

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：30108  
研究種目：基盤研究(B)（一般）  
研究期間：2017～2020  
課題番号：17H02178  
研究課題名（和文）ライフスタイルに発症起因する難治性肺疾患の征圧基盤：肺投与型DDSがその扉を開く  
  
研究課題名（英文）Conquest of intractable lung disease due to lifestyle by pulmonary drug delivery system  
  
研究代表者  
丁野 純男（CHONO, Sumio）  
  
北海道科学大学・薬学部・教授  
  
研究者番号：90347790  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,900,000円

研究成果の概要（和文）：ライフスタイルに発症起因する難治性肺疾患の征圧を目的とし、これら疾患の近未来治療を目指した肺投与型Drug Delivery System（DDS）を開発した。すなわち、肺がんや肺線維症に対して検査・治療の両側面からの征圧を指向した肺投与型脂質ナノ粒子製剤を創出し、その肺内挙動、有効性及安全性等を実証した。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、肺がんや肺線維症などライフスタイルに発症起因する難治性肺疾患を検査と治療の両側面からマルチに征圧する学術的・臨床的基盤を提案するものである。また、本研究の成果は、これらの疾患を早期発見・早期治療に導くものであり、医学的に極めて重要な知見をもたらしたことは勿論、臨床実用化に至った暁には、医療費高騰の抑制など社会的にも非常に大きな意義がある。

研究成果の概要（英文）：For conquest of intractable lung disease due to lifestyle, pulmonary drug delivery system (DDS) for the lesion detection and treatment of these diseases was developed. In brief, the lipid nano formulations for pulmonary administration were prepared for inspection and treatment of lung cancer and pulmonary fibrosis in the near future, and their intrapulmonary behaviors, efficacy and safety were demonstrated.

研究分野：ドラッグデリバリー

キーワード：難治性肺疾患 肺投与型DDS 検査・治療

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 難治性肺疾患の早期発見・早期治療の医学的・社会的重要性

本研究では、ライフスタイルに発症起因する難治性肺疾患として、喫煙習慣などに起因する肺がん、および不整脈治療薬などの長期服用習慣に起因する肺線維症の2疾患に焦点を絞った。肺がんは、我が国のがん死亡数の第1位(がん研究振興財団, 2014年)であることに加え、世界的にもがん死亡数の上位を占めており、最優先で征圧すべき疾患であることはいうまでもない。また、肺線維症は、生活習慣病の増加に伴い、重症患者やその予備軍が増加の一途をたどっている(日本呼吸器学会, 2013年)。以上のことから、難治性肺疾患を早期に発見して適切に治療することは、医学的に極めて重要な要請であることは勿論、医療費高騰の抑制など社会的にも非常に大きな意義がある。

### (2) 難治性肺疾患の病巣検出・治療の現況と研究動向

肺がんおよび肺線維症の検査では、PET(Positron Emission Tomography), CT(Computed Tomography)およびX線撮影が一般的であり、これらの検査法の精度は比較的高いが、いずれも放射線被曝のリスクが大きく、安全性に難点がある。また、肺がんおよび肺線維症の治療薬は経口投与または注射投与されるため、全身性副作用の発現が常に問題となる。それゆえ、病巣を安全かつ高精度で検出できる検査法の創出と有効かつ安全な治療法の創出が切望されている。本研究のように、放射線不使用かつ全身的副作用を排除できる肺投与型 Drug Delivery System (DDS)を基盤として、検査法・治療法をマルチに創出する研究は、国内外の他のグループではなされていない。本研究が目指すマルチ征圧の最大の利点は、検査薬と治療薬を病巣に送達するための手段として、同一メカニズムの肺投与型 DDS を用いることである。それゆえ、検査薬が検出した病巣に確実に治療薬を送り込むことができる。これは、方法論が異なる検査法と治療法の組み合わせでは決して実現できない研究代表者らの独創的なアイデアである。

## 2. 研究の目的

本研究では、ライフスタイルに発症起因する肺がんおよび肺線維症に対する検査薬と治療薬を、研究代表者らが得手としている肺投与型 DDS で病巣へ選択的に送達する技術を新規創製し、加えて、病巣を安全かつ高精度で検出できる検査法を創出するとともに、有効かつ安全な治療法を創出することを目的とした。

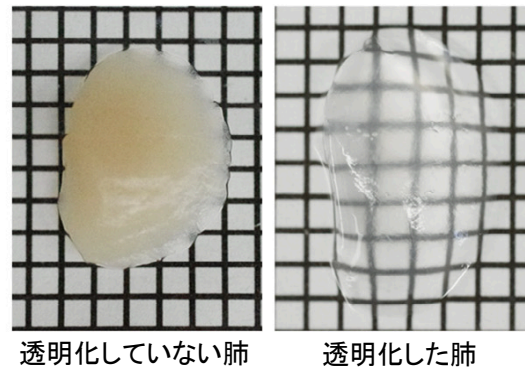
## 3. 研究の方法

### (1) 検査薬および治療薬を病巣に確実に送達するための運搬体の設計・作製

本研究では、肺がんおよび肺線維症に対する検査薬および治療薬を病巣に確実に送達するための運搬体として、病巣認識素子を表面に導入した脂質ナノ粒子製剤を設計・作製した。なお、病巣認識素子については、肺がんを標的とする場合にはシグマ受容体抗体、肺線維症を標的とする場合には線維芽細胞増殖因子受容体抗体を用いた。検査薬には DiI などの蛍光色素を用いた。また、ナノ粒子製剤に内封する肺がんの治療薬には抗腫瘍 siRNA、肺線維症の治療薬にはニンテダニブやピルフェニドンをそれぞれ用いた。

## (2) ナノ粒子製剤の病巣検出力の評価

検査薬を内封したナノ粒子製剤を肺がんおよび肺線維症のモデルマウスに肺投与し、病巣検出力を *in vivo* で評価した。病巣検出力の評価に先立ち、まずナノ粒子製剤に内封された検査薬の病巣への送達性を評価した。すなわち、投与一定時間後に肺を摘出し、肺透明化技術（右図）を駆使して検査薬の病巣への送達性を臓器・組織レベルで可視化した。送達性の評価に引き続き、ナノ粒子製剤に内封された検査薬の病巣検出力を評価した。すなわち、投与一定時間後にモデルマウスを麻酔下（肺を摘出しない非侵襲的条件下）で *in vivo* イメージング装置にセットし、検査薬が発する光信号を検知することで病巣検出力を定量的に画像化した。



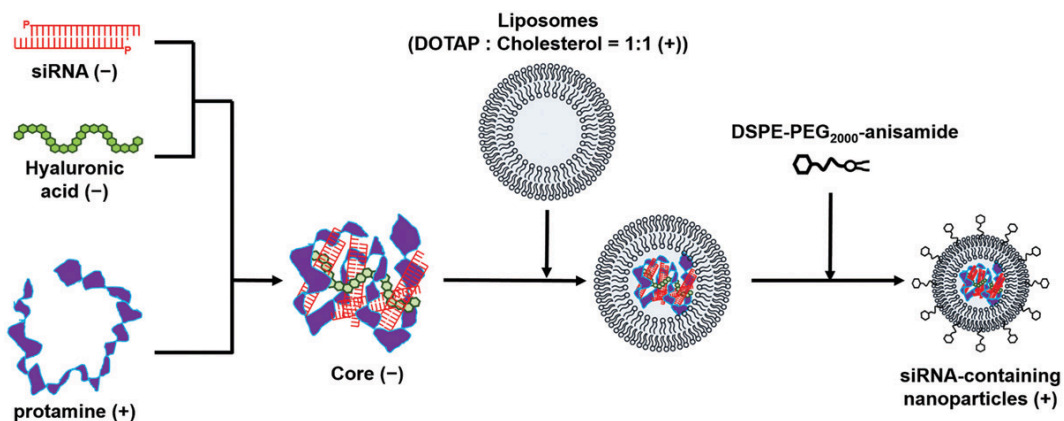
## (3) ナノ粒子製剤の治療効果の評価

治療薬を内封したナノ粒子製剤を肺がんおよび肺線維症のモデルマウスに肺投与し、治療効果を *in vivo* で実証するとともに、安全性を評価した。すなわち、ナノ粒子製剤を複数回にわたって投与した際の治療効果として、肺がんでは生存曲線による抗腫瘍効果、肺線維症では線維化病変の縮小効果などを検討した。なお、安全性については、常法により評価した。

## 4. 研究成果

### (1) 検査薬および治療薬を病巣に確実に送達するための運搬体の設計・作製

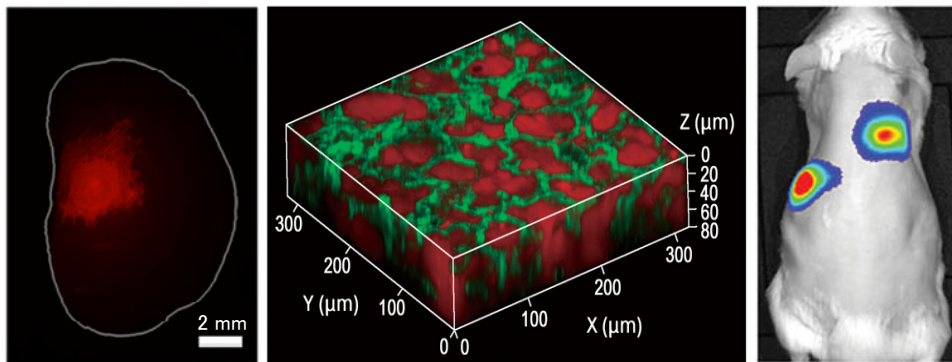
種々作製したナノ粒子製剤の一例として、肺がんに対する抗腫瘍 siRNA を内封したナノ粒子製剤の設計・作製法を下図に示す。肺がんの治療を最適化するがん病巣標的型ナノ粒子製剤を各種材料の混合だけで自己形成させる簡易な方法にて作製することに成功した。



### (2) ナノ粒子製剤の病巣検出力

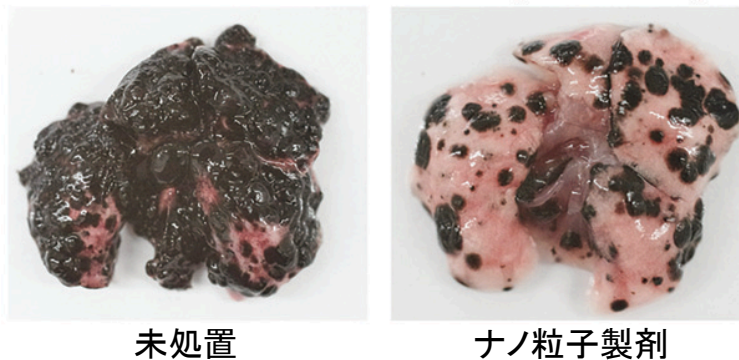
ここでは、肺線維症に対するナノ粒子製剤の病巣検出力について以下に示す。病巣検出力の評価に先立ち、ナノ粒子製剤に内封された検査薬の病巣への送達性を評価した。すなわち、DiI を内封したナノ粒子製剤を肺線維症のモデルマウスに肺投与したのちに肺を摘出し、肺を透明化処理して DiI の病巣への送達性を可視化評価したところ、臓器・細胞レベルで DiI が病巣部位・病巣細胞に送達されていることが視認できた（下図：左および中央）。次いで、病巣への高い送達性が得られたナノ粒子製剤の病巣検出力を評価した。すなわち、DiI を内

封したナノ粒子製剤を肺線維症のモデルマウスに肺投与したのち、鎮静麻酔下で *in vivo* イメージングを行ったところ、ナノ粒子製剤が病巣の位置をその密度依存的に精確に検出できることを明らかとした（下図：右）。



### (3) ナノ粒子製剤の治療効果

ここでは、肺がんに対するナノ粒子製剤の治療効果について以下に示す。ナノ粒子製剤に内封された治療薬の治療効果を評価した。すなわち、肺がんに対する抗腫瘍 siRNA を内封したナノ粒子製剤を肺がんのモデルマウスに複数回にわたって肺投与したところ、未処置のマウスに比べて生存日数が有意に延長し、病巣の縮小（下図）が観察された。また、肺内や血中でのサイトカイン漏出などは認められず、本研究で創製したナノ粒子製剤は安全性に優れた肺投与型 DDS であることが明らかとなった。



本研究では、上述の通り、所定の成果を収めることができ、病巣を安全かつ高精度で検出できる検査法と有効かつ安全な治療法がマルチに創出され、難治性肺疾患の征圧に向けた学術的・臨床的基盤、即ち近未来医療の実現に一步近づくことができたと考える。本研究の最終到達点は、難治性肺疾患の早期発見・早期治療を通じた国民ならびに全世界の人々の健康福祉への貢献である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件/うち国際共著 12件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Togami K, Daisho T, Yumita Y, Kitayama A, Tada H, Chono S	4. 巻 562
2. 論文標題 Evaluation of various tissue-clearing techniques for the three-dimensional visualization of liposome distribution in mouse lungs at the alveolar scale	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int. J.Pharm.	6. 最初と最後の頁 218 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2019.03.032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kanehira Y, Togami K, Ishizawa K, Sato S, Tada H, Chono S	4. 巻 24
2. 論文標題 Intratumoral delivery and therapeutic efficacy of nanoparticle-encapsulated anti-tumor siRNA following intrapulmonary administration for potential treatment of lung cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pharm. Dev. Tech.	6. 最初と最後の頁 1095 ~ 1103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10837450.2019.1633345	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Togami K, Fukuda K, Yamaguchi K, Chono S, Tada H	4. 巻 10
2. 論文標題 Facile and sensitive HPLC-UV method for determination of nintedanib in rat plasma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int. J. Pharm. Pharm. Sci.	6. 最初と最後の頁 133-137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.22159/ijpps.2018v10i6.25504	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Togami K, Kitayama A, Daisho T, Wang R, Tada H, Chono S	4. 巻 41
2. 論文標題 Tissue-clearing techniques enable three-dimensional visualization of aerosolized model compound and lung structure at the alveolar scale	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 24-28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b17-00348	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Togami K, Daisho T, Yumita Y, Kitayama A, Tada H, Chono S	4. 巻 562
2. 論文標題 Evaluation of various tissue-clearing techniques for the three-dimensional visualization of liposome distribution in mouse lungs at the alveolar scale	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int. J. Pharm.	6. 最初と最後の頁 218-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2019.03.032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Togami K, Yamaguchi K, Chono S, Tada H	4. 巻 86
2. 論文標題 Evaluation of permeability alteration and epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- 1 in A549, NCI-H441, and Calu-3 cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Pharmacol. Toxicol. Methods	6. 最初と最後の頁 19-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vascn.2017.02.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chono S, Togami K, Itagaki S	4. 巻 43
2. 論文標題 Aerosolized liposomes with dipalmitoyl phosphatidylcholine enhance pulmonary absorption of encapsulated insulin compared with co-administered insulin	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Drug Dev. Ind. Pharm.	6. 最初と最後の頁 1892-1898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03639045.2017.1353521	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Togami K, Yamaguchi K, Tada H, Chono S	4. 巻 75
2. 論文標題 Assessment of transporter-mediated efflux of nintedanib using in vitro cell line models of idiopathic pulmonary fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Die Pharmazie	6. 最初と最後の頁 371-374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1691/ph.2020.0048.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Togami K, Maruta Y, Nanbu M, Tada H, Chono S	4. 巻 46
2. 論文標題 Prolonged distribution of aerosolized PEGylated liposomes in the lungs of mice with bleomycin-induced pulmonary fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Dev. Ind. Pharm.	6. 最初と最後の頁 1873-1880
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03639045.2020.1825473.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishizawa K, Togami K, Tada H, Chono S	4. 巻 109
2. 論文標題 Multiscale live imaging using Forster Resonance Energy Transfer (FRET) for evaluating the biological behavior of nanoparticles as drug carriers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Pharm. Sci.	6. 最初と最後の頁 3608-3616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2020.08.028.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishizawa K, Togami K, Tada H, Chono S	4. 巻 46
2. 論文標題 Evaluation of tissue-clearing techniques for intraorgan imaging of distribution of polymeric nanoparticles as drug carriers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Dev. Ind. Pharm.	6. 最初と最後の頁 2061-2069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03639045.2020.1843476.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Togami K, Ozaki H, Yumita Y, Kitayama A, Tada H, Chono S	4. 巻 2020
2. 論文標題 Three-dimensional imaging of pulmonary fibrotic foci at the alveolar scale using tissue-clearing treatment with staining techniques of extracellular matrix	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Biomed. Imaging	6. 最初と最後の頁 9 pages
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/8815231.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 石澤清心, 戸上紘平, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 Real-time FRET imagingによるドラッグキャリアの体内動態の可視化
3. 学会等名 日本薬剤学会第34年会（富山）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石澤清心, 戸上紘平, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 ドラッグキャリアの体内動態を可視化するreal-time FRET imaging
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会（横浜）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishizawa K, Togami K, Tada H, Chono S
2. 発表標題 Multiscale live-imaging using Forster resonance energy transfer to evaluate the distribution of nanoparticles for drug delivery
3. 学会等名 Controlled Release Society 2019 Annual Meeting & Exposition, Valencia, Spain ( (国際学会) )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Togami K, Hirotsugu Ishii, Ryota Abe, Tada H, Chono S
2. 発表標題 Efficient delivery to fibrotic regions of liposomes modified with fibroblast- and collagen-targeting peptides for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis
3. 学会等名 Controlled Release Society 2019 Annual Meeting & Exposition, Valencia, Spain (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 丁野純男
2. 発表標題 ドラッグデリバリーシステム (DDS) が拓く次世代の創薬・創剤
3. 学会等名 第33回北海道薬物作用談話会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸上紘平, 小笠原安理沙, 入江沙世, 岩田健嗣, 山口広太郎, 多田 均, 丁野純男
2. 発表標題 ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンを用いた抗線維化薬ニテダニブ肺投与の有用性
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (京都)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石澤清心, 戸上紘平, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 FRET現象を応用したmulti-scale imagingによるDDSの機能評価法の確立
3. 学会等名 日本薬学会第145回支部例会 (札幌)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藏所楓, 兼平幸宗, 多田均, 丁野純男, 戸上紘平
2. 発表標題 肺線維症発症時における肺投与型リポソームの肺内滞留性に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第145回支部例会 (札幌)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口広太郎, 丁野純男, 多田均, 戸上紘平
2. 発表標題 肺線維症の病巣細胞によるニンテダニブの取り込みに及ぼす排出トランスポーターの影響
3. 学会等名 日本薬学会第145回支部例会(札幌)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石澤清心, 戸上紘平, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 FRET現象を応用したmulti-scale imagingによるドラッグキャリアと内封薬物の体内分布評価法の確立
3. 学会等名 日本薬剤学会第33年会(静岡)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石澤清心, 戸上紘平, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 ドラッグキャリアに用いるナノ粒子と内封薬物の体内分布評価のためのFRET現象を応用したmulti-scale imaging
3. 学会等名 第34回日本DDS学会学術集会(長崎)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ishizawa K, Togami K, Tada H, Chono S
2. 発表標題 Multi-scale imaging using Forster resonance energy transfer for evaluating drug carrier distribution
3. 学会等名 2018 AAPS PharmSci 360, Washington DC, USA. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸上紘平, 石井大嗣, 阿部亮太, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 肺線維症治療を指向したリポソームの肺線維芽細胞への集積性およびcollagen Iへの付着性に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第139年会(千葉)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸上紘平, 弓田有輝, 大聖貴之, 王鋭, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 肺線維症発症時における肺胞閉塞に伴う肺投与型薬物の肺内分布の変化
3. 学会等名 日本薬剤学会第32年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戸上紘平, 丁野純男
2. 発表標題 DPPCリポソームはインスリン未封入体よりも封入体の経肺吸収を優位に促進する
3. 学会等名 第33年会日本DDS学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Togami K, Yumita Y, Daisho T, Kitayama A, Tada H, Chono S
2. 発表標題 Influence of extracellular matrix in fibrotic lesions on the distribution of aerosolized drugs
3. 学会等名 Drug Discovery and Therapy World Congress 2017(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石澤清心, 戸上紘平, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 ドラッグデリバリーシステムに用いるナノ粒子の体内分布特性評価を目的としたマルチスケールイメージング手法の確立
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金澤楓, 戸上紘平, 兼平幸宗, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 肺線維症モデルマウスにおける薬物封入リポソーム肺投与後の肺内滞留性に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸上紘平, 岩田健嗣, 小笠原安理沙, 入江沙世, 山口広太郎, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 シクロデキストリン複合体化による抗線維化薬ニンテダニブの肺内動態および肺線維症治療効果の改善
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 戸上紘平, 小笠原安理沙, 入江沙世, 岩田健嗣, 山口広太郎, 多田均, 丁野純男
2. 発表標題 抗線維化薬ニンテダニブ-シクロデキストリン複合体の肺投与による肺内動態および肺線維症治療効果の改善
3. 学会等名 第36回日本DDS学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 丁野純男	4. 発行年 2018年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 252
3. 書名 次世代吸入製剤とデバイスの開発	

〔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
研究 分担者	戸上 紘平 (Togami Kohei)  (20582357)	北海道科学大学・薬学部・准教授  (30108)	
研究 分担者	板垣 史郎 (Itagaki Shirou)  (00360925)	札幌医科大学・その他部局等・准教授  (20101)	

	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
研究 協力者	兼平 幸宗 (Kanehira Yukimune)		
研究 協力者	石澤 清心 (Ishizawa Kiyomi)		

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
---------	---------