

図2 北海道大学で開発中の4つのリポソーム型DDS技術

するリガンドがポリエチレングリコールを介して修飾され、また、本粒子を取り込んだ細胞を効率的に殺傷できるように、アポトーシスを誘起する蛋白あるいはペプチドが内封されている¹⁰⁻¹³⁾。本技術においては、静脈内投与後の体内動態あるいは組織標的化能などがその機能に重要となる。これまで、本リポソームは、調製法を変えることによって物性(粒子径や表面電位など)はほとんど変わらないのに対し、その機能はまったく異なることを見いだしている。これらのメカニズムを同定することにより、組織標的化能を支配する製剤側の要素(パラメータ)を明らかにできると期待している。

2点目は、表在性膀胱がん治療剤として知られる *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG) 由来の細胞壁骨格成分(BCG-cell wall skeleton: BCG-CWS)を送達するためのリポソーム製剤である¹⁴⁾。BCG-CWSは、自然免疫の活性化能を有するアジュバントとして知られてきたが、その複雑な構造から、水にも有機溶媒にも溶けない高分

子であり、製剤化が困難であった。我々は、本分子のリポソームへの封入化技術に成功しており、表在性膀胱がん治療への応用を目指している。本リポソームにおいては、細胞への取り込み過程がその機能に重要であると考えられ、細胞への侵入効率に優れる膜透過性ペプチド(オクタアルギニン:R8)を表面に修飾している。本粒子の腫瘍抑制メカニズムを解明するとともに、オクタアルギニンの表面提示量の定量化や安定性評価等を通じて、その機能に影響を与えうる物性の同定を行っている。

3点目および4点目は、short interference RNA (siRNA)および遺伝子(プラスミドDNA)を内封したリポソーム製剤である。siRNAはRNA-induced silencing complex(RISC)に取り込まれ、その配列特異的にmRNAを切断することで遺伝子発現を抑制するものであり、細胞質が薬理効果部位となる。一方、プラスミドDNAは、核内に送達されることではじめて転写・翻訳をうけることが可能となるため、核まで導入するためのDDS技術が必要であ

る。このように、siRNAなどの核酸や遺伝子を送達するための粒子設計には、細胞内動態までも制御するための多機能性が不可欠となる。したがって、我々は特に、遺伝子や核酸を封入した粒子に関しては、多機能性エンベロープ型ナノ構造体(Multi-functional envelope-type nano device; MEND)と総称している¹⁵⁾。

siRNAに関しては、エンドソーム脱出過程が重要な律速段階となる。我々は、エンドソーム内の低pH環境に応じて正に帯電し、高いエンドソームとの膜融合を誘起することができるpH感受性脂質(YSKシリーズ)を開発している。本粒子にsiRNAを封入し、血中に投与することにより、肝臓や一部のがんにおいて特定の遺伝子発現をノックダウンすることに成功している^{16~19)}。本技術に関しては、大量調製法の開発や長期安定性評価などを行ない、その物性と機能との相関性等を解析することにより、エンドソーム脱出や臓器移行性に重要なパラメータの同定を行なっている。

プラスミドDNAに関しては、樹状細胞を標的とした遺伝子送達用リポソームの開発と、DNAワクチン技術への応用を目指している。この技術においては、表面修飾として用いているKALAペプチドが鍵を握る素子である。本素子は、もともと

MENDのエンベロープ構造を細胞膜/エンドソーム膜や、核膜と効率よく融合させることを目的として搭載したものである。実際、本素子を搭載したMENDは、搭載していない従来型MENDと比較して、樹状細胞に対して極めて高い遺伝子発現効率を有することが明らかとなっている²⁰⁾。一方、マイクロアレイ解析などを行うことにより、樹状細胞側のナノ粒子に対する応答性を解析した結果、KALA修飾MENDは樹状細胞を活性化するアジュバント活性を有していることを明らかとした。さらに、本免疫活性化が、外来プラスミドDNAの転写活性を高めることにも寄与することを見いだしている²¹⁾。本技術に関しては、今後KALAペプチドの遺伝子発現および免疫活性化に必要な最小単位を同定するとともに、がんワクチンとしての機能評価やヒト樹状細胞を用いた製剤の最適化を目指していきたいと考えている。

これらの4つの技術を進めながら、それぞれの機能を発揮するうえで重要な律速段階を再現性よく、さらに効率的に突破するうえでどのような物性等を製剤として規格化すべきか、あるいはどの点を共通の規格化項目として設定すべきかなどを議論している。

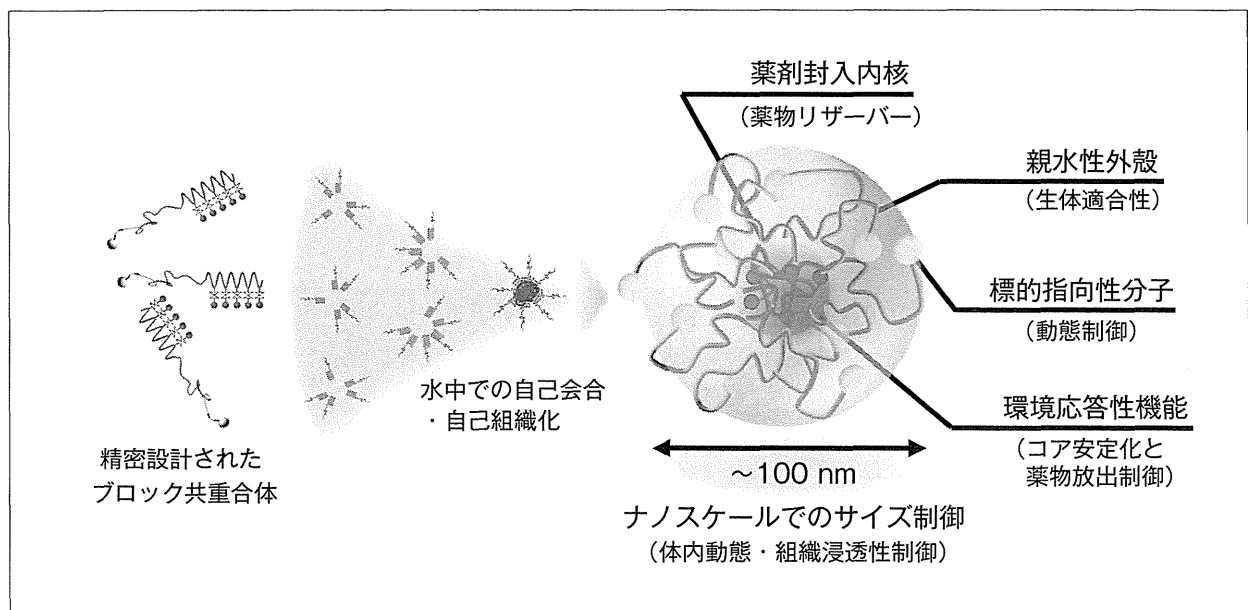


図3 ブロック共重合体の自己会合により調製される高機能高分子ミセル型製剤

1-2 高分子ミセル

高分子ミセル型製剤は、親水的な生体適合性セグメントと薬物を結合、あるいは親和性を有するセグメントをつなぎ合わせたブロック共重合体を用い、薬物と結合、あるいは親和性を有する連鎖が水中で自己集合してコアを形成し、その外殻を生体適合性高分子が覆った~100nmサイズのナノ粒子製剤である^{22,23)}(図3)。内包したい薬剤の化学的・物理的性質に合わせてブロック共重合体を設計して合成し、適切な製法をとることにより、その粒子サイズ・薬剤の放出挙動などが制御できるのに加え、均一性も高いのが特徴である。しかし、臨床応用にあたっては厳密なクオリティーコントロールが必要であることが分かってきている。

その一例としてサイズ制御が挙げられる。高分子ミセルなどのナノ粒子製剤はEPR(Enhanced Permeation and Retention)効果²⁴⁾により薬物をなかば選択的に腫瘍組織に集積できることが知られている。しかし、血管密度が低く、かつ豊富な間質によって腫瘍組織の繊維化が顕著である膵臓がんにおいては、腫瘍深部へのDDSが困難であるとされてきた。しかし、近年、著者らは薬物を内包した高分子ミセル型製剤のサイズを70、50、30nmにそれぞれ制御して膵臓がんモデル動物に投与したところ、サイズの小さな30nmのミセル製剤のみが組織深部にまで浸透し、顕著な治療効果が得られることを明らかにした²⁵⁾。

また、単純な高分子鎖の集合体であると思われる高分子ミセルも、コア部における高次構造が複雑な例もある。ポリグルタミン酸に白金系制がん剤を結

合させて形成する高分子ミセルでは、まず、白金がグルタミン酸側鎖のカルボン酸に多数キレートし、ポリグルタミン酸全体が疎水化して収縮する。このときポリアミノ酸がD体あるいはL体の単一光学活性体であれば、主鎖は α -ヘリックス構造をとって剛直・安定化し、さらに高分子ミセルコアではこの疎水化した剛直鎖同士がヘキサゴナルパッキングされたバンドル状の高次構造をとって分子間相互作用によって安定化している²⁶⁾。すると薬物放出にはこの逆のプロセスを辿り、ミセルの崩壊、 α -ヘリックスの崩壊を経て薬物がリリースされることから、ポリマー鎖単独が二次構造をとるか、否(例えばD,L混合体)かで薬物の放出挙動はかなり異なったものとなる。

現在、著者らのグループからは後述のものを含む、計5種類の制がん剤内包高分子ミセルが臨床治験に進んでいる(表1)。一方、上述のような基礎的な研究は今後のナノ粒子製剤の発展にとってのみならず、レギュラトリーサイエンスの観点からも重要であると思われる。

1-3 高分子ミセル医薬品の臨床開発

以下に国内外において進行しているブロック共重合体ミセル医薬品の臨床開発状況を記す(図4)。

1-3-1 タキソール(PTX)内包ミセルNK105

NK105は外殻を親水性鎖が覆うという剤型であるために水溶性であるために、難溶性PTX投与時に溶解剤として使われる、Cremophor EL(CEL)が不要である。CELには強いアレルギー惹起作用と

表1 高分子ミセル型製剤の臨床開発状況

内包薬剤	基礎研究	前臨床	第I相	第II相	第III相	開発企業
バクリタキセル (NK105)	■	■	■	■	■	日本化薬(株)
シスプラチン (NC-6004)	■	■	■	■	■	ナノキャリア(株)
SN-38 (NK102)	■	■	■	■	■	日本化薬(株)
ダハプラチン (NC-4016)	■	■	■	■	■	ナノキャリア(株)
エピルピジン (K-912)	■	■	■	■	■	興和(株)

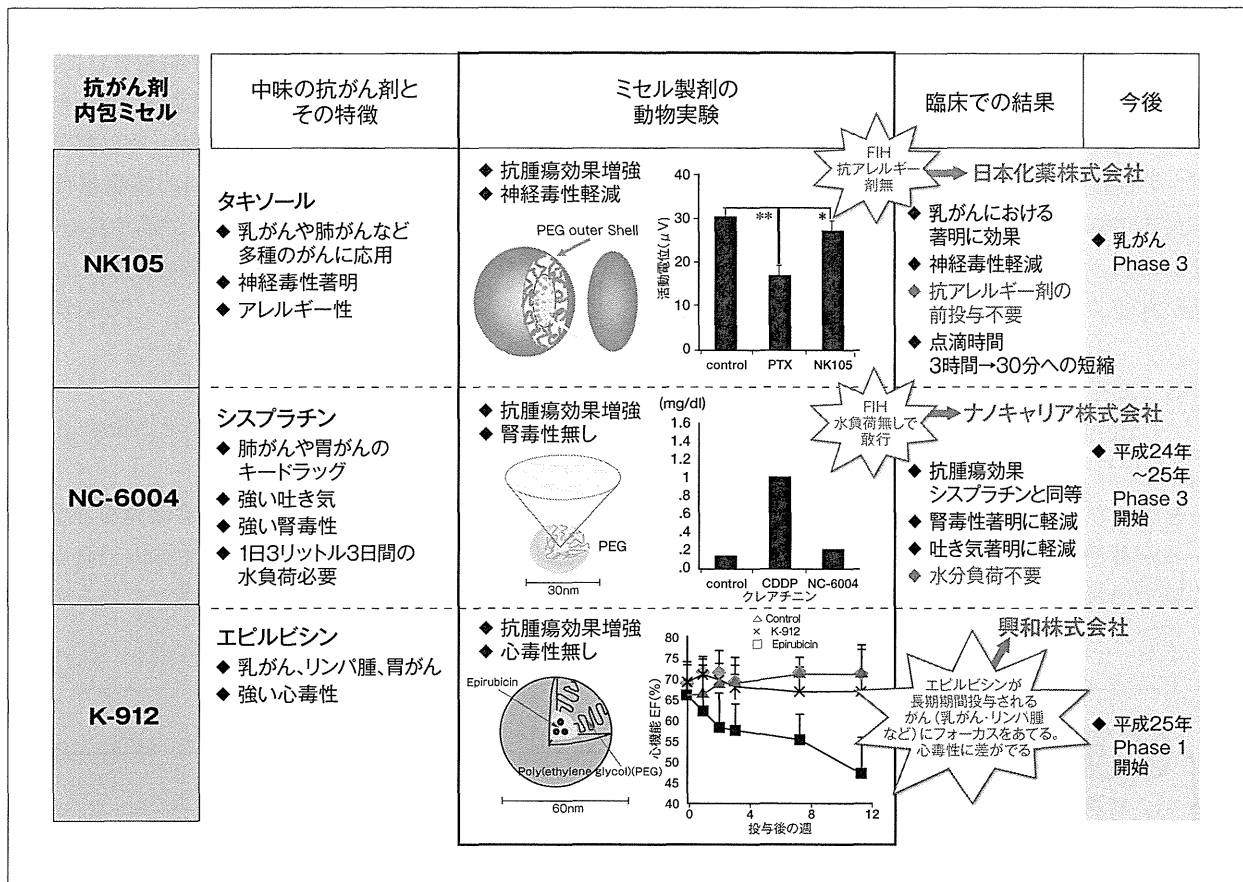


図4 抗癌剤内包ミセルの基礎、TR、臨床

骨髄毒性もある²⁷⁾。第I相治験では、抗アレルギー剤の前処理なしの点滴1時間で行われ、1例で軽度の過敏症を経験したのみであった。抗腫瘍効果も難治性の膵がんや胃がんで認められた²⁸⁾。薬理データとしては、CmaxおよびAUCともにPTXと比べて有意に高く、第II相における推奨用量である150mg/m²におけるAUCはPTXの用法容量である210mg/m²のAUCと比較し、30倍ほど高かった。DLTは骨髄毒性であった。次に、胃がんに対するセカンドラインとして第II相治験が行われた²⁹⁾。3週1回投与で、点滴は30分で行われた。奏効率(ORR)は、評価可能56例中25%(2例のCRと12例のPR)であった。最も頻度の高いグレード3/4の血液毒性は好中球減少であった。抗アレルギー剤の前投与なしにも関わらず、アレルギー反応はほとんど認められなかった。最も注目すべきはグレード3の神経毒性は57例中1例(1.8%)であり、他のPTX製剤、す

なわち、現行のPTXやPTXのDDS製剤Xyotax³⁰⁾およびabraxane³¹⁾などのグレード3の神経毒性が10~15%であるのと比較して、著明に軽度であった。2012年夏から前治療歴のある転移性または再発性乳がんを対象にNK105vs PTXの第III相治験が開始された。NK105はPTX換算65mg/m²週1回を30分の点滴で3週間、PTXの場合80mg/m²週1回1時間の点滴である。主目的は無増悪生存期間(PFS)である。現在は国際治験として順調に進行している。

1-3-2 シスプラチン(CDDP)内包ミセルNC-6004

CDDPは消化器毒性や腎毒性などが強い抗がん剤である。NC-6004は容易には腎糸球体にてろ過されないので腎尿細管のCmaxは極端に低下するため、NC-6004を投与しても腎機能はまったく正常である³²⁾。英国において臨床第I相治験が、3週間に1回、1時間の点滴で、投与日のみ1000ccの水

負荷というデザインで外来にて行われ、消化器毒性も軽度であった³³⁾。ただし、過敏症反応の頻度が高かった。アジアにおいて、進行肺癌に対するゲミシタビン併用 phase I / II を行なったが、デキサメサゾンの前投与により phase I で認められたアレルギー反応が発現しないことが確認された。現在、アメリカにおいて、非小細胞性肺癌を対象に第 II 相治験が計画されている。

1-3-3 エピルピシン (Epi) 内包ミセル NC-6300 (K-912)

Epi はアントラサイクリン系抗がん剤であり、乳がんをはじめ、広くがん薬物療法の現場で使用されているが蓄積性の心毒性があり、重急性から慢性的心障害の場合は不可逆的で重篤な心不全をきた

すことが知られている。このような背景から、Epi 内包ミセル製剤である NC-6300 が開発された。NC-6300 は Epi との比較で優れた抗腫瘍効果を示した。また、薬物動態解析において Epi 投与群と比較し、NC-6300 投与群では抗がん剤の腫瘍集積性の向上および正常臓器への集積抑制が示された。NC-6300 長期投与群は Epi 長期投与群と比較し、有意に心の左室機能が保持されていた³⁴⁾。2013 年秋より NC-6300 の第 I 相治験が開始された。

2. ナノ医薬品の評価手法開発

ナノ医薬品の特性により評価項目は異なるが、主として有効成分の生体内安定性や生体内分布などの体内動態の制御を目的として開発されているナノ医

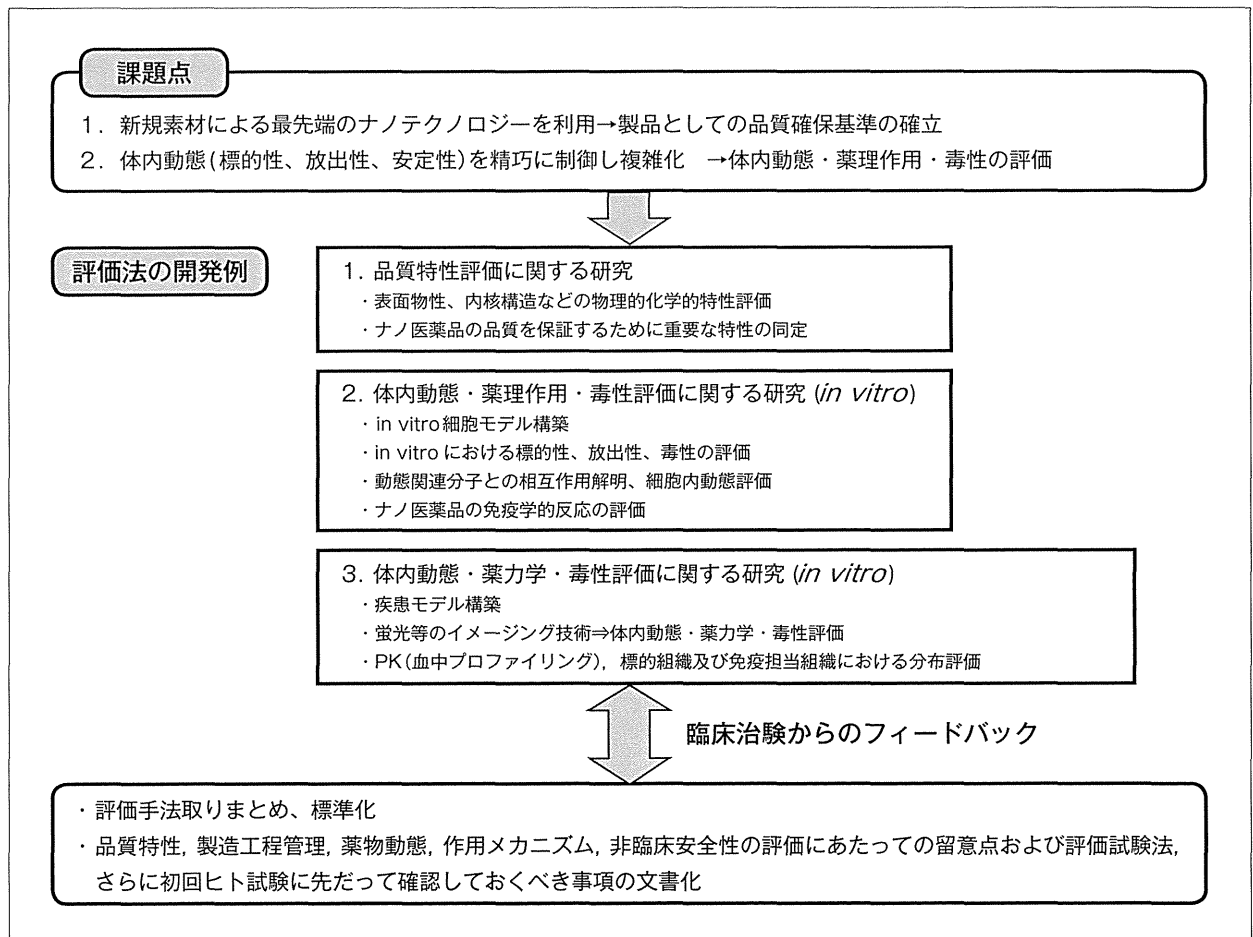


図5 ナノ医薬品*の評価に関するレギュラトリーサイエンス研究の事例

*主として生体内安定性や生体内分布等の体内動態の制御を目的として開発されているナノ医薬品を想定

薬品における主な課題と、評価法の例を図5に示した。筆者らが開発中のナノ医薬品は、有効成分の *in vivo* での薬物動態、安定性および体内分布に作用するよう精密にデザインされ創製されている。したがって、サイズ、表面電荷、内核の高次構造など製剤の物理的・化学的性質は、安全性と有効性の重要な決定因子となる可能性があり、物理的・化学的性質に関する分析手法の開発が重要である。さらに、有効性や安全性に影響を及ぼす品質特性を明らかにすることが品質の一定性確保のうえで重要である。

一方、高分子ミセル製剤および脂質ナノ粒子製剤は、体内での安定性、標的性、放出性などを精巧に制御しており、有効成分単独で投与した時とは、これらナノ医薬品の体内動態・薬効・安全性が大きく変化することも考えられ、その特性評価法を確立することが重要となる。非臨床評価においては、通常の医薬品評価と同様に、予定される臨床上の用法や用量に応じた *in vitro* 細胞種の選定や動物種の選定が重要である。さらに、例えば、*in vivo* 毒性評価においては、動物モデルの選定や試験デザインなどについて、キャリア成分と有効成分との化学結合様式、有効成分側のファクター（新規か、あるいはすでに有効成分の毒性評価が終了しているかなど）、キャリア側のファクター（例えば、新規性、蓄積性）なども考慮する必要があるだろう³⁵⁾。

高分子ミセル製剤および脂質ナノ粒子製剤では、キャリア成分に内包されることにより、エンドサイトーシスなどの細胞内輸送経路により有効成分が取

り込まれることが特徴である。したがって、動態関連分子との相互作用も含め、細胞内動態評価は薬効・毒性の両面から重要である³⁶⁾。*In vivo* での体内動態評価、さらには薬力学・毒性評価においては、蛍光標識や同位体標識によるイメージング技術の開発が重要であり、我々のグループにおいても積極的に取り組んでいる³⁷⁾。このように開発された評価手法を取りまとめ、また標準化していくことが、ガイドライン策定に資する研究につながると考えられる。

3. おわりに

本稿では、我々が取り組んでいるナノ医薬品の開発およびレギュラトリーサイエンス研究について紹介した。能動的標的性付与を目的とした修飾リガンドの結合量やリガンドの高次構造の評価手法の開発、およびこれらの物理的・化学的性質と *in vitro*、*in vivo* における製剤特性との関連性など、本研究を通し、新たな知見が蓄積されつつある。今後もこのようなデータや知見をさらに蓄積し、ナノ医薬品のレギュラトリーサイエンス研究を遂行していきたいと考えている。

謝辞

本稿の内容は、厚生労働省「革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業」、厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）の支援を賜りました。ここに深謝いたします。

文献

- 1) 第2期科学技術基本計画 <http://www8.cao.go.jp/cstp/kihonkeikaku/honbun.html>
- 2) 「今後のがん研究のあり方について」今後のがん研究のあり方に関する有識者会議報告書 平成25年8月 <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000040162.pdf>
- 3) 「がん研究10か年戦略について」平成26年4月 <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000042871.html>
- 4) 第4期科学技術基本計画（平成23年8月）<http://www8.cao.go.jp/cstp/kihonkeikaku/4honbun.pdf>
- 5) Lynch I, Salvati A, Dawson KA., Protein-nanoparticle interactions: What does the cell see?, *Nat Nanotechnol.* 2009; 4: 546-547.
- 6) Harashima H, Iida S, Urakami Y, Tsuchihashi M, Kiwada H. Optimization of antitumor effect of liposomally encapsulated doxorubicin based on simulations by pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling. *J Control. Release.* 1999; 61: 93-106.
- 7) 2013 FDA Nanotechnology Regulatory Science Research Categories <http://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/Nanotechnology/ucm196697.htm>
- 8) 「ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパーの公開等について」平成26年1月10日付 薬食審査発0110第1号
- 9) 平成24年度革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業の実施について http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iyakuhin/kakushin/dl/sj0329_a.pdf
- 10) Hossen MN, Kajimoto K, Akita H, et al. Vascular-targeted nanotherapy for obesity: unexpected passive targeting mechanism to obese fat for the enhancement of active drug delivery. *J Control Release.* 2012; 163:101-110.
- 11) Hossen MN, Kajimoto K, Akita H, et al. Ligand-based targeted delivery of a peptide modified nanocarrier to

- endothelial cells in adipose tissue. *J Control Release*. 2010; 147:261-268.
- 12) Hossen MN, Kajimoto K, Akita H, et al. Therapeutic assessment of cytochrome C for the prevention of obesity through endothelial cell-targeted nanoparticulate system. *Mol Ther*. 2013; 21:533-541.
 - 13) Hossen N, Kajimoto K, Akita H, et al. A comparative study between nanoparticle-targeted therapeutics and bioconjugates as obesity medication. *J Control Release*. 2013; 171:104-112.
 - 14) Nakamura T, Fukiage M, Higuchi M, et al. Nanoparticulation of BCG-CWS for application to bladder cancer therapy. *J Control Release*. 2014; 176:44-53.
 - 15) Kogure K, Akita H, Yamada Y, et al. Multifunctional envelope-type nano device (MEND) as a non-viral gene delivery system. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008; 60:559-571.
 - 16) Hatakeyama H, Murata M, Sato Y, et al. The systemic administration of an anti-miRNA oligonucleotide encapsulated pH-sensitive liposome results in reduced level of hepatic microRNA-122 in mice. *J Control Release*. 2014; 173:43-50.
 - 17) Hayashi Y, Suemitsu E, Kajimoto K, et al. Hepatic Monoacylglycerol O-acyltransferase 1 as a Promising Therapeutic Target for Steatosis, Obesity, and Type 2 Diabetes. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2014; 3:e154.
 - 18) Sakurai Y, Hatakeyama H, Sato Y, et al. RNAi-mediated gene knockdown and anti-angiogenic therapy of RCCs using a cyclic RGD-modified liposomal-siRNA system. *J Control Release*. 2014; 173:110-118.
 - 19) Sato Y, Hatakeyama H, Sakurai Y, et al. A pH-sensitive cationic lipid facilitates the delivery of liposomal siRNA and gene silencing activity in vitro and in vivo. *J Control Release*. 2012; 163:267-276.
 - 20) Shaheen SM, Akita H, Nakamura T, et al. KALA-modified multi-layered nanoparticles as gene carriers for MHC class-I mediated antigen presentation for a DNA vaccine. *Biomaterials*. 2011; 32:6342-6350.
 - 21) Akita H, Ishii S, Miura N, et al. A DNA microarray-based analysis of immune-stimulatory and transcriptional responses of dendritic cells to KALA-modified nanoparticles. *Biomaterials*. 2013; 34:8979-8990.
 - 22) Kataoka K, Kwon GS, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y. Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery. *J Control Release*. 1993; 24: 119-132.
 - 23) Kataoka K, Harada A, Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;47:113-131
 - 24) Matsumura Y, Maeda H: A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*.1986; 46: 6387-6392.
 - 25) Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, Chen Q, Murakami M, Kimura M, Terada Y, Kano MR, Miyazono K, Uesaka M, Nishiyama N, Kataoka K. Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumours depends on size. *Nat Nanotechnol*. 2011; 6:815-23.
 - 26) Mochida Y, Cabral H, Miura Y, Albertine F, Fukushima S, Osada K, Nishiyama N, Kataoka K. Bundled assembly of helical nanostructures in polymeric micelles loaded with platinum drugs enhancing therapeutic efficiency against pancreatic tumor, *ACS Nano*, in press.
 - 27) Hamaguchi T, Matsumura Y, Suzuki M, Shimizu K, Goda R, Nakamura I, Nakatomi I, Yokoyama M, Kataoka K and Kakizoe T. NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumor activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel. *Brit J Cancer*. 2005;92:1240-1246.
 - 28) Hamaguchi T, Kato K, Matsumura Y, et al. A Phase I and Pharmacokinetic Study of NK105, a Paclitaxel-incorporating Micellar Nanoparticle Formulation. *Brit J Cancer*. 2007;97: 170-176.
 - 29) Kato K, Chin K, Yoshikawa K, Yamaguchi T, K.Tsuji, Esaki Y, Sakai T, Kimura K, Hamaguchi T, Shimada Y, Matsumura Y, Ikeda R, R. Phase II study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, for previously treated advanced or recurrent gastric cancer. *Invest New Drugs*, 2012,30: 1621-1627.
 - 30) Boddy AV, Plummer ER, Todd R, et al: A phase I and pharmacokinetic study of paclitaxel poliglumex (XYOTAX), investigating both 3-weekly and 2-weekly schedules. *Clin Cancer Res* 2005;11: 7834-7840.
 - 31) Ibrahim NK, Desai N, Legha S, et al: Phase I and pharmacokinetic study of ABI-007, a Cremophor-free, protein-stabilized, nanoparticle formulation of paclitaxel. *Clin Cancer Res*. 2002; 8: 1038-1044.
 - 32) Uchino H, Matsumura Y, Negishi T, et al. Cisplatin-Incorporating Polymeric Micelles (NC-6004) Can Reduce Nephrotoxicity and Neurotoxicity of Cisplatin in Rats. *Brit J Cancer*. 2005; 93: 678-687.
 - 33) Plummer R, Wilson R H, Calvert H, Boddy A V, Griffin M, Sludden J, Tilby M J, Eatock M, Pearson D G, Ottley C J, Matsumura Y, Kataoka K, and Nishiya T. A phase I clinical study of cisplatin-incorporated polymeric micelles (NC-6004) in patients with solid tumors. *Brit J Cancer* 2011;104, 593-598.
 - 34) Takahashi A, Yamamoto Y, Yasunaga M, Koga Y, Kuroda J, Takigahira M, Harada M, Saito H, Hayashi T, Kato Y, Kinoshita T, Ohkohchi N, et al. NC-6300, an epirubicin-incorporating micelle, extends the antitumor effect and reduces the cardiotoxicity of epirubicin. *Cancer Sci*. 2013;104:920-925.
 - 35) 加藤くみ子,中西健,小崎雅人,松田嘉弘,平野舞,花田博幸,久田茂,小野寺博志,西山伸宏,原島秀吉,松村保広,片岡一則,奥田晴宏,川西徹“ブロック共重合体ミセル医薬品の評価”医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2013;44:968-975.
 - 36) Sakai-Kato, K., Un, K., Nanjo, K., Nishiyama, N., Kusunohara, H., Kataoka, K., Kawanishi, T., Goda H., Okuda, H., “Elucidating the molecular mechanism for the intracellular trafficking and fate of block copolymer micelles and their components ” *Biomaterials* 2014; 35:1347-1358.
 - 37) 野本貴大, 松本有, 藤加珠子, R. J. Christie, 宮田完二郎, 大庭誠, H. Cabral, 村上真美, 福島重人, 西山伸宏, 片岡一則, リアルタイム生体内共焦点レーザー顕微鏡を用いた drug delivery systems (DDS) の動態評価法, *薬学雑誌*. 2012;132:1347-1354

ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する 厚生労働省／欧州医薬品庁の共同 リフレクションペーパー：作成の経緯と概要

Joint MHLW / EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products : the background and summary

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

加藤くみ子

KUMIKO SAKAI-KATO

National Institute of Health Sciences, Division of Drugs

はじめに

本誌2014年3月号に記載させていただいたとおり、ナノテクノロジーを応用した医薬品(ナノ医薬品と称する)に関する、科学的な知見や規制科学についての情報を国際的に共有することを目的に、欧州医薬品庁(EMA)を中心とした規制側の専門家会議が2009年より開催されている^{1,2)}。この国際的な活動のなかで、EMAとブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する共同リフレクションペーパーが作成されることとなった。本邦初のナノ医薬品開発に関する規制文書であるだけでなく、本邦において開発が先行している革新的医薬品の開発における留意点およびその評価に関する国際発信の成果といえるであろう。

ブロック共重合体ミセルは、ポリエチレングリコール(PEG)などの親水性ポリマーと難溶性ポリマーが連結されたブロック共重合体の自己会合により形成されるナノメートルサイズのみセルで、有効成分の可溶化を主目的とした従来型のみセルと比べ、みセルを構成する高分子鎖のみセルからの解離速度が小さく、高い構造安定性の実現が可能であることが知られている³⁾。すでに、抗がん剤を有効成分として内包したブロック共重合体ミセル製剤について国内外において臨床試験が行われている⁴⁾。

本稿では、ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省／EMAの共同リフレクションペーパーの作成経緯、および本文の概要を記したい。

1. 厚生労働省／EMAとの共同リフレクションペーパー作成の経緯について

一般的に、規制当局・産業界の間で一定の共通認識が存在し、また日米欧で調和させることが必要不可欠である技術的事項の基準整備にあつては、ICH(日米EU医薬品規制調和国際会議)の場で議論されている。一方、ブロック共重合体ミセル医薬品のように革新的技術を用いた医薬品開発が国際的に急速に展開している場合にあつては、品質、有効性、安全性の確保の観点から、早期のうちに規制当局間で合意形成を図ることが望まれる。このような認識のもと、開発者がブロック共重合体ミセル医薬品の製品開発を進めるうえで、品質や非臨床試験、ヒト初回投与試験において考慮すべき点を示すため、筆者がレポートを拝命し、EMAと共同のリフレクションペーパーを作成することとなった。本文書は、EMAとの共同文書となったが、前述したナノ医薬品に関する国際的な規制当局者会議参加国からの意見をも考慮した形で作成された。

EMAにおいて公表されているリフレクションペーパーとは、特に新しい分野で経験が限られている領域やトピックスに関する技術の現状を整理し、開発者との間で共有化を図る目的で作成される文書である(EMA「Procedure for European Union Guidelines and Related Documents within the Pharmaceutical Legislative Framework」)。

今回、EMAと共同で作成したリフレクションペーパーは、本文中に記載があるように、「ブロック共重合体ミセル製剤を評価するときの一般原則について考察」した文書である。したがって、本文書では個別品目ごとによる対応が必要な具体的な試験法については記しておらず、解説論文中に事例として例示することとした⁵⁾。

国内におけるブロック共重合体ミセル医薬品の評価に関する議論の場となったのが、厚生労働省内の「ナノ医薬品に関する勉強会」であり、ナノ医薬品の品質・有効性・安全性を確保するために必要な要件等について議論がなされている。勉強会での議論をもとに、厚生労働省とEMAとの間で議論がなされ、2013年2月1日に厚生労働省とEMAから同日にリフレクションペーパー案が公表された⁶⁾。意見公募により寄せられた意見をもとに厚生労働省とEMAにおいて最終化の共同作業が行われ、2014年1月10日に日欧同時に公開された⁷⁾。厚生労働省からは、通知別添として、日本語と英語の最終版が公表された。また、意見公募により厚生労働省に寄せられた意見は質疑応答集にまとめ、事務連絡として通知と同時に公表された⁸⁾。

通知本文では、1. リフレクションペーパーの概要、2. 適用期日、3. 製造販売承認申請の添付資料、について言及している。リフレクションペーパーの概要は次項に記述する。適用期日については、「即日適用することとするが、それぞれの医薬品の開発状況及び特性に応じた適用方法については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構と相談すること」とされた。また、リフレクションペーパー本文中に記載があるように、有効成分をブロック共重合体ミセル製剤として投与することにより、薬物動態学的特性、薬効、および安全性が著しく変化すること

があるため、これらの特性を評価することが重要である。したがって、ブロック共重合体ミセル医薬品の製造販売承認の申請にあたっては、日本薬局方に収められている医薬品およびすでに製造販売承認(外国製造販売承認等を含む)を与えられている医薬品と有効成分および投与経路が同一の、新剤形医薬品に該当する場合であっても、その特性を考慮し、「医薬品の承認申請について」(平成17年3月31日付薬食発第0331015号厚生労働省医薬食品局長通知)別表2-(1)の区分(3)に示す二およびへ、つまり、「(3) 新投与経路医薬品」の「二 薬理作用」および「へ 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性」に関する資料を原則として求めることとするが、資料を省略する場合には、その根拠を記載しておくこと、とされ、本通知の「3. 製造販売承認申請の添付資料」の項において補足された⁹⁾。

2. 共同リフレクションペーパーの概要

本文書はブロック共重合体ミセル医薬品を評価する際の一般原則を述べたものであるため、適宜関連するICHガイドラインおよび各地域のガイドラインと照らし合わせて読んでいただきたい。本文中、および本文の後に付属文書としてICHガイドラインを、また付属文書として各地域のガイドラインを掲載した。図1に示す目次に従い、以下に主要な論点を記す。

(1) 適用範囲について

ブロック共重合体ミセル内核への有効成分の封入には、ブロック共重合体の精密設計によりさまざまな化学的相

目次	
1. 序文	
2. 適用範囲	
3. 考察	
3. 1. 化学、製造、及び品質管理	3. 2. 非臨床試験
3. 1. 1 医薬品品質	3. 2. 1 概論
3. 1. 2 組成・性状	3. 2. 2 非臨床薬物動態
3. 1. 3 品質の特性解析	3. 2. 3 非臨床薬力学
3. 1. 4 製造工程及び工程管理	3. 2. 4 安全性薬理試験
3. 1. 5 製品規格	3. 2. 5 毒性試験
3. 1. 6 安定性	
3. 1. 7 開発段階における製法の変更	3. 3. ヒト初回投与試験において考慮すべき事項
4. 結論	
5. 用語集	
付属文書 各地域のガイドライン	

図1 ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省／欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパー目次

相互作用が利用されている。したがって、有効成分を物理的に内包する場合はブロック共重合体は添加物とされるのか、一方、ブロック共重合体に有効成分が共有結合等で結合した場合はブロック共重合体が新有効成分の一部とされるのかなど、その区分には個々の製品特性や、日欧の薬事規制に基づいた判断を必要とする。したがって本文書では、いずれの化学的相互作用を用いたブロック共重合体ミセル製剤にも共通する特有の主要要素に焦点を当て、その基本的な考え方を示すこととした。

本文書は、おおよそ臨床試験の実施を視野に入れた非臨床試験段階から承認申請段階までを想定した文書であるため、「市販後に関わる事項」については議論していない。今後、ブロック共重合体ミセル医薬品の実用化の進展により、品質管理戦略に関する知見や多数の患者からの臨床知見が蓄積されることにより、市販後に関わる事項についても議論が可能になっていくものと考えられる。

(2) 化学、製造、及び品質管理

ブロック共重合体ミセルのサイズや表面物性等の物理的・化学的性質は、血中滞留性、組織浸透性、標的組織での有効成分の放出性等、有効性を左右する製品の機能に直接リンクしているとともに、例えば有効成分が早期放出された結果として投与量が予定以上に放出された場合は、安全上の意味合いも有する。したがって、ブロック共重合体ミセル製剤の安全性と有効性を左右する *in vivo*

での薬物動態および薬力学特性に大きく影響する重要品質特性を明らかにすることが重要である。関連する物理的・化学的性質を規定する特性値を適切に特定することは、ブロック共重合体ミセル製剤の品質を確保するために重要である(図2)。

①特性解析について

i. ブロック共重合体を含む成分の品質特性

ブロック共重合体の化学構造、ブロック共重合体と有効成分のコンジュゲート体の場合は化学結合の化学的特性および安定性、さらに不純物プロファイルが代表的な特性としてあげられるであろう。ブロック共重合体に特有の不純物としては、例えばABタイプのブロック共重合体におけるAのみ、またはBのみからなるホモポリマーや、重合度(分子量)が規格値を外れるブロック共重合体、その他合成の過程で生じた、表示の化学構造と異なる高分子など、ミセル製剤の性能に著しく影響を及ぼす高分子があげられる。

ii. ブロック共重合体ミセル医薬品に特徴的な品質特性

代表的な品質特性に、ブロック共重合体ミセル医薬品のサイズ、表面物性、*in vitro*放出性がある。ブロック共重合体ミセル医薬品の有効性や安全性に大きく影響する製剤特性として *in vivo* 放出性 (*in vivo* 安定性) があげられ、これを反映するような生理的条件下での *in vitro* 試験方法を設定することが望ましい。例えば、循環血中における放出、標的作用部位における放出性の反映などであり、用いる試験液は、ブロック共重合体ミセル使用時の生理的環境を反映していることが望ましい。したがって *in vitro* 放出試験の設定は、品質の一定性確保のために重要であり、品質管理試験としての *in vitro* 試験の有用性を適切に示すべきである。また、保管中の安定性を規定するための、「*in vitro* 漏出性」という観点からも重要である。

本文書中に、ブロック共重合体の「生物活性」という用語が数回使用されている。質疑応答集でも解説したが⁹⁾、本文書で、「生物活性」とは、タンパク質等の有効成分が有する生物活性、つまり特定の生物学的効果を発揮するための製品の特異的な機能やその程度、との意味合いのほか、ブロック共重合体自身が有する「生物活性」との意味合いでも用いられている。ただし、すべてのブロック共重合体成分に関して「懸念される生物活性を有しない」ことの検証を要件としているわけではないために、「臨床上の有効性や安全性に関わる生物活性」であることを本文中に記載した。

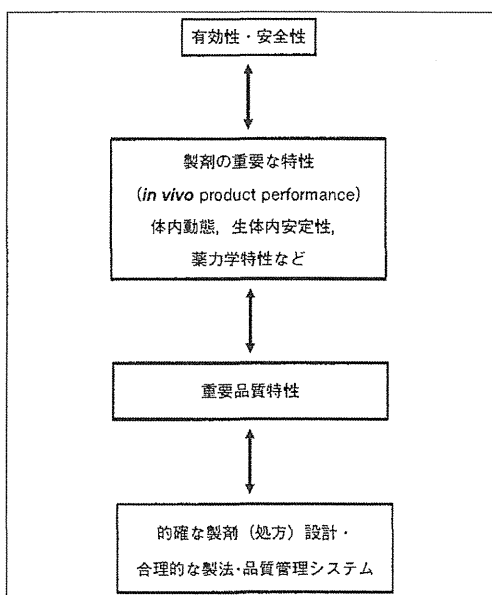


図2 ブロック共重合体ミセル医薬品の評価における主要要素の相関関係に関する概念図

②製造工程及び工程管理、および開発段階における製法の変更について一同等性／同質性(コンパラビリティ)評価の考え方

本文書の「化学、製造、及び品質管理」関連のポイントの1つは、製法変更の影響評価に同等性／同質性(コンパラビリティ)評価の考え方を導入したことであろう。この同等性／同質性(コンパラビリティ)評価には、生物薬品に関して考え出された原則(「生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品)の製造の変更に伴う同等性／同質性評価について(ICH Q5Eガイドライン)」)⁹⁾が適用できるであろう。ICH Q5Eガイドラインには、「同等性／同質性とは、必ずしも変更前および変更後の製品の品質特性が全く同じであるということの意味するものではなく、変更前後の製品の類似性が高いこと、ならびに、品質特性に何らかの差異があったとしても、既存の知識から最終製品の安全性や有効性には影響を及ぼさないであろうことが十分に保証できることを意味する」こととされている。同等性／同質性評価作業は、まず品質比較試験を行い、さらにケースバイケースの原則で非臨床、臨床評価を交えて評価し、有効性や安全性に有害な影響はないことを評価するものである。

バイオ医薬品の多くは、有効成分が、高次構造を有し、また糖タンパク質にあっては翻訳後修飾により分子多様性を示すなど、同一性の確認が困難な場合があること、また、不純物評価の特殊性や免疫原性等の点から、有効成分のわずかな構造変化が有効性や安全性に影響を及ぼ

す可能性がある。したがって、品質および血中濃度データの比較のみでは臨床効果の同等性保証ができないケースが多く、製品に応じ非臨床試験、臨床試験での比較試験により、総合的に同等性／同質性を評価することになる(図3)¹⁰⁾。

一方、ブロック共重合体ミセル医薬品は、ブロック共重合体の精密設計により製剤開発がなされており、また薬物動態学的特性(血中濃度に加え、血中滞留性、放出性、体内分布等)を制御した製剤設計がされている。したがって、製剤の物理的・化学的性質のわずかな差が有効性や安全性に影響を及ぼす可能性があり、通常の低分子化学合成医薬品における同等性評価と異なり、製法変更の程度や変更の時期、さらに製品の特殊性に応じて、品質試験による比較のほか、場合によっては非臨床試験、臨床試験による比較データが必要となる事例も想定され、バイオ医薬品と同様に、製法変更前後の製品間の同等性／同質性(コンパラビリティ)評価の原則の適用を考慮することも必要となる(図3)^{10,11)}。

(3)非臨床試験

①非臨床薬物動態

一般的に、有効成分はブロック共重合体ミセルあるいはブロック共重合体から放出されて薬効を示す。したがって、血液、血漿、または血清中においては、ブロック共重合体ミセルやブロック共重合体から遊離した有効成分の濃度を測定することが重要である。EMAやFDAのリポソーム製剤の開発に関する文書では、遊離の有効成分

濃度のほかに、内包された有効成分濃度が測定対象となっているが、多くのブロック共重合体ミセル医薬品では、リポソームのようなベシクルタイプの製剤と異なり、内封された有効成分と遊離の有効成分を明確に区別して測定することが難しい。以上より、有効成分の測定対象としては、血液、血漿、または血清中においては、遊離濃度と総濃度を測定することが重要である。また組織・臓器中においては、遊離の有効成分を分離して測定することが技術的に困難であるため、総濃度を測定することが重要である。

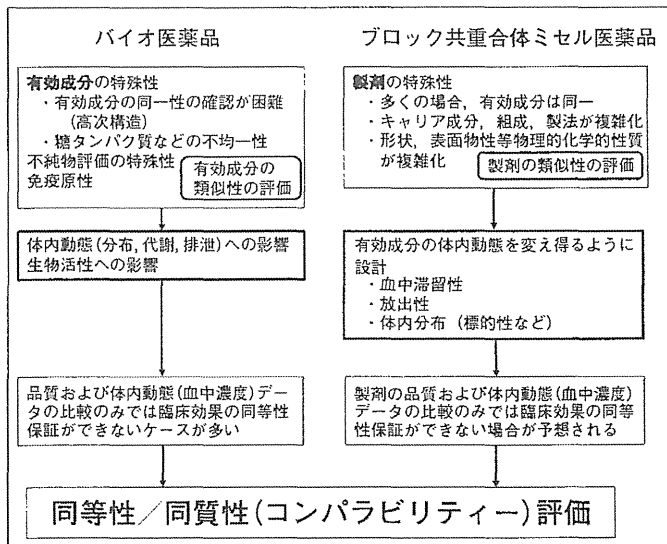


図3 ブロック共重合体ミセル医薬品とバイオ医薬品の類似点と同等性／同質性(コンパラビリティ)評価適用の概念図

②非臨床薬力学試験

ブロック共重合体ミセルの化学的な組成や内核形成部等の特性は、有効成分の封入量や放出速度、細胞内への取り込みに影響する。ブロック共重合体ミセル製剤の作用機構を考察するための試験をデザインする際に考慮すべき要素には、①有効成分の体内動態 (*in vivo*における有効成分の放出特性)、②投与後のミセルの体内動態や、エンドサイトーシスまたは他のメカニズムによる細胞内への取り込み後のミセルの動態があげられる。キャリア成分に内包されることにより、エンドサイトーシス等の細胞輸送経路により有効成分が取り込まれることもナノメートルサイズのキャリアを利用した製剤に特徴的である。

③非臨床毒性試験

毒性試験については、ブロック共重合体ミセル製剤としての評価が重要である。毒物学的プロファイルおよび暴露-反応関係の両方を評価するために、ICH安全性ガイドラインに基づいて、ブロック共重合体ミセル製剤を評価する適切な毒性試験を実施すべきである。動物種の選定や試験デザイン等については、ブロック共重合体と有効成分との結合様式、有効成分側のファクター(新規か、あるいはすでに有効成分の毒性評価が終了しているかなど)、ブロック共重合体側のファクター(例えば、新規性、蓄積性)等に応じてさまざまなケースが想定される。したがって、本文書では基本的な考え方のみを記し、具体的事例については、ブロック共重合体ミセル医薬品の評価に関する解説論文に例示した⁵⁾。

(4) ヒト初回投与試験において考慮すべき事項

本文書で適用範囲とするブロック共重合体ミセル製剤は、内包されたまたはブロック共重合体に結合した有効成分の*in vivo*での薬物動態、安定性および体内分布を調節するように創製されている。したがって、ヒト初回投与試験を検討する際は、安全性確保のため、標的病変部位と主要臓器における分布を含む動物を用いた非臨床薬物動態データを考慮することが重要である。また、ヒト初回投与試験の前に非臨床試験用製剤製造時の製造工程が変更された場合は、同等性/同質性を確認するか、または他の方法で妥当性を示すべきである。

おわりに

本稿では「化学、製造、及び品質管理」の項を中心にリフレクションペーパーの主要な論点を記載した。EMAとの本共同文書は、本邦初のナノ医薬品に関する規制文書であり、従来の低分子化学合成医薬品にはない、新たな評価の考え方も導入されている。製剤の特性に応じた評価が重要であることはいままでもないが、本共同文書に導入された基本的な考え方のいくつかは、ブロック共重合体ミセル製剤と同様にナノテクノロジーを応用したキャリア型の製剤、例えばリポソーム製剤の評価にも適用できるであろうと考えられる。

■参考文献

- 1) 加藤くみ子：「ナノ医薬品の機能と実用化に向けた課題」, Pharm Tech Japan, 30, 425-428(2014)
- 2) Ehmman F., Sakai-Kato K., Duncan R., Perez de la Ossa D H., Pita R., Vidal J-M., Kohli A., Tothfalusi L, Sanh A., Tinton S., Robert J.-L., Lima B.S., Amati M.P.: "Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines", Nanomedicine, 8, 849-856(2013)
- 3) Nishiyama N, Kataoka K: Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. Pharmacol Ther. 112, 630-648 (2006)
- 4) 松村保広：がん治療におけるミセル製剤の臨床開発, Drug Delivery System, 28, 215-220(2013)
- 5) 加藤くみ子, 中西健, 小崎雅人, 松田嘉弘, 平野舞, 花田博幸, 久田茂, 小野寺博志, 西山伸宏, 原島秀吉, 松村保広, 片岡一則, 奥田晴宏, 川西徹：「ブロック共重合体ミセル医薬品の評価」 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 44 (12), 968-975(2013)
- 6) ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー(案) available at http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine_j/nano_j.html
- 7) 「ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパーの公開等について」, 平成26年1月10日付薬食審査発0110第1号
- 8) 「ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパー質疑応答集」, 平成26年1月10日付事務連絡
- 9) 生物薬品(バイオテクノロジー-応用医薬品/生物起源由来医薬品)の製造工程の変更にもなう同等性/同質性評価について(ICHQ5Eガイドライン), 平成17年4月26日付薬食審査発第0426001号
- 10) 川西徹：「バイオ医薬品の製法変更と同等性/同質性評価」 先端バイオ医薬品の評価技術, 山口照英監修, 技術情報センター, 2010
- 11) 加藤くみ子：ナノ医薬品開発に関する動向, 薬学雑誌, 133, 43-51(2013)

「製剤機械技術学会誌」 別刷

Vol.23 No.1
(2014)

製剤機械技術学会

ナノ医薬品の評価に関する本邦及び欧米の規制動向について

Current Trends in Nanomedicines Regulations in Japan, Europe and the United States.

加藤 くみ子

Kumiko SAKAI-KATO

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

Division of Drugs, National Institute of Health Sciences

■ 要旨

ナノテクノロジーを製剤技術に応用した医薬品(ナノ医薬品)の開発が進行している。これまでナノ医薬品の評価は、現行の規制の枠組みの中で行われてきたが、既存のガイドラインを補完する形で新たな評価手法もケースバイケースで取り入れられている。国際的にも、各地域の規制当局がナノ医薬品に関する科学的な議論を重ねており、その成果としてのガイドライン、リフレクションペーパーが発出されている。本稿では、本邦初のナノ医薬品開発に関する規制文書であり、欧州医薬品庁との共同文書である、ブロック共重合体ミセル医薬品についてのリフレクションペーパー案を概説した。さらに、ナノ医薬品の「表面物性」について解説するとともに、欧米における規制動向を考察した。

1 はじめに

近年、ナノテクノロジー(超微細加工技術)の製剤技術への応用が進行しており、ナノテクノロジーを応用した医薬品は、一般に「ナノメディシン」又は「ナノ医薬品」と称されている。本稿では「ナノ医薬品」と称する。ナノ医薬品においては、「ナノメートル」というサイズ自体も重要であるが、それ以上に、医薬品の構成要素をナノメートルサイズに操作、又は意図的に制御することにより、治療や疾患に優れた特性がもたらされることが重要である点に留意したい¹⁾。優れた特性とは具体的には、原薬結晶をナノメートルサイズに調製することによる溶解性や生物学的利用能の向上、静脈注射製剤においてナノメートルサイズの

キャリアに有効成分を内包することによる生体内安定性や生体内分布の改善など、いずれも有効性の向上や副作用の軽減をもたらす得る特性である。言い換えると、ナノテクノロジーによりもたらされる優位な特性を利用し、疾患の治療あるいは診断に有益な進歩をもたらす得る医薬品を「ナノ医薬品」と表現することができるであろう。ここで、「表現」としたのは、「ナノマテリアル」についての定義は国際的にも提案されつつあるが(多くは、1~100 nmとしている)²⁾、医薬品に関しては100 nmのサイズより大きい原薬結晶、あるいはリポソームなどの製剤に対しても「ナノ」という言葉が用いられており、国際的に定義は定められていないからである。欧州連合から2011年に発出された勧告には、「医薬品や医療機器においては、すでに

■ Keywords ■ nanomedicine, block copolymer micelles, reflection paper, surface properties

“ナノ”という言葉が広く使用されており、“ナノマテリアル”の勧告で用いられている定義が特定の医薬品及び医療機器を定義する際に“ナノ”という用語の使用を妨げるべきではない」とされている³⁾。

これまでナノ医薬品の評価は、「ベネフィット・リスク」バランスの概念をベースとした現行の規制の枠組みの中で行われてきたが、既存のガイドラインを補完する形で新たな評価手法もケースバイケースで取り入れられてきた⁴⁾。国際的にも、各地域の規制当局がナノ医薬品に関する科学的な議論を重ねており、その成果としてのガイドライン、リフレクションペーパーが2010年以降、盛んに発出されている (Table 1)。本邦においても、2013年2月にブロック共重合体ミセル医薬品について欧州医薬品庁 (EMA) との共同リフレクションペーパー案が発出されたところである⁵⁾。本リフレクションペーパー案は、本邦初のナノ医薬品の開発に関する規制文書案である。

本稿では、まず本リフレクションペーパー案を概説する。次に、ナノ医薬品において代表的な品質特性として、表面物性に着目し、有効性・安全性への影響について考察する。

2 本邦におけるナノ医薬品に関する規制動向 —ブロック共重合体ミセル医薬品について厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパー案の概要—

2.1 作成の経緯について

ブロック共重合体ミセル医薬品は、本邦で開発が先行する次世代型ナノ医薬品であり、すでに複数製品が

国内外において臨床試験中である⁶⁾。

実用化に向けた研究開発が進む中、その早期実現には、開発に際して考慮が必要な要件をまとめることや、評価法を開発・標準化し評価法ガイドライン案等を作成することが大きな推進力になると考えられる。さらに、革新的技術を用いた医薬品開発が国際的に急速に展開している状況下にあっては、品質、有効性、安全性の確保の観点から、早期のうちに規制当局間で合意形成を図ることが望まれる。このような認識のもと、開発者がブロック共重合体ミセル医薬品の製品開発を進める上で、品質や非臨床試験、ヒト初回投与試験において考慮すべき点を示すため、筆者がラポーターを拝命し、欧州医薬品庁と共同のリフレクションペーパーを作成することとなった。リフレクションペーパーとは、EMA で作成される文書であり、特に新しい分野で経験が限られている領域やトピックスに関して、議論の現状を伝えたりコメントを求めたりする目的で作成される文書である。(EMA 「Procedure for European Union Guidelines and Related Documents within the Pharmaceutical Legislative Framework」より)。

厚生労働省審査管理課内の「ナノ医薬品に関する勉強会」において、ブロック共重合体ミセル医薬品を中心とするナノ医薬品の評価について議論がなされた。勉強会での議論をもとに、厚生労働省とEMA との間で議論がなされ、2013年2月1日に厚生労働省とEMA からドラフトが公表された。現在、意見公募により寄せられた意見をもとに最終版の作成作業が行われており、本稿が出版される際には、最終版が公表されているかもしれない。

Table 1 ナノ医薬品関連の規制文書

年	文書	機関
2002	Guidance for Industry Liposome Drug Products, Draft	FDA
2006	Reflection paper on nanotechnology-based medicinal products for human use (2006)	EMA
2010	Draft Guidance on Doxorubicin Hydrochloride	FDA
2011	Draft Guidance, Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology	FDA
2011	Reflection paper on non-clinical studies for generic nanoparticle iron medicinal product applications	EMA
2013	Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product	EMA
2013	Reflection paper on surface coatings: general issues for consideration regarding parenteral administration of coated nanomedicine products	EMA
2013	Draft reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product	EMA
2013	Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products, Draft	MHLW/EMA

2.2 適用範囲について

今回対象とするブロック共重合体ミセル製剤は、内包された又はブロック共重合体に結合した有効成分の in vivo での薬物動態、安定性及び体内分布を調節するように創製されている。従って、難溶性薬物の溶解、薬物の内包/可溶化促進を主目的として用いられた従来のミセル製剤（例えば Cremophore EL® に溶解した製剤など）は、製剤化の目的、及び製造の原理や手法が多くの点でブロック共重合体ミセル製剤とは異なっているため、本リフレクションペーパーでは適用範囲としていない。

ブロック共重合体ミセルへの有効成分の封入様式は、有効成分を物理的に内封する場合と、ブロック共重合体に有効成分を化学結合する場合に大きく分類される (Fig. 1)。有効成分を物理的に内包する場合はブロック共重合体は添加物とみなされるのか、一方、ブロック共重合体に有効成分が化学的に結合した場合は有効成分の結合したブロック共重合体が新有効成分の一部としてプロドラッグと同様の扱いになるのかなど、これらの分類は製品の特性に依じた判断が必要であり、また欧州、日本それぞれの薬事的な議論を必要とする。さらに将来的にはこれらの分類間を超えた複合型製剤（たとえば、ミセルの形成とともに新たな化学結合が形成されるなど）が開発された際の対応も考慮する必要があり、本リフレクションペーパーではブロック共重合体ミセル製剤に特有の要素に焦点を当て、基本的な考え方を示すこととした。

本リフレクションペーパー案ではブロック共重合体ミセル医薬品の開発にあたり基本的な考え方を取りまとめたものであり、個別品目毎の事情による対応が必要である試験法については具体的に本文書において示していない。具体的な試験法の事例については、別

途、ブロック共重合体ミセル医薬品の評価に関する解説論文にまとめたため、詳細はそちらをご参照頂きたい⁷⁾。

2.3 概要

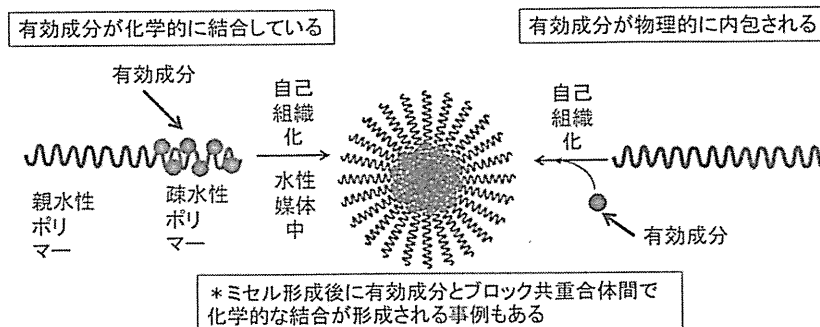
以下に、品質に関連した項目を中心にリフレクションペーパー案の概要について述べる。Fig. 2 に目次を示した。

1) 化学、製造、及び品質管理

「化学、製造、及び品質管理」の節では、ブロック共重合体ミセル医薬品の特性解析、製造工程及び工程管理、製品規格、安定性、開発段階における製法変更への留意点を記載しており、これらの項目についてブロック共重合体ミセル製剤に特徴的な、あるいはプラ

目次	
1.	序文
2.	適用範囲
3.	考察
3.1	化学、製造、及び品質管理
3.1.1	医薬品品質
3.1.2	組成・性状
3.1.3	品質の特性解析
3.1.4	製造工程及び工程管理
3.1.5	製品規格
3.1.6	安定性
3.1.7	開発段階における製法の変更
3.2	非臨床試験
3.2.1	概論
3.2.2	非臨床薬物動態
3.2.3	非臨床薬力学
3.2.4	安全性薬理試験
3.2.5	毒性試験
3.3	ヒト初回投与試験において考慮すべき事項
4.	結論

Fig. 2 ブロック共重合体ミセル医薬品に関する厚生労働省/欧州医薬品庁との共同リフレクションペーパー案目次



ミセル形成の駆動力の例

・疎水性相互作用、静電相互作用、高分子-金属錯体形成、水素結合など

Fig. 1 ブロック共重合体ミセル形成の模式図*

*本図は読者の理解を助けるための模式図であることにご留意ください。

スアルファ考慮すべき点を記述している。有効成分が低分子化合物の場合と、生物薬品の場合での共通項目を記述し、両者で異なる点は別途付加的記述を行っている。論点整理のために、構成成分であるブロック共重合体（ブロック共重合体やブロック共重合体と有効成分のコンジュゲート体を含む成分）に関する項目と、ブロック共重合体ミセル製剤に関する項目に整理して配慮すべき点を記載した。

ブロック共重合体ミセル医薬品に特徴的な物理的・化学的性質としては、サイズが挙げられるが、そのほかに表面物性に関連した特性が重要品質特性の候補として挙げられる。「表面」の定義は難しいが、表面物性には例えば、形態、表面電荷（多くはゼータ電位として測定されるのが一般的である）、標的性付与を目的にポリエチレングリコール（PEG）鎖の外表側に結合させた分子（受容体のリガンドや抗体など）の特性等があるだろう。表面物性は製剤の安定性等に影響を与えると同時に、血中に曝露された際に、血中のタンパク質や細胞との相互作用にも関与し得るため、有効性と安全性の観点から重要な特性となり得るであろう。ブロック共重合体ミセル医薬品に限らず、ナノ医薬品においては、表面物性を制御するために、機能性高分子を表面に被覆するなど、様々な技術が試みられている。本件についてはさらに次節で考察する。

その他、代表的な品質特性に、ブロック共重合体ミセル医薬品の *in vitro* 放出性（*in vitro* 安定性とも言えるであろう）がある。ナノ医薬品の有効性や安全性に大きく影響する製剤特性として *in vivo* 放出性（*in vivo* 安定性）が挙げられ、これを反映するような生理的条件下での *in vitro* 試験方法を設定することが望ましい。

医薬品開発期間中に様々な新技術が開発、導入されることにより、品質の向上や製造コストの削減等のために製造方法の変更が行われることもある。また、開発の進行により製造スケールの変更が行われる場合もある。そのような場合、製法変更前後の製剤の品質、有効性、安全性が同等であることを保証するための検討が必要である。

循環血流中に入って後に薬理作用を示す医薬品の場合は、全身循環血流中に原薬が同一濃度存在すれば同一の薬理作用を示すと考えられるため、多くの化学合成医薬品では全身循環血流中での有効成分の濃度の同等性（循環血中に吸収されて作用する医薬品はバイオアベイラビリティの同等性）を示すことにより生物学的に同等とされる。しかし、ブロック共重合体ミセル医薬品は、ブロック共重合体の精密設計により製剤開発がなされており、血中濃度に加え、臓器や組織へ

の分布を制御した製剤設計がなされている。したがって、通常の化学合成医薬品製剤における同等性評価と異なり、製法変更の程度や、変更の時期に応じて、理化学試験による比較の他、場合によっては非臨床試験、臨床試験による比較データが必要となる事例も想定され、変更前後の製品間の同等性/同質性（comparability：コンパラビリティ）評価の原則の適用を考慮することも必要と考えられる²⁾。ここで、変更前後の製品間の同等性/同質性評価は、生物薬品に関して考え出された概念であり、その原則は ICH Q5E ガイドラインに記載されている⁸⁾。

2) 非臨床試験

上述のとおり、本リフレクションペーパー案で適用範囲とするブロック共重合体ミセル医薬品は、有効成分の生体内安定性や生体内分布を調節するように創製されている。したがって、有効成分をブロック共重合体ミセル製剤として投与することにより、有効成分単独での投与と比較し、薬物動態学的特性、薬効及び安全性が変化することがあるだろう。ミセルのサイズ、表面電荷、形態などの物理的・化学的的特性値は、ブロック共重合体ミセル製剤の生体内安定性や生体内分布に影響することがあるため、その特性値の変動が生体内安定性や生体内分布に及ぼす影響に関する情報が重要となるであろう。

毒性試験については、ICH 安全性ガイドラインに従い、ブロック共重合体ミセル製剤を評価する適切な試験を実施すべきである。本リフレクションペーパー案は、ブロック共重合体ミセル医薬品の評価について基本的な考え方を記した文書であるため、具体的な評価の事例については示していない。有効成分を含まない、ポリマー部分単独の毒性評価に対する考え方など、具体的な事例については、ブロック共重合体ミセル医薬品の評価に関する解説論文に記載したためそちらをご参照頂きたい⁷⁾。

3) ヒト初回投与試験において考慮すべき事項

ヒト初回試験に先立って考慮すべきポイントについて、既存の医薬品については、ICH-M3 (R2) ガイダンス「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」⁹⁾が、また本邦でも「医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス」¹⁰⁾が発出され整備が進んだ。本リフレクションペーパー案では、ブロック共重合体ミセル製剤の特性に応じて配慮すべきポイントを、品質、非臨床試験、及び初期臨床

試験の点から記載した。本リフレクションペーパーで適用範囲とするブロック共重合体ミセル製剤は、内包された又はブロック共重合体に結合した有効成分の *in vivo* での薬物動態、安定性及び体内分布を調節するように創製されている。したがって、ヒト初回投与試験を検討する際は、標的病変部位と主要臓器における分布を含む、動物を用いた非臨床薬物動態データを考慮することが重要である。

なお、既承認医薬品等と有効成分や投与経路が同一であっても、ブロック共重合体ミセル製剤化により「有効成分の体内分布や標的部位への移行性が大きく異なると想定される薬物」に該当すると考えられ、その際は治験計画の届け出が30日調査の対象となることにご留意頂きたい¹¹⁾。

3 ナノ医薬品の表面物性に関する評価

前節でブロック共重合体ミセル製剤の評価における留意点として記載したように、ナノ医薬品の表面物性はサイズと同様に重要な物理的・化学的性質である。なぜならば、ナノ医薬品の品質に影響を及ぼすナノ医薬品同士の相互作用（例えば凝集）、及び体内動態に影響を及ぼすナノ医薬品と生体内のタンパク質や細胞との相互作用は、多くの場合、ナノ医薬品の表面で起こるからである。重量当たりの表面積は粒子径が小さくなると急激に増大するため、バルク固体と比べ、その相互作用の頻度も増大すると考えられる。したがって、ナノ医薬品を設計する際は、安定性に優れ、生体内に投与後はより好ましい薬物動態特性、薬効、及び安全性を示すよう、ナノ医薬品の表面物性の制御が重要になる (Fig. 3)。具体的には、キャリア組成を工夫する、PEG など親水性ポリマーで表面を被覆す

る、等の製剤設計により

- ① ナノ医薬品同士の凝集抑制（又は分散性の改善）
 - ② 表面被覆による有効成分の安定性向上（例えば、鉄ナノ粒子の糖による被覆）
 - ③ 血漿タンパク質との非特異的相互作用の制御、細網内皮系による認識・クリアランスの回避
 - ④ 血液適合性（溶血性、凝固系、補体系等への影響）の向上、免疫原性の抑制
- 等の効果が期待される。

すでに臨床応用されているリポソーム製剤¹²⁾ や鉄ナノ粒子製剤¹³⁾ では、安全性に関わる課題として、インフュージョンリアクション（輸注反応）がしばしば問題となることがある。一般にインフュージョンリアクションとは、薬剤投与中又は投与開始後24時間以内に発現する紅潮、息切れ、顔のむくみ、頭痛、悪寒、血圧低下などの症状の総称である。24時間以降、または2回目の投与以降に発現することもある。インフュージョンリアクションが生じるメカニズムについてはまだ十分に分かっていないが、リポソーム製剤においては、補体成分の活性化が主要誘因であることが示唆されており¹²⁾、補体成分の活性化を誘起しやすいリポソーム製剤の物理的・化学的性質に関する研究が進んでいる。これまで報告されている要因を Table 2 にまとめた。EMA のリポソーム製剤に関するリフレクションペーパーでは、リポソーム製剤の補体活性化の測定について言及されている。具体的には、有害事象の可能性の程度を評価するために *in vitro* と *in vivo* の試験、例えば、補体（あるいはマクロファージや好塩基球）の活性化測定や、ブタなど感度の高い動物モデルを用い投与後の肺動脈圧の上昇をモニターする手法等を、必要に応じて考慮すべきである、との記載がある¹⁴⁾。

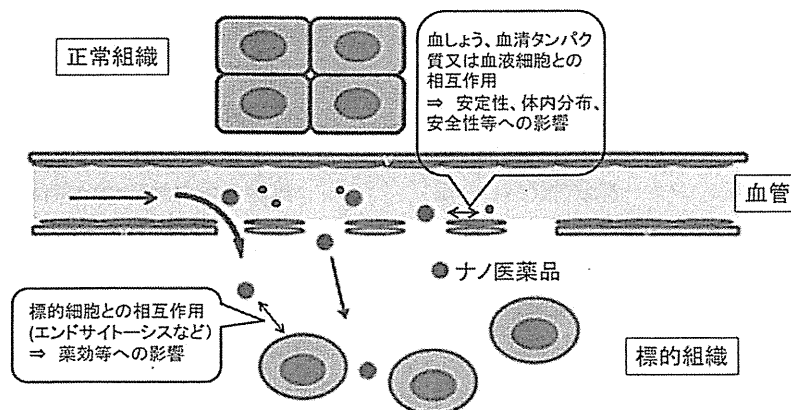


Fig. 3 ナノ医薬品とタンパク質・細胞との相互作用の模式図*
*本図は主として静脈注射製剤の事例です。

Table 2 リポソーム製剤の補体活性化のリスクを高めることが報告されている主な要因¹²⁾

- 正あるいは負の表面電荷
- サイズの増加
- 不均質性
- 凝集体の存在
- リポソーム外に有効成分が存在すること (特にドキシソルピシンや類似薬)
- 高い割合 (>50%) で膜中にコレステロールが存在すること
- 不電荷のリン脂質にPEGが結合したリポソーム
- リポソーム表面のポリアミノ基修飾
- エンドトキシンの混入*

*エンドトキシンの混入はリポソーム自体の特性ではないが、製剤に起因する要因として記載した。

ナノ医薬品の *in vivo* 安定性は、リポタンパク質をはじめ血中タンパク質との相互作用により影響を受ける可能性がある。リポソーム製剤などのキャリア型ナノ医薬品から有効成分が早期放出された結果として投与量が予定以上に放出された場合、そのような相互作用は安全上の意味合いを有する。FDA のリポソームに関するドラフトガイドラインには、「リポソームと血清タンパク質及びリポタンパク質の相互作用は、リポソーム製剤に使用する脂質の種類に依存するため、原薬及びリポソーム製剤のタンパク結合率 (リポタンパク質を含む) の測定や主要結合タンパク質の同定を行うこと」との記載がある¹⁵⁾。このように、製剤設計の早期段階からナノ医薬品の細胞やタンパク質との相互作用に関する情報を得ておくことが重要ではないかと思われる。

2013年にEMAより、ナノ医薬品の表面被覆に関するリフレクションペーパーが発出された¹⁶⁾。本文書は、非経口投与型のナノ医薬品の開発にあたり、ナノ医薬品の表面被覆について留意すべき点に焦点をあてた文書である。製剤の体内分布、細胞内動態への影響から、

- ① ナノ医薬品表面へのPEG等による被覆の均一性や被覆の安定性
- ② 受容体のリガンドや抗体などナノ医薬品に標的性を付与するための表面修飾分子の配向性

が、有効性や安全性の観点から特に重要な特性であるとしている。具体的な製剤特性評価における留意点としては、上記①に関連して、組成を含む被覆素材の解析、被覆素材を結合するリンカー部分の化学の明確化、被覆の安定性 (保存時の安定性及び使用時の安定性) を指摘している。また、上記②に関連して、ナノ医薬品の表面に存在する表面修飾分子の配向性やコンフォーメーションに留意すべきことが記されている。本リフレクションペーパーは、表面被覆のみに焦点を当てた文書であり、ナノ医薬品の開発において表面物性の重要性が窺い知れる。

4 おわりに

本稿では、ブロック共重合体ミセル医薬品のリフレクションペーパー案の概要を記すとともに、欧米におけるナノ医薬品の開発に関連した規制動向を記した。後半では、ナノ医薬品の表面物性に着目したが、冒頭で述べたようにナノテクノロジーを医薬品に応用する目的は多様であるため、それぞれの製剤化の目的や投与経路等を考慮した品質特性のリスト化が重要であることは言うまでもない。

参考文献

- 1) Draft Guidance, Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology, US Food and Drug Administration, 2011
- 2) 加藤くみ子, ナノ医薬品開発に関する動向, 薬学雑誌, 133, 43-51 (2013)
- 3) DRAFT COMMISSION RECOMMENDATION: the definition of the term "nanomaterial" European Commission, 2011
- 4) 1st International Workshop on Nanomedicines, Summary Report, European Medicines Agency 2010 available at http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2010/10/WC500098380.pdf
- 5) ブロック共重合体ミセル医薬品の開発に関する厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクションペーパー (案) available at http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine_j/nano_j.html
- 6) 松村保広, がん治療におけるミセル製剤の臨床開発, Drug Delivery System, 28, 215-220 (2013)
- 7) 加藤くみ子 他, ブロック共重合体ミセル医薬品の評価, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 44 (12), 968-975 (2013)
- 8) 生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) の製造工程の変更にとまなう同

- 等性/同質性評価について (ICHQ5E ガイドライン) 平成17年4月26日 薬食審査発第0426001号
- 9) 医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンスについて (ICH M3 (R2) ガイダンス) 平成22年2月19日薬食審査発0219第4号
 - 10) 医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス, 平成24年4月2日薬食審査発0402第1号
 - 11) 自ら治験を実施しようとする者による薬物に係る知見の計画の届出等に関する取扱いについて 薬食審査発0531第4号 平成25年5月31日
 - 12) J.Szebeni, Hemocompatibility testing for nanomedicines and biologicals: predictive assays for complement mediated infusion reactions, *Eur. J. Nanomed.* 1, 33-53, (2012)
 - 13) New recommendations to manage risk of allergic reactions with intravenous iron-containing medicines, European Medicines Agency, 2013
 - 14) Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product, European Medicines Agency, 2013
 - 15) Draft Guidance for Industry, Liposome Drug Products: Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation, US Food and Drug Administration, 2002
 - 16) Reflection paper on surface coatings: general issues for consideration regarding parenteral administration of coated nanomedicine products, European Medicines Agency, 2013