

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：33708

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07225

研究課題名(和文) 薬剤科学を基盤とする包括的光安全性評価系の戦略的創出

研究課題名(英文) Establishment of comprehensive photosafety evaluation system on the basis of pharmaceutical sciences

研究代表者

世戸 孝樹 (Yoshiki, Seto)

岐阜医療科学大学・薬学部・准教授

研究者番号：30744974

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では光毒性の発症機序である化学物質の光反応性および皮膚内動態評価を基盤とし、特に動物実験に依存しない光安全性評価系の開発を目指した。皮膚内動態評価の動物実験代替法として、摘出皮膚を用いた *in vitro* 皮膚透過性試験を導入することで、実験動物数の削減をしつつ、光反応性評価の結果と組み合わせることで信頼性の高い化学物質の光安全性評価が可能であった。また、摘出皮膚の代替として人工膜による皮膚内動態評価法の確立を示唆する結果も得られた。開発した光安全性評価系は医薬品・化粧品開発における光安全性評価および動物福祉に寄与することができ、国民の健康と医療・産業の発展に貢献できるであろう。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化粧品開発における動物実験の完全撤廃に代表される昨今の動物福祉に対する国際的な流れを鑑みると、光安全性評価においても *in vivo* 試験に頼らない試験系の構築が必要である。本研究で構築した光安全性評価系では皮膚内動態評価において摘出皮膚を用いるものの、動物福祉に貢献しうる成果を示すことができたと考える。また、人工膜を用いた系を導入した光安全性評価系の構築とその feasibility について継続的に検証していくことで、より動物福祉に貢献できる光安全性評価系の提供が可能になるであろう。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop a photosafety evaluation system based on the photoreactivity and skin deposition of chemical substances. In this study, *in vitro* skin permeability test using excised skin was employed as an alternative to animal testing for skin deposition. Combined use of the results of photoreactivity and skin exposure provided reliable photosafety information of tested chemicals, and *in vitro* skin permeability test could reduce the number of experimental animals compared with *in vivo* pharmacokinetic study. In addition, the use of an artificial membranes as an alternative to an excised skin in permeability test showed the feasibility of animal-independent evaluation of skin deposition. From these findings, proposed photosafety evaluation system would contribute to development of pharmaceuticals and cosmetics and animal welfare.

研究分野：薬物動態学

キーワード：光安全性 皮膚曝露 活性酸素種

1. 研究開始当初の背景

薬剤性光線過敏症は、医薬品や化粧品などの化学物質が露光部位である皮膚や眼に分布した後、太陽光に曝されることで光化学的に活性化され、皮膚あるいは眼にて誘発される有害反応である。現在上市されている医薬品等において本副作用を示すものは少なくなく、臨床において問題となるケースがある。また、オゾン層の破壊に伴い、地表に到達する紫外線量が多くなっており、本副作用に関する関心は高まっている。創薬や安全性評価においても国際的に標準化された光安全性評価方法の開発が求められている。2014年には International Conference on Harmonization (ICH) より医薬品開発における光安全性評価に関するガイドライン (ICH S10 guideline) が施行された。本ガイドラインにおいて、(1) 医薬化合物の光反応性および (2) 医薬化合物の皮膚移行性が薬剤性光線過敏症のリスクファクターとして明記されている。しかしながら、本ガイドラインにおける推奨試験法は光化学あるいは光生物学的手法を用いた *in chemico/in vitro* 試験に留まっており、より生体反応と関連づけるためには薬剤性光線過敏症のリスクファクターの一つである露光部位への移行性の評価が重要である。そこで光化学の評価に加えて *in vivo* 薬物動態学的試験による皮膚移行性評価を併せて光安全性評価を行うことで良好な光毒性リスク評価が可能であることをこれまでの研究成果にて明らかにした。一方で、化粧品開発において動物実験禁止が適用され、動物実験倫理の大きな変化を鑑み、有効性・安全性評価において動物実験代替法の構築が求められている。光安全性評価についても皮膚に直接塗布される化粧品成分では評価が必須であるために動物実験代替法による体系的な評価フローの構築は急務である。これまでの研究においては *in vivo* 薬物動態学的試験を用いた皮膚移行性評価を導入しているために、提案している光安全性評価フローを化粧品に適用するには *in vitro* あるいは *in silico* 皮膚移行性評価などの動物実験代替法を用いる必要がある。そこで本研究では *in vitro* 試験法を用いて化合物の皮膚移行性情報と化合物の光反応性を評価し、得られた情報を統合的に解析する新たな光安全性評価系を戦略的に構築し、構築した光安全性評価系によって良好な光安全性評価が可能であるか精査を行った。

2. 研究の目的

本研究は臨床のみならず、医薬品・化粧品開発においても注目を集めている薬剤性光線過敏症について、その発症機序に基づく光安全性評価法の確立ならびに本副作用の低減・回避方法の戦略的創出を目指すものである。2014年に施行された医薬品開発における光安全性評価に関するガイドラインでは (1) 医薬化合物の光反応性および (2) 医薬化合物の皮膚移行性が重要なリスクファクターと示されている。しかしながら、本ガイドラインでは光反応性あるいは光毒性を評価する *in chemico/in vitro* 試験のみが推奨試験法と記載されているのみである。これらの結果は生体における光毒性反応と必ずしも相関するわけではないため、その他の発症機序、特に皮膚曝露を加味した体系的な評価フローの構築が必要である。そこで本研究では光毒性の発症機序である化学物質の光反応性および皮膚内動態評価を基盤とし、特に動物実験に依存しない光安全性評価系の開発を目指した。

3. 研究の方法

提案している光安全性評価系について構造的多様性を有する被験物質群に適用した際の予測精度の精査を行った。光化学的特性評価では reactive oxygen species (ROS) assay による光反応性評価を実施し、皮膚内動態評価においてはラットにおけるカセットドージング薬物動態試験を実施することで、提案する光安全性評価系の更なる適用性について検証した。

続いて、皮膚適用化合物に対する光安全性評価系の構築を試みた。実験動物使用数の更なる削減を目的とし、皮膚内動態評価法としてラット摘出皮膚を用いた *in vitro* 皮膚透過性試験法を光安全性評価系に応用した。フランツ型拡散セルにラット摘出皮膚をはさみ、被験物質群の皮膚透過性について評価を行い、皮膚透過のデータを用いて皮膚内の被験物質濃度を予測し、被験物質の皮膚曝露の指標とした。本予測データと光反応性のデータを組み合わせることで光安全性評価が可能であるか精査を行った。

さらにヒト皮膚を模倣した人工膜を用いた皮膚内動態評価法の構築について検討を行い、実験動物を用いない光安全性評価系構築を目指して実験を行った。さらに、光反応性評価と *in vitro* 皮膚内動態試験法を組み合わせた光安全性評価系について検討を行い、その予測精度について精査した。

4. 研究成果

本研究実施以前は同じ母骨格を有する被験物質群に対して光安全性評価系を適用し、良好な光安全性予測が可能であったが、本研究にて構造的多様性を有する被験物質群をラットに経口投与あるいは皮膚適用した際の光安全性評価を実施した。その結果、投与方法(経口投与あるいは皮膚への塗布)に依らず、提案する光安全性評価系は構想的多様性を有する被験物質群においても、*in vivo* 光毒性試験で得られた結果および臨床報告と良好に対応する結果を得ることが

でき、光反応性および皮膚曝露評価に基づく光安全性評価系は、様々な化学物質の光毒性リスク評価に適用できることを示唆した。

皮膚適用した場合の化合物の光毒性リスク評価を目的として、皮膚曝露評価のための *in vivo* 薬物動態試験の代替法として *in vitro* 皮膚透過性試験を用いる皮膚曝露評価を光安全性評価系に組み込み、光反応性ならびに *in vitro* 皮膚曝露評価に基づく光安全性評価系を構築した。被験物質として同じ母骨格を有する被験物質群ならびに構造的多様性を有する被験物質群を用いて検討を行った。ROS assay ならびに *in vitro* 皮膚透過性試験より得られた結果を組み合わせ、ラットにおける *in vivo* 光毒性試験の結果と良い対応を示し、提案する光安全性評価系において、皮膚内動態評価を *in vitro* 皮膚透過性試験に変更しても信頼性のある光安全性評価が可能であることを示した。

さらに実験動物を用いない光安全性評価系の構築を目指し、人工膜を用いた皮膚曝露評価方法の構築を行った。人工膜を用いた *in vitro* 透過性試験の結果から人工膜内の化合物濃度を算出し、検討で用いた 6 種の被験物質について、本結果と光反応性の結果を組み合わせることによってそれぞれの被験物質の *in vivo* 光毒性評価の結果と良い対応を示し、新たな光安全性評価系構築の可能性を見出した。今後も異なる被験物質群を用いた検討を実施し、被験物質の光毒性情報と照会していくことで、適用可能性について精査し、実験動物に依存しない光安全性評価系の構築・提案を目指して継続的に研究を進めていく。

本研究は、医薬品・化粧品開発ならびに臨床において関心の高い薬剤性光線過敏症について、その効率的な光安全性評価系の構築を目的としており、今回見出した動物福祉を考慮した光安全性評価系の構築は光安全性の高い創薬・製品開発に貢献するとともに、国民の健康や国際的にも注目度の高い動物福祉に寄与することを期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nishida Hayato, Ohtake Toshiyuki, Ashikaga Takao, Hirota Morihiko, Onoue Satomi, Seto Yoshiki, Tokura Yoshiki, Kouzuki Hirokazu	4. 巻 77
2. 論文標題 In chemico sequential testing strategy for assessing the photoallergic potential	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxicology in Vitro	6. 最初と最後の頁 105245 ~ 105245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tiv.2021.105245	査読の有無 無
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 Seto Yoshiki, Tonami Ryo, Iyama Yosuke, Sato Hideyuki, Onoue Satomi	4. 巻 350
2. 論文標題 An approach to evaluate metabolite-related phototoxicity with combined use of photochemical properties and skin deposition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxicology Letters	6. 最初と最後の頁 91 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2021.07.007	査読の有無 無
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 Seto Yoshiki, Suzuki Gen, Aoki Asako, Kaneko Yuuki, Kato Masashi, Sato Hideyuki, Onoue Satomi	4. 巻 12
2. 論文標題 Novel approach for attenuation of pirfenidone-induced digestive symptoms: a respirable powder formulation of pirfenidone	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Therapeutic Delivery	6. 最初と最後の頁 515 ~ 522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4155/tde-2021-0027	査読の有無 無
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 Seto Yoshiki, Ohtake Hiroto, Sato Hideyuki, Onoue Satomi	4. 巻 113
2. 論文標題 Phototoxic risk assessment of dermally-applied chemicals with structural variety based on photoreactivity and skin deposition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Regulatory Toxicology and Pharmacology	6. 最初と最後の頁 104619 ~ 104619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yrtph.2020.104619	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 Yosuke, Sato Hideyuki, Seto Yoshiki, Onoue Satomi	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 European Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 105257 ~ 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 Yosuke, Sato Hideyuki, Seto Yoshiki, Onoue Satomi	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 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 Uchida Atsushi, Ohtake Hiroto, Suzuki Yukiko, Sato Hideyuki, Seto Yoshiki, Onoue Satomi, Oguchi Toshio	4. 巻 564
2. 論文標題 Photochemically stabilized formulation of dacarbazine with reduced production of algogenic photodegradants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 492 ~ 498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpharm.2019.04.063	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 Seto Yoshiki, Ueno Kodai, Suzuki Hiroki, Sato Hideyuki, Onoue Satomi	4. 巻 61
2. 論文標題 Development of novel lutein nanocrystal formulation with improved oral bioavailability and ocular distribution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	6. 最初と最後の頁 103499 ~ 103499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jff.2019.103499	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 Yosuke, Sato Hideyuki, Seto Yoshiki, Onoue Satomi	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 Toxicology Letters	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 Ohtake Hiroto, Tokuyoshi Yasuharu, Iyama Yosuke, Nukaga Takumi, Nishida Hayato, Ohtake Toshiyuki, Hirota Morihiko, Yamada Kohei, Seto Yoshiki, Sato Hideyuki, Kouzuki Hirokazu, Onoue Satomi	4. 巻 47
2. 論文標題 Reactive oxygen species (ROS) assay-based photosafety screening for complex ingredients: Modification of the ROS assay protocol	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 483 ~ 492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.47.483	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 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 世戸孝樹、猪山陽輔、佐藤秀行、尾上誠良
2. 発表標題 動物実験代替法としての化学物質の光安全性評価系の構築
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部 合同学術大会 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 勇寿、猪山 陽輔、世戸 孝樹、佐藤 秀行、尾上 誠良
2. 発表標題 St. John's Wort エキスの光毒性リスク評価：主要成分の光反応性および in vitro 皮膚蓄積性に基づく統合的解析
3. 学会等名 日本薬学会 第 140 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 望月 大吾、世戸 孝樹、佐藤 秀行、尾上 誠良
2. 発表標題 ナノエマルジョン技術による fisetin の皮膚移行性および皮膚保護作用の向上
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2020
4. 発表年 2020年

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 日本薬剤学会第 34 年会
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
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
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
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yosuke Iyama, Hideyuki Sato, Yoshiki 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 (国際学会)
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 薬剤性光線過敏症リスク評価における代謝物の皮膚内動態評価の重要性
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部 合同学術大会 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 徳吉泰春、猪山陽輔、額賀巧、廣田衛彦、上月裕一、佐藤秀行、世戸孝樹、尾上誠良
2. 発表標題 Reactive oxygen species (ROS) assay による分子量不明素材における光反応性評価
3. 学会等名 日本動物実験代替法学会第 32 回大会
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 動物実験を用いない光安全性評価系の開発：経皮適用時の光毒性リスク
3. 学会等名 日本動物実験代替法学会第 32 回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 世戸孝樹，尾上誠良
2. 発表標題 迅速かつ高効率な光毒性リスク予測を実現する光安全性評価手法の戦略的開発
3. 学会等名 第 12 回 レギュラトリーサイエンス学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022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