異物や滞留すると有害性を示す生体内物質を解毒するために、ヒトは種々の代謝酵素を有しています。代謝酵素は主に肝臓に発現しており、シトクロム P450 と UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) はその代表的酵素です。代謝酵素の発現及び機能は生理的、遺伝的及び環境的要因により大きく変動し、副作用発現の原因となることが知られております。とくに高齢者など併用薬が多い患者では、薬物による代謝酵素の誘導及び阻害が起こりやすく、さらに人によって服用している薬の組合せも異なるため、代謝酵素活性の変化を予測するのは困難です。予測が難しい酵素活性の変化が原因で起こる副作用を防ぐために、薬物代謝酵素の活性に合わせて投与量を調節するインテリジェント製剤の開発が期待されています。

### 2. 研究の目的

UGT1A1 はイリノテカンやエストラジオールなどの代謝に関与し、遺伝子多型の関連する副作用で問題となっている酵素です。主に肝臓で発現している UGT1A1 の活性を消化管内で直接感知することは不可能ですが、腸内に存在するビリルビン量と肝臓における UGT1A1 活性との間に相関性があることは知られております。そこで、本研究では、腸内のビリルビン濃度から肝臓における UGT1A1 活性を把握して薬物放出量をコントロールする経口投与製剤の開発を目指し、ビリルビン濃度によって薬物放出量が増減するアルギン酸ゲルビーズの調製を試みました。

### 3. 研究の方法

#### (1) ゲルビーズ調製時のカルシウム濃度の影響

アルギン酸ナトリウム (I-1) 水溶液にモデル薬物としてラロキシフェンを添加した後、0.05~0.5 M 塩化カルシウム水溶液にそれぞれ滴下し、30 分間静置することでゲル化させ、薬物固定化アルギン酸ゲルビーズを得ました。タウロコール酸ナトリウムを含む JPXVII 崩壊試験第 2 液を試験液として用いて薬物放出試験を行い、右に示す HPLC 条件にて放出されたラロキシフェンを定量し、ビリルビンの添加の有無による薬物放出挙動の変化を調べました。

#### 〈HPLC条件〉

- ・カラム: Inertsil ODS-3 (5  $\mu$ M, 4.6  $\times$  250 mm)
- ・カラム温度: 40°C
- ・検出波長: 272 nm
- ・流速: 1.0 mL/min
- ・注入量: 10  $\mu$ L
- ・移動相: 0.1%リン酸:アセトニトリル(70:30 v/v)

#### (2) ゲルに用いたアルギン酸の分子量の影響

分子量の異なるアルギン酸 (IL-6、I-1、I-5) を用いてラロキシフェンを固定化したゲルビーズを調製し、薬物放出試験を行いビリルビンの添加の有無による薬物放出挙動の変化を調べました。なお、ゲル化に用いた塩化カルシウム濃度は 0.1 M で、ゲル化時間は 30 分で実験を行い、放出されたラロキシフェン量は HPLC により測定しました。

表 1 実験に使用したアルギン酸

Species	Molecular weight	Viscosity	M/G ratio*
IL-6	1,000,000	60 mPa·s (1%)	1.1
I-1	1,500,000	150 mPa·s (1%)	1.1
I-5	2,560,000	250 mPa·s (1%)	1.1

\* mannuronic acid/guluronic acid ratio

#### (3) ゲル化時間が薬物放出挙動に与える影響

ゲルビーズを調製する際のゲル化時間を 5 ~ 30 分に変更し、ビリルビン存在下での薬物放出挙動にどのような変化がみられるか検討しました。なお、ゲル基剤としては、IL-6 を使い、塩化カルシウム濃度は 0.1 M で実験を行い、放出されたラロキシフェン量は HPLC により測定しました。

### 4. 研究成果

(1) 0.05 M 塩化カルシウム水溶液を用いて調製したゲルビーズでは、ビリルビンの存在により薬物放出量の増加が認められました (図 1-a)。調製時の塩化カルシウム濃度を 0.1 M まで

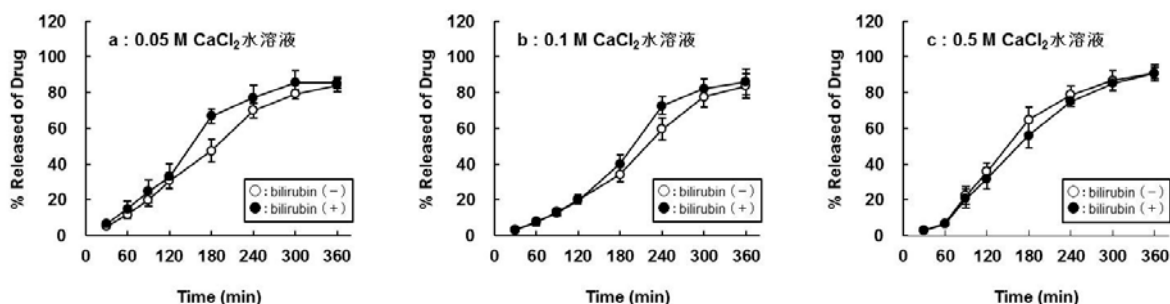


図 1 ゲルビーズ調製時のカルシウム濃度の影響

濃くした場合も、0.05 M 塩化カルシウム水溶液を用いた時ほどではないが、ビリルビン存在下での薬物放出量の増加がみられました (図 1-b)。しかしながら、0.5 M まで濃度を上げると、ビリルビン存在下における薬物放出量の低下が認められました (図 1-c)。塩化カルシウム濃度が 0.1 M 程度までは、ビリルビンによるカルシウムイオンの引き抜きが起こり、薬物放出量を増加させていると考えられます。しかしながら、0.5 M まで濃くなるとゲルが強固すぎるため、ビリルビンはカルシウムイオンを引き抜くことができず、逆にゲルビーズの表面をコーティングし、薬物の放出を抑制している可能性が示唆されました。

(2) IL-6 を用いて調製したゲルビーズでは、ビリルビン添加による影響はほとんど見られず、薬物の放出量がわずかに増加した程度でした (図 2-a)。一方、IL-6 よりも分子量が大きい I-1 を用いたゲルビーズでは、ビリルビンを添加した場合に 180 分以降で薬物放出速度の増加が認められました。およそ 80%の薬物を放出するのに 300 分かかっていたのが、ビリルビンを添加することで 240 分に短縮されていました (図 2-b)。また、今回の実験で用いたアルギン酸の中で最も分子量が大きい I-5 を使用して調製したゲルビーズも、180 分まではビリルビン添加の有無による違いはみられませんでした。240 分以降では、ビリルビンを添加した溶液においてゲルビーズの急激な崩壊と、薬物放出量の増加が認められました (図 2-c)。これらの結果より、ゲルビーズに用いるアルギン酸の分子量の増加に伴い、ビリルビン存在下での薬物放出量が増加し始める時間が遅くなる傾向にあることが明らかとなりました。これは分子量が大きいアルギン酸の方がアルギン酸の分子鎖同士が絡み合っており、ビリルビンによるカルシウムイオンの引き抜きに時間がかかっているためと推察されました。

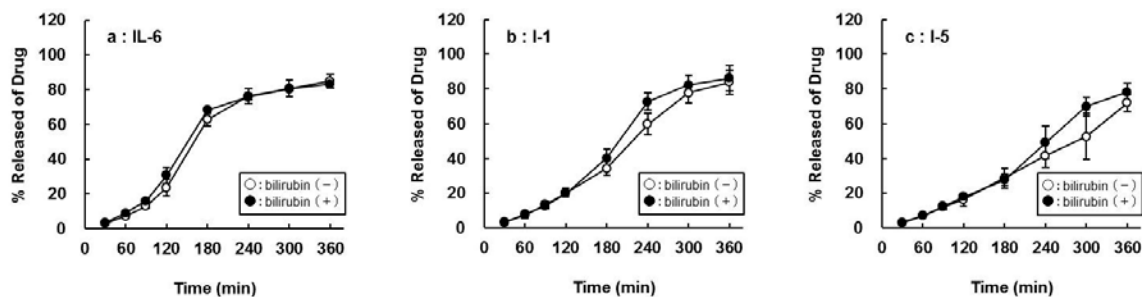


図 2 ゲルに用いたアルギン酸の分子量の影響

(3) ゲルビーズ調製時のゲル化時間の違いにより、ビリルビン添加時の薬物放出速度にも違いが認められました。ゲル化時間が 5 分と 30 分のゲルビーズでは、ビリルビン添加による影響はほとんど見られず、薬物の放出量がわずかに増加した程度でした (図 3-a, c)。これは、ゲル化時間が短い場合、ゲルビーズが脆く、ビリルビンの有無に関わらず、容易に崩壊し、薬物放出挙動に差が認められなかったためと考えられます。逆に、ゲル化時間が長い場合は、ゲルビーズが比較的強固に形成され、その結果、ビリルビンがカルシウムを引き抜くことが出来ず、ビリルビンの有無による違いがあまりみられなかったと推察されます。一方、ゲル化時間が 10 分のゲルビーズでは、ビリルビンの存在により 120 分以降の薬物放出量が増加し、ビリルビン非存在下よりも早く 80% 程度の薬物を放出していました (図 3-b)。10 分程度のゲル化時間であれば、ゲルビーズは適度な強度を保ちつつ、ビリルビンによるカルシウムの引き抜きも可能な程度の緻密性を有していると推測されました。

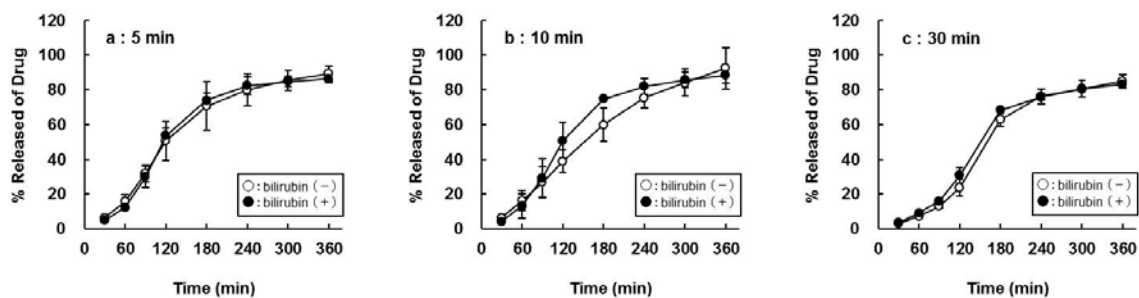


図 3 ゲル化時間が薬物放出挙動に与える影響

(4) 本研究で得られた成果は、患者ごとの代謝酵素の変動を把握し適切な量の薬物を放出するインテリジェント製剤の開発において有益な情報であり、この成果が高齢者など副作用発生のリスクの高い患者への安全安心な薬の提供に役立つと考えております。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Hanioka N., Isobe T., Ohkawara S., Ochi S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.	4. 巻 54
2. 論文標題 Hydrolysis of di(2-ethylhexyl) phthalate in humans, monkeys, dogs, rats, and mice: An in vitro analysis using liver and intestinal microsomes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxicology in Vitro	6. 最初と最後の頁 237-242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tiv.2018.10.006	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 Hanioka N., Ohkawara S., Isobe T., Ochi S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.	4. 巻 92
2. 論文標題 Regioselective glucuronidation of daidzein in liver and intestinal microsomes of humans, monkeys, rats, and mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives of Toxicology	6. 最初と最後の頁 2809-2817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00204-018-2265-1	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 Isobe T., Ohkawara S., Ochi S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hanioka N.	4. 巻 111
2. 論文標題 Naringenin glucuronidation in liver and intestine microsomes of humans, monkeys, rats, and mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Food and Chemical Toxicology	6. 最初と最後の頁 417-422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fct.2017.11.057	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 Isobe T., Ohkawara S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hanioka N.	4. 巻 91
2. 論文標題 Hepatic glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans: inter-individual variability and responsible UDP-glucuronosyltransferase isoforms	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Archives of Toxicology	6. 最初と最後の頁 3543-3550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00204-017-1982-1	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 奥村 紗希, 磯部 隆史, 大河原 晋, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡 伸光
2. 発表標題 ヒト肺マイクロゾームにおける吸入ステロイド薬の加水分解反応に対する2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオール ジイソブチラートの影響
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 門松 隆夫, 大河原 晋, 磯部 隆史, 香川(田中) 聡子, 金谷 貴行, 羽田 紀康, 大塚 功, 埴岡 伸光
2. 発表標題 Hirsutella rhossiliensis糖脂質合成経路体によるTHP-1細胞のLPS誘導性炎症メディエーター産生の抑制
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 磯部 隆史, 大河原 晋, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡伸光
2. 発表標題 ヒトの肝臓、小腸および肺における2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチラートの加水分解反応：マイクロゾーム画分を用いる in vitro解析
3. 学会等名 フォーラム2019 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 磯部 隆史, 片岡 祐太, 村上 雄大, 加藤 輝隆, 越智 定幸, 埴岡 伸光
2. 発表標題 ビリルビン濃度で薬物放出量に変化するアルギン酸ゲルビーズの調製条件に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤 嵐, 磯部 隆史, 大河原 晋, 加藤 輝隆, 越智 定幸, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡 伸光
2. 発表標題 薬物放出量を決定するインテリジェント製剤へのアルギン酸ゲルビーズの利用
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018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