

ラットのフェニレフリン誘発尿道内圧上昇に対するシロドシン (KMD-3213) の作用持続性

小林 護,* 立道 聡, 小林久美, 今村卓広,
丸山 格, 山崎芳伸, 柴田信男

Duration of Action of Silodosin (KMD-3213) against Phenylephrine-induced Increase in Intraurethral Pressure in Rats

Mamoru KOBAYASHI,* Satoshi TATEMACHI, Kumi KOBAYASHI, Takahiro IMAMURA,
Itaru MARUYAMA, Yoshinobu YAMAZAKI, and Nobuo SHIBATA
*Pharmacology Research Laboratory, R&D, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.,
4365-1 Kashiwabara, Hotaka, Azumino City 399-8304, Japan*

(Received September 29, 2005; Accepted November 14, 2005)

The duration of action of Silodosin (KMD-3213) against the phenylephrine-induced increase in intraurethral pressure in urethane-anesthetized rats was compared with that of tamsulosin hydrochloride. Silodosin, tamsulosin, or vehicle was orally administered to fasted male rats. Then, under urethane anesthesia, a cannula was inserted into the prostatic urethra. Phenylephrine, at a dose of 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, was infused (infusion rate: 36 ml/h; infusion time: 100 s/kg) *via* the femoral vein at 12 h, 18 h, or 24 h after administration of the study drug, and the intraurethral pressure in the prostate region was measured. Although the plasma silodosin concentration would have resolved within a few hours, silodosin significantly inhibited the phenylephrine-induced increase in intraurethral pressure (versus the vehicle-treated group) at 12 h, 18 h, and 24 h after its oral administration (at doses of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and above, 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and above, and 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively). On the other hand, tamsulosin hydrochloride showed no inhibitory action at 24 h after its oral administration at doses up to 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Thus, silodosin inhibits the phenylephrine-induced increase in intraurethral pressure for a longer time than tamsulosin hydrochloride.

Key words—urethral pressure; phenylephrine; silodosin (KMD-3213); tamsulosin hydrochloride; duration of action

緒 言

前立腺肥大症は罹患率の高い疾患の1つとして認知されているものの、その進展が緩慢であるがゆえに病状認識に乏しく、単なる老齢化として扱われるとともに生活の質 (QOL) を低下させている。¹⁾ 本疾患に対する薬物療法の重視度は96.7%と非常に高いにも関わらず、本症罹患患者の満足度において、既存の治療薬の評価にはかならずしも満足していないことが報告されている。²⁾ 確かな効力を有する、安全性の高い、かつ作用持続性のある薬剤が待望されている。

一般的に前立腺肥大症に伴う排尿症状には、その肥大に伴う尿道の機械的閉塞と前立腺及び尿道平滑筋の過剰収縮に伴う機能的閉塞が関与する。この機

能的閉塞に α_1 -アドレナリン受容体 (AR) の刺激が関与することが考えられている。シロドシン (開発コード名: KMD-3213) は α_{1A} -ARに高い選択性及び親和性を有する化合物であり,^{3,4)} 他の α_1 -ARサブタイプ刺激に伴う循環器系への有害作用を伴わない、より高い有効性が期待されている。また本疾患症状が昼夜を問わず出現することから、本疾患治療剤は昼間活動期の支障及び夜間頻尿による睡眠障害といった患者 QOL 低下を回避すべく、1日1–2回の服薬で効力を示すような作用持続性に優れている必要がある。

本試験では、シロドシンの高い有効性並びにその効力持続性について、機能的薬理試験及び薬物動態学的試験を基に検証し、本疾患治療剤としての妥当性を示した。また、これら作用持続性を、 α_{1A}/α_{1D} -AR 刺激薬である塩酸タムスロシンのそれと比較した。

キッセイ薬品工業株式会社開発研究部薬理研究所

*e-mail: mamoru_kobayashi@pharm.kissei.co.jp

実験材料及び方法

1. 実験動物 Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラット (日本エスエルシー, 浜松), 体重 264—357 g を恒温 (20—26°C), 恒湿 (35—65%) 及び 12 時間の照明サイクルの環境下で飼育した。ラットは 16 時間絶食したのち, 25%ウレタン (1.5 g/kg) 皮下投与により麻酔し, 実験に供した。

なお本実験は, キッセイ薬品工業(株)動物実験倫理委員会の許可を得て, 文部科学省策定の動物実験ガイドライン(141 巻, 1987 年)に準拠して実施した。

2. 使用薬物 実験に使用した薬物は, シロドシン((-)-1-(3-Hydroxypropyl)-5-[(2*R*)-2-({2-[2-(2,2,2-trifluoroethoxy) phenoxy] ethyl} amino) propyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-7-carboxamide) 及び塩酸タムスロシン((-)-5-[(2*R*)-2-({2-(ethyloxy) phenyl} oxy) ethyl] amino) propyl]-2-(methyloxy)-1-benzene-sulfonamidehydrochloride) (以上, キッセイ薬品工業株式会社, 松本), *l*-塩酸フェニレフリン, メチルセルロース (以上, 和光純薬株式会社, 東京), 生理食塩液 (大塚製薬工場株式会社, 徳島) 及びウレタン (東京化成工業株式会社, 東京) であった。シロドシン及び塩酸タムスロシンは各々秤量後, 3 mg/5 ml の濃度となるように超音波洗浄器 (US-1, 井内) 及び試験管ミキサー (G-560, Scientific Industries 社) を用いて 0.5% メチルセルロース (MC) 溶液に懸濁した。以下, 0.5% MC 溶液により, 所定の濃度に希釈した。また, *l*-塩酸フェニレフリンは生理食塩液に溶解した。

3. 実験方法

3-1. 前立腺部尿道内圧測定 すべての実験操作は Akiyama ら⁵⁾の方法に準じて実施した。すなわち, 絶食したラットにシロドシン若しくは塩酸タムスロシン (ともに 30, 100, 300 又は 1000 µg/kg, 各群 8 例) を経口投与し, 投与 15—20 分後より給餌を開始した。*l*-塩酸フェニレフリン投与予定時間の約 3—5 時間前にウレタン麻酔し, 背位に固定した。気管にカニューレ (ポリエチレンチューブ No. 8, ヒビキ) を挿入して気道を確保した。さらに腹部を正中切開し, 恥骨結合部を尿道に沿って切開し, 下部尿路組織を露出した。尿道を前立腺より下方で結紮後, 生理食塩液を満たしたカニューレ (ポリエチレンチューブ No. 5, ヒビキ) の先端部が前

立腺部尿道に位置するように膀胱頂部より挿入し, 膀胱頸部にて結紮固定した。前立腺部尿道内圧は, カニューレの他端に接続した圧トランスデューサー (DT-XX, オメガ株式会社) を介してひずみ圧力アンプ計 (1829, 日本 GE マルケットメディカルシステム株式会社) に導出し, ペン書き記録器 (8K23, 日本 GE マルケットメディカルシステム株式会社) 上に記録した。なお尿道内には, 0.1—0.2 ml の生理食塩液を注入した。シロドシン及び塩酸タムスロシン投与 12, 18 又は 24 時間後, *l*-塩酸フェニレフリン (30 µg/kg) を右大腿部静脈に挿入したカニューレ (PE-50, ベクトンディッキンソン株式会社) より, シリンジポンプ (kdScientific 精密シリンジポンプ Model 100, 室町機械株式会社) を用いて投与し (注入速度: 36 ml/h, 注入時間: 100 s/kg), 前立腺部尿道内圧の上昇を惹起した。

なお, 対照群には被験薬の代わりに, 0.5% MC を 5 ml/kg 経口投与した。

3-2. シロドシンの血中濃度推移 16 時間絶食したラットに, シロドシンを経口投与 (300, 1000 又は 3000 µg/kg) 若しくは静脈内投与 (300 又は 1000 µg/kg) し, 投与 5, 10, 15, 30 分, 1, 2, 4, 6 及び 8 時間後に頸静脈より経時的にヘパリン採血 (約 300 µl) した (各群 4 例)。血漿分離後, LC/MS/MS 法 (HPLC 装置 LC-10A VP: 島津製作所, 質量分析装置 API3000 MS/MS: パーキンエルマーサイエックス) にてシロドシン血漿中濃度測定した。

以下に示した各パラメータを算出した。血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-∞}) は, 血漿中濃度の AUC_{0-∞} を台形法により求めた。最高血漿中濃度 (C_{max}), C_{max} 到達時間 (T_{max}) 及び血漿中濃度半減期 (t_{1/2}) を算出したのちに, バイオアベイラビリティ (AUC_{0-∞}/静脈内投与時 AUC_{0-∞}: B.A.) を算出した。なお, 参考までに投与量を AUC_{0-∞} で除して, 全身クリアランス (CL) も算出した。

4. 統計学的検討 得られた結果は, Microsoft®Excel を用いて算出し, 平均値±標準誤差 (ただし, 薬物動態試験は標準偏差) で表した。

統計学的有意差の検定には, SAS system version 8.2 (SAS Institute 社) 及びその連動プログラムの前臨床パッケージ version 5.0 を使用した。対照群とシロドシン投与群又は塩酸タムスロシン投与群間について, Bartlett 検定 (有意水準 5%) により等

分散性を検定し、等分散であった場合はパラメトリック Williams 検定を、不等分散であった場合はノンパラメトリック Williams 検定を行った。両側 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結 果

1. 尿道内圧 (IUP) シロドシン (30, 100, 300 又は 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) は、フェニレフリン誘発 IUP 上昇を経口投与 12 時間後において、用量依存的かつ有意に抑制した (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与群, $p < 0.05$, Fig. 1 (A)). この時の ID_{50} 値は 57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。さらにシロドシンは、経口投与 18 若しくは 24 時間後においても、1000 若しくは 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与群において、対照群のそれと比較して有意なフェニレフリン誘発 IUP 上昇の抑制作用を示した ($p < 0.05$, Figs. 1(B), 1(C)).

塩酸タムスロシン (30, 100, 300 又は 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) も同様に、フェニレフリン誘発 IUP 上昇を経口投与 12 時間後において、用量依存的かつ有意に抑制した (300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与群, $p < 0.05$, Fig. 2 (A)). この時の ID_{50} 値は 232 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。経口投与 18 時間後の塩酸タムスロシンは、3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群においてのみ、対照群のそれと比較して有意なフェニレフリン誘発 IUP 上昇の抑制作用を示した ($p < 0.05$, Fig. 2(B)). また経口投与 24 時間後において、すべての投与群の IUP 抑制作用が消失していた (Fig. 2(C)).

2. シロドシンの血中濃度推移 シロドシン (300, 1000 又は 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を経口投与し、投与 8 時間後までの血中未変化体濃度を測定した結果を Fig. 3 に示した。また、結果を Table 1 にまとめた。 $t_{1/2}$ は 1000 及び 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与时でそれぞれ 1.5 及び 2.0 時間であり、 T_{max} は 0.1—0.15 時間と投与群間に大きな差は認められなかった。 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は経口投与量に伴って増加したが、 CL/F 値 (F : B.A.) を縦軸にその用量を横軸にしてその線形性を検討したところ、300 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与間のみ線形性が認められた (図には示さず)。静脈内投与時の $\text{AUC}_{0-\infty}$ は 300 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ において、それぞれ 77.5 及び 310.1 $\text{h} \cdot \text{ng}/\text{ml}$ であった。この結果より算出した B.A. 値は 300 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群において、それぞれ 9.2 及び 9.4% であった。

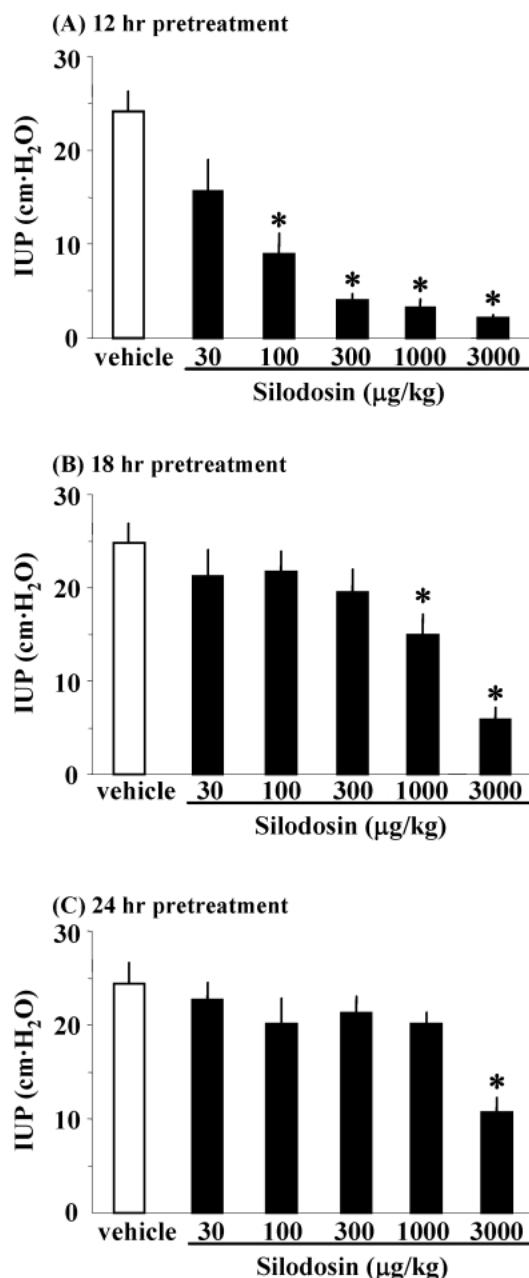


Fig. 1. Effects on the Increase Intraurethral Pressure Response to *l*-Phenylephrine Hydrochloride 12 (A), 18 (B), 24 (C) Hours after Oral Doses of Silodosin

Preparation for the measurement of intraurethral pressure was made approximately two hours before evoking the intraurethral pressure response to *l*-phenylephrine hydrochloride. Data were analyzed by Williams test. Significantly different from the control group at * $p < 0.05$.

考 察

麻酔ラットのフェニレフリン誘発 IUP 上昇作用に対する、シロドシン経口投与の抑制作用及びその作用持続性を検討した。

前項で Tatemichi ら⁶⁾の報告によると、シロドシン経口投与は 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で投与 4 時間後

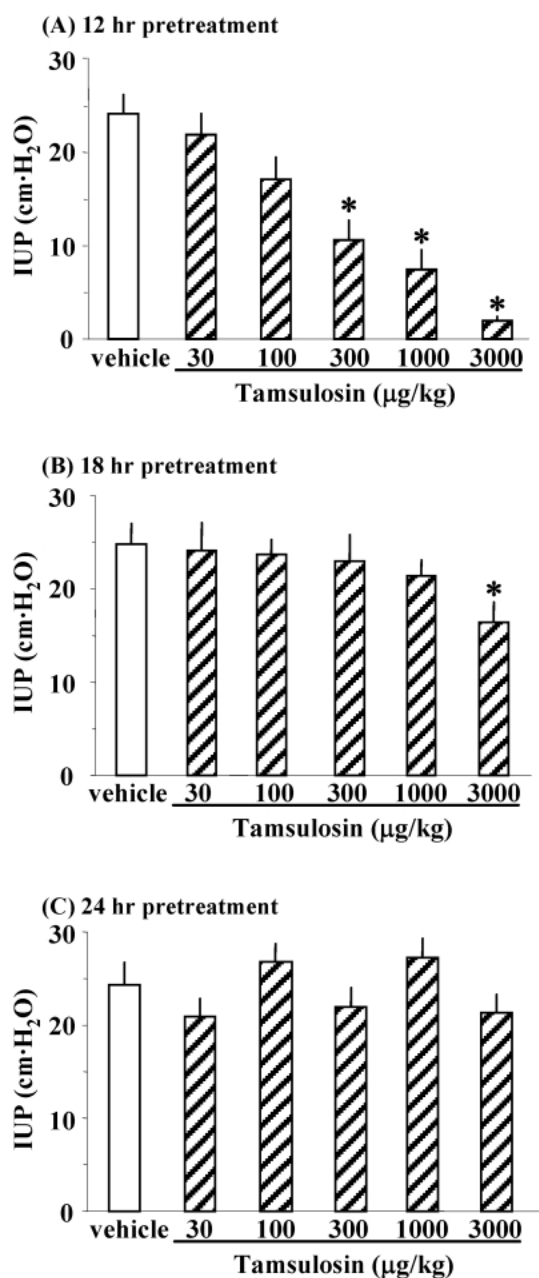


Fig. 2. Effects on the Increase Intraurethral Pressure Response to *l*-Phenylephrine Hydrochloride 12 (A), 18 (B), 24 (C) Hours after Oral Doses of Tamsulosin Hydrochloride

Preparation for the measurement of intraurethral pressure was made approximately two hours before evoking the intraurethral pressure response to *l*-phenylephrine hydrochloride. Data were analyzed by Williams test. Significantly different from the control group at * $p < 0.05$.

まで、フェニレフリン誘発 IUP 上昇をほぼ完全に抑制した。この時の ID₅₀ 値（経口投与 4 時間後）は 10.6 µg/kg であった。本試験において、シロドシンは経口投与 12 時間後においても著明なフェニレフリン誘発 IUP 上昇の抑制作用を示し、ID₅₀ 値は 57 µg/kg であった。この効力値は経口投与 4 時間後の ID₅₀ 値に比較すると約 1/5 であったが、ヒト体重 50—60 kg に換算した場合、2.85—3.42 mg となり、臨床推奨用量（2 若しくは 4 mg/回）と近似していた。このことから、臨床推奨用量は投与 12 時間後においても薬効を示す妥当な用量であると考えられる。

一方、シロドシン血漿中濃度推移を検討したところ、シロドシンの血中半減期は 1.5—2.0 時間であり、B.A. は約 9% と算出された。この B.A. はヒトのそれ⁷⁾と比較して、およそ 1/3 程度であった。ラットの B.A. がヒトのそれと比較して低値を示した原因には、本薬のラット胆汁排泄試験⁷⁾より吸収率が約 60% 以上であることが報告されていることから、初回通過効果があると考えられる。また本試験で得られた血中濃度推移において、高用量投与群

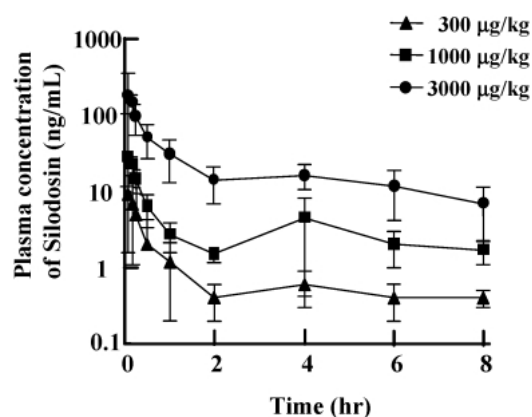


Fig. 3. Plasma Concentration of Silodosin after Single Oral Administration to Rats

Each point and vertical bar represent the mean ± S.E. $n = 4$.

Table 1. Pharmacokinetic Parameters of Silodosin after Single Oral Administration to Rats

Dose (µg/kg, <i>p.o.</i>)	AUC _{0-∞} (hr · ng/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (hr)	t _{1/2} (hr)	CL/F (ml/min/kg)	BA (%)
300	6.9 ± 4.0	9.3 ± 7.1	0.10 ± 0.04	—	885.3 ± 399.3	9.4 ± 5.3
1000	27.9 ± 5.0	28.7 ± 3.4	0.10 ± 0.04	1.5 ^{*1}	611.4 ± 101.5	9.2 ± 1.7
3000	170.0 ± 55.9	202.0 ± 153.4	0.15 ± 0.04	2.0 ± 0.4 ^{*2}	321.2 ± 110.6	—

Data represent the mean ± S.E. ($n = 4$). Mean AUC_{0-∞} values of intravenous administration at doses of 300 or 1000 µg/kg were 77.5 and 310.1 hr · ng/ml, respectively ($n = 4$). ^{*1}: $n = 2$, ^{*2}: $n = 3$, —: Not calculated, F: BA.

(3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, *p.o.*) で線形性が認められないことより、本薬代謝系の一部が飽和状態になっていると思われる。さらに投与 12 時間後に IUP 上昇抑制作用を示した ID_{50} 値の約 5 倍量 (300 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を投与した場合の血中濃度は、0.4 ng/ml 以下と推定され、ラット薬効発現濃度の推定値 (およそ 3 ng/ml)⁸⁾ を下回る。しかしながら、Okura らはシロドシン (0.2 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) 経口投与 12 時間後の前立腺 α_1 -AR 占有率が 62% であることを報告した。⁸⁾ シロドシンは推定有効血中濃度を下回ったのちも組織に移行し、半数以上の α_1 -AR を占有することで、その効力を持続させるものと推察される。この受容体占有率が持続する理由として、シロドシンの保有するトリエトキシフルオロ基により本薬の脂溶性が高まり、 α_{1A} 受容体からの解離が遅延したためと考えられるが、この点に関しては更なる検討が必要である。これらのことから、本薬の臨床推奨用法である 1 日 2 回投与は妥当であり、投与期間中に十分な IUP 上昇の抑制効果を発揮することが検証された。

さらに本試験では、塩酸タムスロシンの作用持続性についても同様の方法により検討した。塩酸タムスロシンは、経口投与 12 時間後においてフェニレフリン誘発 IUP 上昇の抑制作用を示したものの、その ID_{50} 値は、投与 4 時間後のそれ⁸⁾ と比較して、約 1/12 に低下していた。ラットにおける塩酸タムスロシンの血中半減期は、0.32 時間と極めて早く、その血中動態推移には種差があると報告されている。⁹⁾ このことが、本試験における投与 12 時間後の塩酸タムスロシンによる抑制作用を、シロドシンのそれと比較して、より減弱した原因と考えられる。臨床試験における塩酸タムスロシンの血中半減期は 3.8—5.5 時間であり、¹⁰⁾ さらに徐放製剤化することにより、同薬の半減期は 9.0—11.6 時間に延長した。¹¹⁾ またシロドシンと同様に組織移行性が認められることから、¹²⁾ 1 日 1 回投与とされている。

前立腺肥大症に伴う尿排出困難には、下部尿路閉塞症状とともに夜間頻尿が特に問題となっている。¹³⁾ この夜間頻尿は膀胱用量低下、夜間多尿及び睡眠障害に起因し、患者の QOL も悪い場合が多い。したがって就寝前に治療薬を服薬し、確実な血中濃度維持と効力発現が必要であると考えられる。夜間頻尿の原因として、抗利尿ホルモンの日内変動消失や尿濃縮力の低下などの内分泌異常や腎機能障

害以外にも、下部尿路閉塞症状などによる排尿筋無抑制収縮がその原因の 1 つとされている。この無抑制収縮に、 α -AR 刺激に対する感受性の亢進が関与するとの報告もある。¹⁴⁾ さらに α_1 -AR 遮断薬が前立腺肥大に伴う排出障害のみならず、過活動膀胱^{15,16)} や夜間頻尿¹⁷⁾ にある程度の改善効果があると報告されている。すなわちシロドシンの夕方服用は下部尿路閉塞の解除により、過活動膀胱や夜間頻尿にも効果を示す可能性があることを意味している。これら過活動膀胱や夜間頻尿に対する本薬の作用については、更なる検討が必要であると考えられる。

本試験結果より、シロドシンは推定有効血中濃度を下回っているにも関わらず、機能的検証試験により 12 時間以上の作用持続性が確認された。シロドシンは、前立腺肥大に伴う排尿困難症の治療剤として、有効かつ有用な薬剤であると考えられる。

REFERENCES

- 1) Katsuoka Y., Yamamoto K., translation, "Benign Prostatic Hyperplasia" 2nd ed., eds. by Kirby R. S., Christmas T. J., Igaku Tosyo Shuppan Inc., 2002, pp. 1-6.
- 2) Human Science Foundation, "Transcript of National Basic Technology", Soran Inc., 2004, pp. 4-45.
- 3) Shibata K., Foglar R., Horie K., Obika K., Sakamoto A., Ogawa S., Tsujimoto G., *Mol. Pharmacol.*, **48**, 250-258 (1995).
- 4) Yamagishi R., Akiyama K., Nakamura S., Hora M., Masuda N., Matsuzawa A., Murata S., Ujiiie A., Kurashina Y., Iizuka K., Kitazawa M., *Eur. J. Pharmacol.*, **315**, 73-79 (1996).
- 5) Akiyama K., Hora M., Tatemichi S., Masuda N., Nakamura S., Yamagishi R., Kitazawa M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **291**, 81-91 (1999).
- 6) Tatemichi S., Kobayashi K., Maruyama I., Kobayashi M., Yamazaki Y., Shibata N., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 217-223 (2006).
- 7) Matsubara Y., Kanazawa T., Kojima Y., Abe Y., Kobayashi K., Kanbe H., Harada H., Momose Y., Terakado S., Adachi Y., Midgley I., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 237-245 (2006).
- 8) Okura T., Yamada S., Abe Y., Kimura R., *Pharm. Pharmacol.*, **54**, 975-982 (2001).

- 9) Matsushima H., Kamimura H., Soeishi Y., Watanabe T., Higuchi S., Tsunoo M., *Drug Metab. Dispos.*, **26**, 240–245 (1997).
- 10) Tsunoo M., Shishito A., Soeishi Y., Kobori M., Shimoyama M., *Rinsyo Iyaku*, **6**, 2503–2528 (1990).
- 11) Tsunoo M., Shishito A., Soeishi Y., Kobori M., Shimoyama M., *Rinsyo Iyaku*, **6**, 2529–2551 (1990).
- 12) Ohkura T., Yamada S., Deguchi Y., Kimura R., Matsushima H., Higuchi S., Inagaki O., Honda K., Takenaka T., *Life Sci.*, **63**, 2147–2155 (1998).
- 13) Takeda M., “Yasashii Zenritsusen Sikkan no Manejimento”, Iyaku Journal Inc., 2001, pp. 9–16.
- 14) Koiso K., “Standard Textbook, Urology”, 6th ed. 2002, pp. 28–29.
- 15) Maggi C. A., Manzini S., Giuliani S., Meli A., *Gen. Pharmacol.*, **20**, 345–349 (1989).
- 16) Tatemichi S., Akiyama K., Yamazaki Y., Kojima M., *Neurourol. Urodyn.*, **20**, 537–539 (2001).
- 17) Takahashi S., Takeuchi T., Tomita K., Ota N., Homma Y., Kitamura T., Kato A., Tominaga T., Hirasawa K., Fukuya K., Sato T., Kinoshita T., Tajima A., Kurooka Y., Kimura A., Asakage H., Kameyama S., Okui N., Tomoishi J., *J. Neurogenic Bladder Soc.*, **14**, 83 (2003).