

201128009A

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23年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成24(2012)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 23 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江頭 健輔

平成 24 (2012) 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	6
4.	独創的な点と特色	7
5.	研究計画・方法	8
6.	平成23年度の成果	11
7.	考察と今後の展開	14
8.	健康危険情報	15
9.	研究発表	15
10.	知的財産権の出願・登録状況	15
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	16
IV.	研究成果の刊行物・別刷	19

【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 循環器病先端医療研究開発学・教授

※分担研究者：

中野 覚 九州大学大学院医学研究院 循環器病先端医療研究開発学・准教授

的場 哲哉 九州大学病院 循環器内科・講師

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 マテリアル事業本部

製薬・美容科学研究センター・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 循環器病先端医療研究開発学 教授)

1. 研究の要約 (概要)

【研究の目的・必要性・背景】

重症肺高血圧症は生活の質 (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の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の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 (国内特許登録、米国特許登録、EU その他審査中、Egashira K et al. *Hypertension*. 2011)。

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 臨床試験を計画した。

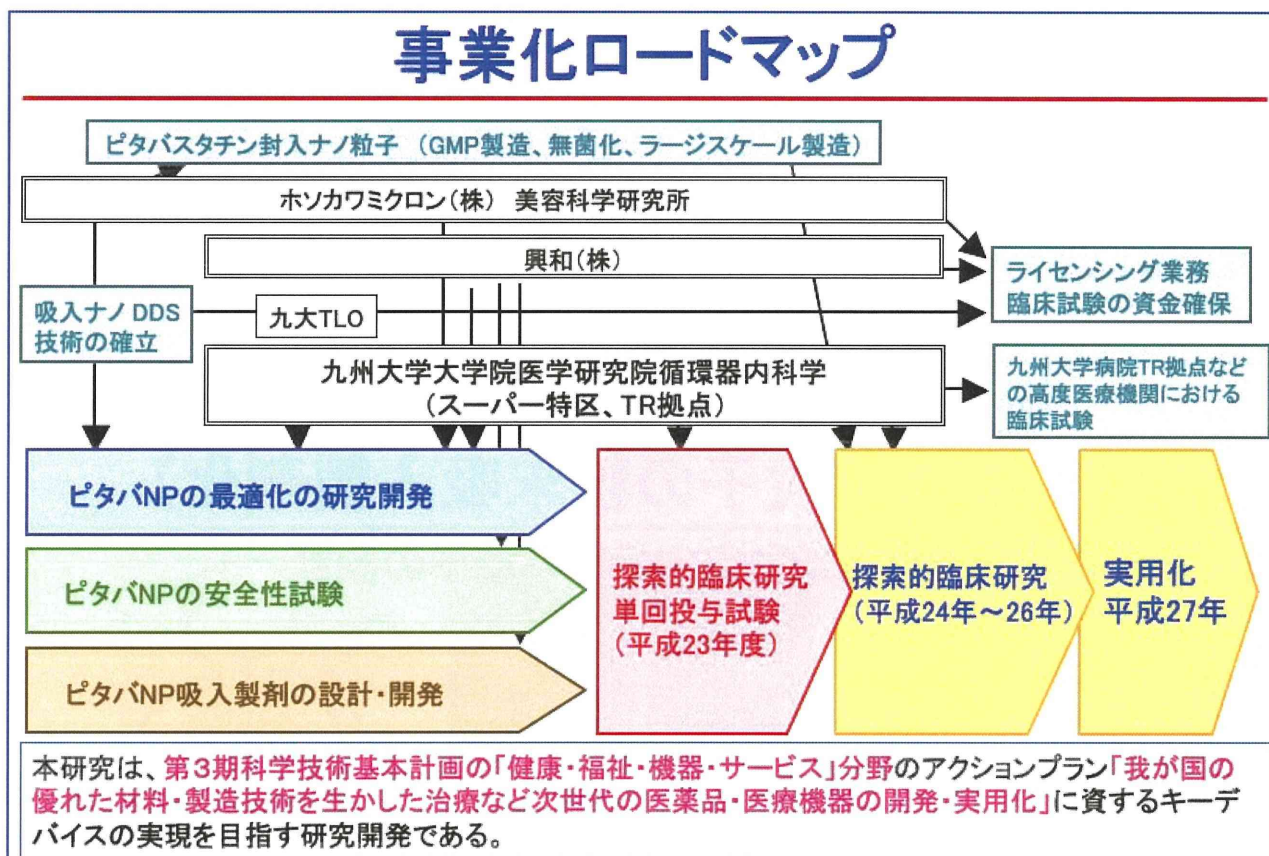


図1 事業化ロードマップ

2. 研究の必要性ならびに目的

【必要性、背景】

重症肺高血圧症は生活の質（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。

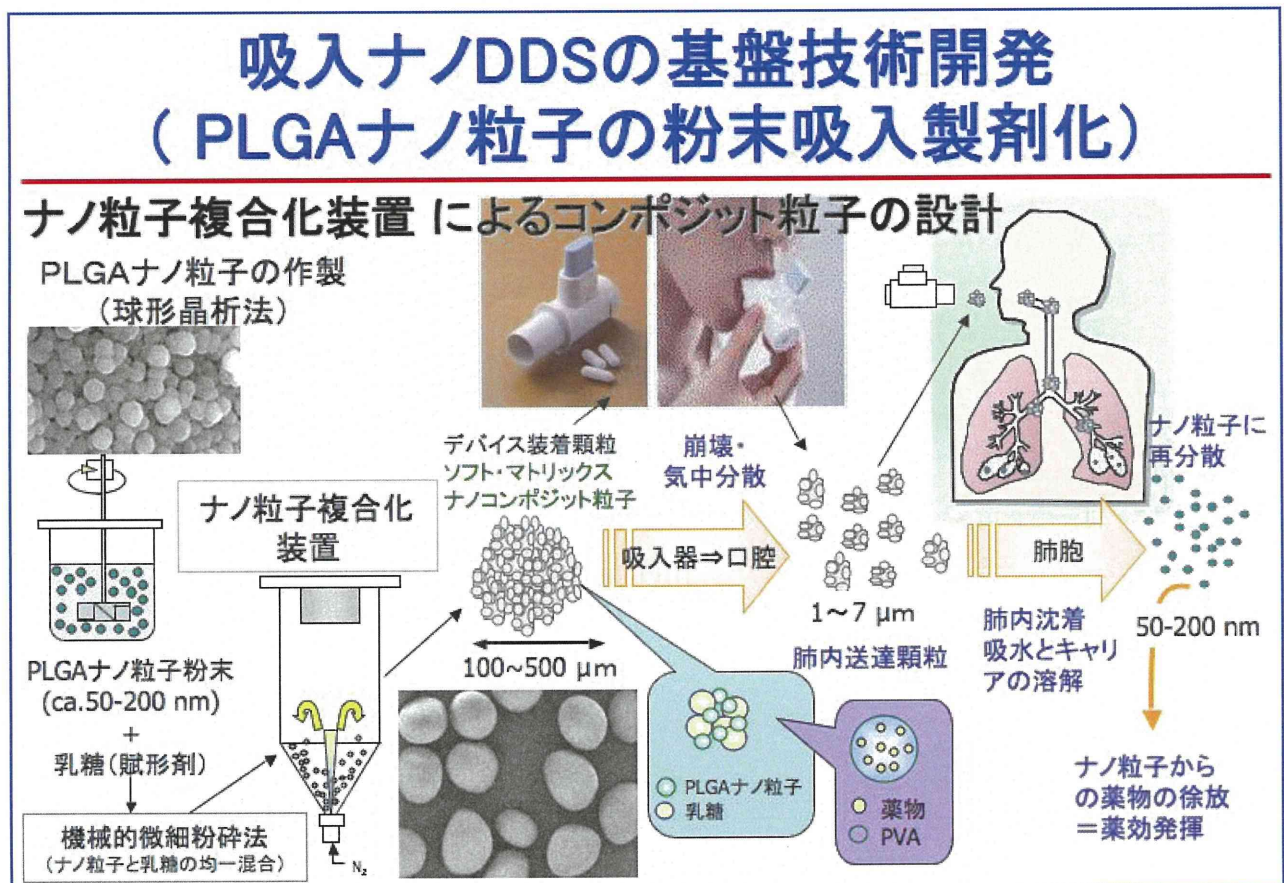


図2 吸入ナノDDS技術

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) 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 (国内特許登録、米国特許登録、EU その他審査中、Egashira K et al. *Hypertension*. 2011)。

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。

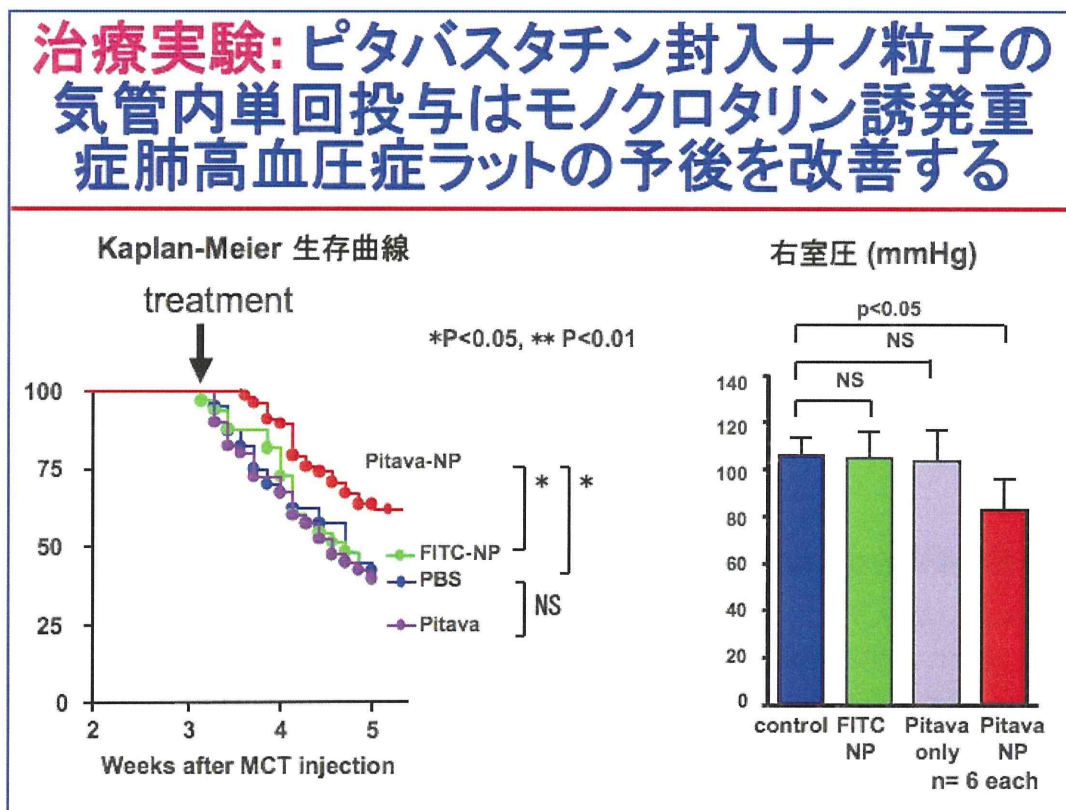


図 3 ラット重症肺高血圧症モデルにおける NK-104-NP の効果

【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 NK-104-NP 製剤の製造に成功した。吸入用の複合化製剤製造に成功した。
- 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する（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 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、薬物動態試験
- 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（国内特許登録、米国特許登録、EU その他審査中、Egashira K et al. *Hypertension*. 2011）。
- 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ー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 を作製する。

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を確認する。また、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）モデルとしてプレオマイシン誘発肺臓炎モデルを作製し、各種用量のピタバスタチン及び NK-104-NP の気管内投与による有効性を検証する。

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。

4) NK-104-NP 静脈内投与による薬効薬理試験 (平成 23 年度)

NK-104-NP の静脈内投与でも効果的に肺に送達されることから、気管内投与、吸入投与と比較するため、静脈内投与による有効性を検証する。

(2) NK-104-NP の安全性試験、薬物動態試験

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)

ラットで 5 日間、イヌで 7 日間の用量設定試験、両動物種で GLP 基準下での 28 日間反復投与試験を実施し、NK-104-NP の無毒性量を確認する。

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)

探索的単回投与試験、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、NK-104-NP の無毒性量を確認する。

3) ラット及びサルにおける吸入投与毒性試験 (平成 22~23 年度)

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を確認する。

4) 各種動物モデルによる NK-104-NP の薬物動態試験 (平成 23 年度)

PMDA との情報交換の中で、治験を開始するに当たって、NK-104-NP の動態を確認しておく重要性を指摘されたため、肺高血圧症を含む、各種心血管系疾患モデル動物による動態の変化の有無を検討する。

(3) NK-104-NP 吸入製剤の設計・開発

1) 処方検討 (平成 21~23 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、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を確認する。

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)

NK-104-NP 吸入製剤の処方検討の後、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う。また、Phase I 試験用製剤の製造に向け、NK-104-NP の GMP 製造の検討を実施する。

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 の非臨床での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。臨床試験の前に PMDA と情報交換し承認に支障が生じないようにする。

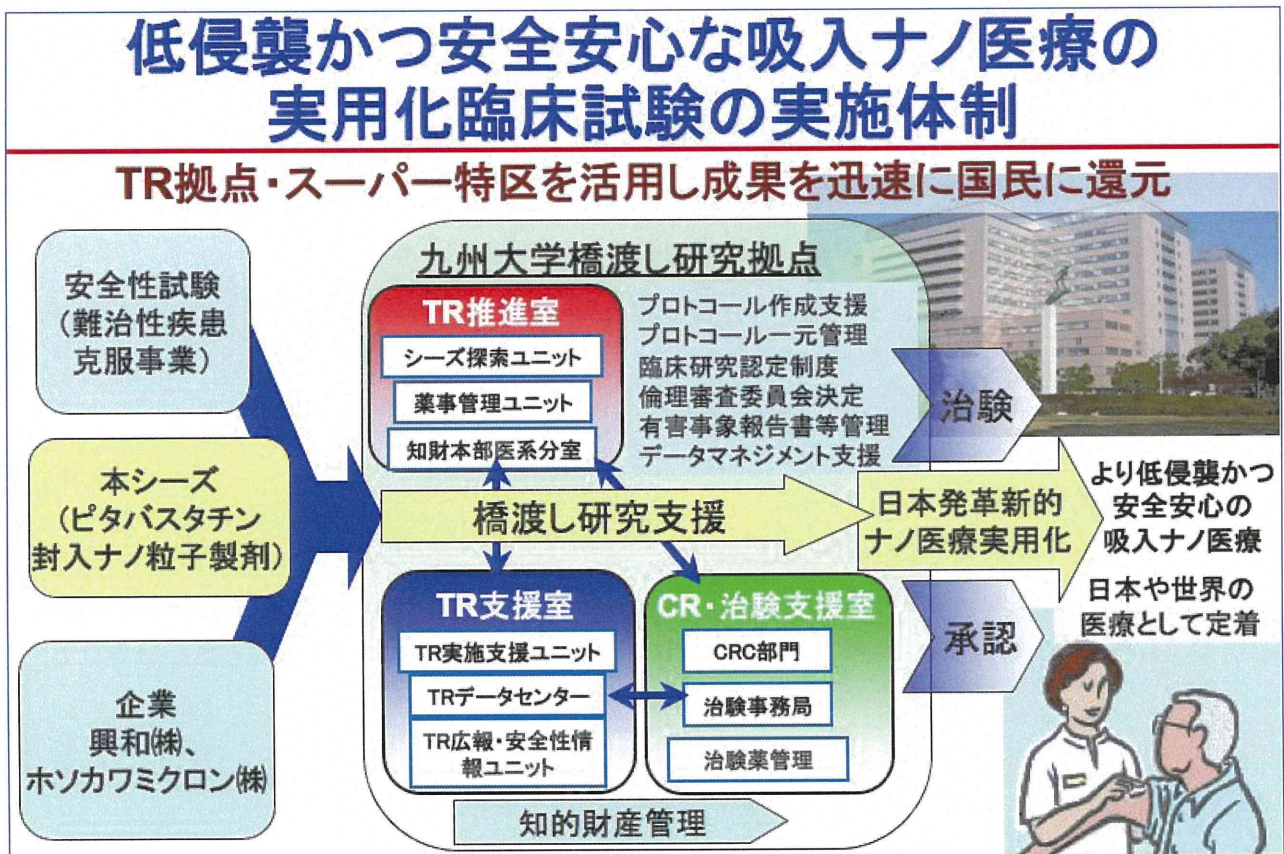


図 4 事業化体制

6. 平成23年度の成果

(1) NK-104-NP の最適化の研究開発・薬効薬理試験

1) NK-104-NP 気管内投与による薬効薬理試験

① 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21～23年度）

臨床試験での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の有効性を検証した。

2) NK-104-NP 吸入投与による薬効薬理試験（平成22～23年度）

後述するように、NK-104-NP吸入製剤の再検討が必要となったため、NK-104-NPの吸入投与毒性試験の検討も含めて、NK-104-NPの吸入投与方法を検討したが、吸入投与に適した粒子径で投与するための実験系、条件は改善が必要であった。

3) NK-104-NP 静脈内投与による薬効薬理試験（平成23年度）

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、NK-104-NPの単回投与、反復投与の有効性の検討を行った。その結果、静脈内投与でも、肺高血圧症関連測定値の改善が認められた。

(2) ピタバスタチン封入 PLGA ナノ粒子（NK-104-NP）の安全性試験、薬物動態試験

1) ラット及びサルにおける吸入投与毒性試験（平成22～23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。その後、NK-104-NP吸入製剤の処方、製造方法の再検討が必要となったため、NK-104-NPをダストまたはミストで投与する吸入投与毒性試験の検討を行った。ラット吸入毒性試験のためのダスト発生検討では、吸入投与に適したサイズでのダスト発生を検討したが、現状の発生装置、条件では粒子径が大きく、装置、条件の改善が必要であった。サル吸入毒性試験については、ネブライザーを用いたミスト発生検討を行ったが、市販のネブライザーでは、毒性試験のために十分な暴露量の吸入投与は困難であると考えられた。

2) 各種動物モデルによるNK-104-NPの薬物動態試験（平成23年度）

モノクロタリン誘発肺高血圧症モデルラットにおいて、PLGAナノ粒子を静脈内投与及び気管内投与した結果、いずれの投与方法でも、主病変組織である肺動脈に集積することが明らかとなった。ラット肺高血圧症モデルを始めとする、各種心血管系動物モデルにおける血管内投与、筋肉内投与時の肺組織中、血漿中濃度推移を検討した。正常動物における血管内投与、気管内28日間反復投与毒性試験における毒性学的薬物動態の結果も含めて比較検討した結果、全身暴露量は投与方法に関わらず同様であった。

(3) NK-104-NP 吸入製剤の設計・開発

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。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 μm 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) 処方検討 (平成 21~23 年度)

① NK-104-NP 吸入製剤の作製 (平成 21~23 年度)

平成 21 年度、平均 1.6 μm 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、New Generation Impactor (NGI) を用いた空気力学的粒子径を測定により、肺深部へ送達可能な粒子径であることが確認された。

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、冷凍での往復約 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。しかし、スケールアップ製剤を用いて行った安全性試験、薬効薬理試験等の結果を踏まえ、吸入製剤中の NK-104-NP が最適化した粒子径を保っていないと考えられたため、吸入製剤の改善を検討したが、採用した既存の技術では、NK-104-NP 吸入製剤の GMP 製造の確立が困難と考えられた。

② NK-104-NP の GMP 製造の検討 (平成 22~23 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、血管内投与に供することが可能な NK-104-NP 製剤の GMP 製造が確立した。

2) 吸入デバイスの評価 (平成 23 年度)

吸入製剤の処方、製造方法の再検討が必要となったため、吸入デバイスの評価は今後の課題となった。

③ NK-104-NP 吸入製剤の試作 (平成 22~23 年度)

NK-104-NP 吸入製剤について製造スケールアップ、吸入毒性試験用製剤の製造を行った後、処方、製造方法の再検討が必要となった。NK-104-NP については、前述の通り、GMP 製造の検討を継続して実施し、血管内投与に供することができる製剤の GMP 製造が確立した。

④ NK-104-NP 吸入製剤の製造 (平成 22~23 年度)

NK-104-NP の GMP 製造は確立したが、NK-104-NP 吸入製剤は、処方、製造方法の再検討が必要となった。

(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) 臨床試験プロトコールの作成・承認（平成 22～23 年度：九州大学）

平成 23 年度に入って、静脈内投与でも PLGA ナノ粒子の効果的な肺動脈への送達が見出されたこと、数動物種による予備的検討で、NK-104-NP の静脈内投与による肺高血圧への有効性が示唆されたこと、NK-104-NP の 28 日間反復静脈内投与毒性試験で無毒性量が確認されていること、NK-104-NP の GMP 製造は確立の目途が立ったことから、NK-104-NP の静脈内投与による重症肺高血圧症治療のための開発が先行実施可能と考え、これまでに得られた結果から治験薬概要書案、臨床試験プロトコール案を作成し、NK-104-NP の単回静脈内投与 Phase I 試験実施のための薬事戦略相談事前面談を行った。その結果、NK-104-NP の薬物動態の精査、有効性の検証を行うことで、治験実施が可能と考えられた。また、薬事戦略相談事前面談では、当初の目的である吸入投与による治験開始の相談も行い、現在、不足しているデータについて確認した。

2) 臨床試験の実施（平成 23 年度：九州大学）

当初の目的である吸入投与による臨床試験の実施には至らなかったが、薬事戦略相談事前面談を実施し、今後 1 年間以内に静脈内投与による臨床試験を先行実施できると考えられる状況に至った。今後も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。

7. 考察と今後の展開

(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

研究計画に沿って作製できた、最適化された NK-104-NP の気管内投与による薬効薬理試験を実施し、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肺高血圧及び生命予後の改善、並びにマウス LPS 誘発急性肺傷害モデルラット慢性閉塞性肺疾患モデルにおける有効性が確認され、ピタバスタチン原体と比較しても有効であった。また、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、続発性肺高血圧症を呈する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。今後はさらに、NK-104-NP の吸入投与による薬効薬理試験を実施し、臨床試験における用量設定を行う。また、NK-104-NP の静脈内投与によるラットモノクロタリン誘発重症肺高血圧症モデルへの有効性も確認され、今後、静脈内投与による臨床試験における用法及び用量設定について検討する。

(2) NK-104-NP の安全性試験、薬物動態試験

ラット及びイヌにおける静脈内投与毒性試験ならびにラットにおける気管内投与毒性試験で無毒性量が得られた。しかし、サルにおける気管内投与毒性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。そこで、肺組織への均一な分布が期待できる NK-104-NP 吸入製剤を用いて、ラット及びサルにおける吸入投与毒性試験を実施したところ、著明な毒性が認められない用量を得た。しかし、吸入製剤中の NK-104-NP が最適化した粒子径を保っていない可能性が考えられたため、吸入製剤の改善の検討を継続しつつ、NK-104-NP を吸入投与できる方法で安全性を検討することを計画した。現在、確立している装置で NK-104-NP 吸入投与方法を検討したところ、吸入投与に適した粒子径で投与するためには、さらなる実験系、条件の検討が必要であり、今後の検討課題とする。

(3) NK-104-NP 吸入製剤の設計・開発・複合化

確立した製剤化技術であるスプレードライ製法を用いて吸入投与に適した粒子径の製剤の作製に成功したが、吸入製剤中の NK-104-NP が最適化した粒子径を保っていないと考えられた。吸入製剤の改善について検討した結果、採用した既存の技術では、NK-104-NP 吸入製剤の GMP 製造の確立が困難であった。GMP 基準で製造可能な吸入製剤化については、今後も継続して検討する。

(4) NK-104-NP 吸入製剤を用いた探索的臨床試験

NK-104-NP 吸入製剤については、吸入製剤化の再検討を行うこととなったが、NK-104-NP の静脈内投与でも肺 PLGA ナノ粒子の効果的な肺動脈への送達が見出されたこと、幾つかの動物種による予備的検討で NK-104-NP の静脈内投与による肺高血圧への有効性が示唆されたこと、NK-104-NP の 28 日間反復静脈内投与毒性試験で無毒性量が確認されていること、NK-104-NP の GMP 製造は確立の目途が立ったことから、NK-104-NP の単回静脈内投与 Phase I 試験を先行実施できると考えられた。現在、薬事戦略相談事前面談を行った結果を踏まえて、NK-104-NP の薬物動態の精査、有効性の検証を行っている。今後 1 年以内に治験の開始が可能と考え、2 回目の薬事戦略相談事前面談の実施を計画している。当初の目的である吸入投与による治験については、NK-104-NP 吸入製剤の製剤化、NK-104-NP 吸入投与による毒性試験や薬効試験、薬物動態を確認し、再度、薬事戦略相談を行う。

8. 健康危険情報

なし

9. 研究発表

- 1) 国内 口頭発表： 2件
原著論文による発表： 0件
それ以外（レビュー等）の発表： 4件
- 2) 国外 口頭発表： 7件
原著論文による発表： 3件
それ以外（レビュー等）の発表： 1件

10. 知的財産権の出願・登録状況

出願 0件：

国内公開 0件

国際公開 0件

登録 2件：

- スタチン封入ナノ粒子含有医薬組成物
日本特許登録 アメリカ特許登録 欧州 etc 審査中
- 肺疾患治療薬 日本特許登録

【研究成果の刊行に関する一覧表】

(1) 学会誌など発表

< 英文原著 >

1. Saito S, Nakayama T, Hashimoto N, Miyata Y, Egashira K, Nakao N, Nishiwaki S, Hasegawa M, Hasegawa Y, Naoe T: Mesenchymal stem cells stably transduced with a dominant-negative inhibitor of CCL2 greatly attenuate bleomycin-induced lung damage. *Am J Pathol.* 2011; 179(3): 1088-1094.
2. Masuda S, Nakano K, Funakoshi K, Zhao G, Meng W, Kimura S, Matoba T, Miyagawa M, Iwata E, Sunagawa K, Egashira K: Imatinib Mesylate-Incorporated Nanoparticle-Eluting Stent Attenuates In-Stent Neointimal Formation in Porcine Coronary Arteries. *J Atheroscler Thromb.* 2011; 18(12): 1043-1053
3. Uchida Y, Takeshita K, Yamamoto K, Kikuchi R, Nakayama T, Nomura M, Cheng XW, Egashira K, Matsushita T, Nakamura H, Murohara T: Stress Augments Insulin Resistance and Prothrombotic State: Role of Visceral Adipose-Derived Monocyte Chemoattractant Protein-1. *Diabetes.* 2012; 61(6): 1552-1561.

< Reviews >

1. Matoba T, Egashira K: Anti-inflammatory gene therapy for cardiovascular disease. *Curr Gene Ther.* 2011; 11(6): 442-446.

(2) 口頭発表

< 国内学会 >

1. The 12th Vascular and Brain Conference 21 世紀における血管病治療の新展開（平成 23 年 9 月 30 日、大阪）江頭健輔：ナノテクノロジーを基盤とする新しい治療的血管新生療法と心筋保護－日本初の独創的なナノ治療の実用化を目指して－（KEYNOTE LECTURE）
2. 第 2 回 Strategy and Treatment For Cardiovascular Disease（平成 24 年 2 月 25 日、岡山）江頭健輔：「ナノテクノロジー」を基盤とする新しい PCI デバイス、治療的血管新生と心筋梗塞治療－日本初の独創的医療機器・医薬品の開発を目指して－（特別講演）

< 国際学会 >

1. Advances in the Lipidic Control in High risk patients: from A to Z (May 13-14, 2011, Barcelona) Egashira K: New evidences: Phase IV trials and ongoing & future studies

with pitavastatin (Invited lecture)

2. The 9th Japan-Korea Joint Symposium on Vascular Biology (August 24-26, 2011, Busan) Egashira K: Impact of nanotechnology-based endothelial cell-selective delivery of pitavastatin for therapeutic arteriogenesis in critical limb ischemia (Symposium)
3. The 9th Japan-Korea Joint Symposium on Vascular Biology (August 24-26, 2011, Busan) Nagaoka K, Matoba T, Nakano K, Sunagawa K, Egashira K: A New Therapeutic Modality for Ischemia-Reperfusion Injury: Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin into Reperfused Myocardium Reduces Ischemia/Reperfusion Injury in Rats
4. The Annual Scientific Meeting of Taiwan Society of Lipids and Atherosclerosis 2011 and The 11th Taipei International Vascular Biology Symposium (September 17-18, 2011, Taipei) Egashira K: A New Therapeutic Modality for Ischemia-Reperfusion Injury: Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin into Reperfused Myocardium Reduced Ischemia/Reperfusion Injury in Rats (Invited lecture)
5. The Second Pacific Symposium on Vascular Biology (October 30-November 2, 2011, Jeju Island) Egashira K: Nanotechnology-based endothelial cell selective DDS for therapeutic neovascularization (Invited lecture)
6. The Second Pacific Symposium on Vascular Biology (October 30-November 2, 2011, Jeju Island) Nakano K, Nagahama R, Matoba T, Egashira K: Nanoparticle-mediated endothelial cell-selective delivery of pioglitazone improves therapeutic efficacy of ischemic neovascularization
7. XVI International Symposium on Atherosclerosis (March 25-29, 2012, Sydney) Egashira K: Impact of nanotechnology-based endothelial cell-selective delivery of pitavastatin for therapeutic angiogenesis in critical limb ischemia (Invited lecture)

(3) 出版物

< 著書 >

1. 江頭健輔、的場哲哉：ナノテクノロジー 血管生物医学事典 血管生物医学会 2011 ; 435-436

< 総説 >

1. 香月俊輔、的場哲哉、中野覚、古賀純一郎、江頭健輔：特集 炎症・免疫からみた心血管病 不安定プラークと炎症. 循環器内科 科学評論社 2011 ; 69(6) : 547-552

2. 中野覚、江頭健輔：「血管内皮細胞選択的ナノ DDS 技術」を活用した低侵襲ナノ医療の開発. 臨床評価 臨床評価刊行会 2011 ; 39(2) : 300-304