

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10日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590161

研究課題名（和文） 局所薬物動態評価と局所薬物送達制御への新規微小透析技術の応用

研究課題名（英文） Application of microdialysis techniques to evaluation system for local pharmacokinetics of topically delivered drugs guaranteeing regionally confined drug action

研究代表者

黒崎 勇二（KUROSAKI YUJI）

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：90161786

研究成果の概要（和文）：

限局された局所にあらかじめ企画された薬物濃度推移での薬物療法を実践する「局所送達放出制御型薬物送達システム（DDS）」の開発が想定される。局所に限局した薬効発現（薬物療法の空間的制御）とあらかじめ企画された局所薬物濃度推移（薬物療法の時間的制御）を高度に科学的に保証するための研究基盤の構築を目的とし、微小透析法による筋肉内の拡散・全身循環移行動態のモニタ系を考案した。さらに親油性薬物のモニタに際し、脂肪乳剤灌流微小透析法（リポMD法）がドナー濃度変化に対する追従性が優れることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

A new drug delivery concept, which enables well-controlled regionally confined drug action, requires new scientific platform that covers topical bioavailability and topical pharmacokinetics. In this study, lateral diffusion and systemic transfer of drugs applied to the abdominal muscle of the rat was monitored by microdialysis (MD). Improved monitoring characteristics of Lipo-MD in followability of the donor concentration changes were clarified in application to lipophilic drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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，ドラッグデリバリー，マイクロダイアリス，微小透析，局所動態

1. 研究開始当初の背景

再生医療など先端薬物療法においては、局所に限局した薬効発現を高度に保証することが臨床応用への重大な課題となる。すなわち、限局された部位に（薬物療法

の空間的制御）あらかじめ企画された薬物濃度推移で（薬物療法の時間的制御）薬物療法を実践するための「限局的薬効発現型薬物送達システム（DDS）」の開発が求められるが、開発基盤としてDDS

製剤の機能の特徴づけ、これを保証する科学的な評価法の確立が不可欠である。特に、「限局的薬効発現型DDS医薬品」の開発研究では、標的組織中の総薬物濃度推移だけでなく、治療効果に直結すると考えられる非結合形薬物濃度の合理的な薬物送達を達成しえる新規薬物送達法の設計が求められることになるが、局所の非結合形薬物濃度に基づく局所利用率を科学的に評価する手法は確立されていない。

2. 研究の目的

局所に限局した薬効発現を高度に科学的に保証することを目的とし、(1)申請者が考案した平行還流微小透析法を用いて局所(筋肉)から側方への薬物拡散および全身循環血流への消失動態を速度論的に解析し、(2)局所血流低下状況を実験的に惹起させて局所動態制御因子としての局所血流の影響を解析し、(3)申請者が考案した脂肪乳剤灌流微小透析法(リポMD法)が親油性薬物の局所薬物動態モニタに際し、ドナー濃度変化に対する追従性が優れることを明らかにすることで、局所薬物モニタリングにおける微小透析の研究基盤の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1)局所(筋肉)に送達された薬物のin vivoにおける薬物の拡散・移行・消失過程を速度論的に解析し、局所動態制御因子としての局所血流の影響を検討する(①~③)。

① 筋肉内におけるin vivo薬物拡散・消失評価

麻酔下の実験動物(ラット)を用いて、薬物供給源と平行に留置した複数の微小透析プローブによる微小透析(MD)により局所薬物濃度をモニタし、腹部筋肉内における薬物の拡散・移行・消失動態を評価する。

② 筋肉内におけるin vivo薬物拡散・消失動態の速度論的解析

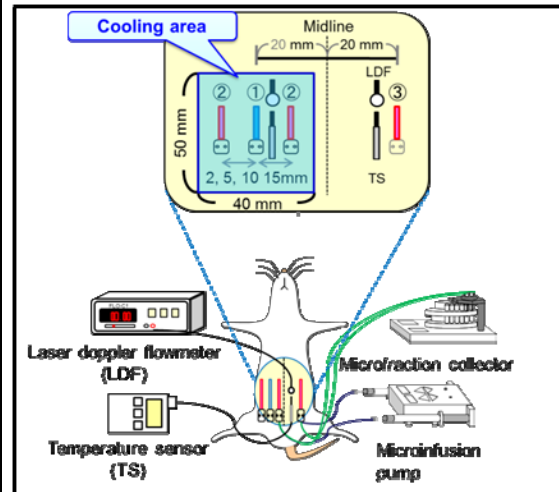
薬物供給源からの位置ごとの得られた濃度変化データについて拡散過程と消失過程を組み込んだ速度論的な動態モデルを構築・解析する。

③ 局所冷却時のin vivo薬物拡散・消失評価

Cooling padを用いた局所冷却により惹起した局所血流低下状況での局所(筋肉)における薬物の拡散・移行・消失過程を評価(右上図)する。

(2)局所薬物濃度モニタで問題となる親油性の薬物に対する回収率および濃度変化追従特

性の改善に脂肪乳剤灌流微小透析法(リポMD法)が有効であることを評価するために下記の検討を行う。

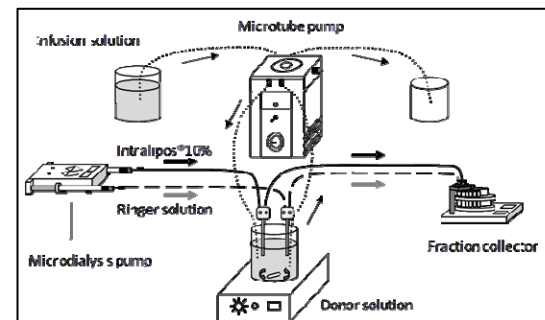


局所冷却筋肉内定速薬物送達モニタリング実験系

Microinfusion pumpおよびMicrofraction collectorはMD⁺プローブ数に応じて複数設置

④ リポMD法のin vitroモニタ特性評価

ドナー溶液中の薬物濃度を人為的に上昇・下降させ(下図)、その際のリポMD法のモニタ特性(濃度変化追従特性)をMD法と比較する。



In vitro モニタリング特性評価実験系

(3) 血管平滑筋弛緩作用の薬力学モデルによる解析

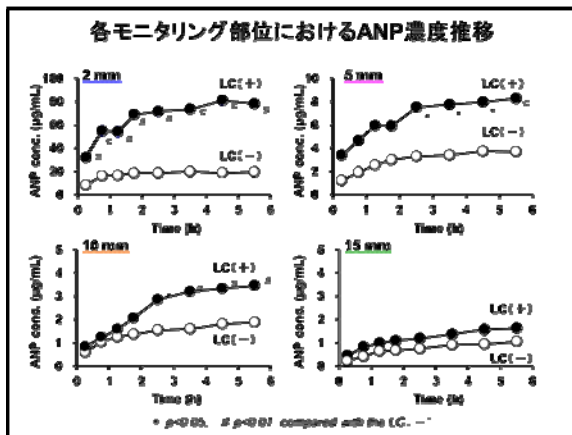
血管平滑筋弛緩作用を有する薬物の短時間投与後の灌流圧低下の作用発現動態を摘出腸管膜動脈床標本で詳細に検討し、薬力学モデルにより解析する。

4. 研究成果

(1)薬物送達部位局所から周辺部への薬物の拡散・移行・消失過程の速度論的解析
実験動物(ラット)を用いて、体内動態特性や物性の異なるモデル薬物について薬物供給用プローブからの筋肉内の拡散・移行・消失動態を平行還流微小透析法により評価し、得られた位置・時間に関する濃度変化デ

ータについて速度論的モデルを構築し、数理的解析を行った結果、薬物ごとに筋肉から全身循環への移行速度および定常状態における局所送達時の限局性が異なることが明らかとなった。

(2) 局所冷却（局所血流低下）による送達部位限局性および局所利用率の改善
薬物の局所拡散動態に及ぼす血流の影響を検討するためにレーザードップラー血流計による非侵襲的な局所血流速度モニタの方法の確立し、局所冷却パッドによる局所冷却で一定の局所血流速度低下の実験的創出に成功した。局所冷却（局所血流速度低下）により、①MDプローブから筋肉への薬物送達速度は約80%に低下した、②筋肉から全身循環系への薬物移行速度は約50%に低下した、③送達部位から2~10 mmの位置における薬物濃度は増加した、④薬物の相対的局所バイオアベイラビリティは増加した（2 mmの位置で非冷却時の約380%）（下図）。本研究成果は、臨床での局所冷却下薬物療法の有用性を示唆する。

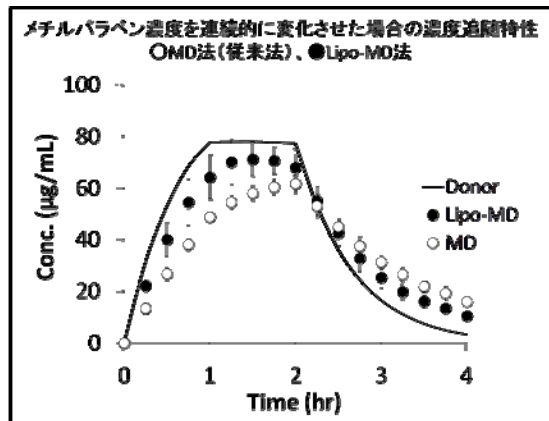


局所冷却がアンピリンの局所濃度推移に及ぼす効果
（グラフ左上の数字は薬物送達位置からの距離）

(3) リポ MD 法による局所動態モニタ特性の改善

新油性の高いモデル薬物の局所動態評価で問題となる“モニタプロファイルの時間遅れ”を改善するために、脂肪乳剤灌流微小透析法（リポ MD 法）を用い、in vitro における“時間遅れ”の影響を速度論的に解析し、 $\log P$ 値が 2 以上の親油性を有する薬物ではリポ MD 法による回収率の改善とともに局所動態モニタが“時間遅れ”を大幅に減少することを明らかにした（右図）。同時に連続的に試料中薬物濃度が変化する場合の MD 法（リポ MD 法を含む）におけるモニタプロファイルは、試料中薬物濃度が矩形で上昇・下降させた（入力関数）場合のモニタプロファイル（出力関数）をあらかじめ取得することで、コン

ポリューション法の応用によるシミュレーションが可能であることを示した。



(4) 血管平滑筋弛緩作用の薬力学モデルによる解析

局所血流を実験的に変化させる目的で投与を検討する血管平滑筋弛緩作用を有する NO および NO ドナーの灌流圧低下の作用発現動態を摘出腸管膜動脈床標本で詳細に検討し、薬力学モデルによる解析を試みた。

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 6 件）

- ① Shinnsuke Inoue, Tetsuya Aiba, Yasuyuki Masaoka, Keiko Shimizu, Yukiko Komori, Mitsunobu Mio, Shingo Takatori, Hiromu Kawasaki, Yuji Kurosaki, Pharmacodynamic characterization of nitric oxide-mediated vasodilatory activity in isolated perfused rat mesenteric artery bed, *Biol. Pharm. Bull.*, **34** (9), 1487-1492, 2011, 査読有。
- ② 牧之段敬一, 東恩納 司, 村上仁美, 合葉哲也, 黒崎勇二, 薬物の筋肉内拡散・分布動態に及ぼす血流量の影響：局所冷却時の動態特性, 日本薬剤学会第 26 年会講演要旨集, p. 141, 2011, 査読無。
- ③ 岡 大嗣, 小林 徹, 合葉哲也, 黒崎勇二, 脂肪乳剤を用いた微小透析法（Lipo-MD 法）：薬物の脂溶性が透析特性に及ぼす影響, 第 49 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会講演要旨集, p. 187, 2010, 査読無。
- ④ Tsukasa Higashionna, Hitomi Murakami, Keiichi Makinodan, Kozue Kanda, Mayu Shibata, Tetsuya Aiba, Yuji Kurosaki, Microdialysis study in evaluation of

intramuscular lateral distribution profiles of topically administered drugs in rats, 25th JSSX Annual Meeting in Tokyo Abstracts, p.219, 2010, 査読無.

- ⑤ 合葉哲也, 井上真輔, 正岡康幸, 清水けい子, 小森有希子, 高取真吾, 見尾光庸, 川崎博己, 黒崎勇二, 血管平滑筋弛緩作用の薬力学モデル解析, 日本薬学会第130年会要旨集4, p.265, 2010, 査読無.
- ⑥ 小林 徹, 合葉哲也, 黒崎勇二, 脂肪乳剤を用いた微小透析法 (Lipo-MD 法) の透析特性: 濃度変化に対する追従性の従来法との比較, 第48回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会講演要旨集, p.113, 2009, 査読無.

[学会発表] (計5件)

- ① 牧之段敬一, 東恩納 司, 村上仁美, 合葉哲也, 黒崎勇二, 薬物の筋肉内拡散・分布動態に及ぼす血流量の影響: 局所冷却時の動態特性, 日本薬剤学会第26年会, 東京, 5.29-31, 2011.
- ② 岡 大嗣, 小林 徹, 合葉哲也, 黒崎勇二, 脂肪乳剤を用いた微小透析法 (Lipo-MD 法): 薬物の脂溶性が透析特性に及ぼす影響, 第49回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 米子市, 11.6-7, 2010.
- ③ Tsukasa Higashionna, Hitomi Murakami, Keiichi Makinodan, Kozue Kanda, Mayu Shibata, Tetsuya Aiba, Yuji Kurosaki, Microdialysis study in evaluation of intramuscular lateral distribution profiles of topically administered drugs in rats, 日本薬物動態学会第25回年会, 東京, 10.7-9, 2010.
- ④ 合葉哲也, 井上真輔, 正岡康幸, 清水けい子, 小森有希子, 高取真吾, 見尾光庸, 川崎博己, 黒崎勇二, 血管平滑筋弛緩作用の薬力学モデル解析, 日本薬学会第130年会, 岡山市, 3.28-30, 2010.
- ⑤ 小林 徹, 合葉哲也, 黒崎勇二, 脂肪乳剤を用いた微小透析法 (Lipo-MD 法) の透析特性: 濃度変化に対する追従性の従来法との比較, 第48回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会, 徳島市, 11.7-8, 2009.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒崎 勇二 (KUROSAKI YUJI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 90161786

(2) 研究分担者

川崎 博己 (KAWASAKI HIROMU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 60125151
合葉 哲也 (AIBA TETSUYA)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 00231754

(3) 連携研究者

なし