

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19390040  
 研究課題名（和文）薬物胎盤移行と作用のPK・PD評価に基づく胎児毒性予測システムの構築  
 研究課題名（英文）Development of system to predict fetal toxicity based on PK/PD evaluation by transplacental transfer and effect of drugs  
 研究代表者  
 澤田 康文（SAWADA YASUFUMI）  
 東京大学・大学院薬学系研究科・教授  
 研究者番号：80114502

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、*in situ* ヒト胎盤灌流法による薬物の胎盤透過動態、ならびに妊娠ラットを用いた *in vivo* 胎仔中薬物濃度—薬理作用（動脈管収縮作用）のデータを、薬物動態・薬力学（PK・PD）的に解析することで、妊娠末期の非ステロイド性消炎鎮痛剤（NSAIDs）使用の胎児毒性を予測する新規方法論を構築した。本手法を用いることで、ibuprofen をはじめとする各種 NSAIDs のヒトにおける胎児毒性が定量的に評価でき、妊娠末期の婦人への NSAIDs 投与は十分に危険であることが示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

In the present study, a novel approach to predict fetal toxicity induced by the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in full-term pregnant women was developed using the transplacental pharmacokinetic (TP-PK) parameters obtained from *in situ* human placental perfusion studies, and the pharmacodynamic (PD) parameters obtained from fetal plasma concentration-response relationship in rats. Using the novel approach, the fetal toxicity of NSAIDs such as ibuprofen was quantitatively predicted and the use of NSAIDs is suggested to be dangerous to full-term pregnant women.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2009年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬物動態学、薬剤反応性、生体分子、胎児毒性、非ステロイド性消炎鎮痛剤

## 1. 研究開始当初の背景

医薬品の有害反応の中でも、胎児に対する毒性は、しばしば重大な結果を招く。しかし、特に、妊娠中期以降の妊婦に対する薬物投与のリスクを定量的に評価するための方法論は、いまだに構築されていない。

非ステロイド性消炎鎮痛剤（NSAIDs）は常用医薬品であり、妊婦においても投与が必要となるケースが多い。しかし、NSAIDs は妊娠末期に投与された場合、胎児動脈管の閉鎖や新生児における肺高血圧持続症などの胎児毒性をきたすことがあり、胎児の死亡例も

報告されているため、その使用には十分な注意が必要となる。また、分娩に近い時期での投与で、胎児循環持続症 (PFC)、動脈管開存、新生児肺高血圧、乏尿が起きたとの報告があり、新生児の死亡例も報告されているなど、重大な転帰を辿る危険性をはらんでいる。すなわち、NSAIDs は、臨床的に胎児毒性の評価が最重要課題となっている薬物であり、その評価方法の開発は焦眉の急といえる。

妊婦に薬物を投与した際の胎児毒性は、薬物の胎児移行性 (pharmacokinetics; PK) と薬物そのものの毒性 (pharmacodynamics; PD) の 2 つのパラメータにより決定される。このうち、PD については、胎児における特性を *in vitro* 試験や動物実験などによりある程度推定可能と考えられる。しかしながら、PK に関しては全く様相が異なる。成人とは異なり、胎児は直接薬物に暴露されるのではなく、母体・胎盤を介して暴露されるため、PK の予測は困難となる。また、動物とヒトでは胎盤の構造自体が異なっており、またその機能も種差が大きいため、動物をもとにしたヒト胎児における PK の予測もまた困難である。これらがボトルネックになり、これまでである薬物をヒトに投与した際の胎児血中濃度推移を予測する方法論は確立されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、ヒトにおける薬物の胎児毒性を予測するための方法論を確立し、NSAIDs を対象薬として、妊婦に投与した時の胎児毒性を定量的に評価することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究の手順、すなわち、妊婦に NSAIDs を投与した時の胎児毒性 (胎児動脈管収縮度推移) を予測するための解析フローを図 1 に示した。

(1) *in situ* ヒト胎盤灌流法による薬物の胎盤透過動態の解析

*in situ* ヒト胎盤灌流法による薬物の胎盤透過動態の解析 (図 1A) により、NSAIDs のヒト経胎盤薬物動態 (PK) パラメータを算出した。

*in situ* ヒト胎盤灌流法は、ヒト満期胎盤を用いて、single pass perfusion により薬物の胎盤透過性を解析した。この際、母体側から薬物を灌流する実験、胎児側から薬物を灌流する実験、並びに灌流後薬物を含まない灌流液を灌流する washout 実験の 3 つのプロトコルの実験を行うことで、胎盤透過の素速度過程 (流入クリアランス、流出クリアランス) など分離して求めた。さらに、灌流実験の結果に PK モデル (図 2) を当てはめることで、母体-胎盤間、胎盤-胎児間の PK パラメータを算出した。

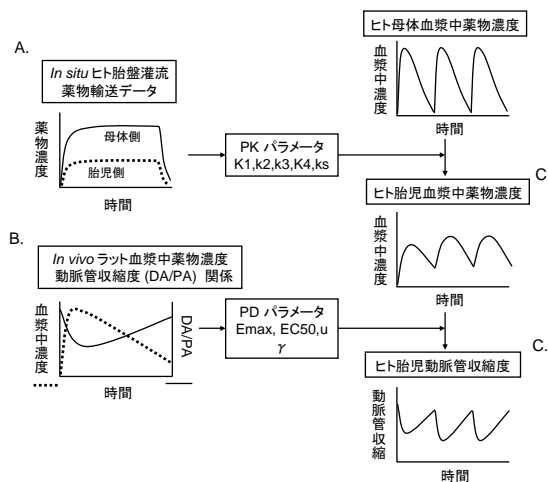


図 1. NSAIDs の胎児毒性評価系

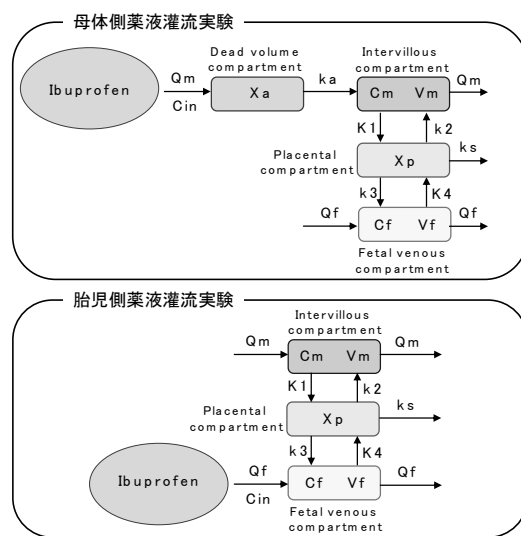


図 2. Ibuprofen の胎盤透過モデル

(2) *In vivo* ラット胎仔血漿中濃度と動脈管収縮作用の関係

妊娠満期ラットにおける NSAIDs 投与後の胎仔中薬物血漿中濃度と動脈管収縮度 (DA/PA ratio) 推移を測定した。両者の関係 (図 1 B) を Emax モデルを用いて評価し、ラット動脈管収縮に関する NSAIDs の薬力学的 (PD) パラメータを算出した。

(3) 妊娠末期に NSAIDs 服用時のヒト胎児における動脈管収縮作用の推定

(1) で算出した PK パラメータを用いて、妊婦に NSAIDs を投与した際のヒト胎児血漿中薬物濃度を推定した。(2) で得られたラット PD パラメータをヒト胎児に外挿し、妊娠末期に NSAIDs を服用した時のヒト胎児における動脈管収縮作用を推定した (図 1 C)。

## 4. 研究成果

(1) *In situ* ヒト胎盤灌流法による NSAIDs

の胎盤透過動態の解析

ヒト正常満期胎盤を用い、Ibuprofen (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で、single pass/dual perfusion 法により母体側灌流、胎児側灌流、灌流後 washout の 3 つのプロトコルで実験を行った。測定した ibuprofen の母体側、胎児側灌流液中及び胎盤組織中薬物濃度の結果を図 3 に示す。薬物を含む灌流液中母体側(または胎児側)灌流開始後、母体側及び胎児側静脈中 ibuprofen 濃度は 10 分前後で速やかに定常状態に達した。62 分間の母体側薬物灌流実験後、母体側に薬物を含まない灌流液を 8 分灌流した結果 (washout)、胎盤組織からの母体側灌流液及び胎児側灌流液への ibuprofen の流出は、速やかに消失した (図 3)。

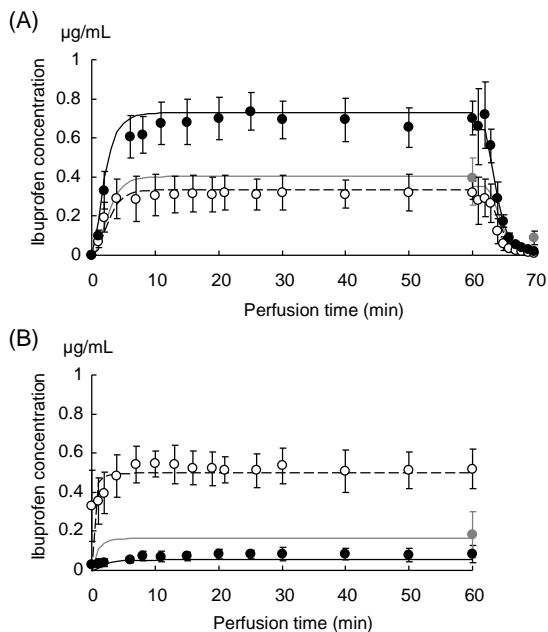


図.3 Ibuprofen の胎盤灌流実験結果  
mean  $\pm$  SD, 母体側灌流実験 (0-60 min; n=6) 及び washout (62-70 min; n=3) ● 母体側、○ 胎児側灌流液中濃度、● 胎盤組織中濃度

Ibuprofen の胎盤透過性を表す TPTss 値は単純拡散マーカーである antipyrine (data not shown) の約 70% であり、salicylic acid、diclofenac (data not shown) と比較して良好な透過性を示した。

得られた濃度推移を図 2 の経胎盤薬物動態モデルにあてはめて解析した結果、いずれのプロトコルにおける濃度推移も良好に表現することができた (図 3)。母体側及び胎児側から胎盤組織への非結合型 influx clearance ( $K1'$  及び  $K4'$ ) はそれぞれ 3.07 及び 2.09  $\text{mL}/\text{min}/\text{g}$  cotyledon であり、diclofenac とほぼ等しく、salicylic acid よりは大きかった。胎盤組織から母体側及び

胎児側への流出速度定数 ( $k2$  及び  $k3$ ) はそれぞれ 0.818 及び 0.758 /min であり、いずれも salicylic acid、diclofenac と比較して大きかった。

(2) *In vivo* ラット胎仔血漿中濃度と動脈管収縮作用の関係

①ラット母獣・胎仔血漿中の ibuprofen 濃度

Ibuprofen 各投与プロトコルにおける母獣・胎仔血漿中 ibuprofen 濃度を図 4 に示した。1, 100  $\text{mg}/\text{kg}$  投与時では、母獣における  $C_{\text{max}}$  は投与 1 時間後に観測され、10  $\text{mg}/\text{kg}$  では投与 0.5 時間後に観測された。胎仔における  $C_{\text{max}}$  は全ての投与量において投与 1 時間後に観測された。

②ラットにおける ibuprofen 経口投与時の胎仔動脈管収縮度測定

薬物投与を行っていない胎仔ラット (n=4) の DA/PA ratio は  $0.98 \pm 0.08$  (Mean  $\pm$  SE、以下同様) であり、過去の報告 (Momma and Takeuchi, 1983) と同様に、ほぼ 1 であると見なせた。Ibuprofen 各投与プロトコルにおける胎仔動脈管収縮度 (DA/PA ratio; 各 n=6) を図 4 に示した。100  $\text{mg}/\text{kg}$  を投与したとき、投与 2 時間以

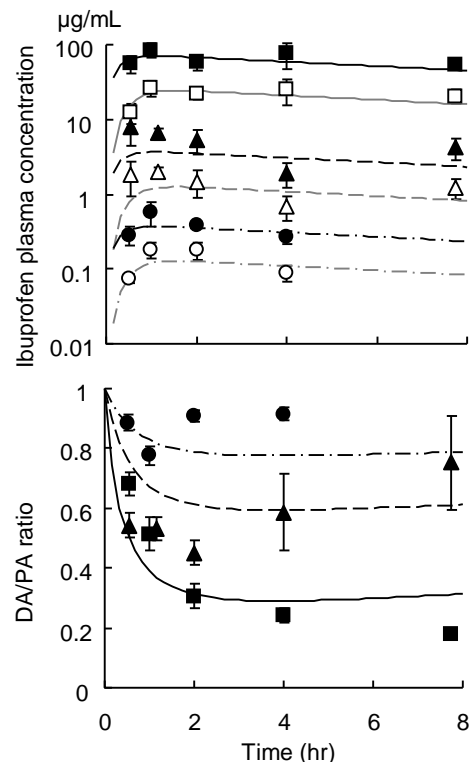


図 4. Ibuprofen 経口投与後のラット血漿中濃度・動脈管収縮推移

左図:血漿中濃度 (■▲●: 母獣中、□△○: 胎仔中; 100, 10, 1  $\text{mg}/\text{kg}$ ) 右図: 動脈管収縮度 (DA/PA ratio)

降で、DA/PA ratio が 0.2 程度の強い収縮が持続した。10 mg/kg 投与した時、投与後 2 時間で DA/PA ratio の最小値を観測し、それ以降では収縮が弱まっていったが、個体間の収縮のばらつきが大きかった。1 mg/kg 投与時は、投与 1 時間後に DA/PA ratio 最小値を観測したが、他の観測点ではいずれも DA/PA ratio は 0.9 程度の弱い収縮であった。各投与量における投与 4 時間後の DA/PA ratio は過去の報告と大きな差はなかった (Momma and Takeuchi, 1983)。

### ③胎仔血漿中非結合型薬物濃度-動脈管収縮度関係の記述

血中濃度推移にコンパートメントモデルを当てはめ、ibuprofen の母獣-胎仔間 PK パラメータを算出した。ラット母獣・胎仔における ibuprofen 濃度推移は、いずれも良好に表現された (図 4)。また、母獣ラット血漿、胎仔ラット血漿におけるアルブミン濃度はそれぞれ  $19.8 \pm 1.4$ ,  $10.3 \pm 1.0$  g/L (Mean  $\pm$  SE) であった (それぞれ  $n=10$ )。過去の報告と同様の値であり (Morgan, 1964)、非妊娠ラット (Satterwhite and Boudinot, 1991) と比較し、母獣ラットで 62.1%, 胎仔ラットで 32.2% であった。

求めた PK パラメータ及びアルブミン濃度から推定される非結合型薬物濃度と、測定した動脈管収縮度推移に、効果コンパートメントモデル及び  $E_{max}$  モデルを当てはめ、ibuprofen の胎仔動脈管収縮作用に関する PD パラメータを算出した。ラット PD パラメータは、 $EC_{50,u}$  が  $0.104 \mu\text{g/mL}$ 、Hill 係数  $\gamma$  が 0.372 であった。ラット DA/PA ratio の時間推移、特に、胎仔中 ibuprofen 濃度推移に対する動脈管収縮作用の遅れを良好に表現することができた (図 4)。

### (3) 妊娠末期における ibuprofen 使用時のヒト胎児中薬物濃度と動脈管収縮作用の定量的予測

予測された胎児血漿中 ibuprofen 濃度とラット PD パラメータを用い、母親が ibuprofen 200 mg 及び 150 mg を単回及び連続で服用した場合の動脈管収縮を予測した (図 5)。最大収縮は母体投与後約 4 時間で得られ、その時の動脈管内径は、400 mg 単回投与時で通常時の 48%、200 mg 単回投与時で 54%、150 mg 単回投与時で 56% まで収縮すると予測された。8 時間毎の連続投与により、胎児の動脈管内径は約 50% に収縮した状態が持続し、投与量による収縮の差は小さいことが示唆された。さらに、母親が ibuprofen 200 mg 及び 150 mg を単回及び連続で服用した場合の胎児血漿中濃度を予測した。母体において ibuprofen の  $T_{max}$  は投与後 2 時間程度と推定されるが、胎児

においてはやや遅れて、 $T_{max}$  は 3-4 時間後と推定された。胎児における  $T_{max}$  以後、ibuprofen 濃度の母体/胎児比は 1 を上回ることが示唆された。

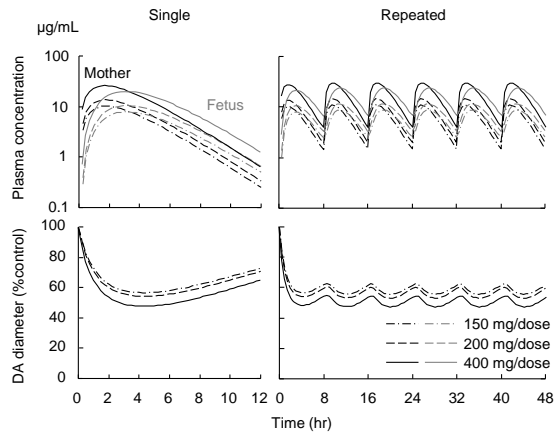


図 5. Ibuprofen 単回および連続経口投与後のヒト血漿中濃度、動脈管収縮推定結果

### (4) まとめ

本研究により、NSAIDs の胎児毒性を定量的に評価する方法論が確立された。さらに、本方法論を用いた検討の結果、ibuprofen の妊娠末期胎児毒性が定量的に評価でき、ヒトにおいても十分に危険であることが示唆された。本方法論を他の薬物にも適用することによって、臨床的に重要な胎児毒性に関する情報を整備することが可能になると考えられる。

### 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)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① K. Shintaku, S. Hori, M. Tsujimoto, H. Nagata, S. Satoh, K. Tsukimori, H. Nakano, T. Fujii, Y. Taketani, H. Ohtani, Y. Sawada. Transplacental pharmacokinetics of diclofenac in perfused human placenta. *Drug Metab Dispos.* 37(5): 962-968 (2009). 査読有
- ② K. Shintaku, Y. Arima, Y. Dan, T. Takeda, K. Kogushi, M. Tsujimoto, H. Nagata, S. Satoh, K. Tsukimori, H. Nakano, S. Hori, H. Ohtani and Y. Sawada. Kinetic analysis of the transport of salicylic acid, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, across human placenta. *Drug Metab. Dispos.* 35(5): 772-778 (2007). 査読有

[学会発表] (計 6 件)

- ①田中真吾ほか、ヒト胎盤灌流法によるイブプロフェン・ケトプロフェンの胎盤透過性評価とPK/PDモデルを用いた胎児毒性の定量的予測. 日本薬学会第130年会(岡山、2010年3月30日)
- ②阿波圭介ほか、ヒト初代培養トロホプラスト細胞におけるNSAIDsの輸送解析. 日本薬学会第130年会(岡山、2010年3月28日)
- ③田中真吾ほか、非ステロイド性消炎鎮痛剤の胎児毒性に関するPK/PD解析. 第12回日本医薬品情報学会総会・学術大会(福岡、2009年7月18日)
- ④田中真吾ほか、ヒトにおけるイブプロフェンによる胎児動脈管収縮のPK/PDモデリング. 日本薬学会第129年会(京都、2009年3月26日)

[図書] (計1件)

- ①澤田康文, 堀里子 他著, 杉山雄一, 柴崎正勝, 長野哲雄, 松木則夫 編. 廣川書店、創薬科学の魅力ー東京大学大学院薬学系研究科からの発信ー、「E-4 薬物動態・薬力学 理論に基づく処方設計: 考え方とシステム開発」、p421-430、2010年.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

澤田 康文 (SAWADA YASUFUMI)  
東京大学・大学院薬学系研究科・教授  
研究者番号: 80114502

### (2) 研究分担者

堀 里子 (HORI SATOKO)  
東京大学・大学院情報学環・准教授  
研究者番号: 70313145

### (3) 連携研究者

大谷 壽一 (OHTANI HISAKAZU)  
慶應義塾大学・薬学部・教授  
研究者番号: 70262029  
(H19~H20 研究分担者)

藤井 知行 (FUJII TOMOYUKI)  
東京大学・医学部附属病院・准教授  
研究者番号: 40209010  
(H19 研究分担者)

月森 清巳 (TSUKIMORI KIYOMI)  
九州大学・大学病院・講師  
研究者番号: 90253450  
(H19 研究分担者)