

201024056A

## 厚生労働科学研究費補助金

### 難治性疾患克服 研究事業

重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための  
低侵襲かつ安全安心な吸入ナノ医療の実用化臨床試験  
(H21-難治-一般-220)

平成22年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成23(2011)年5月

# 厚生労働科学研究費補助金

## 難治性疾患克服 研究事業

重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための低侵襲かつ安全  
安心な吸入ナノ医療の実用化臨床試験（H21－難治－一般－220）

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成 23（2011）年 5 月

## 【目 次】

I.	研究組織	1
II.	総括・分担研究報告書	2
1.	研究の要約(概要)	2
2.	研究の必要性ならびに目的	4
3.	期待される効果：新産業創出と我が国産業の競争力強化	6
4.	独創的な点と特色	7
5.	研究計画・方法	8
6.	平成21～22年度の成果	11
7.	考察と今後の展開	18
8.	健康危険情報	19
9.	研究発表	19
10.	知的財産権の出願・登録状況	19
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	20
IV.	研究成果の刊行物・別刷	23

## 【研究組織】

### ※主任研究者：

江頭 健輔 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・准教授

### ※分担研究者：

中野 覚 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・学術研究員(特任講師)

的場 哲哉 九州大学病院 循環器内科・助教

砂川 賢二 九州大学大学院医学研究院 循環器内科学・教授

中西 洋一 九州大学大学院医学研究院 呼吸器内科学・教授

戸高 浩司 九州大学病院 循環器内科・特任准教授

桑原 良宇 興和株式会社 医薬事業部 製品戦略部・部長

辻本 広行 ホソカワミクロン株式会社 粉体工学研究所・センター長

厚生労働科学研究費補助金  
(難治性疾患克服 研究事業)

## 【総括・分担研究報告書】

「重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための低侵襲かつ  
安全安心な吸入ナノ医療の実用化臨床試験」(H21-難治-一般-220)

主任研究者 江頭 健輔  
(九州大学大学院医学研究院 循環器内科学 准教授)

### 1. 研究の要約 (概要)

#### 【研究の目的・必要性・背景】

重症肺高血圧症は QOL の悪化をもたらす予後不良の特定疾患であり、予後と生活の質を改善する安全安心な低侵襲治療法の実用化が期待されている。

申請者らはナノ医工薬学融合技術に基づいて生体吸収性ナノ粒子を用いた吸入ドラッグデリバリーシステム (DDS) を開発した (特許国際公開)。この日本発の独創的な“吸入ナノ DDS”技術は、低侵襲かつ安全安心な吸入ナノ医療になることが期待される。

申請者らは HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) の肺血管保護作用に注目して研究し、ピタバスタチンが最も強力な血管保護作用を有することを見出した。また、ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子 (NK-104-NP) 製剤の気管内投与によって、重症肺高血圧症モデルや急性肺傷害モデルでの病態が著明に改善した (特許国際公開)。

本研究の目的は、NK-104-NP 製剤を開発し、重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための低侵襲かつ安全安心な吸入ナノ医療を創出し、実用化のための臨床試験を行うことである。

#### 【期待される成果 (新産業創出と我が国産業の競争力強化)、独創性、特色など】

**革新的低侵襲吸入ナノ医療の実現**：重症肺高血圧症に対する低侵襲かつ安全安心なナノ医療が創出される点で臨床的意義は大きい。更に、本吸入ナノ DDS 技術は肺高血圧症以外の特発性間質性肺炎・肺線維症、びまん性汎細気管支炎といった難治性疾患や閉塞性肺疾患、肺ガンの治療にも応用できる。

**国民・社会への貢献**：予後や生活の質を改善する高効果・低侵襲医療が達成できる。「世界標準」ナノ医療の誕生によって、新しい医療産業がもたらされ雇用が創出できることから、我が国の産業の競争力強化への貢献も極めて大きい。

#### 【研究計画・方法】

重症肺高血圧症に対する NK-104-NP 製剤の臨床応用に向け、①最適化の研究開発、②安全性試験、③吸入製剤の設計・開発、④探索的臨床試験、を推進する。

3 年計画であり 3 年目に九州大学橋渡し拠点 (高度先端医療センター) ならびに先端医療開発特区 (スーパー特区) の枠組みを活用して First in man 臨床試験を実施する。

# 事業化ロードマップ

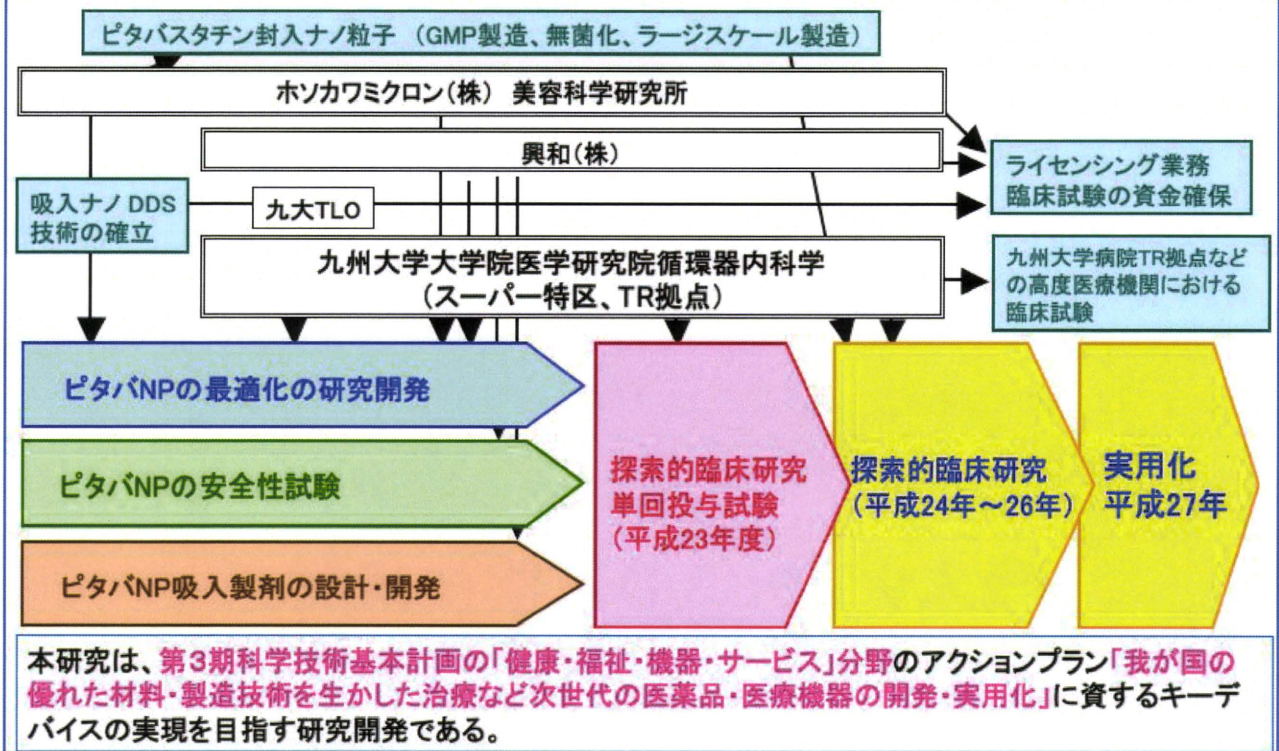


図1 事業化ロードマップ

## 2. 研究の必要性ならびに目的

### 【必要性、背景】

重症肺高血圧症は QOL の悪化をもたらす予後不良の特定疾患である。最近、プロスタサイクリン持続静注法や、ホスホジエステラーゼ V 阻害薬、エンドセリン受容体拮抗薬などの新しい治療法が導入されているが、5 年生存率は 60% 以下であり、その効果は未だ不十分である。したがって、重症肺高血圧症に対する低侵襲かつ効果的で安全安心な治療の研究開発が期待されている。

ナノテクノロジーは、日本発の革新的次世代医療の創出の「切り札」と期待されており、ナノドラッグデリバリーシステム（ナノ DDS）を活用した医薬品・医療機器開発は優先課題として推進されている。この観点から、申請者らはナノ医工薬学融合技術に基づいて生体吸収性ナノ粒子を用いた吸入 DDS を開発し、「吸入ナノ DDS は低侵襲であり、かつ安全安心のナノ医療になる」という仮説を立てた。この世界初の“吸入ナノ DDS”技術は以下の独創性と特色を持つ：（1）優れた細胞導入効率、（2）優れた細胞内安定性と徐放性（細胞内 DDS）、（3）吸入に適した空気力学的粒子径に複合（コンポジット）化するための高次構造制御技術。

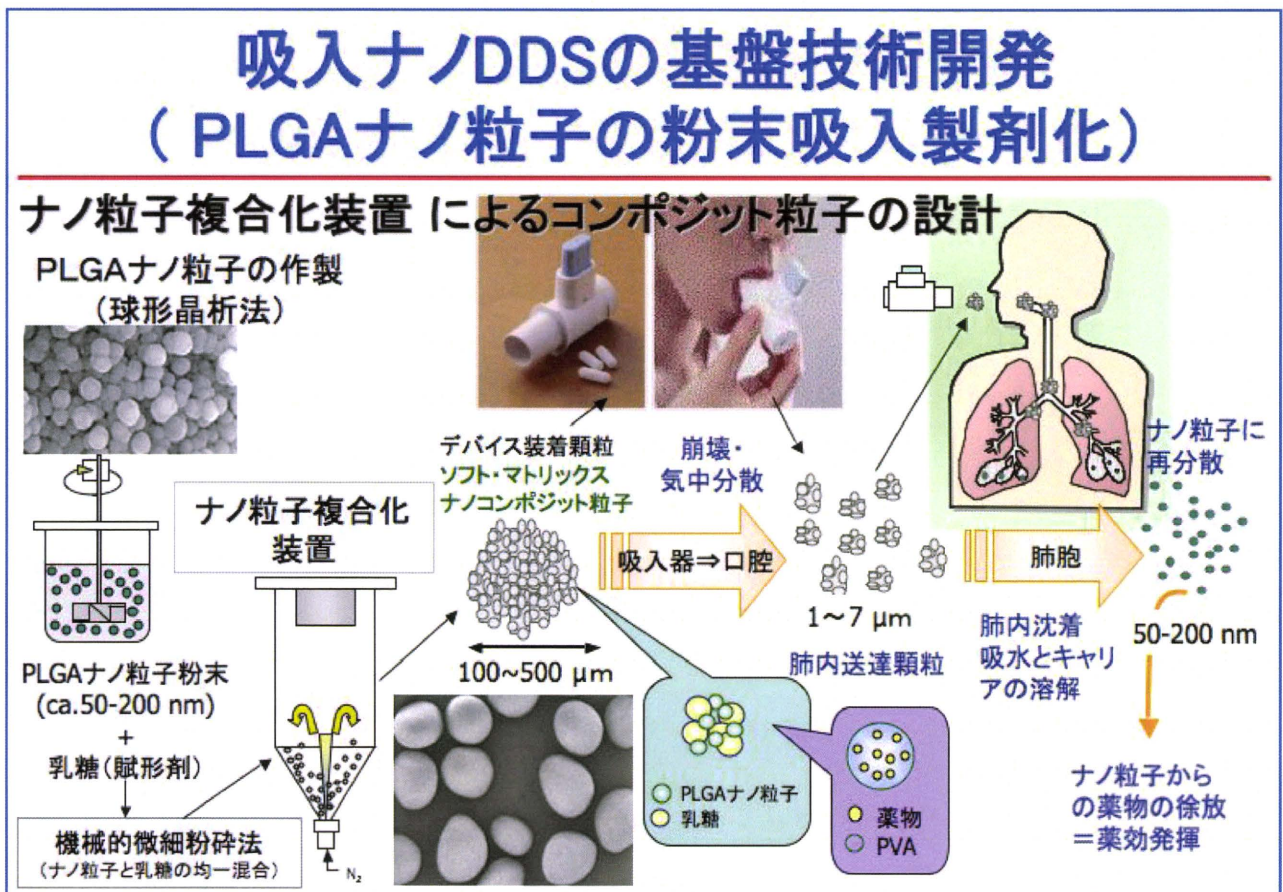


図2 吸入ナノ DDS 技術

また、申請者らはスタチンの血管保護作用に注目して研究し、ピタバスタチンが最も強力な肺血管保護作用を有することを見いだした。

更に、(1) ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子 (NK-104-NP) 製剤のヒト培養肺動脈細胞におけるナノ粒子の細胞内導入と細胞内 DDS の有効性、(2) ピタバスタチンとして 0.4 mg/kg を含有する NK-104-NP 製剤の単回気管内投与によるラット重症肺高血圧症モデルにおける生命予後の改善を伴う右心室圧の低下 (図 3) 及びマウス急性肺傷害モデルにおける病態の著明な改善を明らかにした (特許国際出願)。

上記ラット重症肺高血圧症モデルにおいて、NK-104-NP の有効成分であるピタバスタチンの経口投与の効果を検討したところ、1 mg/kg/日の 21 日間投与によって肺高血圧症の改善が認められた。したがって、本ナノ DDS を用いたピタバスタチンの気管内局所投与は、全身経口投与量の 840 分の 1 の低用量で同じ効果を発揮することが明らかとなった。

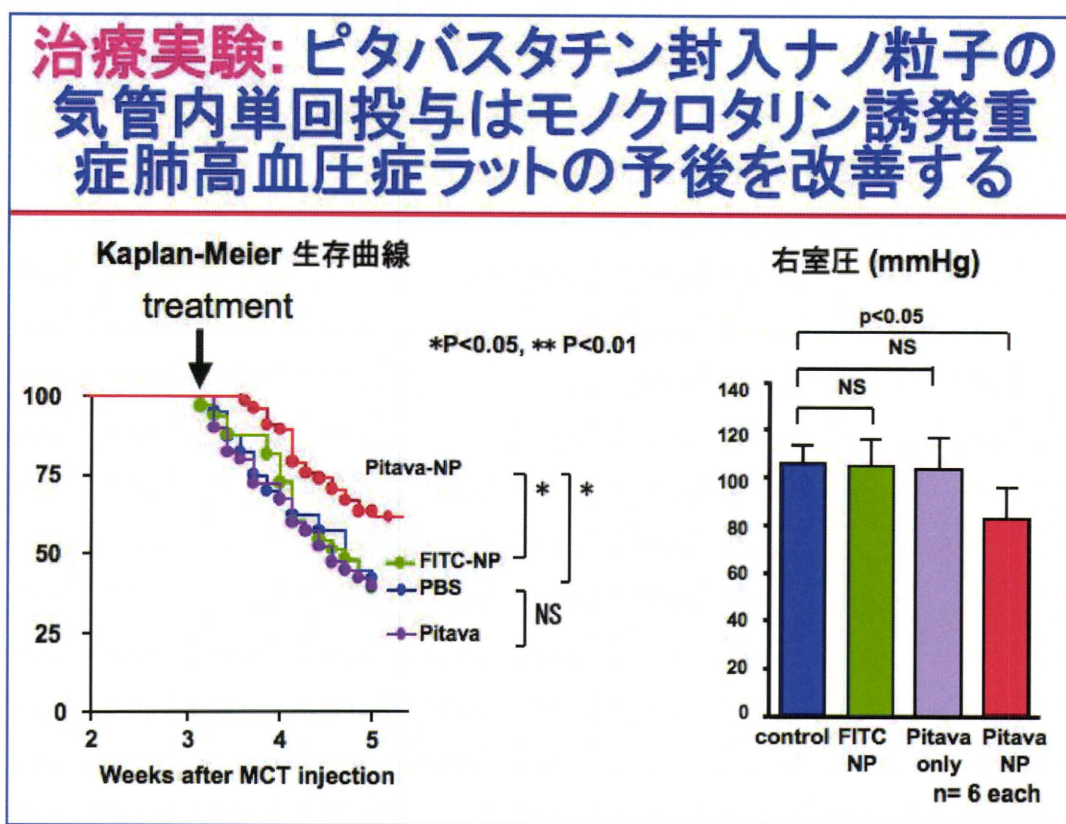


図3 ラット重症肺高血圧症モデルにおけるNK-104-NPの効果

### 【目的】

本研究の目的は、これらの成果を基盤にしてNK-104-NP吸入製剤を開発し、重症肺高血圧症の予後と生活の質を改善するための低侵襲かつ安全安心な吸入ナノ医療を創出し、実用化のための臨床試験を行いProof of concept (POC) を獲得することである。

### 3. 期待される効果：新産業創出と我が国産業の競争力強化

#### 1) 新規申請時点での研究段階

- スタチンの中で血管保護作用が最も強いピタバスタチンを用いてピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子 (NK-104-NP) 製剤の製造に成功。吸入用の複合化製剤製造に成功。
- NK-104-NP 製剤の有効性を検証：ラット重症肺高血圧症モデルにおいて、肺高血圧の進行を防止し、生命予後を改善することを明らかにした。マウス急性肺傷害モデルにおいて肺の炎症・傷害を抑制することを明らかにした。
- NK-104-NP 製剤の安全性・安定性試験を GLP 基準下で実施し、その安全性に問題がないことを確認した。

#### 2) 現時点における開発までの課題（申請課題の計画）

- NK-104-NP の高次構造を複合化により制御し、空気力学的粒子径を最適化する。NK-104-NP に最適な処方法の検討、吸入デバイスの選択を行い、NK-104-NP 吸入製剤を製造する。
- 適切な動物モデルで薬効薬理試験を行い、臨床における用法用量を推定する。NK-104-NP の安全性試験を GLP 基準下で実施する。
- NK-104-NP 吸入製剤を用いた臨床試験を実施（単回・反復投与試験）

#### 3) 本申請研究終了時に期待される目標

NK-104-NP 吸入製剤が重症肺高血圧症に対する低侵襲かつ安全安心な吸入ナノ治療になるという Proof of concept (POC) を得る。

#### 4) 研究分野の長期的な目標（期待される研究成果ならびに社会的成果）

- NK-104-NP の吸入ナノ DDS によりピタバスタチンの病巣選択的送達が可能になれば、重症肺高血圧症に対する革新的低侵襲治療法となり、患者の QOL・生命予後の改善や早期社会復帰を可能とする高効果・低副作用の低侵襲医療が達成できる。「健康フロンティア」構想の健康寿命の延長、健康安心の推進の達成にも大きく貢献する。
- 本ナノ吸入 DDS 技術は肺高血圧症以外の特発性間質性肺炎・肺線維症、びまん性汎細気管支炎といった難治性疾患や閉塞性肺疾患、肺ガンの治療にも応用できる。
- 国際競争力を有する「世界標準」ナノ医療の誕生により、新しい医療産業・雇用が創出され、我が国の産業競争力の強化、厚生労働科学ならびに行政に貢献する点で極めて意義が大きい。

## 4. 独創的な点と特色

### 【革新的低侵襲吸入ナノ医療の実現】

NK-104-NP 吸入製剤によってピタバスタチンの選択的送達が可能になれば、重症肺高血圧症に対する低侵襲かつ安全安心なナノ治療法が創出される点で臨床的意義は大きい。更に、本吸入ナノ DDS 技術は肺高血圧症以外の特発性間質性肺炎・肺線維症、びまん性汎細気管支炎といった難治性疾患や閉塞性肺疾患、肺ガンの治療にも応用できる点も特色となる。

### 【国民・社会への貢献】

予後や生活の質を改善する高効果・低侵襲医療が達成できる。また、国際競争力を有する「世界標準」ナノ医療の誕生によって、新しい医療産業がもたらされ雇用が創出できることから、我が国の産業の競争力強化への貢献も極めて大きい。

### 【実用化を目指した研究開発体制】

本研究は日本発独創的な先端医療を創出することに焦点を絞ったナノ医工薬学融合研究であるだけでなく、適切な日本企業の参加によって推進される産学官連携による研究開発である。厚生労働科学に対する貢献は充分大きい。

## 5. 研究計画・方法

### 【実用化を目指した研究開発体制】

江頭が総括する。重症肺高血圧症に対するピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子 (NK-104-NP) 製剤の実用化のために以下の4課題を推進する：

- ①NK-104-NP の最適化の研究開発、薬効薬理試験
- ②NK-104-NP の安全性試験
- ③NK-104-NP 吸入製剤の設計・開発・複合化
- ④NK-104-NP 吸入製剤を用いた探索的臨床試験

- 研究代表者の江頭は本研究開発の基盤技術を開発し、重症肺高血圧症モデルへの気管内投与による有効性を明らかにした（特許国際公開）。
- 本研究開発を遅滞なく進めるために適切な企業と連携した。興和（株）はピタバスタチン内服固形製剤（リバロ錠）の研究開発・販売の実績があり、ピタバスタチンに関する豊富な情報・経験を持つことから、NK-104-NP 吸入製剤の設計・開発及び安全性試験を担当する。
- ホソカワミクロン（株）（以下、ホソカワとする）は、NK-104-NP の製造技術を有するため、NK-104-NP 吸入製剤に必要なナノ粒子の製造を担当する。
- 臨床試験は文科省の橋渡し拠点機関である九州大学の高度先端医療センターで行う。そのセンター長（中西）が分担研究者として、倫理審査・臨床試験計画立案・薬事・試験物製造や管理などの業務を支援する。
- 承認申請に用いるデータマネジメントなどはレギュラトリーサイエンスの専門家である戸高が担当し実用化を支援する。医薬品医療機器総合機構（PMDA）と情報交換し承認に支障が生じないようにする。

### 【研究開発項目ごとの全体計画と年次計画】

#### 1. NK-104-NP の最適化の研究開発・薬効薬理試験

##### 1) 薬効発現に最適な NK-104-NP の作製（平成 21～22 年度）

NK-104-NP の粒子径や NK-104-NP の複合化による二次凝集体の粒子径を調整し、肺組織での薬効発現に最適な NK-104-NP を作製した。

##### 2) NK-104-NP 気管内投与による薬効薬理試験（平成 21～23 年度）

モノクロタリン誘発肺高血圧症ラットモデルにて、ピタバスタチンの気管内投与が全身経口投与と比較して優位であること、2 次性肺高血圧症モデル（ラットタバコ煙曝露慢性閉塞性肺疾患モデル、マウス LPS 誘発急性肺傷害モデル）にて、NK-104-NP の気管内投与が気管支肺胞洗浄液中の好中球の浸潤を抑制すること確認した。

また、平成 22 年度までに、臨床試験における適切な用法用量を推定するための霊長類（カニクイザル）モデルとしてブレオマイシン誘発肺臓炎モデルを作製することに成功した。平成 23 年度には、本モデルを用いて、各種用量のピタバスタチン及び NK-104-NP を気管内投与し、その有効性を検証する。

##### 3) NK-104-NP 吸入投与による薬効薬理試験（平成 22～23 年度）

薬効発現に最適な NK-104-NP を用いて、NK-104-NP の吸入投与による有効性を気管内投与と比較して検証する。

## 2. NK-104-NP の安全性試験（平成 21～23 年度）

GLP 基準下にて NK-104-NP の気管内又は吸入投与による安全性試験を実施する。

1) ラット・イヌ静脈内投与試験：5 日間もしくは 7 日間の用量設定試験、GLP 基準下での 28 日間反復投与試験を実施し、静脈内投与における 28 日間反復投与での無毒性量が確認された。

2) ラット・サル気管内投与試験：探索的単回投与試験、7 日間の用量設定試験、28 日間反復投与試験を実施した。ラット 28 日間反復気管内噴霧投与で無毒性量が確認された。サル 28 日間気管内反復投与試験では肺組織への均一な分布が困難であり、無毒性量が得られなかった。

3) 吸入投与試験：被験物質を粉体の NK-104-NP 吸入製剤とし、ラット 14 日間及びサル 7 日間反復吸入毒性試験を実施し、NK-104-NP 吸入製剤の無毒性量が確認された。

平成 23 年度には NK-104-NP の吸入投与試験毒性試験を実施する。

## 3. NK-104-NP 吸入製剤の設計・開発

### 1) 処方検討（平成 21～22 年度）

NK-104-NP 吸入製剤の処方検討、製造した NK-104-NP 吸入製剤による *in vitro* での粒子径の空気力学的評価を実施した。製造された製剤は治療ターゲットと考えられる肺深部に到達する粒子径であることが確認された。

### 2) 吸入デバイスの評価（平成 23 年度）

吸入デバイスを用いた製剤検討を行う。

### 3) NK-104-NP 吸入製剤の試作（平成 22～23 年度）

製造スケールアップの検討を行い、吸入毒性試験用製剤の製造を行った。また、Phase I 試験用製剤の製造に向け、NK-104-NP の GMP 製造の検討を実施した。平成 23 年度にも引き続き NK-104-NP の GMP 製造の検討を行う。

### 4) NK-104-NP 吸入製剤の製造（平成 22～23 年度）

探索的臨床研究用の NK-104-NP 吸入製剤の製造を行う。

## 4. 探索的臨床試験（平成 22～23 年度：九州大学橋渡し拠点、スーパー特区）

### 1) First in Man (FIM) 臨床試験プロトコルの作成・承認（平成 22～23 年度：九州大学）

NK-104-NP の基礎における有効性と安全性データを基に、平成 23 年度には橋渡し拠点（高度先端医療センター）の支援を得て新規申請時に添付した臨床試験プロトコルの改訂を行う。

### 2) 臨床試験の実施（平成 23 年度：九州大学）

橋渡し拠点（高度先端医療センター）の支援の下に、倫理委員会などの審査機関の承認を得て、九州大学病院循環器内科において探索的橋渡し臨床試験（単回・反復投与試験）を実施する。単回投与は、NK-104-NP をピタバスタチンとして 1、2、4 mg を含有する群を設定し、被験者数は 21 例（各群 7 例、計 21 例）とする。反復投与試験は、同様に 3 群・21 例とする。臨床試験の前に医薬品医療機器総合機構（PMDA）と情報交換し承認に支障が生じないようにする。

# 低侵襲かつ安全安心な吸入ナノ医療の 実用化臨床試験の実施体制

TR拠点・スーパー特区を活用し成果を迅速に国民に還元

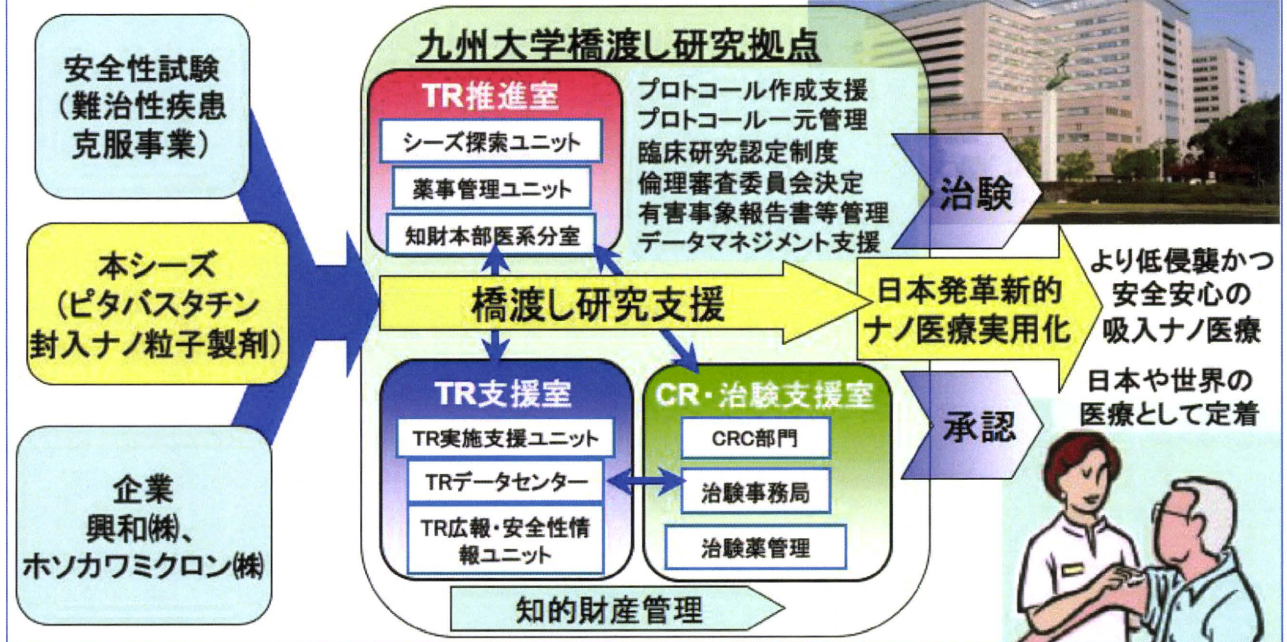


図4 事業化体制

## 6. 平成21～22年度の成果

### 1. ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子 (NK-104-NP) の最適化の研究開発・薬効薬理試験

#### 1) 薬効発現に最適な NK-104-NP の作製 (平成 21 年度)

川島らの開発した水中エマルジョン溶媒拡散法 (Int J Pharm. 1999;187:143-152) を用いてピタバスタチンを含有する生体吸収性高分子ポリマー (PLGA) 製ナノ粒子を作製した。その結果、平均粒子径 200 nm 以下で、ピタバスタチンの含有率が約 12% の NK-104-NP が得られた。

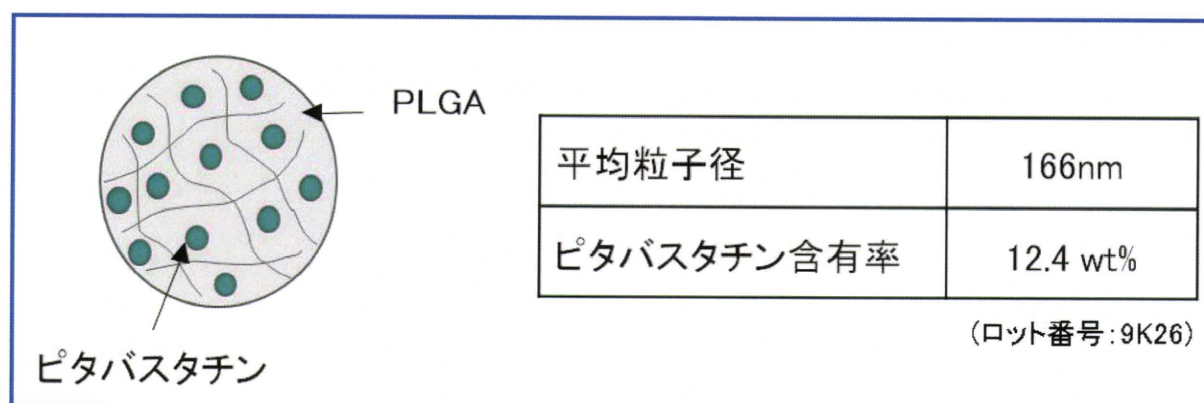


図5 NK-104-NP の平均粒子径とピタバスタチン含有率

#### 2) NK-104-NP 気管内投与による薬効薬理試験

##### ① ラットモノクロタリン誘発重症肺高血圧症モデルにおける評価 (平成 21 年度)

NK-104-NP の気管内局所投与がピタバスタチン原体の経口全身投与と比較して優位であることを明らかにした。即ち、ピタバスタチンとして 0.1 mg/body に相当する NK-104-NP の単回気管内投与によって、肺高血圧症の進行防止に伴って生命予後の改善がもたらされた。一方、ピタバスタチン原体の経口投与によって同じ効果を得るためには 4 mg/body/日の 21 日間投与が必要であった。更に経口投与群では、血中 CPK が上昇する横紋筋融解症様症状が生じた。したがって、本ナノ DDS を用いたピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子の気管内投与は、経口投与量の 840 分の 1 の低用量で同じ効果を副作用無く発揮することが明らかとなった。

##### ② マウス LPS 誘発急性肺傷害モデルにおける評価 (平成 21 年度)

NK-104-NP の気管内投与による有効性を経口投与と比較するため、マウス LPS 誘発急性肺傷害モデルを用いて NK-104-NP 0、0.08、0.8、8 mg/kg の単回気管内投与と、NK-104-NP の有効成分であるピタバスタチン 0、1、10 mg/kg の 7 日間反復経口投与の比較試験を実施した。ピタバスタチンの反復経口投与の用量について、ヒトの体重を 60 kg とした場合にピタバスタチンのヒトでの最大投与量 4 mg/body は 0.067 mg/kg に相当するが、ピタバスタチンの多面的効果を検討するため、通常用量としてその 15 倍である 1 mg/kg を、最大用量として 150 倍である 10 mg/kg を選択した。また、投与期間はピタバスタチンの血中濃度が定常状態となる 7 日間とした。両グループとも、最終投与約 24 時間後に LPS を吸入曝露させ、その約 4 時間後に採血及び気管支肺胞洗浄液の採取を行った。本試験は、気管支肺胞洗浄液中の総白血球数 (好中球数、単球・マクロファージ数、リンパ球数及び好酸球数) 及び血液生化学的検査 (AST、ALT、TP、Alb 及び CK) を評価の指標とした。

気管内投与グループでは、気管支肺胞洗浄液の検査において、ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子(NK-104-NP)の 0.08 mg/kg 群と 0.8 mg/kg 群で総白血球数と好中球数が減少し、0.8 mg/kg 群では統計学的な有意差が認められた。経口投与グループでは、気管支肺胞洗浄液の検査において、投与全群に変化は認められなかった。なお、気管内投与グループ及び経口投与グループともに、血液生化学的検査では変化は認められなかった。

以上より、NK-104-NP は 0.8 mg/kg の単回気管内投与により、総白血球数と好中球数を減少させる薬理作用は認められたが、その有効成分であるピタバスタチンの 7 日間反復経口投与では、薬理作用は認められなかった。

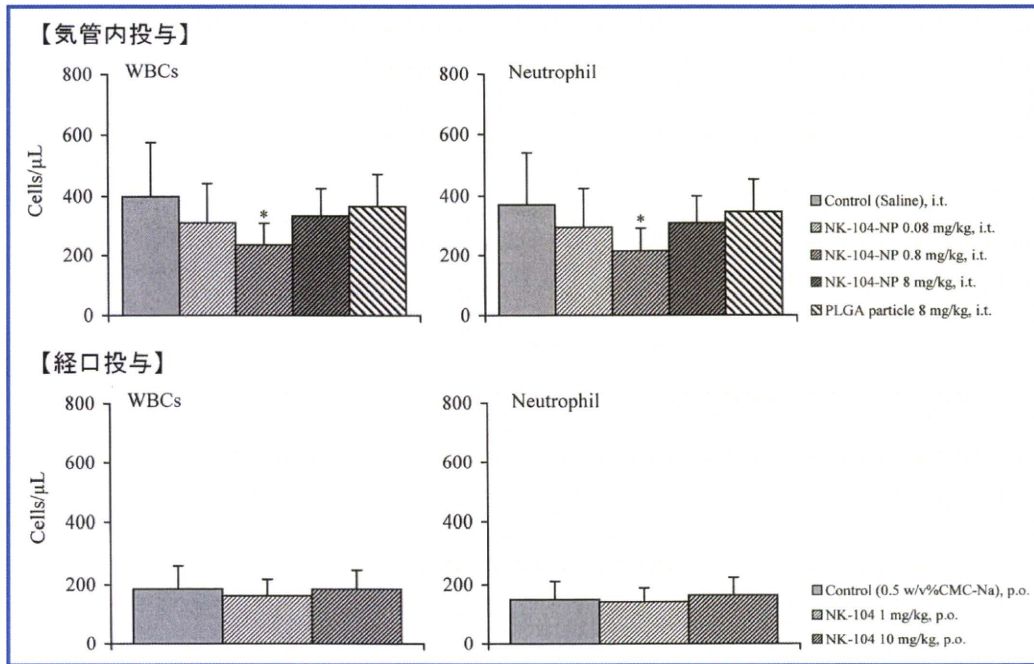


図6 マウス LPS 誘発急性肺傷害モデルにおける NK-104-NP の薬効評価

### ③ 慢性閉塞性肺疾患（続発性肺高血圧症を呈する）のラットモデルにおける評価（平成 21～22 年度）

平成 21 年度に、呼吸機能、肺機能、気管支肺胞洗浄液中細胞数及び組織の変化に対する効果を検討するため、ラットに 1 日 40 本、8 週間、タバコの煙を連日曝露させ慢性閉塞性肺疾患（COPD）モデルを作製した。

その結果、一般状態の観察では特筆すべき所見は認められなかったが、呼吸機能の評価において、ピーク呼気フローの減少が認められた。このことから、8 週間のタバコの煙の曝露により、呼吸機能に異常をきたした COPD 様症状を呈していることが確認された。平成 22 年度に、このモデルを用いて NK-104-NP 2 用量の 14 日間反復気管内投与と、NK-104-NP の有効成分であるピタバスタチン 2 用量の 14 日間反復経口投与による有効性を比較したところ、NK-104-NP によってタバコ煙曝露による気道管腔内への好中球浸潤を抑制した。

### ④ 続発性肺高血圧症を呈する肺線維症の霊長類モデルにおける評価（平成 21 年度）

臨床試験における適切な用法用量を推定するために霊長類であるカニクイザルを用いて、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルを作製することに成功した。本モデルを用いて、各種用量のピタバスタチン及び NK-104-NP を気管内投与し、NK-104-NP の有効性を検証する予定である。

## 2. ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子（NK-104-NP）の安全性試験

### ① ラット及びイヌにおける静脈内投与毒性試験（平成 21 年度）

ラットの 5 日間投与試験の結果より、28 日間投与試験において設定した 3 用量では、現時点で毒性学的に意義ある変化は認められなかった。

同様に、イヌの 7 日間投与試験の結果より、28 日間投与試験において設定した 3 用量でも、現時点で毒性学的に意義ある変化は認められなかった。更に、本剤の薬理効果である総コレステロールの低下作用も認められなかった。

### ② ラット及びサルにおける気管内投与毒性試験（平成 21～22 年度）

ラット 7 日間投与試験の結果より、28 日間投与試験において 3 用量を設定した。この内、最高用量で雄 2 例が投与直後に死亡したが、麻酔下で多量の薬液を気管内投与するという特殊な手法を用いたための、窒息による事故死と判断された。それ以下の 2 用量では現時点で毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

サル 7 日間投与試験の結果より、28 日間投与試験において 3 用量を設定した。結果、薬剤が肺局所に集中することによる刺激が原因と見られる変化が認められたため、肺に均一に分散する製剤及び投与方法で毒性試験を実施する必要性が考えられた。また、いずれの投与量でも本剤の薬理効果である総コレステロールの低下作用は認められなかった。

ラット及びサルでの気管内投与による本剤の体内動態に関して、サルでは投与 5 分で最高血中濃度を示したことから、肺からは極めて速やかに血液中に移行すると考えられた。ただし、ラットでは実験手技上、投与 15 分後以降でなければ採血できないため、Tmax は確認されなかった。また、ラット及びサルにおいては、ほぼ、投与量と相関した Cmax や AUC を示した。一方、ラットとサルの体内動態を比較すると、AUC<sub>0-24h</sub> (ng·h/mL) はサル/ラット=4.3 倍、投与 15 分後の血中濃度 (ng/mL) はサル/ラット=6.1 倍であり、ラットに比較してサルでより多量に血液中に移行すると考えられた。

### ③ ラット及びサルにおける NK-104-NP 吸入製剤の吸入投与毒性試験（平成 22 年度）

ラット及びサルにおいて、NK-104-NP を肺に均一に分散する製剤としての NK-104-NP 吸入製剤の 14 日間反復吸入毒性試験、28 日間反復吸入毒性試験を実施し、NK-104-NP 吸入製剤の無毒性量を確認した。

## 3. 吸入製剤の処方検討とデバイスの試作

肺は総表面積が非常に大きく、毛細血管も肺胞の周囲に密集しており、薄い肺胞上皮細胞を経て直接循環血液中に薬物を送達させることが可能であるため、難吸収性薬物の投与経路として注目を集めている。また、気管支喘息治療薬や肺高血圧症治療薬などの経肺投与により局所での薬効を発揮させることができれば、投与量の著しい低減と副作用の軽減が期待できる。しかしながら、一般的に吸収に有効である粒子、あるいは上記疾患の治療対象領域である気管支から肺深部への送達が可能である粒子は、空気力学的粒子径で約 0.4~6  $\mu\text{m}$  とされており、粒子設計が重要な鍵を握ると示唆される。

### ① NK-104-NP 吸入製剤の作製（平成 21~22 年度）

平成 21 年度、NK-104-NP の吸入投与に最適な製剤設計を目的とし、NK-104-NP 吸入製剤の開発を検討した。NK-104-NP 又はピタバスタチンに、賦形剤を添加し、ピタバスタチンを低用量又は高用量含有する NK-104-NP 吸入製剤及びピタバスタチン吸入製剤を設計した。その結果、平均 1.6  $\mu\text{m}$  の粒子径分布を示す NK-104-NP 吸入製剤及びピタバスタチン吸入製剤が得られた。

次に、New Generation Impactor (NGI) により空気力学的粒子径を測定し、NK-104-NP 吸入製剤及びピタバスタチン吸入製剤が肺深部へ送達可能である粒子径であるかを評価した。NGI による空気力学的粒子径の評価法を図 7 に、NK-104-NP 吸入製剤の空気力学的粒子径分布を図 8 に示す。

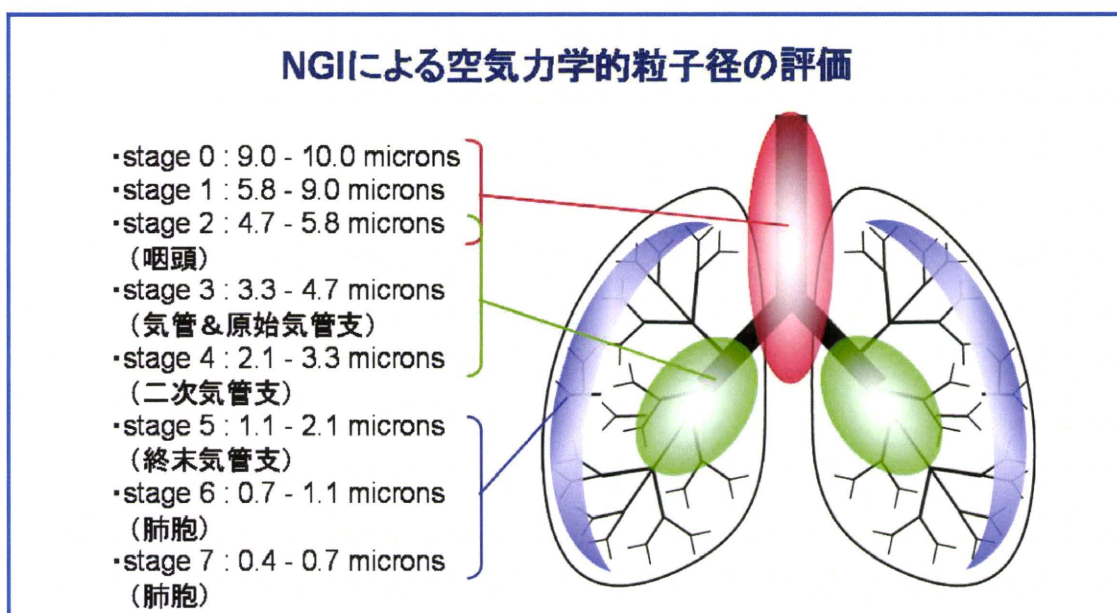
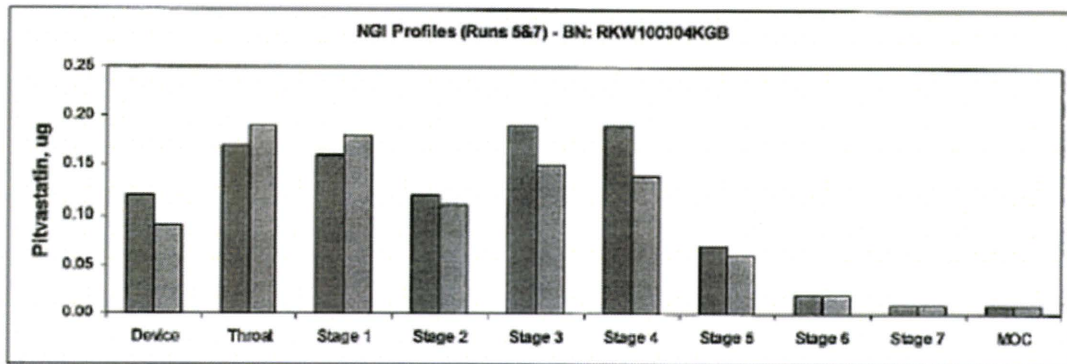


図 7 NGI による空気力学的粒子径の評価

### NK-104-NP吸入製剤



### ピタバスタチン吸入製剤

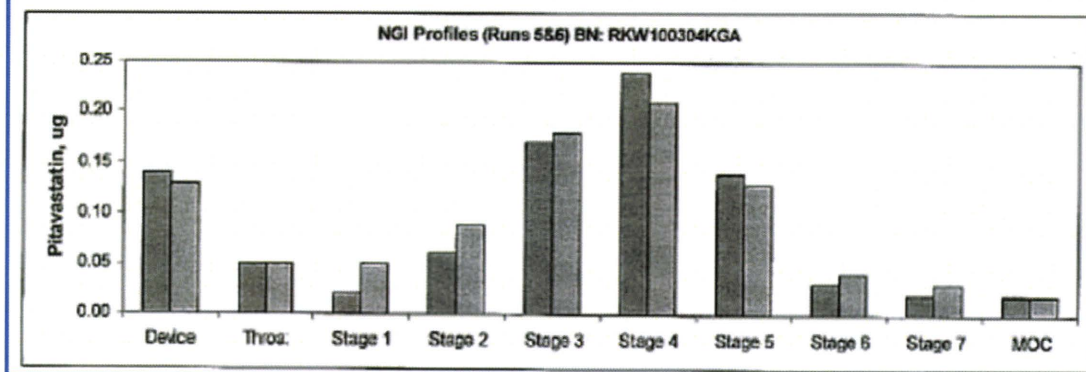


図8 NGIによるピタバスタチン封入PLGAナノ粒子（NK-104-NP）吸入製剤及びピタバスタチン吸入製剤の空気力学的粒子径分布

また、40°C/75% RHの条件下、10日間の安定性試験を実施し、粒子径分布、熱重量分析による質量変化、NGI分析による空気力学的分散を評価した（表1）。

表1 NK-104-NP吸入製剤及びピタバスタチン吸入製剤の10日間安定性試験結果

Formulation	Stability Time Point (day)	粒子径分布 (μm)			熱重量分析による質量変化 (%)	ピタバスタチン重量 (mg)		空気力学的質量中央径 (μm)
		× 10%	× 50%	× 90%		Fine Particle Mass		
						< 5μm	< 3μm	
NK-104-NP吸入製剤	0 (initial)	0.61	1.56	3.73	2.88	0.44	0.27	3.6
	10	0.70	1.82	4.84	2.85	0.37	0.25	4.5
ピタバスタチン吸入製剤	0 (initial)	0.66	1.57	3.37	3.61	0.62	0.49	2.3
	10	0.68	1.55	3.28	4.03	0.54	0.44	2.0

(保存条件: 40°C/75%RH)

以上の結果、肺深部への送達に適した粒子サイズの NK-104-NP 吸入製剤を開発可能であることが明らかとなった。

さらに平成 22 年度、NK-104-NP 吸入製剤及びピタバスタチン吸入製剤について、冷凍又は常温での含量及び性状の約 4 ヶ月間の安定性を検討したところ、いずれの製剤も冷凍又は常温での安定性が確認された。また、冷凍での輸送中安定性試験を実施し、往復約 2 週間の輸送中安定性が確認された。また、1 バッチで 50 g 以上の NK-104-NP 吸入製剤を製造できる装置へのスケールアップを行い、安全性試験、薬効薬理試験に供する NK-104 吸入製剤を作製した。

## ② ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子 (NK-104-NP) 吸入製剤製造技術の調査 (平成 21 年度)

肺への送達に適した製剤設計を目的として、NK-104-NP の粉末製剤化技術である①乾式圧縮せん断型粒子コンポジット化法、②湿式噴霧乾燥式流動層造粒法、③乾式噴流層型バインダレス造粒法の 3 種の粒子コンポジット化法に関して調査を行った (図 9)。

乾式圧縮せん断型粒子コンポジット化法により作製したコンポジット粒子は、吸入用キャリア乳糖粒子の表面へ PLGA ナノ粒子を薄層化した構造であるため、PLGA ナノ粒子を配合できる割合が他の造粒法よりも低いことが問題であることが解った。

湿式噴霧乾燥式流動層造粒法では、作製したコンポジット粒子中には、PLGA ナノ粒子を比較的多く配合でき、高い肺内到達率を示す可能性があるものの、湿式法であること、熱の影響を受けやすいこと、また、システム装置が他の造粒法よりも大がかりになることが問題であることが解った。

乾式噴流層型バインダレス造粒法により作製したコンポジット粒子は、PLGA ナノ粒子を 50%まで配合しても PLGA ナノ粒子の物性を確保できており、肺内到達率も他の造粒法に比べ顕著に劣らないことが明らかとなった。

以上のようなコンポジット化法の特徴と、水分への溶出が比較的早く、光の影響も受けやすいという本製剤上の特性を考慮すると、乾式で、1 バッチ 20 分程度で処理できる、「乾式噴流層型バインダレス造粒法」が適していると考えられた。

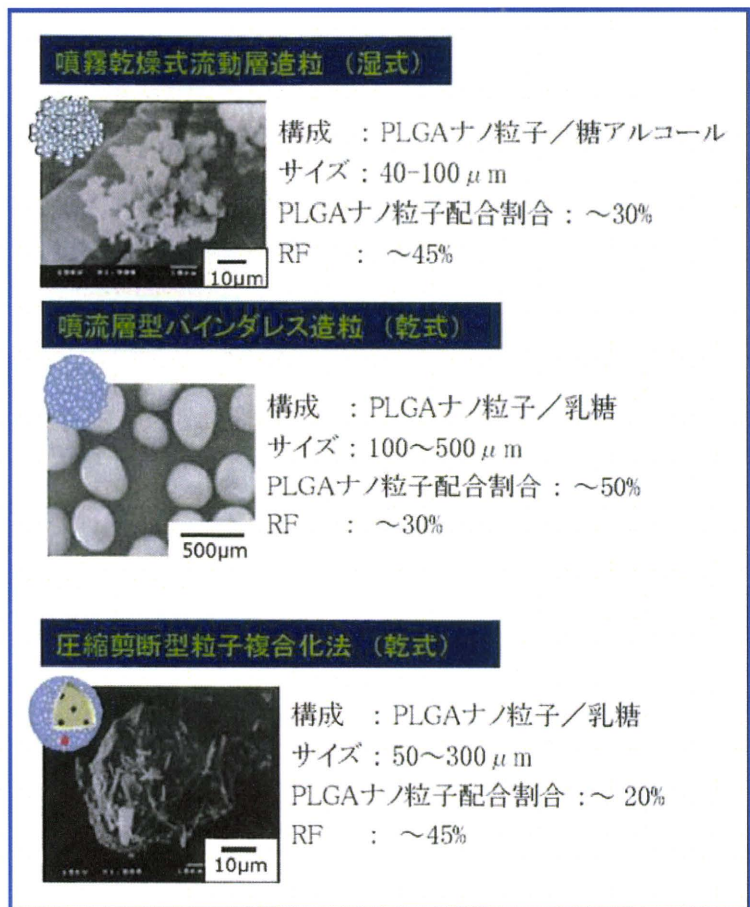


図 9 NK-104-NP 吸入製剤製造技術

### ③ NK-104-NP の GMP 製造の検討 (平成 22 年度)

NK-104-NP の GMP 製造を検討するため、NK-104-NP の製法トレース後、各種工程の条件検討、試験法の検討、分析法のバリデーションを行い、最適な粒度分布の NK-104-NP を作製できることが確認された。