

令和 3 年 5 月 3 日現在

機関番号：23803  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2017～2020  
課題番号：17K08453  
研究課題名(和文)物性と生物薬剤学的特性を基盤とした薬剤性光線過敏症機序の統合的理解と評価系構築

研究課題名(英文) Establishment of photosafety testing tools on the basis of physicochemical and biopharmaceutical data

研究代表者  
尾上 誠良 (Onoue, Satomi)  
静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：00457912  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：薬剤性光線過敏症を誘発するモデル化合物群を対象とし、その光化学的・光生物学・薬物動態学的特性を網羅的に解析し、その情報を系統的に整理することで3種類の薬剤性光線過敏症(光刺激性、光アレルギー、光遺伝毒性)の誘発機序を詳細に検証した。各光毒性反応に関与する因子を種々特定し、各光毒性リスクを特異的に予測可能な *in vitro* 評価系あるいは *in vitro/in vivo* 融合評価系を構築する。開発した評価系の頑健性・信頼性を検証し、研究協力者と協力して国際協調活動を推進し、OECD test guideline 495 成立に成功した。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで現象論で捉えられる傾向にあった薬剤性光線過敏症の発症機序をはじめ統合的に理解することができ、さらに未だ確実な評価系に欠ける光安全性評価を可能となった。また、開発した試験法を多くの化合物に適用してデータを蓄積することで、各種光毒性反応を誘発しやすい化合物の構造上ならびに物性上の特性が明らかとなる。それによって各種光毒性反応に関する structural alert を新たに提示でき、医薬品・化粧品・食品をはじめとする新規化学物質の創製において極めて有用な情報を世界に向けて共有可能となるであろう。

研究成果の概要(英文)：To establish the reliable photosafety testing approach, model chemicals were subjected to photochemical, photobiochemical and pharmacokinetic characterization. Upon these data, photosafety testing tools were proposed with combination use of reactive oxygen species (ROS) assay and pharmacokinetic analysis. Preliminary validation testing was carried out for the proposed approach, and the ROS assay was successfully adopted as OECD test guideline 495 in 2019.

研究分野：薬剤科学

キーワード：光線過敏症 創薬 安全性

## 1. 研究開始当初の背景

薬剤性光線過敏症とは、医薬品が体内で太陽光によって光化学的に活性化され、皮膚において誘発される有害反応であり、その毒性反応によって (i) 光刺激性、(ii) 光アレルギー、(iii) 光遺伝毒性/光がん原性に大別される。創薬や安全性評価の従事者にとっては、国際的なレベルで標準化された光安全性評価方法の開発が急務の課題となっている。2002 年以降、EMA/CPMP, FDA/CDER からそれぞれ光安全性評価法ガイダンスが示され、2004 年には OECD からより具体性を持った評価方法が提示されている。しかしながら、これらは総合的な光安全性評価方法を取り扱う指針ではなく、可能性ある光安全性評価系のリストアップに留まり、また OECD から提示されている評価系も光毒性反応のなかのごく一部（光刺激性）を予測するにすぎない。このような背景から、光安全性の高い新規医薬品創出を可能とする総合的光安全性評価システムの構築に対する国際的ニーズが高まり、そこで日米欧の 3 極による国際協調活動が International Conference on Harmonization (ICH) 主導で開始された (ICH topic S10 “Photosafety assessment of pharmaceuticals”)。応募者は医薬品開発従事者として企業所属時より医薬品や医薬部外品の薬剤性光線過敏症光リスク予測を可能とするために、既存医薬品や新規医薬候補化合物を用いて光毒性機序を網羅的に解析してきた。その結果として薬剤性光線過敏症の初期段階に起こる光毒性化合物の光化学反応こそが各種光毒性反応の実質的トリガーであることを世界に先駆けて明らかにした。すなわち、薬物が皮膚や眼などの露光部位に到達し、そこで太陽光を吸収することによって反応性に富んだ分子種となり、様々な生体内分子と反応することによって薬剤性光線過敏症を誘発するのである。また、光励起された光毒性物質が反応する生体内分子の種類によって、発現する光毒性反応の種類が異なる可能性を併せて示唆した。この知見を基に「被験物質の光化学反応性が薬剤性光線過敏症リスクの指標になる」と作業仮説をたて、応募者は光毒性発症における極めて初期のイベントをモニタリングする ROS assay を新規に創出した [研究業績: *Pharmaceutica Research*, **23** (1): 156–64 (2006) 他]。本試験法は光照射下で薬物から放出される活性酸素種を測定することにより被験物質の光化学的挙動を評価する革新的な手法であり、2006 年の論文公表以降、国内外の製薬企業で使用されてきた。日本製薬工業協会 (JPMA)・医薬品医療機器総合機構 (PMDA) との協力による国際協調活動により、ROS assay は本邦初の ICH 推奨光安全性試験法として 2013 年に ICH S10 ガイドラインに採用され、2014 年には化粧品品の国際試験法ガイドラインである Personal Care Products Council (PCPC) guidance “Evaluation of Photoirritation and Photoallergy Potential” に正式採用された [研究業績: *Toxicology in Vitro*, **28**: 515–23 (2014) 他]。現状では、このように光刺激性に関する評価系は確立されているものの、光アレルギーならびに光遺伝毒性リスクを特異的に予測するツールは極めて乏しく、創薬段階での両毒性リスク回避は極めて困難な状況である。この命題を解決し、創薬段階で光安全性の高い薬剤開発に貢献するためには、まず薬剤性光線過敏症の発症機序について網羅的な理解が必須である。応募者が見出した知見をさらに探求・検証していくことにより、各光毒性反応誘発に関与する決定因子が明らかとなり、それを戦略的に応用することで信頼性の高い光安全性リスク予測・回避が可能になると確信する。

## 2. 研究の目的

本研究の第一義は光アレルギーならびに光遺伝毒性リスクに対する特異的評価系を創出することであり、医薬品の光安全性確保に関する国際的なニーズに迅速に答えようとするものである。そのためには、各種光毒性反応機序の網羅的かつ統合的な理解を通じて、特異的な因子特定が必須となる。応募者らによるこれまでの研究の結果、光安全性リスクを予測する上で重要な要因は、化合物の (i)光化学的反応性、(ii)体内動態(特に皮膚移行性)であり、いずれかが欠ければ光毒性発現リスクは低いと考えられる [研究業績: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **354**(2): 195-202 (2015) 他]。本研究では、この仮説をさらに検証すべく、複数の光毒性誘発モデル化合物群を対象として、仮説の信頼性と適用限界について精査する。光化学反応性については応募者が開発した ROS assay や *in silico* による HOMO-LUMO gap 等の励起特性パラメーターを用いる。体内動態特性については、カセットドージング動態試験によって明らかとなる皮膚移行性(経口投与時)ならびに皮膚組織滞留性(経皮投与時)を用いると共に、被験物質の物性(log P, polar surface area, 分子量, 血漿タンパク結合率, net charge, 皮膚透過係数など)を運用する。これら光化学反応性と体内動態特性の両者を統合した matrix decision によって得られる光毒性リスク予測と、臨床における光安全性情報を比較して、本モデルの予測性・頑健性ならびに適用限界を明らかにする。

さらに、“光刺激性”“光アレルギー”そして“光遺伝毒性”の各種リスクを特異的に予測するためには、上記仮説に加えて、励起された光毒性化合物と各種光毒性反応に関連する生体内分子との相互作用情報が必要であろう。各光毒性反応に関与する生体内分子として (i) 膜タンパクならびに脂質(光刺激性)、(ii) 血漿タンパク(光アレルギー)、そして(iii) DNA(光遺伝毒)を選択し、基底状態ならびに光励起状態の被験物質とこれらの生体内分子との相互作用を網羅的に精査する。特に、生体内分子の酸化や高次構造変化、励起化合物との結合特性を分光学的アプローチ、キャピラリー電気泳動法、DNA-photocleavage assay、DNA-binding assay 等の *in vitro* スクリーニング系を用いて探求する。これらのデータと臨床の光毒性情報を解析し、各種光毒性反応に深く関与する決定因子を特定する。さらには関与する物理化学的ならびに生物薬剤学的特性を指標とした光毒性試験法開発を併せて行い、動物実験の 3Rs (Reduction, Refinement, Replacement) に即した光安全性保障に寄与するツールを開発するとともに国際協調活動を推進する。

### 3. 研究の方法

薬剤性光線過敏症を誘発するモデル化合物群を対象とし、その光化学的・光生物学的・薬物動態学的特性を網羅的に解析し、その情報を系統的に整理することで 3 種類の薬剤性光線過敏症(光刺激性、光アレルギー、光遺伝毒性)の誘発機序を詳細に検証する。各光毒性反応に関与する因子を種々特定し、各光毒性リスクを特異的に予測可能な *in vitro* 評価系あるいは *in vitro/in vivo* 融合評価系を構築する。開発した評価系の頑健性・信頼性を検証し、研究協力者と協力して国際協調活動を推進する。

### 4. 研究成果

応募者はこれまでの研究成果をベースに次の通り研究を計画・遂行する。本研究における到達目標をより迅速に達成するために主として 4 つの研究を実施した。

#### サブテーマ 1「光化学的特性と皮膚移行性による統合的光毒性予測法の開発」

被験物質の光化学反応性とカセットドージング薬物動態試験結果を組み合わせることで

光線過敏症の非特異的予測が可能であることを検証した。評価系の信頼性・頑健性検証のみならず、薬剤性光線過敏症の極めて初期にあるメカニズム解明を同時に達成することに成功した。

#### **サブテーマ 2「各種光毒性反応（光刺激性・光アレルギー・光遺伝毒性）の機序解析」**

光励起化合物による生体内物質の生化学的影響や相互作用を検証し、各種光毒性反応に関与する各因子を特定する。光刺激性では細胞膜上のタンパク質や脂質の酸化的反応を、光アレルギーでは光励起化合物のタンパク結合やハプテン形成能を、そして光遺伝毒性機序解明では光励起化合物による DNA 変成あるいは DNA 付加物形成能などを探索した。

#### **サブテーマ 3「各種光毒性反応を予測する特異的評価系開発」**

サブテーマ 2 によって解明される光毒性反応機序を鑑み、特に主要な因子を指標とした特異的光毒性リスク予測法構築を推進する。各種光毒性反応を示す医薬品、食品、化粧品、化学物質を新規光安全性評価系に適用して評価系の予測性と適用限界を把握した。

#### **サブテーマ 4「新規光安全性評価法に関する国際協調活動」**

本研究にて開発された光毒性リスク評価法の有用性・信頼性についてレギュラトリーサイエンスを専門とする研究協力者と共にバリデーション研究を実施した。そして、プロトコール標準化、適用限界の明確化を経て、現在既に規制当局と共同で展開している ICH や OECD を中心とした国際協調活動に本研究成果を加えて推進し、その結果として ROS assay は OECD test guideline 495 として成立した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iyama Y, Sato H, Seto Y, Onoue S	4. 巻 146
2. 論文標題 Strategic photosafety screening system consisting of in chemico photoreactivity and in vitro skin exposure for quinolone derivatives.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur J Pharm Sci.	6. 最初と最後の頁 105257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejps.2020.105257	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 -
1. 著者名 Iyama Y, Sato H, Seto Y, Onoue S	4. 巻 317
2. 論文標題 A new photosafety screening strategy based on in chemico photoreactivity and in vitro skin exposure for dermally-applied chemicals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Toxicol Lett.	6. 最初と最後の頁 45-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2019.09.016	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 -
1. 著者名 Iyama Y, Sato H, Seto Y, Onoue S	4. 巻 108
2. 論文標題 Photochemical and Pharmacokinetic Characterization of Orally Administered Chemicals to Evaluate Phototoxic Risk.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pharm Sci.	6. 最初と最後の頁 1303-1308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2018.10.013	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 -
1. 著者名 Yosuke Iyama, Hideyuki Sato, Yoshiki Seto, Satomi Onoue	4. 巻 108
2. 論文標題 Photochemical and Pharmacokinetic Characterization of Orally Administered Chemicals to Evaluate Phototoxic Risk	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1303-1308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2018.10.013	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 -

1. 著者名 Kojo Y, Suzuki H, Kato K, Kaneko Y, Yuminoki K, Hashimoto N, Sato H, Seto Y, Onoue S	4. 巻 545
2. 論文標題 Enhanced biopharmaceutical effects of tranilast on experimental colitis model with use of self-micellizing solid dispersion technology	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Pharm	6. 最初と最後の頁 19-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2018.04.053	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 Kojo Y, Kobayashi K, Matsunaga S, Suzuki H, Seto Y, Sato H, Onoue S	4. 巻 32
2. 論文標題 Avoidance of food effect on oral absorption profile of itraconazole by self-micellizing solid dispersion approach	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Drug Metab Pharmacokinet	6. 最初と最後の頁 273-276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dmpk.2017.06.001	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 Kato M, Ohtake H, Sato H, Seto Y, Onoue S	4. 巻 15
2. 論文標題 Enzymatic reactive oxygen species assay to evaluate phototoxic risk of metabolites	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Toxicol Lett	6. 最初と最後の頁 59-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2017.07.852	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12件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 徳吉泰春、猪山洋輔、佐藤秀行、世戸孝樹、尾上誠良
2. 発表標題 in vivo 試験に依存しない光安全性予測 : NSAIDs の光反応性および皮膚暴露量を指標として
3. 学会等名 日本薬学会第 34 年会 (富山)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 世戸孝樹、當波諒、猪山陽輔、佐藤秀行、尾上誠良
2. 発表標題 光安全性評価における光毒性代謝物の皮膚曝露とその推移の重要性： imipramine をモデルとした検討
3. 学会等名 第 46 回日本毒性学会学術年会（徳島）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 猪山陽輔、佐藤秀行、世戸孝樹、尾上誠良
2. 発表標題 Reactive oxygen species assay および in vitro 皮膚透過性試験を用いたキノロン系抗菌薬の光安全性評価
3. 学会等名 第 5 回日本医薬品安全性学会学術大会（東京）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 猪山陽輔、佐藤秀行、世戸孝樹、尾上誠良
2. 発表標題 光反応性および in vitro 皮膚蓄積性の統合的解析による光安全性評価
3. 学会等名 第 25 回創剤フォーラム若手研究会（千葉）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yosuke Iyama, Hideyuki Sato, Yoshiaki Seto, Satomi Onoue
2. 発表標題 Photosafety testing: the combination use of photoreactivity and skin deposition
3. 学会等名 4th AFPS, Bali
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良
2. 発表標題 In vivo 実験に依存しない光化学的および in vitro 皮膚曝露評価に基づく光安全性評価系の開発
3. 学会等名 日本動物実験代替法学会 第 31 回大会 (熊本)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yosuke Iyama, Hideyuki Sato, Yoshiki Seto, Satomi Onoue
2. 発表標題 A new in vitro photosafety screening system by combined use of photoreactivity and skin exposure of chemicals as an alternative to animal experiments
3. 学会等名 merican Association of Pharmaceutical Scientists PharmSci 360
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良
2. 発表標題 Reactive oxygen species assay および in vitro 皮膚透過性試験を用いた新規光安全性評価系の開発
3. 学会等名 第 4 回 日本医薬品安全性学会学術大会 (岡山)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良
2. 発表標題 光反応性および皮膚内動態に基づく光安全性評価における動物実験代替法の開発
3. 学会等名 日本薬剤学会 第 33 回年会 (静岡)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 尾上誠良
2. 発表標題 光毒性リスクを回避する医薬品安全性試験法：基礎からレギュレーションまで
3. 学会等名 平成28年度 薬学生涯研修講座（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 猪山陽輔、佐藤秀行、世戸孝樹、尾上誠良
2. 発表標題 光化学的および薬物動態学的特性に基づく経口投与化合物の光安全性評価
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 猪山陽輔、加藤尚視、井上 僚、佐藤秀行、世戸孝樹、尾上誠良
2. 発表標題 光化学的および薬物動態学的特性の統合的解析による経口投与化合物の高効率な光安全性評価
3. 学会等名 第 44 回 日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2017年

〔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
---------	---------