

日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後報告書

I 基本情報

研究開発課題名：Fine Droplet Drying テクノロジーによる経気道治療用ナノマイクロ粒子包埋医薬品の創出を
目指した研究

Development of a newly treatment modality for lung diseases that uses innovative
Fine Droplet Drying (FDD) technology offering inhalable nano/microparticles-
incorporated therapeutic agents

研究開発実施期間：2017 年 5 月 1 日～2020 年 3 月 31 日

研究開発代表者 氏名：佐藤 隆

Takashi Sato

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立大学法人信州大学 先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所 特任教授

Shinshu University, Institute for Biomedical Sciences, Specially Appointed Professor

II 研究開発の概要

本研究開発の成果として、圧電素子を用いた微粒子作成技術である「Fine Droplet Drying (FDD) technology：株式会社リコー提供技術)」を製剤設計に応用することで、既存医薬品のリポジショニングを含む汎用性の高い薬剤・剤型開発の創出につながる可能性が見出された。以下、その内容について報告する。

【基盤成果 1：難溶性医薬品・化合物を含有する FDD 粒子体の構築とその粒子特性】

既存の経気道投与用医薬品の粒子基材としても使用実績のある乳糖を基剤として、呼吸器難治性疾患に対して適応を有する経口分子標的医薬品 Z を含有する FDD 粒子体を作成した。この乳糖基材 Z-FDD 粒子は Z の含有濃度を 1～20% に増量しても、乳糖 FDD 粒子と同等の粒子径・粒度分布を示し、走査型電子顕微鏡観察下による粒子外観も同等であった。また乳糖基剤 Z-FDD 粒子体中の含有率を高速液体クロマトグラフィーによる定量法を構築したうえで検証した。理論原薬量は Z の調製時の仕込み率に基づいて算出し、1wt%、3wt%、10wt%、20wt% の Z-FDD 粒子体中のそれぞれの Z 含有率は、91.0%～95.8% であり、いずれの Z-FDD 粒子体においても理論値の 90% 以上の Z が含まれることを確認した。

また、溶解特性を経時的に精査すると、Z 単独では再結晶化により経時的に溶解度が低下するのに対して、乳糖基剤 Z-FDD 粒子は経時的に溶解度の向上がみられ、その溶解度の差は最大で約 70 倍に達した。Z 単独での低溶解性が改善された要因として、X 線結晶解析の結果を考察する、Z-FDD 粒子体では含有する Z 濃度に依存しない非晶質化（X 線結晶解析では結晶ピークを認めずハローパターンを呈していた）が得られていることが大きいと考えられた。この FDD 粒子体の非晶質特性は、既存の低溶解性医薬品の特性を改善しうる極めて汎用性の高い技術と考えられたため、これを確認する目的で呼吸器悪性腫瘍に対して適応を有する医薬品 Y の有効化合物

を含有する FDD 粒子体（Y-FDD 粒子体）を作成して検証したところ、Y-FDD 粒子体の非晶質化と溶解特性の向上が確認された。

今回作成した即溶性 FDD 粒子体の基材として採用した乳糖は、経気道投与製剤としての使用実績が豊富で、最大使用量 399.2mg の実績があり（日本薬局方 2016 版：第 16 改正）、このような安全性の高い基剤による即時溶解性を実証したことは、多くの難溶性医薬品に対して経路変更のリポジショニング機会を与える汎用性の高い革新技術であり、本研究課題の骨格をなす基盤成果である。

【基盤成果 2：難溶性医薬品・化合物の FDD 粒子体を用いた非臨床試験における有効性と安全性】

Z-FDD 粒子体は、0.9%生理食塩水を溶媒として速やかな溶解が得られ、臨床現場での即時調整を可能とした（基盤成果 1）。そこで、実際に Z-FDD 粒子体溶解物の臨床使用を念頭に、1) 圧電素子メッシュを使用したエアロネブライザーでの使用と 2) 動物モデルにおける Z-FDD 粒子体の経気道投与による薬効判定を行った。

小動物用精密呼吸機能装置として信頼性の高い Flexivent システムに付属するエアロネブライザーを用いた噴霧試験では、圧電素子メッシュ部に Z 単体では鮮やかな黄色結晶物の残留が肉眼的に確認されるが、Z-FDD 粒子体の溶解物では残存は認めず、既存の医療機器デバイスを使用した投与が可能であることを確認した。

次に、経口分子標的薬 Z が適応を有する呼吸器難治性疾患の動物モデルを使用した薬効検証では、主要評価項目として呼吸生理学的変化の抑制を検証し、副次評価項目として i) 体重変化、ii) 肺組織の形態学的評価、iii) 肺組織における分子生物学的定量評価項目を検証した。

Z-FDD 粒子体の溶解液を使用した動物モデルの検証では、投与濃度依存的に呼吸機能の各種パラメータ（最大吸気量、胸郭肺コンプライアンス、肺組織エラスタンス、静肺コンプライアンス）の低下を最大で 72%抑制するなど、有意に抑制することが示された。このように、Z の薬効が FDD 粒子体に改変され、さらに投与経路変更にも担保されることを確認したが、最も画期的な点として、この効果は経口での実効投与量の 1/20 の低用量で再現可能であり、経気道投与によるバイオアベイラビリティの向上とともに、肺局所への直接作用の有効性を示した点があげられる。

以上をまとめると、肺病変を標的とする既存の経口低分子医薬を FDD テクノロジーにより経気道投与用医薬に改変し、非臨床試験モデルによる検証を行い投与経路依存かつ投与量依存性に薬効を確認し、全身投与に比して低用量での有効性を確認した。

安全性解析については、Z において重要な特定されたリスクとしての消化器毒性（ヒト臨床試験では下痢と肝機能障害）に関連する安全性評価として、便性状や体重変化および血液中の肝酵素の評価を行った。便性状は、高容量での経気道投与（体重 50 kg のヒト換算にて単回標準投与量の 3 倍量に相当）においても便性状に変化は見られず、個体外観観察においても有害事象は認めなかった。消化器症状を誘因とする摂食行動への影響を考慮して、体重変化の推移を検証したが、経気道治療群では非治療群と比較して初期の体重減少が抑制されるとともに、その後の体重増加への移行が早期から観察され、生理食塩水コントロール群と差がない体重増加が観察され、経気道投与の安全性が担保されていることを確認した。また、血液生化学的評価項目として呼吸機能検査施行に合わせてアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）を指標とする肝障害、また尿素窒素（BUN）を指標とする腎障害の検証を行った。ALT は生理食塩水コントロール群 47.6 ± 25.7 IU/L（平均±標準偏差）、非治療群 47.4 ± 18.8 IU/L、ニンテダニブ経気道治療群 50.2 ± 17.0 IU/L で有意差を認めず、また BUN も生理食塩水コントロール群 25.3 ± 3.8 mg/dL、非治療群 24.0 ± 4.6 mg/dL、ニンテダニブ経気道治療群 23.7 ± 4.3 mg/dL で群間に有意差は認めず、単回投与における肝・腎機能への影響はみられなかった

【基盤成果 3：中分子核酸の FDD 粒子体の作成】

中分子核酸 X と水溶性基材を用いた X-FDD 粒子体を作成し、小分子医薬品 Z-FDD や Y-FDD 粒子体と同等の粒子サイズ（3~4 μ m）と粒度分布の粒子体を得られた。核酸粒子の粒度分布の狭小化は気管支関連リンパ組織

(BALT) や腸管関連リンパ組織 (GALT) への送達性と取り込み効率の向上が期待され、核酸医薬の新規投与方法としての経気道投与方法と経口投与方法の構築に向けた検証を行った。経気道投与方法の構築にあたっては、X-FDD 粒子体調整液を充填したエアゾール缶の試作を行い、最適なデバイス構築に向けた研究開発を開始しており、将来的には呼吸器アレルギー疾患や呼吸器悪性疾患、さらには呼吸器感染症に対する吸入核酸医薬の研究開発につながる成果と考える。また核酸医薬の耐胃酸性の問題は、炭酸アパタイト (Mol Ther 2015;23:297-309) を基材とすることで克服されたことから、中分子核酸 X と炭酸アパタイト基材を用いた X-炭酸アパタイト FDD 粒子体を作成した。X-炭酸アパタイト FDD 粒子体においても狭い粒度分布が再現され、経口摂取後の GALT への送達・取り込み向上が期待され、アレルギー疾患モデルに対する経口摂取試験で有効性の確認を行っている。

このように、小分子から中分子にわたる FDD 粒子体の特性を明らかにし、経気道投与への投与経路変更を可能とする FDD 技術の優位性を提唱し、将来の臨床導出への道筋を見出した。

【本研究成果の意義】

本研究の遂行により、今後の FDD 粒子化製剤設計は次に示す 2 つの方向性に集約される。すなわち、1) 即溶性粒子製剤設計技術を基盤とする (経気道投与への変更を主体とする) 投与経路変更のドラッグリポジショニングツールとしての活用と 2) 粒度分布特性に優れた造粒技術に基づき、経気道投与を主体とする高効率ドラッグデリバリーツールとしての活用である。いずれも、本研究開発目標である薬剤 ADME 特性の向上に資する内容であり、「即溶性粒子製剤設計技術」に関しては信州大学と株式会社リコーで国際特許の申請を行い (2020 年 1 月 10 日に国際出願: PCT/JP2020/000711)、知的財産権の確保も目指している。

現在の標的医薬の代表である「チロシンキナーゼ阻害薬」に代表される「難溶性分子標的経口医薬」の投与経路変更に係るドラッグリポジショニングの提唱が可能となった点は意義が大きい。現在、各種「チロシンキナーゼ阻害剤」の即溶性粒子製品の開発をすすめており、その出口戦略は「有効性は高いものの忍容耐性が相対的に低いチロシンキナーゼ阻害薬」のドラッグリポジショニングを提案し、その有効性と忍容性向上の検証結果をもとに、臨床への導出に取り組む試みである。

ドラッグデリバリーツールとして、FDD テクノロジーは小分子から中分子核酸医薬に渡る包埋粒子の実績をもとに高い汎用性を証明し、さらにこれらの技術基盤の蓄積を経て高分子医薬、特に我々が生物資源医薬と定義する乳酸菌をキャリアーとする抗体医薬の包埋粒子作成に向けた取り組みが可能となった点は意義が大きい。この成果を基盤として、国際共同研究「免疫チェックポイント阻害乳酸菌による肺癌発癌予防・進展予防効果の検証 (日本学術振興会・科学研究費助成事業・国際共同研究加速基金・課題番号 19KK0208)」を進めている。

まとめると、本研究開発の意義として次の 2 点に集約される。

- 1) FDD テクノロジーを基盤とする実用性が期待できる汎用性の高い剤型開発の創出が示され、知的財産権の申請につながった。
- 2) FDD テクノロジーを基盤とする粒子作成技術を基に新規の治療モジュールの提案が可能となり、早期の臨床導出を目指した国際共同研究の開始につながった。

This project was designed to develop an innovative treatment modality by generating small/medium-sized molecules, or antibody drugs, embedded in microparticles using “fine droplet drying (FDD)” technology. This technology was developed by Ricoh Co., Ltd. (Tokyo, Japan) using a piezoelectric device for ink-jet printing. This device enables the production of highly functional particles with the following characteristics: i) an amorphous, spherical, solid dispersion formulation with a narrow particle size distribution, ii) good stability under conditions up to 40°C/75% relative humidity, iii) constant/prolonged drug release and improved dissolution behavior, and iv) a respirable powder formulation. We used this technology to develop high performance nano/microparticles as next generation therapeutics with improved absorption/distribution/metabolism/excretion (ADME) properties. These therapeutics were especially suitable for treating lung diseases because of their respirability. The results obtained are summarized as follows:

1) Development of FDD particles containing poorly soluble small molecule (molecularly targeted) drugs

FDD particles containing the poorly soluble drug Z (Z-FDD) were created. These particles were uniform with a narrow size distribution range between 1 and 5 μm (average 2.2 μm) and were immediately soluble in saline. We made Z-FDD particles containing 1-20 weight percent of Z; the Z contents were 91-95% of the theoretical values. X-ray diffraction analysis of the Z-FDD particles showed a halo pattern, indicating that the amorphous property of Z-FDD could be a key to its high water solubility. Time-course monitoring of the dissolution of these particles in saline showed up to a 70-fold improvement with Z-FDD compared to Z alone. These FDD properties were reproduced when using Y, another small molecule (molecularly targeted) drug.

2) Successful drug efficacy verification in an animal model using Z-FDD

We used an established animal model of pulmonary fibrosis (intratracheal bleomycin) for evaluating the effect of Z-FDD. The effect of Z-FDD administered either intratracheally or intraperitoneally in this model was assessed by pulmonary function tests. Animals administered Z-FDD intratracheally showed significant and dose-dependent improvements in many parameters including inspiratory capacity, compliance, and tissue elasticity, compared to those administered Z-FDD intraperitoneally at a dose equivalent to the single daily dosage in human. These results show that the active ingredient in Z was able to attenuate progressive lung disease by systemic (oral) administration.

3) Development of FDD particles containing a synthetic oligodeoxynucleotide (ODN)

We showed previously that polymer/chemical microparticles containing a synthetic ODN could be useful when delivered directly to lung/bronchus-associated lymphoid tissues in a model of lung cancer (Mol Cancer Ther 2015;14:2198) and to gut-associated lymphoid tissues for inflammatory bowel diseases (Mol Ther 2015;23:297). However, to maximize the effect of particles containing ODN, the particles should be made more sophisticated in shape and with a uniform, narrow size distribution. In this regard, ODN-FDD was used to successfully create particles with a uniform size between 3 and 4 μm . We then created a suspension of ODN-FDD particles for clinical use in an aerosol device.

Our strategy using FDD technology could improve the ADME properties of small/medium-sized molecules or antibody drugs by creating uniform spheres with suitable particle sizes. These properties could be beneficial when the particles are used for inhalation by avoiding the first-pass effect, and in terms of absorption and distribution. Therefore, our project may lead to an innovative drug delivery system, not limited to respiratory diseases, with improved efficacy, tolerability, and safety. This, in turn, may lead to a reduction of medical expenses in Japan. Based on the results of the current project, we will now proceed to an international collaborative study using particles-containing bioactive single chain antibodies for treating lung cancer (funded by the Japan Society for Promotion of Science, project number 19KK0208).