

氏名	綱島 大介
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬科学
学位記授与番号	博乙第 4455 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 2 項該当)
学位論文の題目	難水溶性薬物タクロリムスの徐放性固体分散体顆粒 製剤の設計に関する研究

学位論文の要約

【背景・目的】

タクロリムスは藤沢薬品工業株式会社（現アステラス製薬株式会社）により開発された 23 員環を有するマクロライド系の免疫抑制剤である。タクロリムスの経口投与製剤については、速溶性カプセル製剤として、アステラス製薬株式会社より Prograf®カプセル（Prograf）が 1993 年に世界に先駆けて日本で発売されて以降、90 以上の国や地域で販売されており、肝、腎、肺、骨髄移植時の拒絶反応抑制剤、さらには重症筋無力症、潰瘍性大腸炎、関節リュウマチ、ループス腎炎などの自己免疫疾患の治療薬としても用いられている。

臓器移植患者は、拒絶反応の発現や移植臓器の喪失を防ぐため、生涯にわたり免疫抑制剤を服薬しなければならない。しかしながら免疫抑制剤のように治療効果が生死にかかわる薬剤でさえ、薬物治療に対する低アドヒアランスが原因と考えられる死亡例や再移植が必要となった事例が報告されている¹。

服薬アドヒアランス改善策として、口腔内崩壊錠、コンビネーション錠、徐放性製剤などのアプローチが報告されているが、なかでも徐放性製剤による服薬回数の減少はアドヒアランス向上に効果的であるとの報告がある²。そこで 1 日 1 回投与を目指したタクロリムス徐放性製剤の製剤設計を目的に研究を行った。製剤性能として、ヒトに投与した際に Prograf と同等の血中濃度-時間曲線下面積を示しつつ、最高血中濃度は 2 分の 1 以下になることを目標とした。

【実験方法】

・吸収部位試験: ヒト消化管の各部位からのタクロリムスの吸収性を、Innovative devices 社（米国）の InteliSite®カプセルを用いて評価した。試験は健康白人男性を対象に、非盲検、無作為化、4 期のクロスオーバー試験にて実施した。

・徐放性固体分散体顆粒の調製: タクロリムスとエチルセルロース（EC）をエタノールに溶解させた後、必要に応じてヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）を添加して膨潤・練合させた。そこへ、乳糖を添加して十分混合し、練合物を棚温度 40℃の真空乾燥機にて減圧乾燥して溶媒を留去した。乾燥物を粉碎し篩で粒子径を揃えることで、徐放性固体分散体顆粒（ERG）を得た。

・放出試験: ERG（タクロリムス 1 mg）からの薬物放出性評価は、日本薬局方 一般試験法 溶出試験法 第 2 法（パドル法）の装置を用い、パドル回転数 50 回転/分の条件にて試験液に 0.005%ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）水溶液（pH4.5, 37±0.5℃）900 mL を用いて実施した。

・過飽和放出試験: ERG（タクロリムス 45 mg）を用い、日本薬局方 一般試験法 溶出試験法 第 2 法（パドル法）にて、パドル回転数 200 回転/分の条件で、精製水（37±0.5℃）900 mL を用いて実施した。

・サル経口吸収試験: 雄性カニクイザル 6 匹（体重 5.2~7.1 kg）を用い、ERG（タクロリムス 1 mg 含有）の経口吸収性を評価した。

- ・ヒト経口吸収試験: 健康白人男性 12 名を対象に、非盲検、無作為化、3 期のクロスオーバー試験にて、ERG (タクロリムス 5 mg 含有) の経口吸収性を評価した。
- ・薬物速度論的解析: IntelliSite®カプセルあるいは ERG 経口投与後に得られた血中タクロリムス濃度より、薬物速度論的パラメータとして、最高血中濃度到達時間 (T_{max})、最高血中濃度 (C_{max})、血中濃度-時間曲線下面積 (AUC) ならびに平均滞留時間 (MRT) を算出した。

【結果】

消化管各部位において、IntelliSite®カプセルから放出後に吸収されたタクロリムスの血中濃度推移は、いずれの部位で放出した場合も概ね同様のプロファイルを示し、AUC あるいは C_{max} の平均値に、統計的に有意な部位間差は認められなかった。このことから、ヒト消化管より吸収されたタクロリムスの量的バイオアベイラビリティは、十二指腸から大腸までの部位によらず、同程度である事が示唆された。但し、統計的に有意ではないものの、小腸上部で薬液を放出した時の AUC は、その他の部位での結果より若干低くなる傾向が認められた。

放出試験において、ERG からのタクロリムスの放出は持続的なプロファイルを示し、放出速度は EC 配合量を増加させると低下し、乳糖の配合量を増加させると上昇した。また、過飽和放出試験においては、HPMC 含有 ERG では、試験開始 24 時間後でもタクロリムス結晶の溶解度を超える過飽和溶解状態の維持が認められたのに対し、HPMC 非含有 ERG では、試験初期にはタクロリムス結晶の溶解度を超える過飽和溶解が認められたものの、試験開始 24 時間後は結晶の溶解度にまで減少した。HPMC 含有 ERG および HPMC 非含有 ERG をサルに経口投与し、タクロリムスの経口吸収性を評価したところ、HPMC 含有 ERG では高い血中濃度の持続が認められ、その AUC は速溶性製剤の AUC と同等であった (図 1)。一方、HPMC 非含有 ERG では、速溶性製剤と比較して顕著に低い AUC であった (図 1)。

ERG からの薬物放出プロファイルを解析したところ、Higuchi 式によって良好に説明できることが明らかとなった。即ち、Higuchi 式による理論値と実測値の単相関を確認したところ、いずれの放出性を示す ERG においても良好な相関係数が得られた ($r^2 \geq 0.976$)。また、放出試験前後の ERG を顕微鏡観察したところ、放出試験前は滑らかであった ERG 表面に、放出試験後には凹凸や十数 μm の細孔が認められたものの、粒の全体的な立体構造は維持されていた (図 2)。

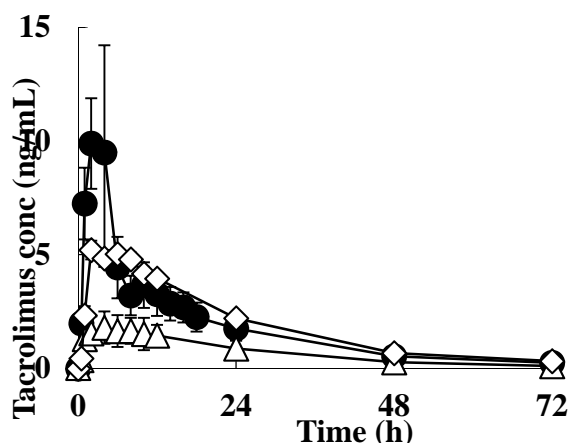


図 1 Blood concentration profiles of tacrolimus after oral administration of immediate release formulation and ERG formulations. ●, immediate release formulation; △, ERG without HPMC; ◇, ERG with HPMC. Each value represents mean \pm S.D. (n=6).

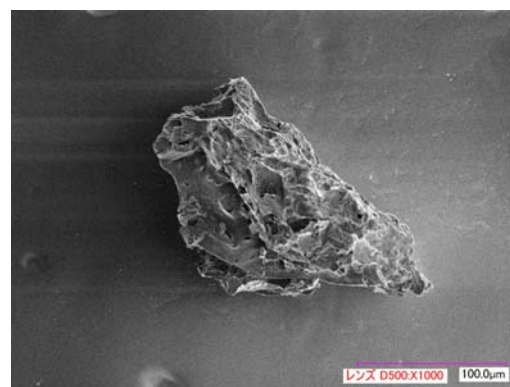


図 2 Digital microscope photographs of ERG 24 h after from the start of release test

次に、消化管吸収部位試験の結果や文献データ³を基に算出したタクロリムスの pharmacokinetic parameter を用いて血中濃度予測モデルを確立し、ERG をヒトに経口投与した場合の血中濃度の推定を試みたところ、ERG からの薬物放出速度に応じた血中濃度推移の変化が示唆された。そこで、放出試験において、6 時間で約 80% の放出を示す EGR19-h と 24 時間で約 80% の放出を示す ERG17-h を用いて、ヒトでの経口吸収性を評価した。その結果、いずれの製剤も速溶性製剤と比較して T_{max} の遅延傾向および統計的に有意な MRT の延長が認められた。また両製剤を経口投与した後の血中濃度推移の実測値は、予測モデルにより推定した血中濃度推移とよく一致した。速溶性製剤の C_{max} 値に対する EGR19-h および ERG17-h の C_{max} の幾何平均比 (GMR) はそれぞれ 0.50 および 0.34 であり、いずれも C_{max} の抑制に成功した (表 1)。一方、AUC については、いずれの ERG も速溶性製剤の値を維持できることが示された (表 1)。

表 1 Pharmacokinetic parameters of tacrolimus after oral administration of ERG to healthy male human subjects.

Pharmacokinetic Parameters	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	AUC _{0-inf} (ng · h/mL)	MRT _{0-inf} (h)
速溶性製剤	22.19 ± 8.36 (1.00)	1.37 ± 0.57	196.6 ± 115.0 (1.00)	33.06 ± 2.34
ERG19-h	11.00 ± 3.91*** (0.50)	2.25 ± 1.49	222.3 ± 73.03 (1.23)	39.61 ± 4.16*
ERG17-h	7.37 ± 2.62*** (0.34)	2.83 ± 1.40*	172.6 ± 47.89 (0.97)	39.86 ± 10.16*

Each value represents mean ± SD (n=12).

Numbers in parentheses represent the geometric mean ratio to IR formulation.

***p<0.001, *p<0.05, compared with IR formulation.

【考察】

タクロリムスの消化管各部位からの吸収は、小腸上部で若干低下傾向を示すものの、概ね同程度であり、消化管下部でも吸収が見込まれることから、本薬物の徐放性製剤化による血中濃度の持続は可能であると考えられた。小腸上部での吸収性低下傾向については、タクロリムスが薬物代謝酵素チトクローム P450 3A4 (CYP3A4) の基質であること⁴、CYP3A4 は小腸上皮細胞に存在し、その酵素活性は十二指腸から空腸中部にかけて徐々に上昇し、その後、空腸下部から回腸にかけて減少することを考慮すると、CYP3A4 による bioavailability 変動の可能性が考えられた。

ERG からのタクロリムスの放出に関しては、EC 配合量の多い ERG 処方では遅い薬物放出が認められたが、これは、EC が不溶性ポリマーであるため、処方中の EC 濃度の増加により外部からの水の浸入が抑制され、そのため、タクロリムスの放出が遅くなったものと考えられた。一方、乳糖は ERG からのタクロリムスの放出を促進することが示された。乳糖は水溶性であるため、外部の水を製剤内部へ導水する役割を果たすことが報告されている。この乳糖が溶解することで形成された水路を介して薬物が放出すると考えられることから、同じ EC 配合比の ERG 処方間で比較した場合、乳糖の処方量が多い方が多くの水路が形成され、速い放出を示したものと考えられた。

過飽和放出特性については、HPMC 非含有 ERG においても、放出試験初期にはタクロリムス結晶の溶解度を大きく上回る過飽和溶解が認められ、これは ERG 調製過程で薬物の全てあるいは一部が非晶質化し溶解度改善に繋がっていることを示唆するものであった。しかしながら、一方で、過飽和溶解度には試験開始 4 時間程度で頭打ちが認められ、その後、時間の経過と共に急激に減少した。HPMC の様な水溶性高分子が処方中に存在しない場合は、過飽和維持能が限定的であり、LaMer ら⁵ が報告している過飽和溶解濃度臨界点への到達とそれに伴う薬物の結晶核形成と結晶化が急速に進んだものと推測された。この結果は、サルの経口吸収性試験においても HPMC 非含有 ERG の吸収改善効果が限定的であったことから、経口投与後の消化管管腔中においても同様の現象が起こっているものと考えられた。対照的に HPMC 含有 ERG では、過飽和溶解度の維持と十分な経口吸収性が認められた。このことから、ERG 処方には EC と乳糖による放出速度の制御と共に、過飽和を維持することによる吸収性改善のために HPMC を配合することが必要と考えられた。

ERG からのタクロリムスの放出プロファイルは、Higuchi 式によって良好に説明できた。このことから、ERG からのタクロリムス放出は ERG 内のタクロリムスの拡散により制御されているものと推定された。顕微鏡による観察から、放出試験終了後も ERG の粒状構造が確認できたことは、EC による強固なマトリクス構造の形成とその維持を裏付けるものと考えられた。EC がマトリクスを形成するための処方中濃度下限値は 30%程度との報告があるが、今回調製した ERG はその閾値よりも低い処方中濃度 (5-15%) で強固なマトリクスを形成した。これは ERG 調製過程で EC を固体としてではなく一度エタノールに溶解させることにより、EC が効率的に処方全体に分布したためと考えられた。

ヒト試験において、EGR19-h および ERG17-h は、速溶性製剤と比較して MRT を有意に延長したことから、ヒト in vivo 環境においても製剤からの持続的な薬物放出が起これ、それに引き続いた吸収が起これしているものと考えられた。また AUC についても速溶性製剤と同等であったことから、吸収改善も達成できていると考えられた。

【結論】

EC、乳糖、HPMC を処方成分とする、拡散型の放出プロファイルを示すタクロリムス徐放性固体分散体顆粒の調製に成功した。処方成分の配合比率を調整することで、製剤からのタクロリムスの放出速度は制御可能であり、ヒト経口投与時には速溶性製剤と同等の AUC を示し、かつ C_{max} 値は速溶性製剤投与時の 2 分の 1 以下にまで低減することを可能とした。

【関連文献】

1. O'Carroll RE, McGregor LM, Swanson V, Masterton G, Hayes PC 2006. Adherence to medication after liver transplantation in Scotland: a pilot study. *Liver Transpl* 12(12):1862-1868
2. Claxton AJ, Cramer J, Pierce C 2001. A systematic review of the associations between dose regimens and medication compliance. *Clin Ther* 23(8):1296-1310.
3. Floren LC, Bekersky I, Benet LZ, Mekki Q, Dressler D, Lee JW, Roberts JP, Hebert MF 1997. Tacrolimus oral bioavailability doubles with coadministration of ketoconazole. *Clin Pharmacol Ther* 62(1):41-49.
4. Shiraga T MH, Nagase K, Iwasaki K, Noda K, Yamazaki H, Shimada T, Funae Y 1994. Metabolism of FK506, a potent immunosuppressive agent, by cytochrome P450 3A enzymes in rat, dog and human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 47(4):727-735.
5. LaMer VK, Dinegar RH 1950. Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols. *J Am Chem Soc* 72:4847-4854.