

平成 30 年 5 月 14 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18928

研究課題名(和文)肺線維症治療薬の全身性副作用リスク低減を可能とする吸入療法の戦略的開発

研究課題名(英文)Development of inhalable formulations of anti-fibrotic agents with reduced risk of side effects

研究代表者

世戸 孝樹 (Seto, Yoshiki)

静岡県立大学・薬学部・講師

研究者番号：30744974

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は特発性肺線維症治療薬について有効かつ安全性の高い治療法の戦略的開発を目指すものである。すなわち特発性肺線維症治療薬を直接的に肺に投与可能な吸入粉末製剤を作製し、その物理化学的特性ならびに吸入粉末製剤を軌道内に投与した際の有効性および安全性について評価を実施した。作製した吸入粉末製剤は吸入に適した物理化学的性質を有し、実験的肺炎モデル動物において極めて低用量で良好な炎症反応抑制効果を示すとともに、有効性を示した投与量において副作用を発現する用量の薬剤投与群と比較したところ、吸入粉末剤は全身への曝露量を低減でき、各種副作用リスクについても非常に低いことを示唆した。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop respirable powder formulations of anti-fibrotic agents with minimal risk of side effects. Respirable powder formulations of anti-fibrotic agents, directly administered to the lungs, were prepared, and its physicochemical properties, efficacy, and safety were evaluated. Prepared respirable powder formulations had favorable inhalation properties. Insufflated formulations at low dose of drug indicated potent anti-inflammatory effects in experimental lung inflammatory model rats. The formulations at the pharmacologically effective dose after intratracheal administration also indicated lower systemic exposure, possibly leading to reducing the risk of side effects of anti-fibrotic agents. Inhalation therapy using respirable powder formulation of anti-fibrotic agents may be a efficacious approach for the treatment of pulmonary fibrosis with wide safety margins.

研究分野：薬剤科学

キーワード：抗線維化薬 粉末吸入製剤 薬剤性光線過敏症 安全性

1. 研究開始当初の背景

Pirfenidone (PFD) は炎症性・抗炎症性サイトカインおよび線維化形成に関与する増殖因子に対する産生調節作用、繊維芽細胞増殖抑制作用やコラーゲン抑制作用などの複合的な作用に基づく抗線維化作用を示すことから、世界で初めて特発性肺線維症治療への適応で承認・上市されている唯一の医薬品である。現在、PFD は臨床の現場で経口投与により用いられているが、全身性の副作用として薬剤性光線過敏症、消化管障害および肝機能低下などが報告されている。特に薬剤性光線過敏症は約 52% と非常に高頻度に発現することが知られており、厚生労働省からも本副作用回避・低減のため、直接的な日光曝露に対する防護策（日焼け止めや日傘等の使用）を講じるよう注意喚起がなされている。したがって、PFD 服用患者およびその家族が常に本副作用リスクを意識して治療を進めていくことは想像に難しくなく、服用コンプライアンスや quality of life (QOL) の低下を招くリスクを孕んでいる。そのため、薬剤性光線過敏症をはじめとする PFD の全身性副作用リスクを回避・低減できる治療法の開発が世界的に強く望まれている。

薬剤性光線過敏症は医薬品が体内で太陽光により光化学的に活性化され、皮膚において引き起こされる有害反応である。2014 年に日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) より光安全性評価に関する ICH S10 ガイドラインが施行され、薬剤性光線過敏症は臨床のみならず創薬の現場においても注目を集める副作用である。ICH S10 ガイドラインにおいて薬剤性光線過敏症を引き起こす重要なファクターとして薬剤の (1) 光化学的特性と (2) 体内動態（皮膚移行性）が明示されている。応募者はこれら 2 つのファクターを組み合わせることで生体での薬剤性光線過敏症リスクが評価できることを本ガイドライン施行に先んじて報告した。さらに複数の化合物を 1 匹の動物に投与するカセットドージング法を体内動態（皮膚移行性）評価に適用し、スループットが高く、臨床報告と関連性の高い光安全性評価スクリーニング系を提案してきた。

吸入製剤は (1) 肺局所での効果の増大、(2) 全身曝露量低減による全身性副作用回避および (3) 消化管における分解回避あるいは吸収性向上を期待した経肺デリバリーを目的としている。慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary diseases; COPD) や肺線維症といった肺疾患に関連した実験的病態モデル動物である (1) ovalbumin 気道内感作による喘息/COPD モデルラット (2) タバコ煙による COPD モデルラット および (3) 新規 bleomycin 吸入粉末製剤を用いた肺線維症モデルラットの肺疾患モデル動物作製技術を当研究室で確立した。各種病態モデルを用いることで吸入製剤化された薬物の効果の確認はもとより、病態モデル動物

作製を通じて各種病態メカニズムやバイオマーカーの探索および病態下での体内動態についても明らかにしている。

2. 研究の目的

本課題では肺線維症治療薬である PFD について、本薬物の適用部位である肺に直接送達することが可能な吸入製剤化技術を適用し、吸入製剤化した際の PFD の効果・体内動態について各種病態モデルを用いて精査を行うとともに、について、従来の PFD 経口投与時の副作用発現と比較することで PFD 吸入製剤の薬剤性光線過敏症およびその他の全身性副作用リスク回避・低減の可否について精査した。すなわち、応募者が考える新規 PFD 吸入製剤は肺線維症治療において有効性を維持し、安全性を向上させた新たな治療方法の提供につながるものと確信し、ここに提示した PFD の戦略的吸入療法開発研究を遂行した。

3. 研究の方法

これまでの研究成果を基に次の通り研究を計画した。本研究における到達目標をより迅速に達成するべく、(1) PFD の薬剤性光線過敏症発症メカニズムの精査、(2) PFD 吸入製剤の開発と物理化学的特性・吸入特性評価、(3) 実験的肺疾患モデル動物を用いた PFD 吸入製剤の薬効評価ならびに(4) PFD 吸入製剤使用時の光毒性リスクおよび消化管障害・肝障害リスクの精査という課題を以て鋭意検討し、研究を段階的に遂行した。

PFD 薬剤性光線過敏症の発症メカニズムについて、光毒性の種類（光刺激性、光遺伝毒性及び光感作性）ならびに全身曝露・皮膚曝露と皮膚光毒性発症の関連性について精査した。本検討により安全性評価の指標となるデータセットを得た。また、PFD 吸入製剤の処方についても並行して検討を実施し、物理化学的性質・吸入特性並びに製剤使用時のハンドリングを考慮し、肺線維症治療に適すると推測できる製剤処方を選定した。すでに作成している PFD 吸入粉末製剤に加え、微粒化などの付加価値のある吸入製剤について検討・作製した。PFD 吸入製剤について、病態モデル動物を用いて薬理的有効量および効果の程度の精査・比較を行った。すなわち、肺線維症および COPD の各種病態を反映させた肺疾患モデル動物を用いて、気管支肺胞洗浄液中の炎症性バイオマーカーを指標に各 PFD 吸入製剤の効果を網羅的に精査することで PFD 吸入製剤の投与量、また本検討に併せて病態下における PFD 吸入製剤使用時の体内動態についても評価を行い、全身曝露量に関するデータを得た。薬剤性光線過敏症に加え、消化管障害や肝障害リスク評価の指標を同様に検討した。並行して得た PFD 吸入製剤使用時の体内動態（全身曝露量）を指標に PFD 吸入製剤の全身性副作用リスクについて予測・評価し

た。さらに、PFD 吸入粉末製剤を用いた各種 *in vivo* 毒性実験を実施し、副作用発現リスクについて精査することで製剤処方・投与経路選択の適切性および PFD 吸入製剤の有用性を科学的に検証した。

4. 研究成果

1) PFD の薬剤性光線過敏症発症メカニズムの精査

In vitro 光安全性評価により、PFD の光毒性発現メカニズムを精査した PFD は強い UV 吸収特性を有しており、擬似太陽光照射下で強い ROS 産生能を示し、強い光反応性を有していることを確認した。また、PFD は擬似太陽光照射下で高い脂質過酸化能を示したが、DNA への傷害性は低かったため、主に光刺激性による光毒性反応を発現することを示唆した。*In vivo* 光毒性試験ならびに体内動態試験の結果からラット皮膚で光毒性を引き起こす PFD の皮膚曝露量の情報を得た。

2) PFD 吸入製剤の開発と物理化学的特性・吸入特性評価

全身曝露および副作用関連臓器への PFD 曝露を制御すべく、PFD の吸入製剤を作製した。本研究では PFD 吸入粉末製剤を選択し jet-mill 処理後 lactose carrier と混合することで調製した respirable powder formulation of PFD (PFD-RP) ならびに噴霧乾燥法にて調製した spray-dried PFD (SD/PFD) について物理化学的特性評価を実施した。どちらの製剤も吸入製剤に適した数 μm の粒子径を有し、cascade impactor あるいは next generation impactor を用いた検討の結果、良好な *in vitro* 吸入特性を有していた。

3) 実験的肺疾患モデル動物を用いた PFD 吸入製剤の薬効評価

調製した PFD-RP および SD/PFD の 2 種を用いて薬効評価を行った。どちらの吸入粉末製剤も 0.3 mg-PFD/rat と比較的低用量を気道内投与することで気管支肺胞洗浄液中の炎症性細胞数の増加および myeloperoxidase 活性の上昇を抑制し、肺局所で好中球性炎症に対する炎症反応抑制作用を示した。また、薬理的有効量の PFD 吸入粉末製剤気道内投与時の全身曝露量は非光毒性発現量の PFD 経口投与時と比し非常に低い値を示し、PFD-RP においては同容量の PFD-RP 気道内投与時にラット皮膚における PFD 濃度は全身曝露と同様に非光毒性発現量の PFD 経口投与時と比し低値を示した。

4) PFD 吸入製剤使用時の光毒性リスクおよび消化管障害・肝障害リスクの精査

In vivo 光毒性試験にて PFD-RP 気道内投与時には UV 照射後に皮膚における炎症

反応を認めなかった。これは PFD-RP の気道内投与による PFD の皮膚曝露の低減が大きく寄与していると考えられる。

消化管障害リスクについては、薬理学的有効量の PFD-RP を気道内投与後、胃および小腸への組織曝露量の低減を認め、PFD 経口投与時に認められた消化管の運動性の抑制は認められなかった。肝障害リスクについても薬理学的有効量の PFD-RP 気道内投与時には肝機能への影響は特に認められなかった。

上記結果から、PFD 吸入粉末剤を用いた治療法は現行の経口療法と比較し、有効かつ安全性の高い治療法になり得ると期待する。

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 7 件)

1) Mizuki Ogino, Keisuke Yakushiji, Hiroki Suzuki, Kenichi Shiokawa, Hiroshi Kikuchi, Yoshiki Seto, Hideyuki Sato, Satomi Onoue [Enhanced pharmacokinetic behavior and hepatoprotective function of ginger extract-loaded supersaturable self-emulsifying drug delivery systems] *Journal of Functional Foods*, **40**: 156–163 (2018)

2) Masashi Kato, Hiroto Ohtake, Hideyuki Sato, Yoshiki Seto, Satomi Onoue [Enzymatic reactive oxygen species assay to evaluate phototoxic risk of metabolites] *Toxicology Letters*, **278**: 59–65 (2017)

3) Yoshiki Kojo, Kanako Kobayashi, Saori Matsunaga, Hiroki Suzuki, Yoshiki Seto, Hideyuki Sato, Satomi Onoue [Avoidance of food effect on oral absorption profile of itraconazole by self-micellizing solid dispersion approach] *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **32**: 273–276 (2017)

4) Hideyuki Sato, Asako Aoki, Aiko Tabata, Kazunori Kadota, Yuichi Tozuka, Yoshiki Seto, Satomi Onoue [Development of sesamin-loaded solid dispersion with α -glycosylated stevia for improving physicochemical and nutraceutical properties] *Journal of Functional Foods*, **35**: 325–331 (2017)

5) Hideyuki Sato, Mizuki Ogino, Keisuke Yakushiji, Hiroki Suzuki, Ken-ichi Shiokawa, Hiroshi Kikuchi, Yoshiki Seto, Satomi Onoue [Ginger extract-loaded solid dispersion system with enhanced oral absorption and anti-hypothermic action] *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65**: 1365–1370 (2017)

6) Hiroki Suzuki, Tatsuru Moritani, Tadahiko

Morinaga, Yoshiki Seto, Hideyuki Sato, Satomi Onoue [Amorphous solid dispersion of cyclosporine A prepared with fine droplet drying process: Physicochemical and pharmacokinetic characterization] *International Journal of Pharmaceutics*, **519**: 213–219 (2017)

7) Yoshiki Seto, Gen Suzuki, Sharon Shui Yee Leung, Hak-Kim Chan, Satomi Onoue [Development of improved inhalable powder formulation of pirfenidone by spray-drying: in vitro characterization and pharmacokinetic profiling] *Pharmaceutical Research*, **33(6)**: 1447–1455 (2016)

〔学会発表〕(計 6 件)

1) 世戸孝樹, 鈴木 源, 佐藤秀行, 尾上誠良: 副作用リスク低減ならびに肺局所作用持続を指向した新規 pirfenidone 徐放性粉末吸入製剤の開発. 第 44 回 日本毒性学会学術年会(横浜)2017 年

2) 世戸孝樹, 鈴木 源, Sharon Leung, 佐藤秀行, Hak-Kim Chan, 尾上誠良: 吸入特性向上を指向した新規 pirfenidone 粉末吸入製剤の開発. 日本薬学会第 137 年会(仙台)2017 年

3) 世戸孝樹, 佐藤秀行, 尾上誠良: 安全性向上を指向した pirfenidone の DDS 研究. 第 2 回 医薬品安全性学会学術大会(岐阜)2016 年

4) 世戸孝樹, Hak-Kim Chan, 尾上誠良: 招待講演 体内動態制御により患者の QOL 改善に寄与する新規 pirfenidone 粉末吸入製剤の開発. 第 32 回 日本 DDS 学会学術集会(静岡)2016 年

5) Yoshiki Seto, Asako Aoki, Gen Suzuki, Masashi Kato, Satomi Onoue: Developing a new respirable powder formulation of pirfenidone for reducing toxicity risk. 30th JSSX Annual Meeting, Tokyo, 2015.

6) 世戸孝樹, 尾上誠良: 粉末吸入製剤技術による pirfenidone の副作用リスク低減. 第 18 回 間質性肺炎細胞分子病態研究会(東京)2015 年

〔図書〕
特になし

〔産業財産権〕
特になし.

〔その他〕
ホームページ等
<http://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/yakuzai/>

6 . 研究組織

世戸 孝樹 (SETO YOSHIKI)
静岡県立大学・薬学部・講師
研究者番号：30744974