

2013年2月15日

公益財団法人 笹川記念保健協力財団  
理事長 紀伊國 献三 殿

所属機関・職：筑波大学附属病院・病院講師

研究代表者氏名：百 賢二



## 2012年度研究助成に係る 研究報告書の提出について

標記について、下記のとおり報告いたします。

### 記

- 1 研究課題：一院内製剤の市販化プロジェクトーがん治療の副作用として発症する口腔粘膜炎の疼痛緩和に用いるインドメタシン噴霧製剤の臨床試験  
インドメタシン噴霧製剤の臨床試験
- 2 研究期間 2012年 4月 1日 ～ 2013年 2月 15日
- 3 研究報告書 別紙のとおり

2012年度笹川記念保健協力財団

研 究 報 告 書

研 究 課 題

一院内製剤の市販化プロジェクト  
がん治療の副作用として発症する口腔粘膜炎の疼痛緩和に用いる  
インドメタシン噴霧製剤の臨床試験

所属機関・職：筑波大学附属病院・病院講師

研究代表者氏名：百 賢二



## I 研究の目的・方法

口腔粘膜炎は、頭頸部がんや血液がん患者の治療中にはほぼ全例で見られる副作用である。通常、粘膜炎の疼痛コントロールは難しく、非ステロイド性消炎鎮痛薬や麻薬性鎮痛薬の投与を行っても十分な疼痛改善が認められることは少ない。口腔粘膜炎を呈した患者は、激しい疼痛のため唾液をのみこむこともできなくなり、治療に対する意欲低下など、人間としての尊厳に関わる。これまでにがん治療（化学療法または放射線療法）中に副作用として発症する口腔粘膜炎の予防のための院内製剤（抗尿酸血症薬や蛋白分解酵素阻害薬の含嗽）がいくつか報告されているが、100%の予防は難しく、粘膜炎の疼痛緩和対策は重要である。

筑波大学附属病院（当院）では、口腔粘膜炎の疼痛緩和目的に院内製剤であるインドメタシン（IM）噴霧製剤を患者に適用している。これまで、本製剤使用により、良好な鎮痛効果が得られることを報告しているが、容易に加水分解を受ける IM（図 1）の噴霧製剤化後の安定性に関する情報や、IM 噴霧製剤使用後の IM の体内動態などに関しては報告がない。そこで本研究では、IM 噴霧製剤の安定性試験と IM 噴霧製剤使用患者における血中・尿中 IM 濃度測定を実施した。

## II 研究の内容・実施経過

### 1. IM 噴霧製剤の調製

0.2 mol/L リン酸二水素カリウム水溶液 30 mL にスターラーで攪拌しながら 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液を加え、溶液の pH を 8.1 に調整した。その後、IM 1.25 g を加え、溶液の pH が 8.1 を超えないように 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液を少量ずつ加えて溶解させた。次に、0.2 mol/L リン酸二水素カリウム水溶液を用いて pH 7.4 に調整後、精製水を加えて全量を 100 mL とした。この溶液をメンブランフィルター（0.22  $\mu$ m）を用いてろ過し、1.25% の IM 水溶液とした。この 1.25% IM 水溶液 20 mL にゼーレンセンの等張リン酸緩衝液（pH 7.4）80 mL を加え、0.25% の IM 水溶液を調製した。この 0.25% IM 水溶液を 1 本あたり 20 mL ずつ噴霧容器に充填し、IM 噴霧製剤とした。

### 2-1. IM 噴霧製剤の安定性試験

IM の噴霧製剤（0.25%）を、冷所（4℃）または冷凍（-20℃）で 12 カ月間保存し、製剤中の IM および加水分解物（5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid : MM および p-chlorobenzoic acid : CB）の濃度を測定した。また、本製剤を、室温（25℃）または冷所（4℃）と室温（25℃）の繰り返し（12 時間ご

と) 条件下で3週間保存し、同様に製剤中のIMおよび加水分解物の濃度を測定した。

製剤中のIMおよび加水分解物(MMおよびCB)濃度測定にはHPLC/UV装置(TOSOH 8010システム)、C18カラム(TSK-gel、5 $\mu$ m、4.6 mm i. d $\times$ 150 mm: TOSOH)、移動相として10 mM酢酸緩衝液(pH6.0)/メタノール(40/60)を用いた。検出波長は254 nm、流速は1.0 mL/minとし、サンプルを1000倍に希釈して測定した。製剤中のIMおよび加水分解物であるCBとMMの濃度測定のための検量線はそれぞれ0.5~10  $\mu$ g/mL、25~500ng/mLおよび50~1000ng/mLの範囲で良好な直線性を示した( $r=0.999$ )。この濃度範囲における測定値の日内変動( $n=3$ )は、それぞれ0.6~2.7%、0.4~9.5%および1.1~4.6%であった。

## 2-2. IM噴霧製剤使用患者における血中・尿中IM濃度測定

当院でがん治療(化学療法または放射線療法)の副作用として発症した口腔粘膜炎の疼痛緩和を目的にIM噴霧製剤が処方されたがん患者23名を対象とした。本製剤の有効性としてIM噴霧製剤使用後の経時的な鎮痛効果(100 mm Visual Analogue Scale)、満足度(100 mm Visual Analogue Scale)、鎮痛効果発現時間、鎮痛効果持続時間等の評価をday1, 2, 8に行った。またday2, 3, 8に行った蓄尿(24時間)の検体を用いてIMの尿中濃度を測定した。さらに朝6時に患者より採取した血液を用いてIMの血中濃度を測定した。本研究では対象患者23名のうち、10名(男性/女性:6/4、56 $\pm$ 14歳、61.4 $\pm$ 15.7kg)についてIM体内動態の検討を行った。

血中・尿中IM濃度測定は、血清または尿サンプル100  $\mu$ Lに内標準物質(ニカルジピン)を添加し、アセトニトリルで除蛋白したものを注入用試料とした。測定には液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計(API4000: Applied Biosystems)およびC18カラム(XBridge、3.5 $\mu$ m、2.1 mm i. d $\times$ 50 mm: Waters)を用い、10 mMギ酸アンモニウム-アセトニトリル系溶離液によるグラジエント分析を行った。カラム温度は40 $^{\circ}$ C、流速は0.3 mL/minとした。血中・尿中IM濃度測定のための検量線は血中・尿中共に1~3000 ng/mLの範囲で良好な直線性を示した( $r=0.999$ )。この濃度範囲における測定値の日内変動( $n=5$ )は血中および尿中でそれぞれ2.3~5.2%および3.9~10.2%であった。

なお、本研究は筑波大学附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。

### Ⅲ 研究の成果

#### 1. IM 噴霧製剤の安定性試験

調製直後の IM 噴霧製剤 (0.25%) 中の IM 濃度 (n=5) は、それぞれ  $2.48 \pm 0.03$  (日内) および  $2.50 \pm 0.03$  (日間) であり、加水分解物は確認されなかった(表 1)。本製剤の調製濃度の日内および日間変動はそれぞれ 1.09%と 1.11%であった。

本製剤を 18 カ月間保存 (冷所:  $4^{\circ}\text{C}$  または 冷凍:  $-20^{\circ}\text{C}$ ) した際のクロマトグラムを示す (図 2)。保持時間は、それぞれ 2.1 分 (MM)、2.5 分 (CB) および 11.3 分 (IM) であり、夾雑ピークはほとんど見られなかった。冷所保存 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) した製剤では、IM 濃度の著しい低下とそれに伴う加水分解物の生成が認められた。一方、冷凍保存 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) した製剤では、IM 濃度は調製直後と同程度であり、加水分解物は認められなかった。

本製剤を冷所 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) または 冷凍 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) 条件下で長期間保存した際の製剤中の IM と加水分解物濃度を示す (表 2)。冷所保存 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) の場合には IM 濃度の経時的な低下が認められ、保存開始時 ( $2.50 \text{ mg/mL}$ ) と比較して、それぞれ 4 カ月後には 95.2% ( $2.38 \text{ mg/mL}$ )、6 カ月後には 88.8% ( $2.22 \text{ mg/mL}$ )、12 カ月後には 78.4% ( $1.96 \text{ mg/mL}$ ) であった。このときの加水分解物 (MM、CB) の濃度は経時的な増加が認められた。一方、冷凍保存 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) では製剤中の明らかな IM 濃度低下は認められず、12 カ月後にも保存開始時とほぼ同等であり、加水分解物も認められなかった。

本製剤を室温 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) または 冷所 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) と室温 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) の繰り返し (各 12 時間) 条件下で保存したときの製剤中の IM と加水分解物の濃度を示す (表 3)。室温 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) で保存したときの製剤中 IM 濃度は、調製直後 ( $2.48 \text{ mg/mL}$ ) と比較して、それぞれ 1 週間後には 92.3% ( $2.29 \text{ mg/mL}$ )、3 週間後には 80.2% ( $1.99 \text{ mg/mL}$ ) であった。このときの加水分解物の濃度は、経時的に増加していた。一方、室温 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) および 冷所 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) の繰り返し (各 12 時間) 条件下で保存したときの製剤中 IM 濃度の場合には、それぞれ 1 週間後に 95.2% ( $2.36 \text{ mg/mL}$ )、3 週間後に 87.9% ( $2.18 \text{ mg/mL}$ ) であった。これらの両条件で比較すると、室温保存 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) していた時間が長い方が、製剤中の IM 濃度が低く、加水分解物濃度は高かった。

以上より、IM 噴霧製剤の室温保存 ( $25^{\circ}\text{C}$ ) は難しい一方で、冷所保存 ( $4^{\circ}\text{C}$ ) により約 2 カ月間は安定であると予想された。また、冷凍保存 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) では少なくとも 12 カ月間安定であるため、長期保存を行う場合には、冷凍保存 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) した上で必要時に解凍して使用できることを明らかにした。

#### 2. IM 噴霧製剤使用患者における血中・尿中 IM 濃度測定

対象患者 10 名の背景を示す (表 4)。患者に発症した口腔粘膜炎 (Grade1/2/3 以上: 4/6/0 名) は、化学療法または放射線療法の開始から  $12 \pm 5$  日後に発症していた。対象患者は 2 名が口腔がん、8 名が血液腫瘍であり、IM 噴霧製剤の使用期間は  $14 \pm 8$  日であった。対象患者における本製剤の 1 日使用量は、IM として  $4.5 \pm 2.2$  mg であり、使用期間中の総投与量は  $57.5 \pm 33.5$  mg であった。対象患者における IM の尿中排泄量は、それぞれ  $103.1 \pm 131.2 \mu\text{g}$  (2 日目)、 $101.6 \pm 100.7 \mu\text{g}$  (3 日目) および  $91.0 \pm 98.0 \mu\text{g}$  (8 日目) であり、IM の尿中排泄率は投与量の  $1.4 \pm 0.8\%$  であった。

IM 噴霧製剤を適用した患者 10 名における有効性を示す (表 5)。IM 噴霧製剤使用後には全例で鎮痛効果が認められ (day1:  $60.6$  vs.  $21.1$  mm, day2:  $54.6$  vs.  $19.3$  mm, day8:  $59.0$  vs.  $16.3$  mm,  $p < 0.01$ )、使用後の満足度の平均は  $70 \sim 80$  mm であった。鎮痛効果は 10 分 (中央値) で発現しており、効果は少なくとも 60 分以上持続していた。

IM 噴霧製剤使用患者における尿中 IM 排泄量を示す (図 3)。IM 噴霧製剤使用開始から day2, 3 および 8 における IM 使用量 1mg あたりの尿中 IM 排泄量は、 $2.1 \sim 35.8 \mu\text{g}/\text{日}$  であった。Day2, 3 および 8 の IM 使用量 1mg あたりの尿中 IM 排泄量の平均は、それぞれ  $13.1 \mu\text{g}/\text{日}$  (day2)、 $16.7 \mu\text{g}/\text{日}$  (day3)、 $11.9 \mu\text{g}/\text{日}$  (day8) であり、3 群間に統計的な差は認められなかった。

IM 噴霧製剤使用患者における尿中 IM 排泄量と IM 使用量を示す (図 4)。IM 噴霧製剤の使用量と尿中 IM 排泄量の間には正の相関が認められた ( $r=0.825$ )。IM 噴霧製剤を最も多く使用した患者 (IM として  $20\text{mg}/\text{日}$ ) は、尿中 IM 排泄量が最も多かった ( $438.9 \mu\text{g}$ )。一方で IM 噴霧製剤の使用量が 1 日あたり 3mg 未満 (4 噴霧/回として  $3 \sim 4$  回/日) の患者では、尿中 IM 排泄量が  $40 \mu\text{g}$  未満であった。また、IM 使用患者における IM 血中濃度 (トラフ値) は、 $24.1 \pm 28.3$  ng/mL ( $1.23 \sim 152.0$  ng/mL) であった。

以上より、IM 噴霧製剤は、がん治療 (化学療法、放射線療法) 誘発性の口腔粘膜炎に対して有効であることを確認した。さらに個人差は大きいものの、IM 尿中排泄率 ( $1.4\%$ ) が、IM の外用剤 (約  $0.5\%$ ) と比較して約 3 倍高いことから、アスピリン喘息等の副作用発症には注意が必要と考えられた。

#### IV 今後の課題

本研究により、IM 噴霧製剤の安定性に関する詳細な情報を得る事ができた。これらの情報は、国内の医療機関内における IM 噴霧製剤の適正管理、安定供給等に寄与するものと考えられる。また、IM 噴霧製剤使用後の IM 尿中排泄には個人差が大きいことが明らかとなった。今後は、IM の体内動態に及ぼす代謝酵素

やトランスポーター等の影響について追加検討が必要と考えられた。

#### V 研究の成果等の公表予定（学会、雑誌等）

解析が修了した際には、第 23 回日本医療薬学会などで発表する予定である。また、当該研究内容については、論文作成中であり、来年度中をめどに国際的な専門誌に投稿する予定である。

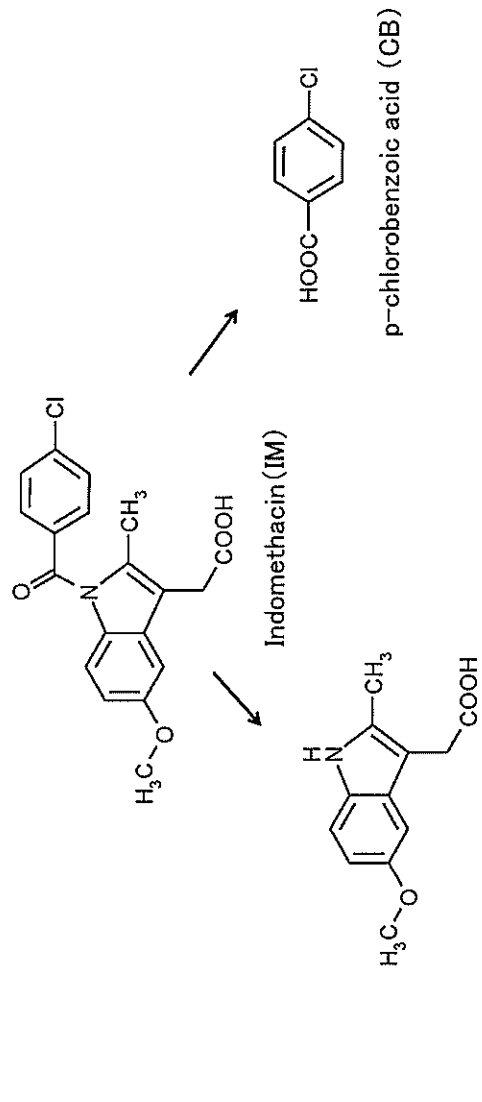


図1. IMの加水分解反応



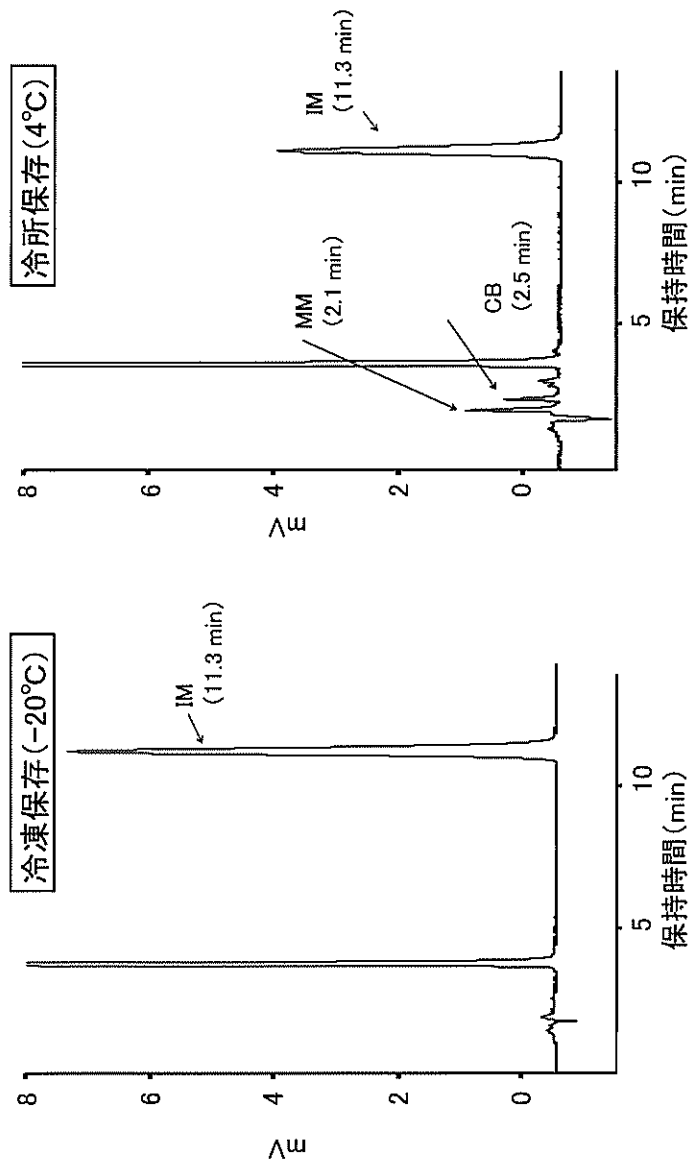


図2 長期保存(冷凍および冷所、それぞれ18カ月)したIM噴霧製剤より得られたHPLCクロマトグラム

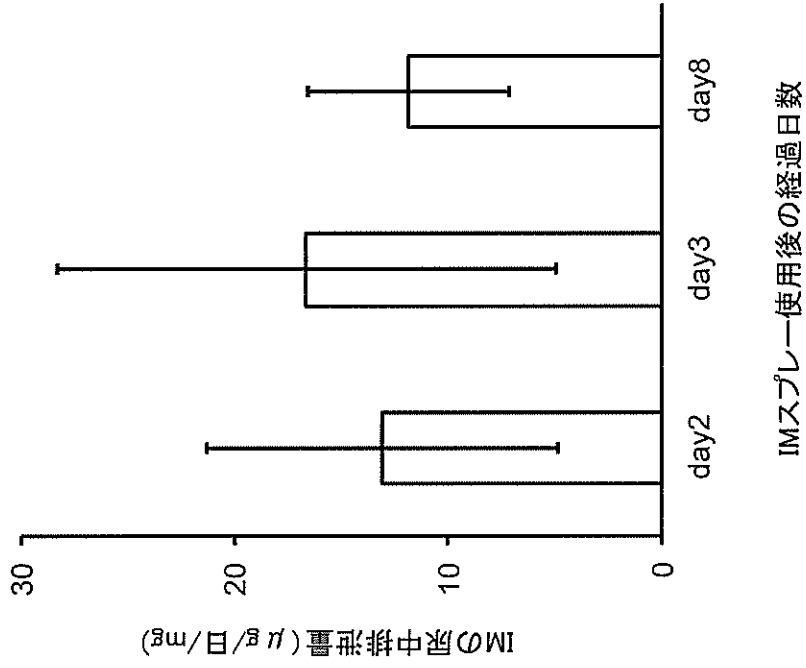


図.3 IMスプレー使用患者におけるIM使用量1mgあたりのIMの尿中排泄量

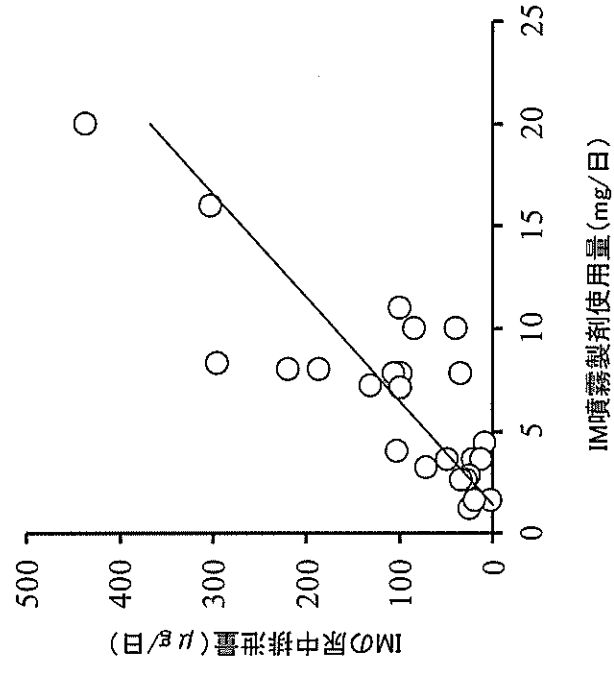


図.4 IM噴霧剤使用患者におけるIM使用量とIM尿中排泄量の関係

表1. IM噴霧製剤中のIM濃度の再現性

調製濃度 (mg/mL)	日内(n=5)		日間(n=5)	
	測定濃度 (mg/mL)	CV (%)	測定濃度 (mg/mL)	CV (%)
2.50	2.48 ± 0.03	1.09	2.50 ± 0.03	1.11

Data are represented as mean ± SD.

表2. IM噴霧製剤中のIMおよび加水分解物(MM, CB)濃度に及ぼす長期保存  
(冷凍: -20°Cまたは冷所: 4°C)の影響 (n=1)

	4カ月	6カ月	12カ月
冷凍(-20°C)			
IM (mg/mL)	2.52	2.54	2.54
MM (mg/mL)	-	-	-
CB (mg/mL)	-	-	-
冷所(4°C)			
IM (mg/mL)	2.38	2.22	1.96
MM (mg/mL)	0.17	0.24	0.44
CB (mg/mL)	0.06	0.11	0.2

MM: 5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid, CB: p-chlorobenzoic acid.

表3. IM噴霧製剤中のIMおよび加水分解物濃度に及ぼす室温保存(25°C)または冷所(4°C)と室温(25°C)の温度サイクル繰り返し(各12時間)条件保存の影響(n=6)

	調製直後	1週	2週	3週	
室温(25°C)	IM(mg/mL)	2.48	2.29	2.04	1.99
	MM(mg/mL)	n.d.	0.12	0.24	0.31
	CB(mg/mL)	n.d.	0.06	0.12	0.17
冷所(4°C)と室温(25°C) 繰り返し(各12時間)	IM(mg/mL)	2.48	2.36	2.21	2.18
	MM(mg/mL)	n.d.	0.06	0.12	0.17
	CB(mg/mL)	n.d.	0.03	0.06	0.90

MM: 5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid, CB: p-chlorobenzoic acid.  
Data are represented as mean (n=6).

表4. 患者背景

人数 (男性/女性)	10 (6/4)
年齢(歳)	56 ± 14
体重 (kg)	61.4 ± 15.7
PS (0/1/2/3/4)	4/5/1/0/0
疾患	
口腔がん	2
血液腫瘍	8
併用鎮痛薬	
オピオイド	7
NSAIDs	1
Grade (1/2/3/4)	4/6/0/0
化学放射線療法開始から粘膜炎発症までの日数 (日)	12 ± 5
IMスプレー治療日数 (日)	14 ± 8
IMの総用量 (mg)	57.5 ± 33.5
IMの総排泄量 (mg)	
day 2 (n=10)	103.1 ± 131.2
day 3 (n=9)	101.6 ± 100.7
day 8 (n=7)	91.0 ± 98.0
IMの経口投与量に対する尿中排泄率 (%)	1.4 ± 0.8

PS: Performance Status

Data are represented as mean ± SD.

表5. 化学・放射線療法誘発性の口腔粘膜炎を発症した患者におけるIM噴霧製剤の有効性

	day 1	day 2	day 8
n (M/F)	10 (6/4)	10 (6/4)	7 (3/4)
VAS: 鎮痛効果 (mm)			
使用前	60.6±21.7	54.6±20.7	59.0±19.5
使用后*	21.1±23.6	19.3±23.3	16.3±15.5
IM噴霧製剤適用後の有効性			
鎮痛効果発現時間 (分)	10 (10-20)	10 (10-30)	10 (10-30)
鎮痛効果持続時間 (分)	135 (60-240)	135 (60-240)	240 (120-240)
VAS: 満足度 (mm)	72±26	70±29	80±17

Data are represented as mean ±SD or median (range).

VAS: 100 mm Visual Analogue Scale.

\*: p<0.01 vs. IM噴霧製剤使用前