

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32403

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16423

研究課題名（和文）切迫流・早産治療薬リトドリンの新生児低血糖症を回避するための新たな投与設計の開発

研究課題名（英文）Development of a new dose design to avoid neonatal hypoglycemia with ritodrine, a treatment for threatened premature delivery

研究代表者

北岡 諭（Kitaoka, Satoshi）

城西大学・薬学部・助教

研究者番号：50824778

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、切迫流・早産の治療薬（±）- リトドリンを妊娠中期のマウスに尾静脈内投与した際の、母体内薬物動態及び母体から胎児への移行性を解析した。その結果、鏡像異性体間で投与直後より母体内血中濃度に差の生じることや、AUCinf、Vd にも有意差があること等、薬物動態学的特性に違いのあることを明らかにした。一方で、胎児内リトドリン量の経時変化を解析したところ、母体血中とは異なるパターンを示すことが明らかとなった。これらの知見は、より低用量で治療可能な製剤、胎児の有害事象発現リスクを低下させる製剤、あるいはその両方を実現する新規リトドリン製剤の開発の一助になるものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リトドリンは切迫流・早産の第一選択薬であり、長年にわたって臨床現場で使用されてきた。しかしながら、近年の研究は、妊娠中のリトドリンの使用が新生児に有害事象発現のリスクに関連することを示唆した。このような中、本研究はリトドリンの母体内及び胎児内における薬物動態学的特性において、鏡像異性体間で差のあることを明らかにした。すでにリトドリンの平滑筋弛緩作用には鏡像異性体間で差のあることが報告されていることから、本研究結果と統合的に評価することで、より低用量で治療可能であり、胎児への影響の少ない新たなリトドリン製剤の開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the intrapartum pharmacokinetics and maternal-to-fetal transfer of (±) - ritodrine, a drug for the treatment of impending miscarriage and preterm delivery, when administered intravenously by tail vein to mice in mid-pregnancy. The results showed that there were differences in pharmacokinetic properties, such as differences in maternal blood concentrations immediately after administration between enantiomers and significant differences in AUCinf and Vd . Meanwhile, analysis of changes in fetal ritodrine levels over time revealed a pattern that differs from that in maternal blood. These findings are expected to assist in the development of new ritodrine formulations that are lower in dose, reduce the risk of fetal adverse events, or both.

研究分野：薬物動態学

キーワード：リトドリン 薬物動態 胎児移行性 鏡像異性体 切迫流・早産

1. 研究開始当初の背景

近年、我が国では晩婚化に伴い、高齢出産の割合が増加している。一般に、高齢出産では、切迫流・早産発症リスクの高まることが明らかになっている。そのため、妊娠 16 週以降の妊婦に切迫流・早産の徴候が確認されると、切迫流・早産治療が開始される。我が国における切迫流・早産治療では、 β_2 受容体作動薬、抗コリン薬あるいは Ca 拮抗薬が用いられるが、中でもリトドリン (β_2 受容体作動薬) は、長年にわたって使用されてきたことによる臨床例の多さから、現在でも、我が国において切迫流・早産に対し最も汎用されている医薬品である。

リトドリンを妊婦に使用した際の副作用として、血糖値の急激な上昇があげられる。特に、妊娠糖尿病患者においては、血糖値の上昇によって糖尿病性ケトアシドーシスに至る場合がある。糖尿病性ケトアシドーシスは、悪化すると糖尿病性昏睡に進展する恐れがあり、適切な処置が施されない場合、母体の生命を脅かすことがある。また、母体の糖尿病性ケトアシドーシスでは生命維持機能の多くを母体に依存している胎児の死亡率も非常に高い。したがって、妊婦にリトドリンを使用する際は、慎重な血糖値のコントロールが求められる。一方、妊娠中にリトドリンを使用していた妊婦から生まれた新生児では、低血糖 (新生児低血糖症) が頻繁に見られることが知られている。新生児低血糖症は、適切な処置が遅れると新生児が昏睡状態に陥り、神経学的後遺症を残すため、注意が必要な疾患である。これまで、リトドリンによる新生児低血糖症は、妊娠中に高血糖状態にさらされたことによる胎児中のインスリン分泌の亢進 (高インスリン血症) によって生じると考えられてきた。一方で、リトドリンは胎盤を容易に透過する薬物であることから、新生児低血糖症がリトドリンの胎児への直接的な作用によって惹起された可能性も考慮する必要があり、未だ、不明な点が多く残されている。

また、我が国で実施された後ろ向きコホート研究は、妊娠中にリトドリンを経静脈的に長期間使用すると、児が 5 歳になったときの喘息有症率が高いことを示唆した¹⁾。さらに同報告は、妊婦へのリトドリンの累積投与量や投与日数が多いほど児の喘息発症リスクが高まることも示唆した。しかし、児の喘息発症に対するリトドリンの影響に関する科学的知見は十分でないことから、その副作用発現を未然に防ぐ対策を講じることは困難である。リトドリンの治療上の有益性を鑑みると、妊婦のリトドリン使用の安全性に関する科学的エビデンスを構築することは急務となっている。

2. 研究の目的

種々の社会的背景により、我が国での第一子出産年齢は過去 40 年間で約 5 歳上昇した。高齢出産はさまざまな産科疾患のリスクファクターであり、切迫流・早産もその一例である。切迫流・早産は産科疾患の中で最も合併頻度の高い疾患であることから、母子ともに安全で有効な治療法が求められている。しかしながら、妊娠中にリトドリンを使用した場合、出生児が低血糖症を発症する危険性のあることや、成長に伴って喘息を発症するリスクの高いことなど、その安全性

が疑問視されている。一方で、我が国においてリトドリンは切迫流・早産の第一選択薬であり、その臨床での重要性から、妊婦への使用を控えるのではなく、安全な使用法の確立が求められている。以上の背景の下、本研究では、リトドリンの胎児への影響を調査し、安全なリトドリンの使用法あるいは新規リトドリン製剤の開発を目的とする。多くの薬物において、その薬物の毒性発現のリスクと薬物の移行量との間に相関性のあることから、本研究ではリトドリンの母体から胎児への移行性を薬物動態学的観点から解析する。加えて、臨床現場で使用されている現行のリトドリン製剤では+体と-体の等量混合物であるラセミ体のリトドリンが用いられており、+体と-体間で平滑筋の弛緩作用に大きな差のあることが知られていることから、本研究ではリトドリンの+体と-体を分けて解析する。

3. 研究の方法

動物実験

本研究における動物実験は、城西大学実験動物規定に沿って計画し、全学実験動物管理委員会の承認を得て実施した（承認番号：JU 22100）

切迫流・早産の治療は薬物摂取による胎児奇形のリスクを考慮し、妊娠中期以降に行われる。そこで、本研究では、ヒトの妊娠中期に相当する妊娠 14.5 日の ICR マウスを妊娠モデル動物として使用した。投与液はリトドリン塩酸塩（ラセミ体）を生理食塩水に溶解し、調製した。投与量は 10 mg/kg とし、尾静脈内に投与した。投与後、各時間経過毎にイソフルラン麻酔下で開腹し、中心静脈より採血した。採取した血液を遠心分離し、血漿を調製した。次に、子宮周囲の血管を焼灼止血し、子宮より羊水を採取した。子宮膜、ヨークサックを切開し、胎児を摘出した。その際、臍帯を焼灼止血した。摘出した胎児の一部を顕微鏡下で解剖し、脳、肝臓を摘出した。次に、母体を開胸し、左心室から右心房にかけて PBS を灌流し、脱血した。その後、脳、肝臓を摘出した。摘出したサンプルは、-80 で保存した。

リトドリンの定量分析

血液、羊水に内標準物質であるイソスクプリンを含む 2% ギ酸水溶液を加え、タンパク質を変性させた。また、各臓器はイソスクプリン含有 2% ギ酸水溶液を加え、ホモジナイズした。これら溶液を逆相とカチオン交換をカラムケミストリーとする固相抽出カラムを用いて前処理した。これらサンプル中リトドリンの定量は LC-MS/MS を用いて行った。その際、リトドリンのキラル分離は糖類似構造を不斉認識部位としたキラルカラムの使用を試みた。なお、検出されたリトドリン由来の 2 つのピークについて、+体と-体の判別は解析中であることから本報告書においては先に検出されたピークを RTD1、後に検出されたピークを RTD2 として示す。

薬物動態解析

薬物動態解析は、薬物動態解析プログラム Numeric Analysis Program for Pharmacokinetics を用いて行った²⁾。RTD1、RTD2 共に消失過程が二相性であったことから、各定量データセットに対

し 2-コンパートメントモデルに従って近似曲線を作成し、薬物動態パラメータを算出した。

4. 研究成果

LC-MS/MS によるリトドリンのキラル分離・定量法の検討

数種類の異なる不斉認識部位を有したカラムをスクリーニングし、糖類似構造を不斉認識部位としたキラルカラムによってリトドリンのキラル分離が可能となった。また、RTD1 と RTD2 の MS/MS における検出感度に差はなかった。加えて、固相抽出における RTD1 と RTD2 の回収率においても差はなかった。

母体におけるリトドリンのキラル薬物動態解析

母体の血中 RTD1 及び RTD2 濃度を解析した結果、RTD1 の AUC_{0-12} 、 AUC_{inf} は、RTD2 と比較して有意に高い値であった。また、RTD1 の V_d は RTD2 と比較して有意に低い値であった。すなわち、RTD2 は RTD1 と比較して静脈内に投与されると速やかに組織中に移行し、低い血中濃度を示すものと示唆された。そこで、母体の臓器の一例として脳と肝臓中リトドリン量を比較したが、どちらの臓器においても各薬物動態パラメータに有意差はなかった。したがって、脳、肝臓以外の組織への移行性の差が、RTD1 と RTD2 の血中における AUC_{0-12} 、 AUC_{inf} に差を生じさせた一因として考えられる。

胎児におけるリトドリンのキラル薬物動態解析

胎児内 RTD1 及び RTD2 量を解析した結果、RTD1 の AUC_{0-12} 、 AUC_{inf} は RTD2 と比較して有意差はなかったが、高い傾向を示した。RTD1 の C_{max} は RTD2 と比較して有意に高い値であった。また、胎児脳内 RTD1 及び RTD2 量を解析した結果、RTD1 の AUC_{0-12} 、 AUC_{inf} は RTD2 と比較して有意に高かった。加えて、羊水内 RTD1 及び RTD2 濃度を解析した結果、有意な差は認められなかったが、新たな知見として母体へのリトドリン投与から 12 時間後と長時間にわたり、羊水より RTD1、RTD2 が検出されることが明らかとなった。これには、胎児から羊水に移行した RTD1、RTD2 を、胎児が羊水を飲むことで再び体内に取り入れるという循環が影響しているものと予想される。

まとめ

我が国においてリトドリンは、切迫流・早産の第一選択薬として汎用されてきた。しかしながら、妊娠中のリトドリンを使用した場合、出生児に新生児低血糖症発症のリスクのあることや成長後の喘息発症に関与している可能性のあることなど、その安全性への疑問が生じている。以上の背景から、本研究では、母体への有効性と胎児への安全性の双方に利点を有する新たなリトドリン製剤の開発を最終的な目標とし、リトドリンの薬物動態学的特性を母体と胎児の双方に焦点をあて解析した。

その結果、母体内では、RTD1 と RTD2 間で血中濃度推移の大きな差があることが明らかとな

った。すでに、リトドリンの+体と-体に大きく薬理効果に差のあることが *in vitro* 系の解析で明らかとされている。このリトドリンの+体と-体の薬理的差に加え、一般的に医薬品の効果と血中濃度には一定の相関関係のあることから、本研究で明らかとなった薬物動態学的な差も薬効発現に影響するものと考えられる。この点については、RTD1 と RTD2 の立体構造を明らかとし、さらに解析を進めていくことを予定している。

以上、本研究は、妊娠中期にラセミ体のリトドリンを静脈内投与した際の薬物動態学的特性の一端を母体内と胎児内の双方で明らかにすることができた。今後、本研究成果が基盤となり、より低量用で十分な薬効を示し、胎児への影響の少ない新規リトドリン製剤の開発につながることを期待する。

引用文献

- 1) K. Ogawa, S. Tanaka, Y. Limin, N. Arata, H. Sago, K. Yamamoto-Hanada, M. Narita, Y. Ohya, *Pediatric Allergy and Immunology*, 28(8), 746 – 753 (2017)
- 2) A. Hisaka, Y. Sugiyama, *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 26(5), 495-519 (1998)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------