

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月20日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590042

研究課題名（和文）臨床応用へ向けた抗癌薬や遺伝子治療薬の肝臓表面適用製剤の開発

研究課題名（英文）Development of liver surface application formulation of anticancer drugs and gene medicine for clinical application

研究代表者

西田 孝洋（NISHIDA KOYO）

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：20237704

研究成果の概要（和文）： 抗癌薬の理想的な肝臓表面からの吸収性が得られる製剤学的条件を解析することを目的とした。カルボキシメチルセルロースやポリビニルアルコールなどの粘性添加剤併用時の肝臓表面からの薬物吸収速度を、透析膜の透過性により予測できることを明らかにした。さらに、パラベン類薬物の脂溶性と肝臓表面からの薬物吸収速度を調べたところ、脂溶性の増大に伴い吸収速度は増大したが、極脂溶性の物質はほとんど吸収されなかった。癌化学療法への応用の最初の段階として、製剤学的な基礎的知見が得られた。

研究成果の概要（英文）： The aim of the present study was to analyze the ideal pharmaceutical formulation conditions for the appropriate absorption rate from the liver surface. It was shown clearly that the rate of drug absorption from the liver surface in case of viscous additive agents carboxymethyl cellulose and polyvinyl alcohol can be predicted by the permeability of a dialysis membrane. Furthermore, we examined the effect of lipophilicity on the rate of drug absorption from the liver surface by utilizing paraben derivatives. The rate of absorption increased with lipophilicity, but too lipophilic substances were poorly absorbed. Fundamental knowledge concerning pharmaceutical formulation was obtained as the first stage of the application to cancer chemotherapy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：製剤学、コントロールドリリース

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノム解析計画など生命科学の進展に伴い、各種生理活性物質や遺伝子治療薬が肝疾患治療薬の候補として検討されているが、生体内での安定性や副作用などの問題点があるため、従来の投与方法では十分な治療効

果が得られていない。病巣部位に薬物を送達させるドラッグデリバリーシステム（DDS）に関する研究が、国内外で活発に展開されているものの、病巣部位における薬物濃度の精密なコントロールを達成している DDS 製剤が少ないのが現状である。そこで、肝臓表面か

ら肝細胞内部へ薬物を浸透させる投与形態では、病巣部位近傍に薬物が滞留する可能性が極めて高いと推測し、肝臓表面適用後の薬物動態や製剤化の基本条件に関して、これまでに下記に示す知見を得てきた。

(1) 円筒状の拡散セルを試作して、ラットの肝臓表面から薬物を直接投与することにより、吸収部位が肝臓表面に限定された実験系を確立し、肝臓表面からの薬物吸収を世界で初めて実証した。

(2) モデルとして用いた有機アニオン系色素やデキストランを拡散セルを用いて肝臓表面へ投与したところ、投与部位近傍に高度に集積することを明らかにした。

(3) 物性の異なるモデル化合物が、脂溶性や分子量などの物理化学的性質に基づいて肝臓表面より吸収されることを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究課題においては、腹腔内の肝臓などの臓器表面からの薬物吸収に基づく新規投与形態 DDS の開発を目指し、肝臓などの臓器表面への適用に最適な抗癌薬や遺伝子治療薬の DDS 製剤の基本情報を検討し、癌化学療法や重篤な疾患治療への臨床応用へ向けた、基盤研究を行う。

そこで、抗癌薬の理想的な肝臓内微視的分布が得られる製剤学的条件を解析するために、薬物の脂溶性と肝臓表面からの吸収特性、および各種粘性添加剤の影響を調べ、in vivo における薬物吸収速度との相関性を検討した。

3. 研究の方法

(1) 粘性添加剤併用時の肝臓表面からの薬物吸収速度の予測

これまでに肝臓表面からの吸収性を検討している phenolsulfonphthalein (PSP, Mw 354)、5-fluorouracil (5-FU, Mw 130) および FITC-dextran (FD-4, Mw 4,400) をモデル薬物として用いた。粘性添加剤 carboxymethylcellulose sodium salt (CMC-Na)、polyvinyl alcohol (PVA) を PSP、5-FU および FD-4 溶液 (10 mg/mL) に添加し、CMC-Na 1, 3% (w/v) および PVA 15% (w/v) 薬液を調製した。

恒温水槽で試料を 37°C に保ち、TVB-10 形粘度計により粘性添加剤の粘度を測定した。セルロース製透析膜 (Molecular weight cutoff (MWCO): 12,000-14,000 あるいは 50,000) に薬液を 3 mL 封入し (ドナー側)、300 mL の pH 7.4 リン酸緩衝液中 (レシーバー側) に入れ攪拌した。レシーバー側から経時的にサンプリングし、分光吸光度法 (PSP,

5-FU) あるいは分光蛍光光度法 (FD-4) を用いて薬物量を測定した。

(2) 薬物の脂溶性の肝臓表面からの吸収速度に対する影響

脂溶性の異なる薬物として paraben 誘導体、antipyrine、sulfamethizole、sudan blue および sudan III を用いた。n-Octanol および等張リン酸緩衝液間の 37 °C における分配係数 (PC) を測定し、脂溶性の指標とした。

Pentobarbital 麻酔下、Wistar 系雄性ラットの左大腿部動脈および胆管にカニューレーションを施した。肝臓表面に円筒状の拡散セルを装着し、薬液を拡散セル内に投与した。投与直後より、血液および胆汁を経時的に採取した。実験終了時に膀胱より尿、および拡散セル内に残存する薬液を回収した。また、門脈より生理食塩水を灌流し、脱血後に肝臓を摘出し、肝臓内薬物量を測定した。薬物の定量は、吸光度法および HPLC 法で行った。

4. 研究成果

(1) 粘性添加剤併用時の肝臓表面からの薬物吸収速度の予測

肝臓表面からの PSP の一次吸収速度定数 (k_a) については、CMC-Na 1% と PVA 15% では粘度がほぼ同等にも関わらず、PVA 15% で k_a が大きく低下した。また、CMC-Na 3% では顕著に高い粘度を有するが、PSP の k_a は CMC-Na 1% とほぼ同じ値を示した。5-FU および FD-4 についても同様に、粘度と k_a との間に相関関係は認められなかった。

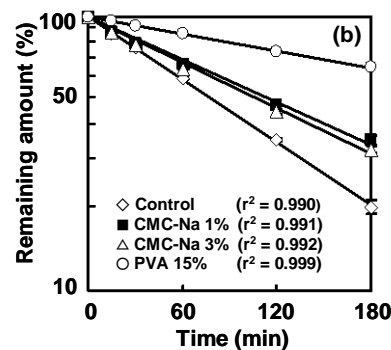
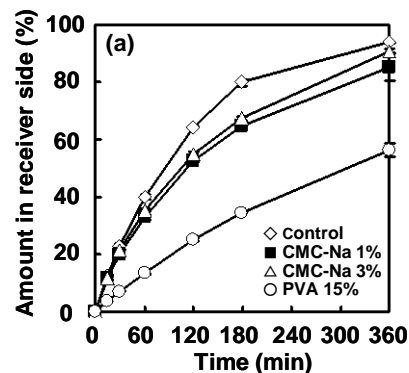


図 1 (a) Release profiles of PSP through

dialysis membrane from solution in various conditions. (b) Semi-log plot of remaining amount of PSP in the donor side.

図 1a に示すように、PSP の透析膜 (MWC0: 12,000-14,000) からの放出は、粘性添加剤存在下で低下した。特に、in vivo で高い吸収抑制効果を示した PVA 15%において、in vitro 透析膜透過実験では、PSP の放出量は control の約半分となった。5-FU でも PSP と同様の傾向を示した。

そこで、粘性添加剤による透析膜からの放出抑制効果を定量的に評価するため、PSP (図 1b) および 5-FU の透析膜内残存率の経時変化を片対数プロットした。いずれの場合も直線的な減少を示し、その傾きより一次放出速度定数 (k_r) を算出できた。

一方、高分子のモデル薬物 FD-4 では MWC0: 50,000 の透析膜を用いて、 k_r を算出し、CMC-Na 1%あるいは PVA 15%添加時の放出特性を評価できた。

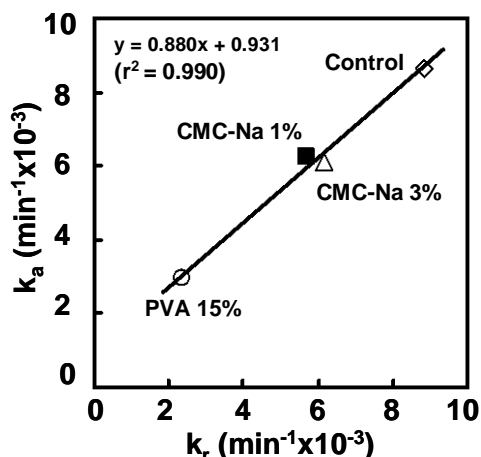


図 2 Correlation between k_r and k_a of PSP.

粘性添加剤併用時のPSPの一次放出速度定数 k_r に対して、in vivoでの肝臓表面からの一次吸収速度定数 k_a は直線的に上昇した (図 2)。5-FUおよびFD-4 においても同様に、 k_r と k_a との間に良好な相関関係が認められた (5-FU: $r^2 = 0.928$, FD-4: $r^2 = 0.978$)。

(2) 薬物の脂溶性の肝臓表面からの吸収速度に対する影響

拡散セル中の薬物の消失すなわち肝臓表面からの吸収は、一次速度式に従っており、得られた一次吸収速度定数 K_a を吸収性の指標とした。Log PC 値 (表 1) の上昇に伴い K_a は増加する傾向を示した。また、log PC 値が 3 程度を超えると吸収速度が飽和に達し (Butylparaben)、log PC 値が 4 程度を超えると吸収速度が低下する (Sudan blue、Sudan III) ことも示された。

表 1 Physicochemical properties of drugs having different lipophilicity

Drug	MW	log PC
Paraben	139.1	-1.39
Phenol red	354.4	-1.09
Sulfamethizole	270.3	-0.60
Antipyrine	188.2	0.19
Methylparaben	152.1	1.66
Propylparaben	180.2	2.47
Butylparaben	194.2	3.41
Sudan blue	342.4	4.19
Sudan III	352.4	4.62

さらに、薬物の脂溶性に分子量を考慮した物理化学的性質と肝臓表面からの吸収性との相関性について検討した結果、吸収速度が飽和あるいは低下を示した butylparaben、sudan blue および sudan III を除く薬物に関して、log PC と K_a は良好な直線関係 ($r^2=0.95$) を示した (図 3)。これより、肝臓表面からの薬物吸収性を予測できることが示唆された。

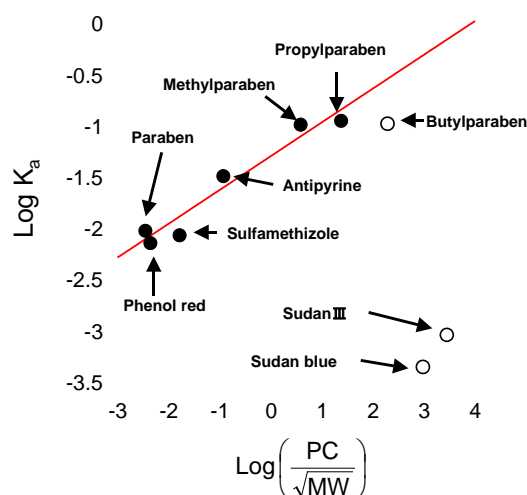


図 3 Relationship between physicochemical property and drug absorption rate from the rat liver surface

したがって、薬物の物理化学的性質 (分子量、脂溶性) に基づいて、最適な粘性添加剤などを選択することによって、肝臓表面からの薬物吸収速度を正確に把握して、制御できる可能性が示された。今回得られた知見は、肝臓表面投与法に適用可能な製剤の開発において有用な基礎的情報になると考えられる。

(3) 今後の展望

次の段階として、臨床応用を想定した肝疾患病態モデル動物に対して、粘性添加剤など

による適切な製剤修飾を施した DDS 製剤による治療実験を試みていく。

一方、腹腔内の肝臓表面を投与部位とした遺伝子医薬品の適用に関しても検討を始めている。腹膜漿膜との摩擦が遺伝子導入効率の向上のための重要な要因であることを既に明らかにしており、腹腔内への有望な核酸導入剤を開発し、様々な分野への応用も見据えている。

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 8 件)

- ① Nishida K, Kobayashi M, Miyamoto H, Yoshikawa N, Fumoto S, Sasaki H, Nakamura J、Relationship between lipophilicity and absorption from the liver surface of paraben derivatives and antipyrine in rats、J. Pharm. Pharmacol.、査読有り、63 巻、2011、736-740
- ② Mine T, Ishii H, Nakajima S, Yoshikawa N, Miyamoto H, Nakashima M, Nakamura J, Fumoto S, Nishida K、Rubbing gastric serosal surface enhances naked plasmid DNA transfer in rats and mice、Biol. Pharm. Bull.、査読有り、34 巻、2011、1514-1517

[学会発表] (計 3 件)

- ① 西田孝洋、腹腔内の肝臓表面からの薬物吸収速度に及ぼす粘性添加剤の影響、日本薬剤学会第 26 年会、2011 年 5 月 29 日、船堀タワーホール (東京都)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：研磨剤を含有する核酸導入剤

発明者：麓伸太郎、西田孝洋

権利者：長崎大学

種類：特許

番号：特願 2011-194260

出願年月日：2011 年 9 月 6 日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

[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) 研究代表者

西田 孝洋 (NISHIDA KOYO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：20237704

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：