

《若手研究者紹介》



固体分散体技術を応用したペプチド性医薬品の 体内動態制御

鈴木 寛 貴* Hiroki Suzuki

藤本製薬株式会社 生産技術研究室

1. はじめに

今回、このような執筆の機会を頂いたので、これまでの研究生活を振り返るとともに、私がこれまでに携わってきた製剤研究に関して簡単に紹介させて頂きたい。私の製剤研究との出会いは、山田静雄教授（現：静岡県立大学大学院薬食研究推進センター長）が主宰されていた静岡県立大学薬学部薬物動態学教室に配属された大学4年生の時であった。私が当研究室に配属されてから博士後期課程を修了するまでの6年間、尾上誠良先生（現：静岡県立大学薬学部薬物動態学分野教授）に直接ご指導頂いた。製薬企業ご出身の研究者である尾上先生からは、研究技能や知識だけでなくビジネスマナーなど数多くのことを教えて頂いた。特に博士後期課程に進学後は、論文執筆の指導や国際学会での発表練習のために、お忙しい中非常に多くの時間を割いて頂き深く感謝している。博士後期課程の3年間は決して楽なものではなかったが、普段なかなか経験できないような貴重な経験を何度も積ませて頂き、自分の成長には欠かせない3年間となった。また、私は先輩、同期、後輩にも恵まれ、大変充実した研究室生活を送ることができた。博士後期課程を修了後、私は藤本製薬株式会社に入社し、生産技術研究室に配属され、製

剤研究者として過ごしている。アカデミア研究から企業研究へと変わり、新たな環境で日々精進している。私の研究歴は学生時代の僅か6年程度ではあるが、「難水溶性薬物の経口吸収性向上」や「ペプチド性医薬品の吸入製剤開発」など多くの研究に携わらせて頂いた。本稿では主にペプチド性医薬品の動態制御に関する研究成果についてお話しさせて頂きたい。

2. 難水溶性薬物の自己ミセル形成型固体分散体 製剤開発と吸入製剤への応用

近年、創薬技術の発達に伴い数多くの医薬品候補化合物が生み出されているが、これらの候補化合物の約40%が難水溶性物質であると報告されている。難水溶性物質は吸収部位で十分に溶解できずに Bio-availability (BA) が低下するとともに血中濃度のバラツキが生じやすい。さらに難水溶性の性質は、食事などの変動条件により吸収のバラツキの拡大や新たな剤形開発の制限などのデメリットをもたらしている。そのため、難水溶性物質への対応が医薬品開発上の重要課題として挙げられており、実用的な製剤技術開発が急務となっている。このような背景のもと、最初の私の研究テーマは「Cyclosporine A (CsA) の経口吸収性向上を指向した Self-micellizing solid dispersion (SMSD) 製剤の開発」であった。CsA は Biopharmaceutics classification system (BCS) class II に分類される難水溶性ペプチドである。CsA は強力なカルシニューリン阻害薬であり、主に臓器移植後における拒絶反応の抑制や自己免疫疾患の治療などに幅広く使用されている。CsA の治

*2012年、静岡県立大学薬学部薬科学科卒業、2018年、静岡県立大学大学院薬食生命科学総合学府博士後期課程修了、同年藤本製薬株式会社入社、生産技術研究室に配属。受賞歴：日本薬学会第134・135年会優秀発表賞、日本薬剤学会第32年会最優秀発表者賞、趣味：サッカー、旅行。連絡先：〒529-1303 滋賀県愛知郡愛荘町長野 2201-1 E-mail: h.s.euro.fun@gmail.com

療域は狭く、薬物血中濃度モニタリングを必要とする薬物であるため、臨床使用において厳密な血中濃度コントロールが必須となる。しかしながら、CsAはその低い溶解性に起因して、経口吸収性が乏しく、かつ患者間でのバラツキが大きいことが報告されている。そのため、CsAの溶解性を改善し、安定した吸収特性を有する製剤の開発が切望されている。我々は、CsAの溶解性及び経口吸収性の改善を指向して、自己ミセル形成能を有する両親媒性ポリマーであるPoly[MPC-co-BMA] (pMB)を用いたSMSD技術をCsAに適用した¹⁾。pMBは、Biocompatibleな化合物であると報告されており、難水溶性薬物の可溶化剤として注射剤での検討が行われている。しかし、経口投与時における傷害性は明らかとなっていないため、本研究ではpMBの消化管に対する組織傷害性についてIEC-6細胞 (Rat small intestine epithelial cells)を用いて*in vitro*細胞傷害性試験を行った。その結果、IEC-6細胞におけるpMBの傷害性は非イオン性界面活性剤であるPolysorbate 80よりも低く、本ポリマーは消化管に対して低刺激性であり、高い安全性を有していることを示唆した (Fig. 1)。pMB存在下で自転公転型攪拌機を用いてWet-mill処理を行うことで、CsAのSMSD製剤 (SMSD/CsA)を調製した。物性評価の結果、本製剤中のCsAは非晶質状態でポリマー中に分散していることを示唆した。本製剤のミセル形成能を評価したところ、SMSD/CsAは水中分散時に約200 nmの

ミセルを形成し、精製水におけるCsAの溶出挙動を大幅に改善した (Fig. 2A)。さらに、加速条件下で4週間保存した製剤においてもその溶出挙動を維持しており、SMSD/CsAは高い保存安定性を有する固体分散体制剤であることを確認した。また、CsA原末及びSMSD/CsAをラットに経口投与 (10 mg-CsA/kg)した際、SMSD/CsA投与時のBAはCsA原末投与時と比して約42倍の向上を示した (Fig. 2B)。また吸収のバラツキの指標として血中薬物濃度時間曲線下面積における変動係数 (Coefficient variation:

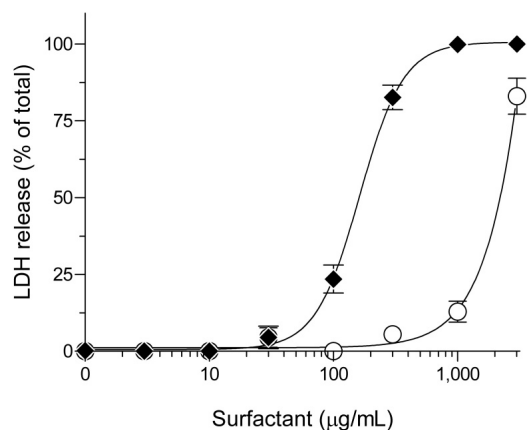


Fig. 1. *In vitro* cytotoxicity of surfactants in rat intestinal IEC-6 cells. LDH leakage, a surrogate marker for cytotoxicity, from IEC-6 cells was measured after incubation for 24 h with various concentrations of polysorbate 80 (◆) or poly[MPC-co-BMA] (○). Data represent mean \pm S.E. of 4 experiments.

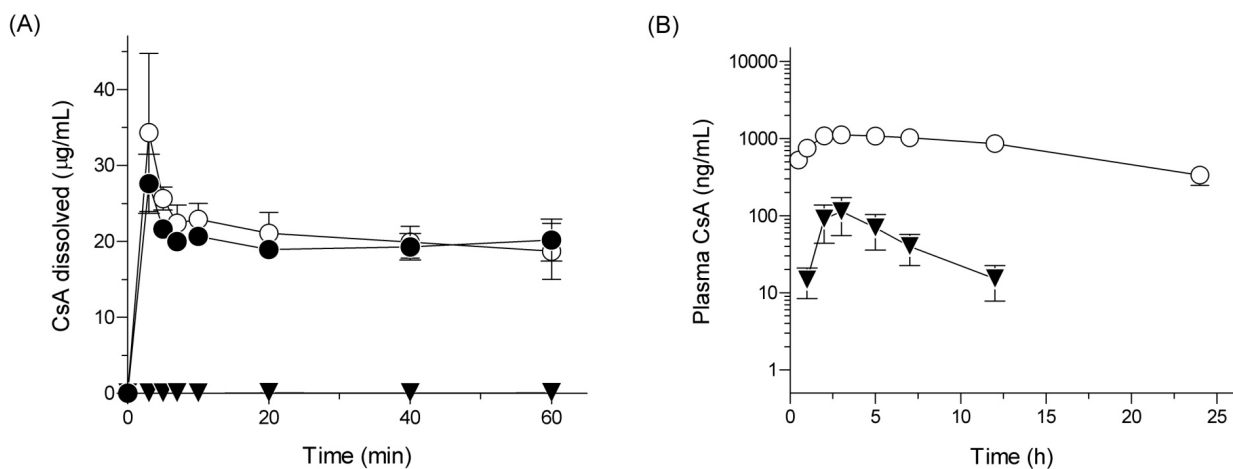


Fig. 2. Dissolution and pharmacokinetic properties of CsA samples. (A) Dissolution profiles of amorphous CsA (▼), SMSD/CsA (○), and SMSD/CsA stored at 40°C/75% RH for 4 weeks (●) in distilled water. Each bar represents mean \pm S.E. of 3 experiments. (B) Systemic exposure of CsA in fasted rats after oral administration of amorphous CsA (▼) and SMSD/CsA (○) suspended in distilled water (1 mL). Data represent mean \pm S.E. of 5 experiments.

CV) を算出したところ、SMSD 技術を適用することで CV 値が 58% 減少し、本製剤経口投与は CsA 吸収のバラツキ軽減を達成した。CsA の低くバラツキを伴う吸収性の要因の 1 つにその低溶解性があり、SMSD アプローチによる CsA の溶解性改善が CsA の経口吸収性向上に寄与したと考える。

CsA の吸収は食事の影響を受けることが知られており、このことは CsA の臨床使用において克服すべき課題となっている。そこで、SMSD 技術により食事による CsA の経口吸収性変動回避が可能か否かを検証した。空腹時および摂食時人工胃液 (Fasted-state simulated gastric fluid: FaSSGF および Fed-state simulated gastric fluid: FeSSGF)、人工腸液 (Fasted-state simulated intestinal fluid: FaSSIF および Fed-state simulated intestinal fluid: FeSSIF) を用いて CsA の溶出性を評価した。さらに、絶食および高脂肪食摂取ラットに CsA 原末および SMSD/CsA 経口投与後の血中 CsA 濃度をモニタリングすることで、食事が CsA の経口吸収性に与える影響を精査した。FaSSGF および FeSSGF 中における CsA 原末の CsA 溶出量は同程度であったが、FeSSIF 中での CsA 溶出量は FaSSIF 中の溶出量よりも顕著に増加した。このことは CsA 原末が FeSSIF 中に含まれる脂肪成分への溶解などにより溶解性が増大したものと考えられる。すなわち、CsA 原末の溶出特性は食事に伴う消化管内の環境変化に大きな影響を受けた。その一方で、FaSSIF および FeSSIF 中における SMSD/CsA の CsA 溶出量に有意差はなく、ほぼ同程度であった。吸収性評価においても、CsA 原末を高脂肪食摂取ラットに投与した際の CsA 吸収は絶食ラットに投与時と比較して顕著に増大した。一方、SMSD/CsA 投与時では絶食ラットおよび高脂肪食摂取ラットにおける CsA の吸収性に違いはなく、食事の有無によらず同様の最高血中濃度、BA を示した。すなわち、SMSD 化による CsA の溶解性改善は食事による顕著な経口吸収性の変動を受けない投与形態であることを示唆した。以上より、SMSD アプローチは CsA の溶解性および経口吸収性の改善、さらには食事の影響軽減が可能であり、SMSD/CsA は CsA の有効性を高める新規投与形態の 1 つとして期待できる。SMSD 技術は、CsA のみでなく、低分子薬物であるトラニラストにも適用しており、その溶解性および経口吸収性の向上を達成して

いる²⁾。従って、SMSD 技術は幅広い化合物に対して有用な製剤技術として期待している。

3. SMSD/CsA の粉末吸入製剤への応用

CsA は喘息モデル動物に対する有用性に加えて、ステロイド依存性の慢性喘息患者における臨床試験でもその有用性が報告されており、CsA の喘息治療薬としての臨床応用が強く期待されている。しかしながら、CsA の経口投与による使用は CsA の過剰な全身曝露により腎毒性や肝毒性などの全身性副作用を惹起することから、経口投与以外の投与ルートの開発が望まれている。呼吸器疾患治療において、患部特異的かつ低用量投与が可能である吸入製剤は投与量の減少および全身性副作用回避の達成が可能であり、最も効果的な剤形であると考えられる。しかしながら、不溶性微粒子は気道粘膜でクリアランスを受け十分な薬効発現に寄与できないため、CsA のような難水溶性薬物では吸入製剤のメリットを最大限に活かすことは困難なものとなる。そこで、溶解性改善を達成した SMSD/CsA を粉末吸入製剤として発展的に応用することで薬効の上昇、また低用量局所投与による全身曝露に軽減を試みた³⁾。SMSD/CsA の粉末吸入製剤 (SMSD/CsA-RP) を調製すべく、Jet-mill を用いて粉碎後、ラクトースキャリアーと混合した。SMSD/CsA-RP の表面形態を走査型電子顕微鏡を用いて観察したところ、本吸入製剤はラクトースキャリアー表面に Jet-mill 処理された SMSD/CsA 粒子が付着した形態であった。微細な SMSD/CsA 粒子同士の凝集は観察されず、キャリアー粒子の添加が微細粒子同士の自己凝集の抑制に寄与した。カスケードインパクトを用いて *in vitro* 吸入特性を評価した結果、SMSD/CsA-RP の Fine particle fraction は 36% であり、カプセルからの放出量は 98% と優れた *in vitro* 吸入特性を示した。続いて、SMSD/CsA の呼吸器系における溶出挙動を予測すべく、人口肺液 (Simulated lung fluid: SLF) を用いて溶出試験を行った。SLF 中においても SMSD/CsA は CsA の溶出挙動を大幅に改善した (Fig. 3)。これらの結果より、SMSD/CsA-RP は CsA の吸入製剤として適した製剤特性を有していることを確認した。そこで、卵白由来 Ovalbumin (OVA) を抗原とした気道炎症モデルラットを作製し、SMSD/CsA-RP 気道内投与 (100 μ g-CsA/rat) 後の

抗炎症効果を精査した。その結果、薬物非投与群と比較して、SMSD/CsA-RP 気道内投与は気道における好中球の浸潤を約 60% 抑制し、炎症性バイオマーカーの有意な低下を認めた (Fig. 4A)。SMSD 技術と吸入製剤技術を組み合わせることで、低用量での薬効発現を実現した。そこで、腎毒性発現量 (10 mg-CsA/kg) の CsA 製剤 (Neoral[®]) を経口投与した際と薬効発現量 (100 μ g-CsA/rat) の SMSD/CsA-RP の気道内投与時の血中 CsA 曝露量を比較したところ、気道内投与時の血中 CsA 曝露量は経口投与時の 100 分の 1 以下であった (Fig. 4B)。さらに、7 日間連続で経口あるいは気道内投与後の総ビリルビ

ンおよび血中尿素窒素、血中クレアチニン値を測定したところ、経口投与群では投与回数に依存してその値が上昇したのに対して、気道内投与群では 7 日後においてもこれらの値に変動はなかった。以上のことから、SMSD/CsA-RP は CsA の抗炎症作用の向上および全身性副作用発現リスクの低減に寄与し、炎症性呼吸器疾患治療における CsA の有効性を高める新規投与形態の 1 つとして期待できる。

4. おわりに

今回、これまでの研究生生活を思い返す良い機会となったために、若手研究者紹介として本稿を執筆する機会を与えて頂いたことに深く感謝したい。本稿では、SMSD 技術を CsA に適用した研究テーマを紹介したが、他にもメロキシカムの疼痛時における経口吸収性改善⁴⁾や血管作動性腸管ペプチド誘導体の粉末吸入製剤開発⁵⁾などの研究も行ってきた。これまでの研究生生活を振り返ると、多くの研究に携わらせて頂いたこと、さらには学会発表や論文執筆など私の成長に欠かせないイベントが数多くあったことを改めて実感することができた。またこの研究生生活を通して、本当に多くの方々に出会い、多くの方々の指導や支えのもとで今日の私があるのだと改めて痛感した。研究者として、人としてもまだまだ成長途中であり、未熟なところは多くあるので、これまでの出会いや経験を大切にすると共に、これから製

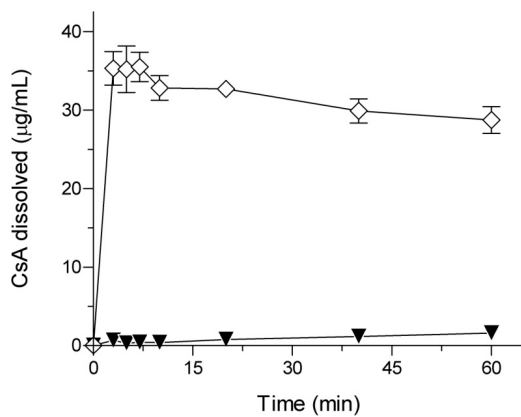


Fig. 3. Dissolution profile of amorphous CsA (▼) and SMSD/CsA (◇) in simulated lung fluid. Data represent mean \pm S.E. of 3 experiments.

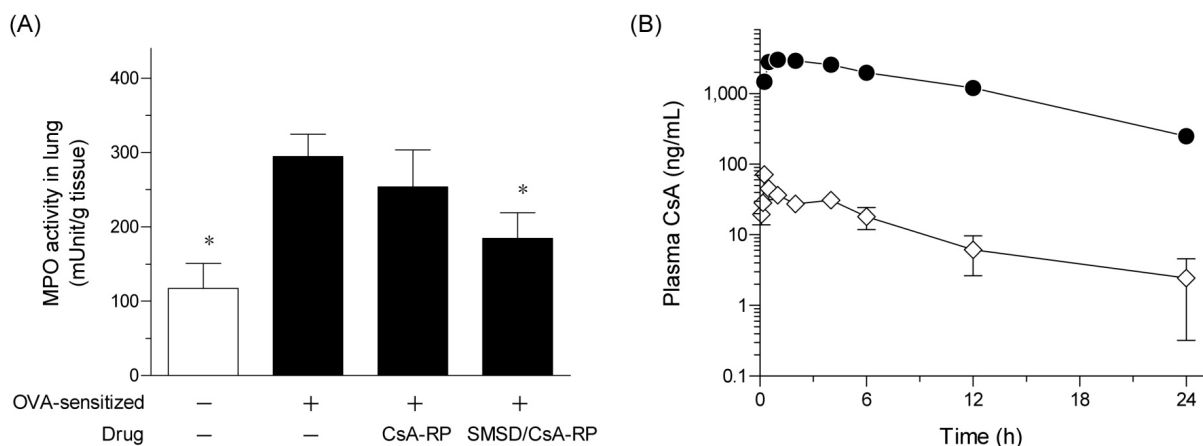


Fig. 4. Anti-inflammatory effect and plasma concentration-time profile of CsA after intratracheal administration of CsA formulations (100 μ g-CsA/rat). (A) MPO activity in lung after intratracheal administration of respirable powder of amorphous CsA (CsA-RP) and SMSD/CsA-RP in OVA-sensitized rats. Data represent mean \pm S.E. of 5–6 experiments. * $p < 0.05$ with respect to OVA with vehicle group. (B) Systemic exposure of CsA in rats after oral administration of Neoral[®] (●) at a toxic dose (10 mg-CsA/kg) or intratracheal administration of SMSD/CsA-RP (◇) at a pharmacologically effective dose (100 μ g-CsA/rat). Data represent mean \pm S.E. of 5–6 experiments.

薬企業で多くのことを積極的に吸収し成長していきたいと考えている。製剤研究の目標は病に苦しむ患者さんが望む製剤を具現化することであり、私も微力ながらその目標を達成できるように切磋琢磨し、日々精進したいと思う。

最後に私が研究者として現在に至るまで、ご指導ご鞭撻を頂きました静岡県立大学薬学部薬物動態学教室 尾上誠良教授に心より感謝申し上げます。また研究にご協力頂きました当研究室の卒業生ならびに学部学生の皆様に御礼申し上げます。またこのような貴重な執筆の機会を頂きました薬剤学編集委員の皆様にも心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) S. Onoue, H. Suzuki, Y. Kojo, S. Matsunaga, H. Sato, T. Mizumoto, K. Yuminoki, N. Hashimoto, S. Yamada, Self-micellizing solid dispersion of cyclosporine A with improved dissolution and oral bioavailability, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **52**, 16–22 (2014).
- 2) S. Onoue, Y. Kojo, H. Suzuki, K. Yuminoki, K. Kou, Y. Kawabata, Y. Yamauchi, N. Hashimoto, S. Yamada, Development of novel solid dispersion of tranilast using amphiphilic block copolymer for improved oral bioavailability, *Int. J. Pharm.*, **452**, 220–226 (2013).
- 3) H. Suzuki, K. Ueno, T. Mizumoto, Y. Seto, H. Sato, S. Onoue, Self-micellizing solid dispersion of cyclosporine A for pulmonary delivery: Physicochemical, pharmacokinetic and safety assessments, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **96**, 107–114 (2017).
- 4) H. Suzuki, K. Yakushiji, S. Matsunaga, Y. Yamauchi, Y. Seto, H. Sato, S. Onoue, Amorphous solid dispersion of meloxicam enhanced oral absorption in rats with impaired gastric motility, *J. Pharm. Sci.*, **107**, 446–452 (2018).
- 5) H. Suzuki, T. Mizumoto, Y. Seto, H. Sato, S. Onoue, Respirable powder formulation of a shortened vasoactive intestinal peptide analog for treatment of airway inflammatory diseases, *J. Pept. Sci.*, **24** (3), e3069 (2018).