

フルティフォーム 50 エアゾール 56 吸入用
フルティフォーム 125 エアゾール 56 吸入用
フルティフォーム 50 エアゾール 120 吸入用
フルティフォーム 125 エアゾール 120 吸入用
(フルチカゾンプロピオン酸エステル/ホルモテロールフマル酸塩水和物)

第 2 部 CTD の概要 (サマリー)

2.6.2 薬理試験の概要文

目次

略語及び専門用語一覧表	3
2.6.2.1 まとめ	5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験	6
2.6.2.3 副次的薬理試験	14
2.6.2.4 安全性薬理試験	15
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用	15
2.6.2.6 考察及び結論	15
2.6.2.7 図表	18
2.6.2.8 参考文献	19

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
KRP-108	フルティフォームのコード番号で、フルチカゾンプロピオン酸エステル/ホルモテロールフマル酸塩水和物の配合剤
フルチカゾン	フルチカゾンプロピオン酸エステル
ホルモテロール	ホルモテロールフマル酸塩水和物
ベクロメタゾン	ベクロメタゾンジプロピオン酸エステル
モメタゾン	モメタゾンフランカルボン酸エステル
サルメテロール	サルメテロールキシナホ酸塩
β 受容体	アドレナリン受容体 β サブタイプ
β 刺激薬	アドレナリン受容体 β サブタイプ刺激薬
BEAS-2B	ヒト気道上皮細胞株
GM 06114	ヒト肺線維芽細胞株
NHBE4892	初代正常ヒト気道上皮細胞株
BN ラット	Brown Norway ラット
Gs タンパク	受容体活性化 G タンパク質
ACh	Acetylcholine : アセチルコリン
alum	水酸化アルミニウムゲルアジュバント
AP-1	Activator Protein-1
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor : 塩基性線維芽細胞増殖因子
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate : 環状アデノシンーリン酸
BALF	Bronchoalveolar Lavage Fluid : 気管支肺胞洗浄液
FVC	Forced Vital Capacity : 努力肺活量
ED ₅₀	50%反応用量
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor : 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
GR	Glucocorticoid Receptor : グルココルチコイド受容体
GRE	Glucocorticoid Response Element : グルココルチコイド応答配列
HBSS	Hank's Balanced Salt Solution : Hank's 緩衝塩溶液
HFA	Hydrofluoroalkane : ハイドロフルオロアルカン
IAR	Immediate Asthmatic Response : 即時性喘息様反応
IC ₅₀	50%抑制濃度
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1 : 細胞接着分子-1
IgE	Immunoglobulin E : 免疫グロブリン E
IL-1 β	Interleukin-1 β : インターロイキン-1 β
IL-4	Interleukin-4 : インターロイキン-4
IL-5	Interleukin-5 : インターロイキン-5
IL-8	Interleukin-8 : インターロイキン-8
IL-13	Interleukin-13 : インターロイキン-13
LAR	Late Asthmatic Response : 遅発性喘息様反応
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid : メッセンジャーリボ核酸

MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MCh	Methacholine : メタコリン
Na ⁺ -K ⁺ ATPase	Sodium-Potassium Adenosine Triphosphatase
NF-κB	Nuclear Factor-κ B
OCT3	Organic Cation Transporter 3 : 電位依存性有機陽イオントランスポーター3
OVA	Ovalbumin : 卵白アルブミン
PC ₅₀	反応が 50%となる濃度
PC ₂₀₀	反応が 200%となる濃度
Penh	Enhanced Pause : 肺抵抗(気道過敏性のインデックス)
PKA	Protein Kinase A : プロテインキナーゼ A
PMA	Phorbol Myristate Acetate : ホルボールミリステートアセテート
RANTES	Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted
SG _{aw}	Specific Airway Conductance : 気道コンダクタンス (抵抗の逆数に相関するパラメータ)
TNF-α	Tumor Necrosis Factor-α : 腫瘍壊死因子-α
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1 : 血管細胞接着分子-1

2.6.2.1 まとめ

新投与経路医薬品の再審査期間中のものに該当するホルモテロールの効力を裏付ける試験成績は、吸入又は気管内投与の公表論文を要約した。フルチカゾンは既承認医薬品であるため、評価対象に該当しないと判断した。また、新医療用配合剤としてのフルチカゾンとホルモテロールの併用意義については、フルチカゾン及びホルモテロール、又は類剤の公表論文を要約することで説明可能と考えた。ホルモテロールとフルチカゾンを有効成分とする新医療用配合剤であるフルティフォームの安全性薬理試験は、イヌを用いて心血管系及び呼吸器系に対する影響を評価した。

ホルモテロールは選択的長時間作用性の β_2 刺激薬である。その β_2 受容体に対する親和性は高く、ヒト受容体発現細胞では $8.63(-\log K_D)$ と報告されている。また、 β_2 受容体選択性も高く、その選択性は β_1 受容体及び β_3 受容体の親和性(それぞれの $-\log K_D$: 6.11 及び 5.82)に対して 331 倍及び 646 倍親和性が高い。ホルモテロールの作用発現までの時間は短く(気管筋弛緩速度は速く)、サルメテロールの半分以下である。また、ホルモテロールは吸入や気管内投与により、ヒスタミン刺激や OVA 感作モデルにおいて気道収縮の抑制や炎症細胞数の増加の抑制作用を示し、吸入は経口投与と比較して低用量で有効であることが報告されている。

フルチカゾンは GR 作動薬の一つであり、その GR に対する親和性は高く、ヒト肺組織での親和性は 0.5 nmol/L である。親和性が高いだけでなく受容体への結合速度もブデソニドのような他のステロイドよりも速く、受容体との複合体の半減期も約 10 h と長いことが示されている。フルチカゾンなどのステロイド薬が誘発するヒト気道上皮細胞株(BEAS-2B)のグルココルチコイド応答配列(GRE)依存の転写活性はホルモテロール及び他の β_2 刺激薬により同様に増強することが報告されている。また、フルチカゾンは *in vitro* 及び *in vivo* で長時間作用性 β_2 刺激薬であるサルメテロールの気道収縮抑制や炎症細胞数の増加抑制作用を増強することが報告されている。サルメテロールの呼吸機能の増悪や炎症細胞数の増加亢進などのような喘息増悪をフルチカゾンが抑制することが示されている。一方で、ホルモテロールは *in vitro* 及び *in vivo* でステロイド薬であるブデソニド、ベクロメタゾン及びモメタゾンの作用を増強することが多数報告されている。

以上のことから、フルチカゾンはホルモテロールとの組み合わせにより併用効果が報告されているだけでなく、フルチカゾンは他の β_2 刺激薬であるサルメテロールやサルブタモールとの併用効果も確認されている。一方、ホルモテロールもブデソニドとの併用効果が多数報告されているが、その他のステロイド薬であるベクロメタゾン及びモメタゾンとの併用効果も報告されている。このようにフルチカゾンは β_2 刺激薬の種類によらず併用効果を示し、ホルモテロールもステロイド薬の種類によらず併用効果を示すと考えられた。

テレメトリーを装着したイヌに KRP-108 を吸入させ、心血管系及び呼吸器系への影響を検討した。KRP-108 により、可逆的ではあるが用量依存性で長時間持続する拡張期、収縮期及び平均血圧の低下、並びに心拍数の増加が誘発された。QTcV の延長がすべての投与群に僅かに認められたが、用量依存性は明確ではなかった。中用量及び高用量の KRP-108 投与後に単形性の心室性期外収縮を示す波形及び心室性期外収縮の心室性頻脈へと進行が認められた。

また、高用量の KRP-108 及びホルモテロールの投与後に、カリウムイオンの血漿中濃度が顕著に減少し、全ての用量で、投与終了時及び投与 2 時間後の一回換気量及び毎分換気量が増加した。その他、鼻漏等の臨床徴候が吸入曝露中及び吸入曝露直後に記録され、重症度は用量と関連していた。

ホルモテロール単独投与群においても、全般に KRP-108 投与群とほぼ同等の作用が認められており、KRP-108 の安全性薬理試験で認められた心血管系及び呼吸器系に対する作用は、いずれも有効成分のホルモテロールによって誘発されたと考えられる。これらの作用はフルチカゾンを併

用した KRP-108 投与群と同程度であり、併用による増悪作用はないことが示唆された。

以上より、フルチカゾン及びホルモテロールは併用による有効性の増加が期待され、安全性薬理的な観点では単剤投与群の懸念を上回るものではないことが示唆されることから、両者を配合剤にすることにより有用な薬剤になると考えられた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 フルチカゾン

該当資料なし

2.6.2.2.2 ホルモテロール

2.6.2.2.2.1 吸入での効果

ホルモテロールは経口投与や静脈内投与のような全身投与だけでなく、吸入や気管内投与でも効果を示すことが報告されている。以下に公表論文を要約した。

2.6.2.2.2.1.1 ヒスタミン刺激による気道収縮に対する作用(薬物：吸入、一部経口)

-1. Ida H. の報告¹⁾

雄性モルモットに 0.1% のヒスタミン溶液を 10 sec(0.014 mL/s)エアゾールとして吸入させて気道収縮を誘発させた。モルモットは呼吸困難及び虚脱、時として意識の消失などの喘息症状に陥った。薬物はエアゾールとして、刺激曝露の 1 min 前に 15 sec 間吸入させた。また、薬物を経口投与する場合には刺激曝露の 30 min 前に行った。刺激曝露後 3 min 以内の喘息症状の有無により薬物の効果を判定し、ED₅₀ は 50% の個体が喘息症状を示す用量として求めた。

ホルモテロールは吸入により、ヒスタミンによる喘息症状を抑制し、その ED₅₀ は 2.6 µg/kg であった。これはイソプロテレノール及びサルブタモールのそれぞれ 1.5 及び 3.3 倍の効力であった。また、ホルモテロールの経口投与による ED₅₀ は 56 µg/kg であり、吸入による投与では効力は経口投与の 22 倍の効力を示した。

-2. Nials AT, Ball DI, Butchers PR, Coleman RA, Humbles AA, Johnson M, et al. の報告²⁾

雄性モルモットを全身プレチスモグラフに入れ、呼吸に関連した気圧変化を解析した。9 mmol/L のヒスタミン溶液のエアゾールを吸入させると呼吸に関連した気圧変化及び呼吸数の増加が認められた。この呼吸数の変化を気道収縮反応として評価した。ヒスタミンの吸入の 30、90、180 及び 360 min 前に薬物を 60 sec 間吸入させた。

ホルモテロールはヒスタミン吸入の 30 min 前に 0.001~1 mmol/L 吸入させると濃度依存的に気道収縮反応を抑制した。気道収縮反応を 50% 抑制するのに必要な濃度は、ホルモテロールで 0.01 mmol/L であり、サルメテロールの 0.12 mmol/L 及びサルブタモールの 0.2 mmol/L と比較して 10~20 倍の効力であった。また、持続性はホルモテロール(0.01 mmol/L)では約 3 h であり、サルメテロール(0.2 mmol/L)の 6 h 以上より短いもののサルブタモール(0.2 mmol/L)の 1.5 h 以下より長かった。

-3. Mohammed SP, Taylor CV, Weyman-Jones CB, Mather ME, Vendy K, Dougall IG, et al. の報告³⁾

麻酔下のモルモットに気管カニューレを装着し、人工呼吸器で呼吸をコントロール(5 mL/kg、60 breaths/min)し、呼吸内圧を測定した。ヒスタミン 1~20 µg/kg の静脈内投与(4 min 間隔)により気道収縮を誘発した。また、ヒスタミン投与の 1 h 前に薬物を 15 min 間吸入させた。

ホルモテロールは 30 µg/mL で最大の抑制作用を示し、サルブタモール及びサルメテロールではそれぞれ 1000 µg/mL 及び 100 µg/mL であった。ホルモテロール(30 µg/mL)の気道収縮の抑制率は投与 1 h 後では 79%であったが、3 h 及び 5 h 後にはそれぞれ 50~60%及び 29%となった。また、サルブタモール(1000 µg/mL)の抑制率は 1 h 後では 42%であったが、3 h 及び 5 h 後には消失した(それぞれ 8%及び 4%)。一方、サルメテロール(100 µg/mL)の抑制作用は 5 h 後にも持続していた(抑制率は 1 h 及び 5 h でそれぞれ 66%及び 49%)。ホルモテロールの作用の持続性はサルメテロールと比較すると短いもののサルブタモールより長かった。

-4. Sakamoto T, Barnes PJ, Chung KF. の報告⁴⁾

麻酔下の雌性モルモットに気管カニューレを挿入し、スキサメソニウム(1~1.5 mg/kg, i.v.)で自発呼吸を消失させた後、人工呼吸器で呼吸をコントロール(10 mL/kg、60 strokes/min)して呼吸内圧を測定し、肺抵抗を求めた。ヒスタミン 5 mmol/L を 30 sec 間吸入させて気道収縮を誘発させた。ヒスタミン吸入の 12 min 前に薬物を 1 min 間吸入させた。また、薬物の投与 10 min 後にエバンスブルーを投与(20 mg/kg, i.v.)した。

ヒスタミンにより肺抵抗(mean ± SE)は 55.6 ± 9.05 cmH₂O/mL/s まで上昇した。ホルモテロール(0.75 mg/mL)及びサルブタモール(25 mg/mL)はヒスタミンによる肺抵抗の上昇を抑制した。また、ヒスタミンによる組織中へのエバンスブルーの漏出に対して、ホルモテロール及びサルブタモールは主気管支では有意ではなかったが、肺の細気管支で有意に抑制した。

-5. Tokuyama K, Lötvall JO, Löfdahl CG, Barnes PJ, Chung KF. の報告⁵⁾

麻酔下の雌性モルモットに気管カニューレを挿入し、人工呼吸器で呼吸をコントロール(10 mL/kg、60 breaths/min)して呼吸内圧を測定し、肺抵抗を求めた。ヒスタミン 1 又は 2 mg/mL を 30 breaths 間吸入させて気道収縮を誘発させた。薬物をヒスタミン吸入の 32 min 前より 1 min 間吸入させた。また、エバンスブルーをヒスタミン吸入の 1 min 前に投与(20 mg/kg, i.v.)した。

ヒスタミン 1 又は 2 mg/mL により肺抵抗(mean ± SE)は 7.83 ± 1.11 又は 14.6 ± 2.89 cmH₂O/mL/s まで上昇した。ホルモテロール(0.75 mg/mL)により肺抵抗はそれぞれ 3.30 ± 0.48 又は 7.21 ± 0.92 cmH₂O/mL/s に減少した。一方、サルブタモール(25 mg/mL)では、ヒスタミン 2 mg/mL による肺抵抗が 4.41 ± 2.16 cmH₂O/mL/s に減少した。ヒスタミンによる組織中へのエバンスブルーの漏出に対して、ホルモテロールはヒスタミン 1 mg/mL 刺激で気管、近位肺細気管支及び遠位肺細気管支で有意に抑制し、さらにヒスタミン 2 mg/mL 刺激では気管、主気管支及び近位の肺細気管支で有意に抑制した。一方、サルブタモールはヒスタミン 2 mg/mL 刺激で気管及び主気管支のみ有意に抑制した。

以上のように、ホルモテロールは吸入により肺抵抗を減少させ、ヒスタミンによるエバンスブルーの組織中への浸潤を抑制した。

2.6.2.2.2.1.2 抗原感作モデルにおける気道反応に対する作用(薬物：吸入、気管内投与、経鼻投与)

-1. Wyss D, Bonneau O, Trifilieff A. の報告⁶⁾：経鼻投与

雌性 BALB/c マウスに卵白アルブミン(OVA)20 µg 及び alum(0.1 mL)を 0 及び 14 日目に腹腔内投与し、21 から 23 日目に OVA(10 mg/mL)のエアゾールを 20 min 間曝露した。26 日目に OVA(50 mg/mL)を 20 min 間曝露した。肺抵抗(Penh)の測定は全身プレチスモグラフを用いて最終 OVA 曝露の 4 h 後に行った。また、最終 OVA 曝露の 1 日後、メタコリン(MCh)0~0.6 mol/L のエアゾー

ルを吸入させて気道収縮の反応性が 200%となる MCh 濃度(PC₂₀₀)として求めた。さらに最終 OVA 曝露の 2 日後、マウスを致死させ、気管支肺胞洗浄液(BALF)を採取して炎症細胞数を計数した。ホルモテロールを 1.5~150 µg/kg で最終 OVA 曝露の 1 又は 3 h 後に経鼻的に投与した。

OVA 曝露により肺抵抗は増加し、気道収縮の反応性の指標である MCh 濃度(PC₂₀₀)の低下、BALF 中の炎症細胞(好酸球、好中球、リンパ球及びマクロファージ)の増加が認められた。ホルモテロールの最終 OVA 曝露 3 h 後の投与により肺抵抗の減少、PC₂₀₀ の増加及び炎症細胞数の減少を認めたが、1 h 後では同様の傾向を認めるものの顕著な作用ではなかった。

-2. Chapman RW, Curran AK, House A, Richard J, Salisbury B, Hunter JC, et al の報告⁷⁾ : 気管内投与

雄性 Brown Norway(BN)ラットに卵白アルブミン(OVA)20 µg 及び alum 8 mg を 0 及び 7 日目に腹腔内投与した。14 日目に 1%OVA のエアゾールを 30 min 間吸入させた。ラットは麻酔下で気管カニューレを挿入し、FVC(努力肺活量 : Forced Vital Capacity)を測定した。ラットを致死させ、気管支肺胞洗浄液(BALF)を採取して炎症細胞数を計数した。また、BALF 中のサイトカイン量を測定した。

薬物を軽麻酔下に気管内投与した。FVC の測定では抗原負荷の 24 h 後に薬物を投与し、その 1、5 又は 24 h 後に測定を行った。また、BALF の採取では薬物を抗原負荷の 5 h 前に投与し、抗原負荷の 24 h 後に採取を行った。

FVC は抗原負荷により有意に低下した。ホルモテロール 1~100 µg/kg を投与した 1 h 後の FVC は改善し、100 µg/kg では有意な変化であった。24 h 後ではホルモテロールでは有意な改善効果を認めなかった。

BALF 中の好酸球及び好中球数は OVA 負荷により増加した。ホルモテロールは用量依存的に好酸球数を減少させたが、好中球数には影響がなかった。一方、BALF 中の IL-4、IL-5、IL-13 及び TNF-α は OVA 負荷により増加した。ホルモテロールは用量依存的に IL-4、IL-5、IL-13 及び TNF-α を減少させた。

-3. Sugiyama H, Okada C, Bewtra AK, Hopp RJ, Townley RG. の報告⁸⁾ : 吸入

雄性モルモットに 7 日間隔で 2%卵白アルブミン(OVA)をエアゾールで 5 min 間吸入させ、2 回目の感作 7 日後に使用した。抗原又は薬剤を全身プレチスモグラフ内にてエアゾールで吸入(10 mL/s)させた。

抗原負荷の 30 min 前にヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬であるピリラミン(10 mg/kg, i.p.)を投与して内因性のヒスタミン遊離による致死を防止した。ホルモテロール(10 µg/mL)及びイソプロテレノール(1 mg/mL)を抗原負荷の 15 min 前に 2 min 間吸入させた。抗原負荷後の気道のコンダクタンス(SG_{aw} : 抵抗の逆数に相関するパラメータ)は負荷 5 min 後に低下する即時性の喘息様反応(IAR)及び 6 h 後に低下する遅発性の喘息様反応(LAR)を示す。IAR では SG_{aw}(mean ± SE)はベースラインの 13.9 ± 3.9%まで低下し、LAR では SG_{aw} はベースラインの 52.7 ± 7.7%まで低下した。ホルモテロールの吸入により、SG_{aw} の低下が IAR で抑制され、LAR では消失した。しかし、イソプロテレノールの吸入では IAR での抑制のみであり、LAR の効果を認めなかった。これはイソプロテレノールの様な短時間作用性の β₂ 受容体アゴニストでは LAR を抑制できないことによるものと考えられた。

ホルモテロール又はイソプロテレノールを吸入させたモルモットに抗原負荷し、24 h 後にヒスタミン溶液 6.25、12.5、25、50 及び 100 µg/mL をエアゾールとして 1 min 間吸入させ、SG_{aw} の低下を誘発した。ホルモテロールを吸入させたモルモットのヒスタミンによる SG_{aw} の低下は抑制さ

れ、50%抑制するのに必要なヒスタミンの濃度(PC₅₀ : mean ± SE)は対照群の 20.4 ± 2.6 から 46.8 ± 7.1 µg/mL of histamine に増加した。一方、イソプロテレノールではこのような効果は認められなかった。

抗原負荷 24 h 後にモルモットを麻酔下で致死させ、37°C の HBSS(Hank's 緩衝塩溶液)10 mL で 5 回、気管支及び肺胞を洗浄して BALF(気管支肺胞洗浄液)を回収した。この BALF 中の総細胞数、マクロファージ、好酸球、好中球及びリンパ球数を計数した。BALF 中の総細胞数は OVA 負荷により有意に増加し、この増加をホルモテロールは正常レベルまで抑制したが、イソプロテレノールの抑制作用は部分的であった。この傾向はマクロファージ、好酸球、好中球及びリンパ数でも同様であった。

-4. Razzetti R, Bergamaschi M, Villetti G, Bolzoni P, Civelli M, Berti F, et al. の報告⁹⁾ : 気管内投与

雄性モルモットを麻酔し、気管にカニューレを挿入して人工呼吸(10 mL/kg、70 cycle/min : 臭化パンクロニウム 2 mg/kg, i.v.で非動化)で呼吸をコントロールした。人工呼吸下の気管内圧の変化を圧トランスデューサーで記録した。気道収縮はアセチルコリン(ACh)10~40 µg/kg を静脈内投与して誘発した。また、別途、OVA 100 mg/kg の腹腔内投与及び 100 mg/kg の皮下投与を行い、21 日経過したモルモットに OVA 5 mg/kg を静脈内投与して気道収縮を誘発した。ホルモテロール 1 ~300 pmol を 5 min 間気管粘膜に曝露(0.01 mL/min、総量 0.05 mL)した。

ACh により誘発された気管収縮はホルモテロールで用量依存的に抑制された。また、OVA 感作モデルの気道収縮についても同様であった。

ラットにセファデックスビーズ(5 mg/kg : 1 mL/kg)を麻酔下で気管内投与し、肺浮腫を誘発した。セファデックス投与 24 h 後、ラットを致死させて肺を摘出し、重量を測定した。ホルモテロール 0.001~10 nmol/kg をセファデックスと同時に気管内に投与した。

セファデックスにより肺重量は有意に増加した。ホルモテロールは用量依存的に肺重量の増加を抑制し、0.1 nmol/kg では有意な抑制を示した。

以上のようにホルモテロールは吸入又は気管内投与により ACh 誘発の気道収縮やセファデックス誘発の肺浮腫を抑制した。

2.6.2.2.3 KRP-108

ステロイドと β₂ 刺激薬の併用効果については多数の報告がなされている。以下にフルチカゾン及びホルモテロール又は類剤の併用効果について、公表論文を要約した。

2.6.2.2.3.1 フルチカゾンとホルモテロールの併用効果

-1. Kaur M, Chivers JE, Giembycz MA, Newton R.の報告¹⁰⁾

ヒト気管上皮細胞株(BEAS-2B)で GRE 依存性転写活性を評価した。GRE 依存性転写活性はデキサメサゾン、ブデソニド及びフルチカゾンの 10⁻¹⁰~10⁻⁶ mol/L で誘導された。これらの反応をサルメテロール 100 nmol/L、ホルモテロール 10 nmol/L 及びサルブタモール 1 µmol/L は増強した。これらの β 刺激薬の作用はテルブタリン、プロカテロール及びイソプロテレノール(イソプレナリン)でも認められ、それぞれの増強作用は β 拮抗薬で抑制された。

-2. Horvath G, Mendes ES, Schmid N, Schmid A, Conner GE, Salathe M, et al. の報告¹¹⁾

ヒト気道の初代培養細胞を用いて、薬物のトランスポーターの発現を RT-PCR 及び免疫蛍光染色を用いて評価した。

コルチコステロイド感受性の OCT3(電位依存性有機陽イオントランスポーター3)の mRNA 発現は高く、気道細胞上にも免疫蛍光染色で OCT3 の発現が確認された。気道平滑筋細胞でのホルモテロールの取り込みは OCT 阻害剤で抑制された。コルチコステロン、ブデソニド及びフルチカゾンもホルモテロールの取り込みを抑制した。フルチカゾン及びブデソニドはホルモテロールのヒト気道平滑筋への取り込みを減少させて作用の持続性を示している可能性が示されている。

2.6.2.2.3.2 フルチカゾンと β_2 刺激薬(サルメテロール及びサルブタモール)の併用効果**2.6.2.2.3.2.1 *In vitro* での作用****-1. Akabane H, Murata M, Kubota M, Takashima E, Tanaka H, Inagaki N et al.の報告¹²⁾**

健康な母体の臍帯血より単核球を採取して CD34 陽性細胞を分取した後、ヒト幹細胞因子と IL-6 で分化誘導させたマスト細胞にヒト IgE(1 $\mu\text{g/mL}$)を添加して 1 晩培養した後、抗ヒト IgE 抗体(4 $\mu\text{g/mL}$)を処置して 30 min(37°C)反応させることにより GM-CSF(granulocyte macrophage colony stimulating factor)の産生を亢進させた。薬物は抗ヒト IgE 抗体処置の 10 min 前に添加した。

サルメテロールは 10^{-12} ~ 10^{-8} mol/L で濃度依存的に GM-CSF の産生を抑制した。一方、フルチカゾンも 10^{-13} ~ 10^{-8} mol/L で濃度依存的に GM-CSF の産生を抑制した。また、フルチカゾン 10^{-11} mol/L(抑制率:41%)とサルメテロール 10^{-12} ~ 10^{-10} mol/L(抑制率:0~50%)の併用は作用を増強し、ほぼ 100%の抑制作用を示した。また、サルメテロール 10^{-11} mmol/L(抑制率:14%)とフルチカゾン 10^{-12} ~ 10^{-11} mol/L(抑制率:30~40%)の併用は作用を増強し、ほぼ 100%の抑制作用を示した。

-2. Usmani OS, Ito K, Maneechotesuwan K, Ito M, Johnson M, Barnes PJ, et al. の報告¹³⁾

健康成人又は軽度の喘息症状を有する患者より採取した喀痰中の細胞を用いた。

健康成人にベクロメタゾン 800 μg を吸入させて 0、30、60 及び 120 min 後に採取した喀痰中のマクロファージ及び気道上皮細胞では、吸入後 30 min にグルココルチコイド受容体(GR)が細胞質から核内に移行した。その存在比(核内:細胞質)が吸入前の 1:3 から 3:1 となった。

軽度の喘息症状を有する患者にフルチカゾン 100 又は 500 μg 、サルメテロール 50 μg 及びフルチカゾン 100 μg とサルメテロール 50 μg の配合剤を吸入させた。60 min 後に採取した喀痰中の気道上皮細胞及びマクロファージの GR は細胞質から核内に移行した。対照群と比較して薬物投与群の核内移行率は増加し、配合剤の移行率はフルチカゾン 100 μg 又はサルメテロール 50 μg 単独よりも高かった。

ヒト気道上皮細胞株である BEAS-2B 細胞及びヒトマクロファージ様細胞(U937 細胞を PMA で分化誘導した細胞)でもフルチカゾン 10^{-12} mol/L 又はサルメテロール 10^{-7} mol/L の 2 h 処置で、GR の核内移行を亢進させた。また、併用ではフルチカゾンとサルメテロールの単独よりも高い核内移行が認められた。

BEAS-2B 細胞及びヒトマクロファージ様細胞はフルチカゾン 10^{-12} mol/L 又はサルメテロール 10^{-7} mol/L の 8 h 処置で、GRE(Glucocorticoid Response Element)依存性の転写活性が増加した。また、併用ではフルチカゾンとサルメテロールの単独よりも転写活性の増加は大きかった。

-3. Silvestri M, Fregonese L, Sabatini F, Dasic G, Rossi, GA. の報告¹⁴⁾

ヒト肺線維芽細胞株(GM 06114)を Tumor Necrosis factor- α (TNF- α)で 24 h 処置すると、Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)の発現が認められた。薬物は TNF- α と同時に添加した。

この ICAM-1 の発現はフルチカゾン及びサルメテロールで抑制された。また、両薬物の併用により抑制作用は増強した。

GM 06114 細胞は線維芽細胞成長因子(bFGF)の 24 h 処置により、濃度依存的に増殖した。薬物は bFGF と同時に添加した。この増殖にフルチカゾンは有意な影響を及ぼさなかったが、サルメテロール及び両薬物の併用により増殖を抑制した。

以上のようにフルチカゾンはサルメテロールの作用を *in vitro* の試験系で増強した。

2.6.2.2.3.2.2 *In vivo* での作用

-1. Townley RG, Gendapodi PR, Qutna N, Evans J, Romero FA, Abel P. の報告¹⁵⁾

雌性 BALB/c マウスに卵白アルブミン(OVA)20 µg 及び alum 2.25 mg を腹腔内投与(1 日目及び 14 日目)し、1% OVA のエアゾールを 28、29、30、32 日目にマウスに吸入させ、最終吸入の 48 h 後に MCh に対する気道反応性の亢進を評価した。

フルチカゾンを 33 µg/mL、10 min 間、ネブライザーで 2 日間吸入させ、サルブタモール(アルブテロール、0.3 及び 1 mg/mL)をメタコリン(MCh)吸入 30 min 前に 10 min 間吸入させた。MCh は 3.1、6.2、12.5 及び 25 mg/mL を吸入させた。Penh の増加が 200%となる MCh 濃度を PC₂₀₀ として求めた。

フルチカゾン及びサルブタモールは各々単独で PC₂₀₀ を増大させた。また、フルチカゾン及びサルブタモールの併用ではフルチカゾン単独及びサルブタモール単独と比較して PC₂₀₀ の増大は大きかった。

-2. Riesenfeld EP, Sullivan MJ, Thompson-Figueroa JA, Haverkamp HC, Lundblad LK, Bates JHT, et al.の報告¹⁶⁾

雌性 BALB/c マウスに 0 及び 14 日目に OVA 20 µg 及び alum を腹腔内投与し、21 から 26 日目に 1%の OVA エアゾールを 30 min 吸入させた。フルチカゾンは 6 mg/mL を、サルメテロールは 3 mg/mL を 19 から 27 日目に 20 min 間吸入させた。また、併用ではフルチカゾンの 6 mg/mL 及びサルメテロールの 3 mg/mL を吸入させた。

呼吸機能の評価は麻酔下に人工呼吸(0.25 mL : 200 breaths/min)にてメタコリン(MCh)3.125、12.5 及び 50 mg/mL を吸入させて呼吸圧を測定した。気管支肺胞洗浄液(BALF)中の炎症細胞数を計数した。病理学的評価も行った。

呼吸機能では、サルメテロール群は OVA 曝露群と比較して悪化傾向又は有意な悪化を示した。しかし、フルチカゾン及びサルメテロールとの併用群は OVA 非曝露群と同程度であり、OVA 曝露群と比較すると MCh の高用量では有意な改善効果を示した。一方、フルチカゾンの併用はサルメテロールの増悪作用を抑制した。

OVA 曝露により BALF 中の総細胞数(特に好酸球数)の増加が認められた。フルチカゾン及びサルメテロールの併用により総細胞数(特にマクロファージ及び好酸球)は減少した。サルメテロールでは増加傾向を示し、フルチカゾン群及び併用群と比較して有意な差を認めた。気道上皮のムチン量についても同様な傾向を示し、フルチカゾン及びサルメテロールの併用により OVA 曝露による増加は抑制された。また、サルメテロールでは増加傾向を示し、フルチカゾンがサルメテロールの増悪作用を抑制することが示唆された。

以上のようにフルチカゾンは β_2 刺激薬の作用を *in vivo* の試験系で増強又は改善した。

2.6.2.2.3.3 ホルモテロールとステロイドの併用効果

2.6.2.2.3.3.1 *In vitro* での作用

-1. Razzetti R, Bergamaschi M, Villetti G, Bolzoni P, Civelli M, Berti F, et al. の報告⁹⁾

雄性モルモットに OVA 100 mg/kg 腹腔内投与及び 100 mg/kg 皮下投与を行い、21 日後に使用した。

モルモットを致死させる 24 及び 1.5 h 前にベクロメタゾン 30 mg/kg を筋肉内投与した。致死後、気管を摘出してジグザク標本を作製し、Krebs 溶液を満たした 20 mL のオルガンバス(37°C、95%O₂-5%CO₂)内に初期張力 1 g で懸架して収縮を等尺性に記録した。

カルバコールで収縮させた状態でホルモテロールを添加すると弛緩作用を示した。無処置のモルモットから摘出した気管では、ホルモテロールの弛緩作用は、サルブタモールの過剰量添加により β_2 受容体を脱感作させると抑制され、濃度反応曲線は右方移動した。しかし、ベクロメタゾンで前処置したモルモットから摘出した気管では、サルブタモールによる β_2 受容体の脱感作が抑制され、ホルモテロールの濃度反応曲線の右方移動は消失した。

-2. Roth M, Johnson PRA, Rüdiger JJ, King GG, Ge Q, Burgess JK, et al. の報告¹⁷⁾

ヒト気管平滑筋細胞を用いてブデソニド及びホルモテロールによる転写活性を免疫組織学、ウェスタンブロット、DNA Mobility Shift Assay 及び Luciferase reporter gene assay を用いて評価した。

ブデソニド 10⁻⁸ mol/L 及びホルモテロール 10⁻⁸ mol/L により、GR の活性化及び核への移行が亢進し、両薬物の併用ではそれぞれ 10⁻¹⁰ mol/L で効果を示した(30 min 以内に反応し、6 h 以上持続)。また、GRE と GR の結合もブデソニド 10⁻⁸ mol/L 及びホルモテロール 10⁻⁸ mol/L を単独処理しても亢進したが、両薬物の併用ではそれぞれ 10⁻¹⁰ mol/L で効果を示した(30 min 以内に反応し、6 h 以上持続)。グルココルチコイドによる増殖抑制の指標として用いた p21^(Waf1/Cip1) 遺伝子の活性化及び気管平滑筋細胞の増殖に対し、ブデソニド単独及びホルモテロール単独で濃度依存的に、それぞれ活性化及び増殖抑制を示した。また、両薬物の併用はブデソニド単独及びホルモテロール単独と比較して作用の増強を認めた。

-3. Persdotter S, Lindahl M, Malm-Erfjält M, von Wachenfeld K, Korn SH, Stevens T, et al. の報告¹⁸⁾

健康成人の末梢血より好酸球を採取し、初代正常ヒト気道上皮細胞は NHBE4892 細胞を使用した。

NHBE4892 細胞の 24 h 培養上清を加えた好酸球を 3 h 培養すると、活性酸素の産生(mean ± SE)は 7.2 ± 1.3 nmol/10⁶ 個から 17.3 ± 1.0 nmol/10⁶ 個に増加した。気道上皮細胞培養時にブデソニド 10~100 nmol/L 及びホルモテロール 1~100 nmol/L を添加し、その培養液で刺激した好酸球の活性酸素産生の抑制率はそれぞれ 62~93%及び 66~117%であった。ブデソニド 0.1~10 nmol/L とホルモテロール 1 nmol/L の併用では、各化合物の単独と比較して産生抑制は増大した。

また、気道上皮細胞培養液の好酸球刺激時にホルモテロール 50 pmol/L とブデソニド 0.5~500 pmol/L を併用添加した条件下においても、両薬物の併用による活性酸素の産生抑制はブデソニド単独及びホルモテロール単独と比較して増大した。

-4. Profita M, Gagliardo R, Di Giorgi R, Pompeo F, Gjomarkaj M, Nicolini G, et al. の報告¹⁹⁾

喘息患者の喀痰細胞の GM-CSF、RANTES 及び IL-8 の産生をベクロメタゾン 10⁻⁷ mol/L は単独で抑制し、ホルモテロール 10⁻⁸ mol/L との併用では更に強い抑制作用を示した。また、GR はベクロメタゾン単独で活性化したが、ホルモテロールとの併用で更に高い活性化を示した。これらの

作用はサルブタモール 10^{-8} mol/L とベクロメタゾンとの組み合わせでも同様であった。一方、 β_2 受容体の mRNA 発現をベクロメタゾンは誘導した。

-5. Spoelstra FM, Postma DS, Hovenga H, Noordhoek JA, Kauffman HF. の報告²⁰⁾

肺がん患者の正常肺葉から得られた肺実質由来の線維芽細胞を IL-1 β 刺激し、ICAM-1、VCAM-1 の発現及び GM-CSF の産生を誘導した。これらの発現及び産生をホルモテロール 10^{-10} ~ 10^{-8} mol/L 及びブデソニド 10^{-10} ~ 10^{-8} mol/L は単独で抑制し、両薬物の同濃度の併用で更に強い抑制作用を示した。ICAM-1 発現抑制におけるブデソニド、ホルモテロール及び両薬物併用での IC₅₀ はそれぞれ 2.2×10^{-8} 、 2.6×10^{-8} 、及び 7.7×10^{-10} mol/L、VCAM-1 発現抑制における IC₅₀ はそれぞれ 1.4×10^{-9} 、 1.0×10^{-8} 、及び 2.1×10^{-10} mol/L、GM-CSF 産生抑制における IC₅₀ はそれぞれ 0.9×10^{-10} 、 7.9×10^{-10} 、及び 0.8×10^{-10} mol/L であった。

以上のようにホルモテロールはブデソニド及びベクロメタゾンの作用を *in vitro* の試験系で増強した。

2.6.2.2.3.3.2 *In vivo* での作用

-1. Wyss D, Bonneau O, Trifilieff A. の報告⁶⁾

雌性 BALB/c マウスに OVA20 μ g 及び alum(0.1 mL)を 0 及び 14 日目に腹腔内投与し、21 から 23 日目に OVA(10 mg/mL)のエアゾールを 20 min 間曝露した。26 日目に OVA(50 mg/mL)を 20 min 間曝露した。肺抵抗の測定は全身プレチスモグラフを用いて最終 OVA 曝露の 4 h 後に行った。また、最終 OVA 曝露の 1 日後、メタコリン (MCh)0~0.6 mol/L のエアゾールを吸入させて気道収縮の反応性が 200%となる MCh 濃度(PC₂₀₀)として求めた。さらに最終 OVA 曝露の 2 日後、マウスを致死させ、気管支肺胞洗浄液(BALF)を採取して炎症細胞数を計数した。ホルモテロール 1~15 μ g/kg 及びモメタゾン 10~300 μ g/kg を単独又は併用(それぞれ 1、5 μ g/kg 及び 10、100 μ g/kg)で経鼻的に投与した。ホルモテロールは最終 OVA 曝露の 1 又は 3 h 後に、モメタゾンは最終 OVA 曝露の 1 h 前又は 1 h 後に投与した。

OVA 曝露により肺抵抗は増加し、気道収縮の反応性の指標である MCh 濃度(PC₂₀₀)の低下、BALF 中の炎症細胞(好酸球、好中球、リンパ球及びマクロファージ)の増加が認められた。モメタゾンの投与により肺抵抗の減少、PC₂₀₀ の増加及び炎症細胞数の減少を認めた。ホルモテロールの最終 OVA 曝露 3 h 後の投与により肺抵抗の減少、PC₂₀₀ の増加及び炎症細胞数の減少を認めたが、1 h 後では同様の傾向を認めるものの作用は顕著ではなかった。最終 OVA 曝露の 1 h 後にモメタゾンとホルモテロールを併用投与した場合、肺抵抗について両薬物単独と比較して抑制作用が高かった。しかし、その他の PC₂₀₀ 及び炎症細胞数について、併用効果は明確ではなかった。

-2. Chapman RW, Curran AK, House A, Richard J, Salisbury B, Hunter JC, et al の報告⁷⁾

雄性 Brown Norway(BN)ラットに OVA20 μ g 及び alum 8 mg を 0 及び 7 日目に腹腔内投与した。14 日目に 1%OVA のエアゾールを 30 min 間吸入させた。ラットは麻酔下で気管カニューレを挿入し、人工呼吸(10 mL/kg、60 breaths/min)を施して努力肺活量(FVC : Forced Vital Capacity)を測定した。ラットを致死させ、気管支肺胞洗浄液(BALF)を採取して炎症細胞数を計数した。また、BALF 中のサイトカイン量を測定した。

薬物を軽麻酔下に気管内投与した。FVC の測定では抗原負荷の 24 h 後に薬物を投与し、その 1、5 又は 24 h 後に測定を行った。また、BALF の採取では薬物を抗原負荷の 5 h 前に投与し、採取は抗原負荷の 24 h 後に行った。

FVC は抗原負荷により有意に低下した。モメタゾン 100~3000 µg/kg を投与した 5 h 後の FVC は用量依存的に改善した。ホルモテロール 1~100 µg/kg を投与した 1 h 後の FVC は用量依存的に改善し、100 µg/kg で有意差を認めた。モメタゾン 1000 µg/kg 単独、ホルモテロール 1 µg/kg 単独又は両薬物を併用投与し、抗原負荷の 1、5 及び 24 h 後に FVC を測定した。5 h 後に両薬物単独と比較して併用で有意に改善効果を示した。一方、1 h 後ではモメタゾン単独で有意な改善効果を認めなかったが、ホルモテロール単独では有意な改善効果を示し、両薬物の併用ではより高い改善傾向を示した。24 h 後ではモメタゾン単独で有意な改善効果を示したが、ホルモテロール単独では有意な改善効果を認めなかった。両薬物の併用ではモメタゾン単独と同程度の改善効果であり、明らかな併用効果は認められなかった。

BALF 中の好酸球及び好中球数は OVA 負荷により増加した。モメタゾン単独及びホルモテロール単独で用量依存的に好酸球数を減少させたが、好中球数には影響がなかった。両薬物の併用では、モメタゾン 30 及び 100 µg/kg とホルモテロール 1 及び 3 µg/kg の組み合わせで併用効果を認めた。また、BALF 中の IL-4、IL-5、IL-13 及び TNF-α も OVA 負荷により増加した。モメタゾン単独及びホルモテロール単独で用量依存的に IL-4、IL-5、IL-13 及び TNF-α を減少させた。両薬物の併用では、モメタゾン 30 及び 100 µg/kg とホルモテロール 1 及び 3 µg/kg の組み合わせで併用効果を認めた。

-3. Razzetti R, Bergamaschi M, Villetti G, Bolzoni P, Civelli M, Berti F, et al. の報告⁹⁾

雄性モルモットを麻酔し、気管にカニューレを挿入して人工呼吸(10 mL/kg、70 cycle/min : 臭化パンクロニウム 2 mg/kg, i.v.で非動化)で呼吸をコントロールした。人工呼吸下の気管内圧の変化を圧トランスデューサーで記録した。気道収縮はアセチルコリン(ACh)10~40 µg/kg を静脈内投与して誘発した。また、別途、OVA 100 mg/kg 腹腔内投与及び 100 mg/kg 皮下投与を行い、21 日経過したモルモットに OVA 5 mg/kg を静脈内投与して気道収縮を誘発した。ホルモテロール 0.3~300 pmol 及びベクロメタゾン 30~10,000 nmol を単独又は併用(それぞれ 0.3~10 pmol 及び 100~300 nmol)で 5 min 間気管粘膜に曝露(0.01 mL/min : 総量 0.05 mL)した。

ACh により誘発された気道収縮はホルモテロールで用量依存的に抑制された。ベクロメタゾン単独では、気道収縮抑制作用は認められなかったが、併用でホルモテロールの気道収縮抑制作用が増強された。ベクロメタゾンの併用による増強作用は用量依存的であった。また、OVA 感作モデルの気道収縮についても同様であった。

ラットにセファデックスビーズ(5 mg/kg : 1 mL/kg)を麻酔下で気管内投与し、肺浮腫を誘発した。セファデックス投与 24 h 後、ラットを致死させて肺を摘出し、重量を測定した。ホルモテロール 0.001~10 nmol/kg 及びベクロメタゾン 5~500 nmol/kg を単独又は併用(それぞれ 0.001 nmol/kg 及び 150 nmol/kg)でセファデックスと同時に気管内に投与した。

セファデックスにより有意に増加した肺重量を、ホルモテロールは用量依存的に抑制し、0.1 nmol/kg では有意な抑制が見られた。ベクロメタゾンでの減少は 12%程度で、明らかな作用は認められなかった。併用では、ベクロメタゾン単独及びホルモテロール単独では効果を示さない用量の組み合わせでも肺重量の増加は有意に抑制された。

以上のようにホルモテロールとステロイド(モメタゾン及びベクロメタゾン)は *in vivo* の試験系で併用効果を示した。

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.2.4 安全性薬理試験(資料番号 4.2.1.3-1)

テレメトリーを装着したイヌ(ビーグル)を用いて、KRP-108 の心血管系及び呼吸器系への影響を検討した。4 匹の雄イヌに KRP-108 (フルチカゾン/ホルモテロールの配合製剤)を低中高の 3 用量：36.8/1.27、86.1/2.90 及び 247.3/9.82 $\mu\text{g/kg}$ の投与量(標的投与量：それぞれ 37.5/1.5、125/5 及び 375/15 $\mu\text{g/kg}$)で吸入させ、生じた反応を対照物質(KRP-108 のプラセボ pMDI)投与後のデータと比較した。比較対照にはホルモテロール pMDI (8.79 $\mu\text{g/kg}$)を使用した。

KRP-108 により、可逆的ではあるが用量依存性で長時間持続する拡張期、収縮期及び平均血圧の低下、並びに心拍数の増加が認められた。心拍数の増加に伴って、心電図上 QT 間隔の短縮が認められた。心拍数で補正すると、すべての群で、一貫した QTcV(Van de Water の補正式を用いて心拍数で補正した QT)の僅かな延長が認められたが、明確な用量依存性はなかった。

中用量及び高用量の KRP-108 投与後に心電図上波形の変化が認められた。単形性の心室性期外収縮を示す波形が中用量群の 2 例に認められた。なお、各用量群のフルチカゾン及びホルモテロールの血漿中濃度は表 2.6.2.4-1 の通りであり、KRP-108 投与後に心電図波形に変化を起こさない低用量群の血漿中濃度と臨床曝露量との比(安全域)はそれぞれ 3.5 及び 6.2 倍であった。また、高用量群では、心室性期外収縮の心室性頻脈への進行が 2 例で認められた。高用量群で心室性頻脈が認められた 1 例では、KRP-108 投与直後のホルモテロール血漿中濃度($C_{\max} = 2680 \text{ pg/mL}$)が他の 3 例(1070~1290 pg/mL)より高かった。比較対照であるホルモテロール pMDI の単独投与後に、二形性の心室性期外収縮が 1 例に認められた。また、高用量の KRP-108 及びホルモテロール pMDI の投与後に、カリウムイオンの血漿中濃度が顕著に減少することが観察された。

全ての用量で、投与終了時及び投与 2 時間後の一回換気量及び毎分換気量が増加した。この作用はホルモテロール pMDI の吸入後にも認められている。また、鼻漏等の臨床徴候が吸入曝露中及び吸入曝露直後に記録された。

KRP-108 pMDI は心循環及び呼吸器系において、ホルモテロール pMDI と同程度の作用を示すと考えられた。

表 2.6.2.4-1 臨床曝露量と安全性薬理試験におけるフルチカゾン及びホルモテロール血漿中濃度(吸入終了時)の比較

投与量 ^{a)} (標的投与量 ^{a)})	フルチカゾン		ホルモテロール	
	血漿中濃度 ^{b)}	臨床曝露量との比	血漿中濃度 ^{b)}	臨床曝露量との比
36.8/1.27(37.5/1.5)	531	3.5	198	6.2
86.1/2.90(125/5)	981	6.5	513	16
247.3/9.82(375/15)	2150	14	1535	48

a)：フルチカゾン/ホルモテロール($\mu\text{g/kg}$)

b)：吸入終了時の血漿中濃度(pg/mL)

臨床曝露量との比；第 I 相臨床薬理試験(日本人の健康成人 24 例)における KRP-108(フルチカゾン/ホルモテロール) 500/20 μg を 1 日 2 回、7 日間吸入投与時($n = 12$)のフルチカゾンの曝露量($C_{\max} : 152 \text{ pg/mL}$)又はホルモテロールの曝露量($C_{\max} : 31.7 \text{ pg/mL}$)との比(単位：×倍)、(試験番号：KRP108-A101、CTD 5.3.3.1-1)

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

該当資料なし

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験

慢性炎症が気管支喘息の重要な病因であると認識されており、ステロイド薬は現在喘息治療に

使用する最も有効な抗炎症治療薬である。

ステロイドは細胞質にある GR と結合して受容体が活性化されて核内に移行する。移行した受容体は二量体として GRE に結合して AP-1 や NF- κ B と共に炎症性メディエーターの転写活性を調節することにより、抗炎症作用を示すと考えられている^{21), 22), 23)}。このように、転写活性を調節して、ステロイドはサイトカイン、プロスタグランジン、ロイコトリエン及び NO といった炎症性メディエーターを調節している。また、炎症に関与すると考えられる T 細胞、肥満細胞、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球及びマクロファージも抑制することが知られている。

フルチカゾンもこうした GR 作動薬の一つである。その GR に対する親和性は高く、ヒト肺組織での親和性は 0.5 nmol/L である^{24), 25)}。親和性が高いだけでなく受容体への結合速度もブデソニドのような他のステロイドよりも速く²⁴⁾、受容体との複合体の半減期も約 10 h と長いことが示されている²⁶⁾。

また、気管支喘息では呼吸機能において気道過敏症を引き起こしており、気管支収縮による気流制限(気道抵抗の増大)を認める。 β 受容体は α 、 β 及び γ のサブユニットからなる Gs タンパクに会合したアデニルサイクラーゼに共役している。 β 受容体の刺激によりアデニルサイクラーゼが活性化され、細胞内の cAMP が上昇して平滑筋の弛緩などが引き起こされる²⁷⁾。 β_2 刺激薬は β_2 受容体刺激又は膜安定化作用によりケミカルメディエーターの放出の抑制等を誘導し、抗炎症作用を示すことが、*in vitro* 及び *in vivo* のデータより示されている²⁸⁾。

ホルメテロールは選択的長時間作用性の β_2 刺激薬の一つである。その β_2 受容体に対する親和性は高く、ヒト受容体発現細胞では 8.63(-logK_D)と報告されている²⁹⁾。また、 β_2 受容体選択性も高く、その選択性は β_1 受容体及び β_3 受容体の親和性(それぞれの -logK_D : 6.11 及び 5.82)に対して 331 倍及び 646 倍親和性が高い²⁹⁾。ホルメテロールの作用発現までの時間は短く(気管筋弛緩速度は速く)、サルメテロールの半分以下である^{30), 31)}。

ホルメテロールは経口投与や静脈内投与のような全身投与だけでなく、吸入や気管内投与でも効果を示すことが報告されており¹⁾⁻⁹⁾、吸入でも他の投与経路と同様な効果が得られると考えられる。

ステロイド薬は β_2 受容体の mRNA の発現誘導を介して受容体を増加させて作用増強を誘発することが知られている(図 2.6.2.6- 1)³²⁾。デキサメタゾンのようなステロイド薬で β_2 受容体の mRNA の発現やリガンドの結合量を増加させ^{33), 34)}、気管平滑筋の β_2 刺激薬による弛緩反応を増大させる³⁵⁾ことが報告されている。また、ステロイド薬は β_2 刺激薬が引き起こす受容体の脱感作を抑制することも示されている³²⁾。

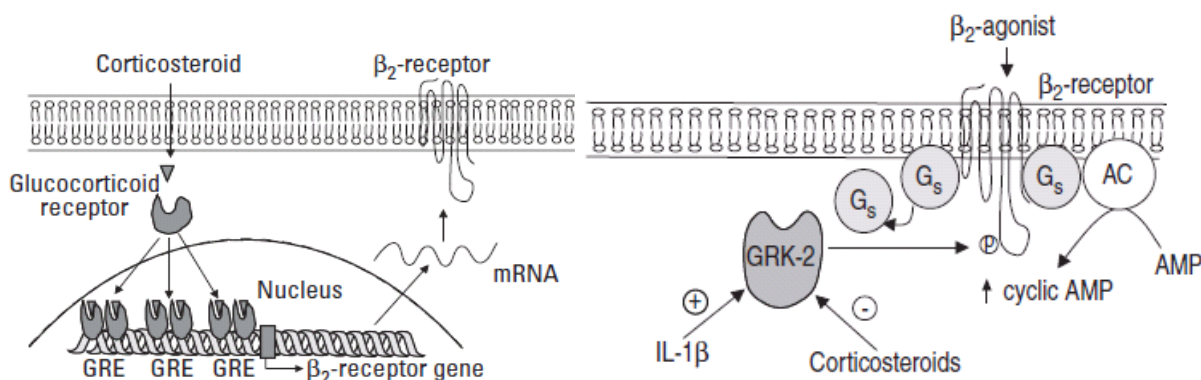


図 2.6.2.6-1 ステロイドの β_2 受容体に対する作用の模式図³²⁾

β_2 刺激薬は PKA (Protein kinase A) 及び MAPK (Mitogen-activated protein kinase) を介して GR 複合体の核内移行を促進させ転写活性を促進することにより、ステロイド薬の作用を増強することが報告されている(図 2.6.2.6-2)³²⁾。

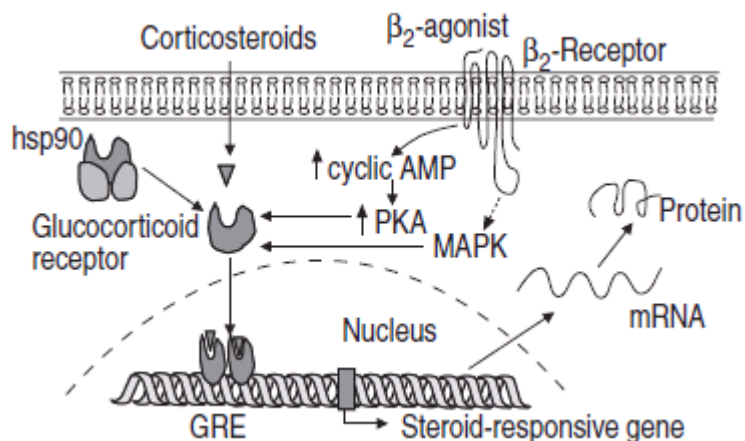


図 2.6.2.6-2 β_2 刺激薬の GR の反応に対する作用の模式図³²⁾

フルチカゾンは *in vitro* 及び *in vivo* で β_2 刺激薬であるサルメテロールの作用を増強することが報告されている¹²⁾⁻¹⁵⁾。一方で、サルメテロールの喘息増悪因子の増加をフルチカゾンが抑制することが示されている¹⁶⁾。また、ホルモテロールは *in vitro* 及び *in vivo* でステロイド薬であるブデソニド、ベクロメタゾン及びモメタゾンの作用を増強することが示されている^{6), 7), 9), 17)-20)}。さらに、ホルモテロールは他の β_2 刺激薬と同様にヒト気道上皮細胞(BEAS-2B)においてフルチカゾンなどのステロイド薬が誘発する GRE 依存の転写活性を増強することが報告されている¹⁰⁾。

また、フルチカゾン及びブデソニドはホルモテロールのヒト気道平滑筋及び気道血管平滑筋への取り込みを減少させて作用の持続性を示している可能性が示されている¹¹⁾。

以上のように、フルチカゾンとホルモテロールの組み合わせについても *in vivo* での報告はないものの併用効果が報告されている^{10), 11)}。また、フルチカゾンは β_2 刺激薬の一つであるサルメテロールとの併用効果が多数報告され、その他のサルブタモールとの併用効果も認められている。一方、ホルモテロールはブデソニドとの併用効果が主に報告されているが、その他のベクロメタゾン及びモメタゾンとの間にも併用効果のあることが知られている。このようにフルチカゾンは β_2 刺激薬の種類によらず併用効果を示し、また、ホルモテロールもステロイドの種類によらず併

用効果を示すと考えられた。これらのことより、フルチカゾンとホルモテロールの配合剤は有用な喘息治療薬になることが期待される。

2.6.2.6.2 安全性薬理試験

KRP-108 により、血圧の低下、並びに心拍数の増加がもたらされ、心電図上 QT 間隔の短縮が認められた。僅かではあるが QTcV の延長が明確な用量依存性はないもののいずれの用量群でも認められた。KRP-108 の一成分であるホルモテロールで心血管系への同様の作用が以前報告されており、心血管系へのこの作用は長時間作用性 β_2 刺激薬の既知の薬理作用である^{36), 37)}と考えられた。

中用量及び高用量の KRP-108 投与後に心電図上波形の変化が認められているが、高用量群で心室性頻脈が認められた 1 例では、KRP-108 投与直後のホルモテロール血漿中濃度の高いことが心室性頻脈への進行因子として寄与している可能性が示唆された。なお、フルチカゾン及びホルモテロールの安全域はそれぞれ 3.5 及び 6.2 倍であった。また、ホルモテロール投与後の 1 例に二形性の心室性期外収縮が認められたが、 β_2 刺激薬の投与後又は過量投与後に心室性不整脈が発現することは良く知られており、また QT 間隔の延長を伴わないことも報告されている³⁸⁾。 β_2 刺激薬は、肝臓及び骨格筋中の $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase を活性化して血漿中のカリウムイオンを減少させることが知られており^{39), 40), 41)}、ホルモテロール単独投与後にも認められている。これは高用量の KRP-108 に見られるカリウムイオンの血漿中濃度の減少の原因が KRP-108 のホルモテロール成分であることを裏付けている。

一回換気量及び毎分換気量の増加は KRP-108 のホルモテロール成分の気管支拡張作用に関連すると考えられ、ホルモテロール単独の吸入後にも認められている。主に鼻漏等が吸入曝露中及び吸入曝露直後に観察され、重症度は用量と関連していた。この作用も鼻部の局所血管拡張によるものであり、 β_2 刺激薬に特異的な作用と考えられた。

テレメトリー試験で認められた心血管系作用は、いずれも KRP-108 のホルモテロール成分によって誘発されたと考えられる。ホルモテロール単独では一部の測定時点で心拍数の増加が僅かに少なく、検討したいずれの記録でも心室性頻脈が認められなかった点を除けば、全般に測定項目の全てにおいて高用量の KRP-108 とほぼ同等の作用が認められた。ホルモテロールの用量が KRP-108 のホルモテロール成分の用量と比べ僅かに低い点がこれらの差違の一因であると考えられる。

2.6.2.6.3 結論

以上より、ホルモテロールは吸入させることにより経口投与より低用量で喘息抑制作用を示すと考えられた。また、フルチカゾン及びホルモテロール併用により相加・相乗効果を示すことが示唆された。なお、心循環系に β_2 刺激薬であるホルモテロールに由来すると考えられる心拍増加等が認められるが、これらの作用はフルチカゾンの併用でも増悪することはなかった。これらのことから、フルチカゾン及びホルモテロールは配合剤にすることにより有用な薬剤になると考えられた。

2.6.2.7 図表

本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

- 1) Ida H. Cardiorespiratory Activities of 3-Formylamino-4-hydroxy- α -(N-1-methyl-2-p-methoxyphenethylaminomethyl)-benzylalcohol-hemifumarate (BD 40A) and some other β -Adrenoceptor Stimulants in Conscious Guinea Pigs. *Arzneimittelforschung* 1976;26:1337-40. [資料番号 4.3-1]
- 2) Nials AT, Ball DI, Butchers PR, Coleman RA, Humbles AA, Johnson M, et al. Formoterol on airway smooth muscle and human lung mast cells: a comparison with salbutamol and salmeterol. *Eur J Pharmacol* 1994;251:127-35. [資料番号 4.3-2]
- 3) Mohammed SP, Taylor CV, Weyman-Jones CB, Mather ME, Vendy K, Dougall IG, et al. Duration of Action of Inhaled vs. Intravenous β_2 -Adrenoceptor Agonists in an Anaesthetized Guinea-pig Model. *Pulm Pharmacol Ther* 2000;13:287-92. [資料番号 4.3-3]
- 4) Sakamoto T, Barnes PJ, Chung KF. Effect of β_2 -adrenoceptor agonists platelet-activating factor-induced airway microvascular leakage and bronchoconstriction in the guinea pig. *Agents Actions* 1993;40:50-6. [資料番号 4.3-4]
- 5) Tokuyama K, Lötvall JO, Löfdahl CG, Barnes PJ, Chung KF. Inhaled formoterol inhibits histamine-induced airflow obstruction and airway microvascular leakage. *Eur J Pharmacol* 1991;193:35-9. [資料番号 4.3-5]
- 6) Wyss D, Bonneau O, Trifilieff A. Synergistic effect of formoterol and mometasone in a mouse model of allergic lung inflammation. *Br J Pharmacol* 2007;152:83-90. [資料番号 4.3-6]
- 7) Chapman RW, Curran AK, House A, Richard J, Salisbury B, Hunter JC, et al. Effect of mometasone furoate (MF)/formoterol fumarate (F) combination (MF/F) on late-phase responses in allergen-challenged Brown Norway rats. *Pulm Pharmacol Ther* 2011;24:67-73. [資料番号 4.3-7]
- 8) Sugiyama H, Okada C, Bewtra AK, Hopp RJ, Townley RG. The effect of formoterol on the late asthmatic phenomena in guinea pigs. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:858-66. [資料番号 4.3-8]
- 9) Razzetti R, Bergamaschi M, Villetti G, Bolzoni P, Civelli M, Berti F, et al. Formoterol and beclomethasone dipropionate interact positively in antagonising bronchoconstriction and inflammation in the lung. *Pharmacol Res* 2007;55:426-32. [資料番号 4.3-9]
- 10) Kaur M, Chivers JE, Giembycz MA, Newton R. Long-Acting β_2 -Adrenoceptor Agonists Synergistically Enhance Glucocorticoid-Dependent Transcription in Human Airway Epithelial and Smooth Muscle Cells. *Mol Pharmacol* 2008;73:203-14. [資料番号 4.3-10]
- 11) Horvath G, Mendes ES, Schmid N, Schmid A, Conner GE, Salathe M, et al. The effect of corticosteroids on the disposal of long-acting β_2 -agonists by airway smooth muscle cells. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:1103-9. [資料番号 4.3-11]
- 12) Akabane H, Murata M, Kubota M, Takashima E, Tanaka H, Inagaki N, et al. Effects of Salmeterol Xinafoate and Fluticasone Propionate on Immunological Activation of Human Cultured Mast Cells. *Allergology Int* 2006;55:387-93. [資料番号 4.3-12]
- 13) Usmani OS, Ito K, Maneechotesuwan K, Ito M, Johnson M, Barnes PJ, et al. Glucocorticoid Receptor Nuclear Translocation in Airway Cells after Inhaled Combination Therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:704-12. [資料番号 4.3-13]
- 14) Silvestri M, Fregonese L, Sabatini F, Dasic G, Rossi GA. Fluticasone and salmeterol downregulate *in vitro*, fibroblast proliferation and ICAM-1 or H-CAM expression. *Eur Respir J* 2001;18:139-45. [資料番号 4.3-14]
- 15) Townley RG, Gendapodi PR, Qutna N, Evans J, Romero FA, Abel P. Effect of interleukin 13 on

- bronchial hyperresponsiveness and the bronchoprotective effect of β -adrenergic bronchodilators and corticosteroids. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009;102:190-7. [資料番号 4.3-15]
- 16) Riesenfeld EP, Sullivan MJ, Thompson-Figueroa JA, Haverkamp HC, Lundblad LK, Bates JHT, et al. Inhaled salmeterol and/or fluticasone alters structure/function in a murine model of allergic airways disease. *Respir Res* 2010;11:22. [資料番号 4.3-16]
- 17) Roth M, Johnson PRA, Rüdiger JJ, King GG, Ge Q, Burgess JK, et al. Interaction between glucocorticoids and β_2 agonists on bronchial airway smooth muscle cells through synchronised cellular signalling. *Lancet* 2002;360:1293-9. [資料番号 4.3-17]
- 18) Persdotter S, Lindahl M, Malm-Erfjält M, von Wachenfeldt K, Korn SH, Stevens T, et al. Cooperative Inhibitory Effects of Budesonide and Formoterol on Eosinophil Superoxide Production Stimulated by Bronchial Epithelial Cell Conditioned Medium. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143:201-10. [資料番号 4.3-18]
- 19) Profita M, Gagliardo R, Di Giorgi R, Pompeo F, Gjemarkaj M, Nicolini G, et al. Biochemical interaction between effects beclomethasone dipropionate and salbutamol or formoterol in sputum cells from mild to moderate asthmatics. *Allergy* 2005;60:323-9. [資料番号 4.3-19]
- 20) Spoelstra FM, Postma DS, Hovenga H, Noordhoek JA, Kauffman HF. Additive anti-inflammatory effect of formoterol and budesonide on human lung fibroblasts. *Thorax* 2002;57:237-41. [資料番号 4.3-20]
- 21) Barnes PJ, Pedersen S, Busse WW. Efficacy and Safety of Inhaled Corticosteroids. –New Developments– *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:S1-53. [資料番号 4.3-21]
- 22) Newton R, Leigh R, Gienbycz MA. Pharmacological strategies for improving the efficacy and therapeutic ratio of glucocorticoids in inflammatory lung diseases. *Pharmacol Ther* 2010;125:286-327. [資料番号 4.3-22]
- 23) Marwick JA, Adcock IM, Chung KF. Overcoming Reduced Glucocorticoid Sensitivity in Airway Disease. –Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches– *Drugs* 2010;70:929-48. [資料番号 4.3-23]
- 24) Johnson M. Development of fluticasone propionate and comparison with other inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:S434-9. [資料番号 4.3-24]
- 25) Valotis A, Högger P. Human receptor kinetics and lung tissue retention of the enhanced-affinity glucocorticoid fluticasone furoate. *Respir Res* 2007;8:54. [資料番号 4.3-25]
- 26) Kelly HW. Establishing a therapeutic index for the inhaled corticosteroids: Part I. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:S36-51. [資料番号 4.3-26]
- 27) Johnson M. The β -Adrenoceptor. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158, S146-53. [資料番号 4.3-27]
- 28) Kips JC, Pauwels RA. Long-acting Inhaled β_2 -Agonist Therapy in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:923-32. [資料番号 4.3-28]
- 29) Baker JG. The selectivity of β -adrenoceptor agonists at human β_1 -, β_2 - and β_3 -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 2010;160:1048-61. [資料番号 4.3-29]
- 30) 久米裕昭、杉下美保子、宮嶋宏之、山藤啓史、佐野安希子、牧野靖、他。 β_2 刺激薬の固有活性とそれに基づく臨床投与の実際。 *アレルギー・免疫* 2009;16:1604-14. [資料番号 4.3-30]
- 31) Naline E, Zhang Y, Qian Y, Mairon N, Anderson GP, Grandordy B, et al. Relaxant effects and durations of action of formoterol and salmeterol on the isolated human bronchus. *Eur Respir J* 1994;7:914-20. [資料番号 4.3-31]

- 32) Barnes PJ. Scientific rationale for inhaled combination therapy with long-acting β_2 -agonists and corticosteroids. *Eur Respir J* 2002;19:182-91. [資料番号 4.3-32]
- 33) Mak JCW, Nishikawa M, Barnes PJ. Glucocorticosteroids increase β_2 -adrenergic receptor transcription in human lung. *Am J Physiol* 1995;268:L41-6. [資料番号 4.3-33]
- 34) Collins S, Caron MG, Lefkowitz RJ. β_2 -Adrenergic Receptors in Hamster Smooth Muscle Cells Are Transcriptionally Regulated by Glucocorticoids. *J Biol Chem* 1988;263:9067-70. [資料番号 4.3-34]
- 35) Schramm CM. β -Adrenergic Relaxation of Rabbit Tracheal Smooth Muscle: A Receptor Deficit That Improves with Corticosteroid Administration. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292:280-7. [資料番号 4.3-35]
- 36) Markert M, Klumpp A, Trautmann T, Guth B. A novel propellant-free inhalation drug delivery system for cardiovascular drug safety evaluation in conscious dogs. *J Pharmacol Tox Methods* 2004;50:109-19. [資料番号 4.3-36]
- 37) Milic M, Bao X, Rizos D, Liu F, Ziegler MG. Literature Review and Pilot Studies of the Effect of QT Correction Formulas on Reported β_2 -Agonist-Induced QTc Prolongation. *Clin Ther* 2006;28:582-90. [資料番号 4.3-37]
- 38) Finn AF, Thompson CM, Banov CH, O'Connor BK, Case CL. Beta₂-agonist induced ventricular dysrhythmias secondary to hyperexcitable conduction system in the absence of a long QT syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:230-2. [資料番号 4.3-38]
- 39) Guhan AR, Cooper S, Osborne J, Lewis S, Bennett J, Tattersfield AE. Systemic effects of formoterol and salmeterol: a dose-response comparison in healthy subjects. *Thorax* 2000;55:650-6. [資料番号 4.3-39]
- 40) Brown MJ, Brown DC, Murphy MB. Hypokalemia from beta₂-receptor stimulation by circulating epinephrine. *N Engl J Med* 1983;309:1414-9. [資料番号 4.3-40]
- 41) Clapham JC, Hamilton TC. Effects of BRL38227, Salbutamol, and Amonophylline, Alone and in Combination, on Plasma Potassium and on the Heart. *Drug Dev Res* 1992;26:157-72. [資料番号 4.3-41]