

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016 年 9 月 29 日(29.09.2016)



(10) 国際公開番号

WO 2016/152519 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/436 (2006.01) A61P 21/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/057330
- (22) 国際出願日: 2016 年 3 月 9 日(09.03.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-059041 2015 年 3 月 23 日(23.03.2015) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人大阪大学(OSAKA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 金田 眞理(KANEDA, Mari); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 片山 一郎(KATAYAMA, Ichiro); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人HARAKENZO WORLD PATENT & TRADEMARK (HARAKENZO WORLD PATENT & TRADEMARK); 〒5300041 大阪府大阪市北区天神橋 2 丁目北 2 番 6 号 大和南森町ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: EXTERNAL MEDICINE FOR DIFFUSE PLEXIFORM NEUROFIBROMA

(54) 発明の名称: びまん性神経線維腫用の外用薬

(57) Abstract: Provided is an external medicine for diffuse plexiform neurofibroma. The external medicine for diffuse plexiform neurofibroma according to the present invention comprises as an active ingredient at least one member selected from the group consisting of sirolimus and derivatives thereof.

(57) 要約: びまん性神経線維腫用の外用薬を提供する。本発明のびまん性神経線維腫用の外用薬は、有効成分として、シロリムスおよびシロリムス誘導体からなる群より選択される少なくとも 1 つを含有している。



WO 2016/152519 A1

明 細 書

発明の名称：びまん性神経線維腫用の外用薬

技術分野

[0001] 本発明は、びまん性神経線維腫用の外用薬に関する。

背景技術

[0002] 神経線維腫症は、生体の多くの器官（例えば、皮膚および神経など）に様々な異常を生じる病気である。

[0003] 神経線維腫症には、様々なタイプが存在し、その例として、神経線維腫症 1 型（NF 1、レックリングハウゼン病）および神経線維腫症 2 型（NF 2）を挙げることができる。神経線維腫症 1 型と神経線維腫症 2 型とは、原因が異なる別々の病気であって、例えば、神経線維腫症 1 型は、17 番染色体の NF 1 遺伝子の異常によって発症する常染色体優性遺伝性疾患であることが明らかになっている。

[0004] 神経線維腫症 1 型と神経線維腫症 2 型とでは、生体に現れる症状も大きく異なる。例えば、神経線維腫症 1 型の症状としては、神経線維腫、カフェオレ斑、骨異常および視神経膠腫などを挙げることができ、神経線維腫症 1 型では、皮膚に重篤な症状が現れる。一方、神経線維腫症 2 型の症状としては、聴神経の腫瘍などを挙げることができ、神経線維腫症 2 型では、神経線維腫症 1 型と比較して、中枢神経の腫瘍として症状が現れることが多く、皮膚に症状が現れることが少ない。更に、神経線維腫症 1 型は、褐色細胞腫、GIST（Gastrointestinal Stromal Tumor）または血管奇形などの様々な合併症を伴うことが多く、治療を困難なものにしている。

[0005] 特許文献 1 には、シロリムスおよびシロリムスの誘導体の少なくとも 1 つを含有する、ゲル組成物および軟膏組成物が開示されている。非特許文献 1 には、シロリムスを神経線維腫症 1 型の神経線維腫の治療に内服で用いることが開示されているが、治療効果は得られていない。

[0006] 神経線維腫症の症状の 1 つである神経線維腫には様々なタイプが存在し、

各タイプは、それぞれ独自の性質を有した、医学的に区別される別々の症状である。例えば、皮膚の神経線維腫 (cutaneous neurofibroma)、びまん性神経線維腫 (diffuse plexiform neurofibroma)、神経の神経線維腫 (nodular plexiform neurofibroma)、悪性末梢神経鞘腫瘍 (malignant peripheral nerve sheath tumor; NPNST) を挙げることができる。

[0007] びまん性神経線維腫は、神経線維腫を発症した患者の約 10% にみられる線維腫である。びまん性神経線維腫が巨大な場合には、神経線維腫の表面は皺壁に富んで弛緩し、舌状に下垂するものもある。びまん性神経線維腫が下肢全体に及ぶような場合には、皮下から皮下脂肪組織、筋肉内にまで神経線維腫の浸潤がみられ、骨の肥大および延長もみられ、巨肢症の状態を呈することもある。びまん性神経線維腫は、部位により片側顔面肥大、眼瞼下垂、巨肢症などを認め、上眼瞼の腫瘤による視野の妨げ、鼻の変形など、顔面に生じた場合には、小型であっても問題になる場合が多い (図 1 (a) ~ (c) 参照)。

[0008] また、びまん性神経線維腫は、血管が豊富であり、組織は脆弱で、軽微な打撲により巨大な血腫を形成することがある。短時間で急激に巨大な血腫を形成することもあるが、数日にわたって徐々に増大することもある。一度出血すると、多数の小血管から出血するために、止血が困難であり、時に大量に出血してショックを起こしたり、死亡した症例もある。

[0009] 皮膚の神経線維腫は、特に好発部位はなく、全身に多発した症例では体幹を主として、無数に生じる。腫瘍は、表面が常色または淡紅色の軟らかな腫瘍であり、大きさや形状は、様々である。皮膚の神経線維腫には、半球状に隆起するものもある。皮膚の神経線維腫の数は症例によって著しく異なり、数十個認められる症例から、無数認められる症例もある。

[0010] 神経の神経線維腫は、末梢神経の神経周膜から発生する神経線維腫であって、全身のどこにでも出現する。例えば、脳の周囲、脊椎の周囲、骨盤腔内、または、皮下など、種々な場所に出現する。神経の神経線維腫は、皮膚の浅いところに出現する場合には、神経の走行に沿って、皮下に比較的境界明

瞭で紡錘形に弾性硬に触れる腫瘍として出現する。これらの神経の神経線維腫が、連なって数珠状になったり、一塊となって大きな腫瘤を形成する場合もある。

- [0011] びまん性神経線維腫は、軽微な外傷にて大量の出血をおこしたり、悪性腫瘍（例えば、グリオブラストーマ、および、MPNST（Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor）など）の発生母地となる。それ故に、びまん性神経線維腫の有効な治療薬や治療方法の開発が急がれている。

先行技術文献

特許文献

- [0012] 特許文献1：WO 2012/105521 A1（2012年8月9日公開）

非特許文献

- [0013] 非特許文献1：Brian Weiss et. al., Pediatr Blood Cancer 2014, 61, 982-986

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0014] 神経線維腫はタイプ毎に様々な性質を有しているので、治療を行う場合には、各神経線維腫に適した治療薬や治療方法を選択する必要がある。
- [0015] 神経線維腫が小さい場合や、神経線維腫と正常組織との境界が比較的鮮明である場合には、神経線維腫を手術により切除することが可能である。しかしながら、びまん性神経線維腫は、血管が豊富であり、かつ、浸潤性が高いために、腫瘍と正常組織との境界が不明瞭であり、かつ、腫瘍と血管または神経とが複雑に絡み合っている。それ故に、びまん性神経線維腫は、手術にて治療することが困難であるという問題を有している。特に、びまん性神経線維腫が巨大化すると、腫瘍が重く体の移動さえ困難となる。下肢に巨大な腫瘍を有する場合においては、足の切断を余儀なくされる場合がある。巨大化したびまん性神経線維腫については、現時点で有効な治療薬や治療方法は確立されていない。

[0016] また、びまん性神経線維腫は、放射線療法が有効に機能しないという問題を有している。

[0017] びまん性神経線維腫を内服薬によって治療しようとする試みはなされているが、有意な治療効果が確認されている内服薬の報告はない。

[0018] また、以下の（i）および（i i）の先入観により、外用薬によりびまん性神経線維腫を治療しようという試みはなされていない。

（i）外用薬では、特にシロリムスのような分子量の大きい物質の場合は、びまん性神経線維腫の患部（換言すれば、肥厚した皮膚組織）への有効成分の送達効率が低い；

（i i）巨大な線維腫を外用薬で治療する方法は有効ではなく、内服薬こそが有効な治療方法である。

[0019] 本発明は、上記従来の問題点に鑑みなされたものであって、その目的は、びまん性神経線維腫を治療することができる外用薬を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0020] 本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討した結果、びまん性神経線維腫にシロリムスまたはシロリムス誘導体を含む外用薬を塗布することにより、びまん性神経線維腫を治療できることを見出し、本発明を完成させるに至った。また、シロリムスおよびシロリムス誘導体について、以下の（a）～（d）を見出し、本発明を完成させるに至った。

（a）経口薬の場合、有効成分の血中濃度は上昇するが、皮膚組織（換言すれば、びまん性神経線維腫の患部）中の有効成分の濃度は、治療有効濃度までには達し難いこと；

（b）経口薬によって皮膚組織中の有効成分の濃度を治療有効濃度まで上げようとするれば、患者に対して多量の経口薬を投与する必要性が生じ、この場合には、全身性の副作用が生じる危険性が高まること；

（c）外用薬の場合、皮膚組織中（局所）での有効成分の濃度は治療有効濃度までに上がる一方で、血液中への有効成分の移行は行われ難いこと；

（d）アルコールを含む外用薬にすることによって、外用薬に含まれる

有効成分を、更に効率よく皮膚組織に吸収させ得ること。

[0021] 本発明のびまん性神経線維腫用の外用薬は、上記課題を解決するために、有効成分として、シロリムスおよびシロリムス誘導体からなる群より選択される少なくとも1つを含有していることを特徴としている。

[0022] 本発明のびまん性神経線維腫用の外用薬は、ゲル剤であることが好ましい。

[0023] 本発明のびまん性神経線維腫用の外用薬は、エタノールを含有していることが好ましい。

[0024] 本発明のびまん性神経線維腫用の外用薬は、上記エタノールを、20～60重量%含有していることが好ましい。

[0025] 本発明のびまん性神経線維腫用の外用薬は、上記有効成分を、0.2～0.8重量%含有していることが好ましい。

発明の効果

[0026] 本発明の外用薬は、有効な治療薬や治療方法が確立されていない、びまん性神経線維腫を治療することができる。特に、手術が不可能な巨大化したびまん性神経線維腫を縮小させ、患者のQOLを著しく改善する。また、打撲などによる血腫形成や大量出血を防ぐことができる。早期に治療を開始することにより、腫瘍の巨大化を抑制できる。

[0027] 本発明の外用薬は、吸収率が高く、有効成分を効率良く、患部である皮膚組織や筋肉組織に到達させることができる。

[0028] 本発明の外用薬は、皮膚組織や筋肉組織などの局所での有効成分の濃度を高く保持できるが、吸収された有効成分の血液移行量は少ない。よって、全身性の副作用が生じる危険性が低く安全な製剤である。

[0029] 本発明の外用薬は、全身投与と異なり、限られた病変部位にのみ外用することができる。

図面の簡単な説明

[0030] [図1] (a)～(c)は、びまん性神経線維腫の症状を示す写真であり、(d)は、本発明の実施例に係る外用薬の投与前後における、びまん性神経線維

腫の組織学的な変化を示す写真である。

[図2]本発明の実施例に係る外用薬の投与後における、組織中および血液中のシロリムスの濃度の測定結果を示すグラフである。

[図3]本発明の実施例に係る外用薬の投与後における、組織中および血液中のシロリムスの濃度の測定結果を示すグラフである。

[図4]本発明の実施例に係る外用薬の投与後における、組織中および血液中のシロリムスの濃度の測定結果を示すグラフである。

[図5]本発明の実施例に係る外用薬を単回投与した場合の組織中のシロリムスの濃度と、内服薬を単回投与した場合の組織中のシロリムスの濃度とを比較したグラフである。

[図6]本発明の実施例に係る外用薬を連続投与した場合の、組織中および血液中のシロリムスの濃度と、内服薬を連続投与した場合の、組織中および血液中のシロリムスの濃度とを比較したグラフである。

[図7]本発明の実施例における、MTT アッセイ法による細胞増殖の解析結果、および、Trypan blue セルカウント法による細胞死の解析結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0031] 本発明の一実施形態について以下に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。本発明は、以下に説明する各構成に限定されるものではなく、特許請求の範囲に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態や実施例にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態や実施例についても本発明の技術的範囲に含まれる。また、本明細書中に記載された学術文献及び特許文献の全てが、本明細書中において参考文献として援用される。また、本明細書において特記しない限り、数値範囲を表す「A～B」は、「A以上B以下」を意図する。

[0032] 本実施の形態の外用薬は、びまん性神経線維腫を処置および／または治療するための外用薬であって、シロリムスおよびシロリムス誘導体からなる群より選択される少なくとも1つの有効成分を含有している。

[0033] シロリムス（別名：ラパマイシン）やシロリムス誘導体は、既に、他の病気の治療にも用いられており、臨床における安全性が確認されている。それ故に、これらを用いれば、より安全性の高い、びまん性神経線維腫用の外用薬を実現することができる。

[0034] 上記シロリムス誘導体としては、特に限定されないが、例えば、エベロリムス、テムシロリムス、リダフォロリムス、およびゾタロリムスを挙げることができる。これらは、シロリムスの基本骨格と略同じ基本骨格を有しており、シロリムスと同等の生理活性を有していることが知られている。それ故に、これらのシロリムス誘導体も、シロリムスと同様に、本実施の形態の外用薬の有効成分として用いることができる。容易に外用薬を調製するという観点から言うと、上述した中では、シロリムスおよび／またはエベロリムスを用いることが好ましい。また、上述した中では通常分子量が大きく、水溶性で経皮吸収が困難と考えられるエベロリムスなどに比して、経皮吸収が確認されているラパマイシンを用いることが好ましい。

[0035] 本実施の形態の外用薬に含有される有効成分の量は、特に限定されないが、本実施の形態の外用薬であれば有効成分を効率良く皮膚組織内に吸収させることができる。また、びまん性神経線維腫の肥厚した皮膚組織にも有効成分を到達させることができる。

[0036] 例えば、本実施の形態の外用薬に含有される有効成分の量は、外用薬の総重量を基準として、0.05～1.0重量%、0.1～0.9重量%、0.2～0.8重量%（または、0.2重量%以上0.8重量%未満）、0.3～0.7重量%、0.35～0.6重量%、0.4～0.6重量%、または、0.4～0.5重量%であり得る。

[0037] 有効成分の血液中への移行をできるだけ抑え、かつ、皮膚組織中の有効成分の濃度を治療有効濃度にまで高めることによって、全身性の副作用を抑え、かつ、治療効果を得るという観点からは、本実施の形態の外用薬に含有される有効成分の量は、外用薬の総重量を基準として、好ましくは0.2～0.8重量%（または、0.2重量%以上0.8重量%未満）、より好ましく

は0.3～0.7重量%、より好ましくは0.4～0.6重量%である。

[0038] 本実施の形態の外用薬は、びまん性神経線維腫の処置（換言すれば、症状の進行の阻止）および／または治療に用いられる。本実施の形態の外用薬が用いられるびまん性神経線維腫は、例えば、神経線維腫症1型に伴って発症する、びまん性神経線維腫であり得る。

[0039] 本実施の形態の外用薬は、ヒトは勿論のこと、非ヒト動物に対しても用いることができる。非ヒト動物としては、例えば、ヒトを除く哺乳類を挙げることができる。ヒトを除く哺乳類としては、例えば、ウシ、イノシシ、ブタ、ヒツジ、ヤギなどの偶蹄類、ウマなどの奇蹄類、マウス、ラット、ハムスター、リスなどのげっ歯類、ウサギなどのウサギ目、イヌ、ネコ、フェレットなどの食肉類などを挙げることができる。また、これらの非ヒト動物は、家畜またはコンパニオンアニマル（愛玩動物）であることに限定されるものではなく、野生動物であってもよい。

[0040] 生体の単位表面積あたりの本実施の形態の外用薬の塗布量は、特に限定されないが、 $0.001\text{ g/cm}^2 \sim 0.01\text{ g/cm}^2$ 、 $0.002\text{ g/cm}^2 \sim 0.009\text{ g/cm}^2$ 、 $0.003\text{ g/cm}^2 \sim 0.008\text{ g/cm}^2$ 、 $0.004\text{ g/cm}^2 \sim 0.007\text{ g/cm}^2$ 、 $0.005\text{ g/cm}^2 \sim 0.006\text{ g/cm}^2$ であり得る。

[0041] 当該塗布量で本実施形態の外用薬を、毎日、または、2～3日に1回塗布すればよい。毎日塗布することが好ましい。毎日塗布する場合は、1日に1～3回の塗布が好ましく、さらに好ましくは1日に2～3回の塗布、最も好ましくは1日に2回の塗布である。

[0042] 本実施の形態の外用薬であれば、効果的にびまん性神経線維腫を処置および／または治療することができるとともに、副作用が生じることを防ぐことができる。

[0043] 本実施の形態の外用薬は、ゲル剤、軟膏剤、パップ剤、リニメント剤、ローション剤、および、クリーム剤などの剤形であってもよい。

[0044] 例えば、i) 有効成分を含有している溶液をゲル化することにより、ゲル

剤を調製することができる。また、i i) 軟膏基剤と有効成分とを混合することにより、軟膏剤を調製することができる。また、パップ剤、リニメント剤、ローション剤およびクリーム剤は、周知の方法にしたがって調製することができる。なお、ゲル剤は、軟膏剤と比較して、皮膚組織に有効成分が吸収され易く、より好ましい剤形であるといえる。

[0045] 以下に、ゲル剤の具体的な構成の一例、および、軟膏剤の具体的な構成の一例について説明するが、本発明は、これらの構成に限定されない。

[0046] (A) ゲル剤

上述したように、本実施の形態の外用薬は、有効成分を含有している溶液をゲル化して得られる、ゲル剤であってもよい。

[0047] ゲル剤を調製する場合には、ゲル化剤を用いて、有効成分を含有している溶液をゲル化すればよい。ゲル化剤として、例えば、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロース、水酸化アルミニウム、ベントナイトなどを挙げることができる。

[0048] カルボキシビニルポリマーの具体的な構成は、特に限定されず、カーボポール（登録商標）、ハイビスワコー（登録商標）、アクベック（登録商標）を用いることができるが、外用薬として塗布した場合の質感の良さの観点から、これらの中では、カーボポール（登録商標）934P NFまたはカーボポール（登録商標）980が好ましい。

[0049] カーボポール（登録商標）を用いる場合、カーボポール（登録商標）を含有している溶液にpH調整剤（例えば、トリスヒドロキシメチルアミノメタン、トリエタノールアミン）を添加し、これによって溶液のpHを中性に調整することによって、溶液をゲル化させることができる。

[0050] 本実施の形態の外用薬は、好適にはアルコールを含有する。アルコールにより、外用薬に含まれる有効成分を効率よく皮膚組織に吸収させ患部へ到達させることができる。アルコールの例としては、エタノールおよびイソプロパノールを挙げるができるが、有効成分をより効率よく皮膚組織に吸収させるという観点から、エタノールがより好ましい。

[0051] 本実施の形態の外用薬に含まれるアルコールの量は、特に限定されないが、外用薬の総重量を基準として、10～70重量%、20～70重量%、30～70重量%、40～70重量%、45～70重量%、50～70重量%、55～70重量%、60～70重量%、10～60重量%、20～60重量%、30～60重量%、40～60重量%、45～60重量%、10～55重量%、20～55重量%、30～55重量%、40～55重量%、45～55重量%、10～50重量%、20～50重量%、30～50重量%、40～50重量%、または、45～50重量%であってもよい。好ましくは、20～60重量%である。

[0052] アルコール量はシロリムスを十分に溶解することができる量である事が、必須であり、20重量%以上が好ましい。効果の期待できる濃度のゲルを調製するためにはゲル重量の30重量%以上、さらに好ましくは40重量%以上アルコール量が好ましい。60重量%を超えると、製剤からアルコールが蒸発しやすくなるため、安定した有効成分濃度の製剤を保存（保管）する事が難しくなる。よって、より好ましくは、50重量%前後（45～55重量%）である。有効成分が十分に溶解するアルコール量を含有することにより、有効成分をより効率よく皮膚組織に吸収させることができる。50重量%以下であるならばアルコールの量が多いほど、有効成分が十分に溶解しており、より効率よく皮膚組織に吸収させることができる。

[0053] ゲル剤に含まれるゲル化剤の量は、特に限定されず、有効成分を含有している溶液がゲル化するために十分な量であればよい。ゲル剤に含まれるゲル化剤の量は、例えば、ゲル剤の総重量を基準として、1.5重量%以上（より具体的には、1.5～20重量%、1.5～15重量%、1.5～10重量%、1.5～5重量%、または、1.5～2.5重量%）であり得る。

[0054] ゲル剤に含まれるpH調整剤（中和剤）の量は、特に限定されず、溶媒およびゲル化剤の量に応じて適宜設定し得る。ゲル剤に含まれるpH調整剤の量は、例えば、ゲル剤の総重量を基準として、0.5～5.0重量%、0.5～2.5重量%、または、0.5～1.0重量%であり得る。

[0055] より具体的に、カーボポール（登録商標）934P NFなどのゲル化剤と、トリスヒドロキシメチルアミノメタンなどのpH調整剤と、を用いる場合、ゲル化剤の量が、ゲル剤の総重量を基準として、1.6重量%であり、pH調整剤の量が、ゲル剤の総重量を基準として、例えば0.4重量%、0.6重量%または0.8重量%であってもよい。勿論、本発明は、当該比率に限定されない。

[0056] ゲル剤に含まれる有効成分の量は特に限定されず、「外用薬に含有される有効成分の量」として既に説明した量であり得る。

[0057] ゲル剤には、上述した有効成分、溶媒（アルコール）、ゲル化剤およびpH調整剤（中和剤）以外の他の成分が含まれていてもよい。当該他の成分としては、例えば、水溶性高分子、および、上述した有効成分以外の所望の有効成分が挙げられる。

[0058] 上記水溶性高分子としては、例えば、ポリエチレングリコール、デンプン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、ポリビニルアルコール、ポリビニルメチルエーテル、および、ポリビニルピロリドンなどを挙げることができる。ゲル剤にヒドロキシプロピルセルロースが含まれていれば、当該ゲル剤の粘着性を向上させることができる。つまり、ゲル剤が皮膚から剥がれ難くすることができる。

[0059] ゲル剤に含まれる上記他の成分の量は、特に限定されないが、例えば、ゲル剤の総重量を基準として、50重量%以下、40重量%以下、30重量%以下、20重量%以下、10重量%以下、5重量%以下、または、1重量%以下であり得る。

[0060] （B）軟膏剤

上述したように、本実施の形態の外用薬は、基剤と有効成分とを含有する軟膏剤であってもよい。

[0061] 軟膏剤に含まれる有効成分の量は特に限定されず、「外用薬に含有される有効成分の量」として既に説明した量であり得る。当該量については既に説明したので、ここでは、具体的な説明を省略する。

- [0062] 基剤としては、例えば、ロウ類（例えば、サラシミツロウ、ラノリン、カルナバロウ、鯨ロウなどの天然ロウ、モンタンロウなどの鉱物ロウ、合成ロウなど）、パラフィン類（例えば、流動パラフィン、固形パラフィンなど）、ワセリン（例えば、白色ワセリン、黄色ワセリンなど）などを挙げることができる。
- [0063] 軟膏剤に含まれる基剤の量は特に限定されないが、例えば、軟膏剤の総重量を基準として、10重量%以上、20重量%以上、30重量%以上、40重量%以上、50重量%以上、60重量%以上、70重量%以上、80重量%以上、または、90重量%以上であり得る。
- [0064] 軟膏剤は、炭酸プロピレン、固形パラフィンおよび白色ワセリンを含むことが可能である。また、軟膏剤は、炭酸プロピレン、固形パラフィンおよび白色ワセリンに加えて、更に流動パラフィンを含むことも可能である。また、軟膏剤は、炭酸プロピレン、固形パラフィン、白色ワセリンおよび流動パラフィンに加えて、更にサラシミツロウを含むことが可能である。
- [0065] 軟膏剤は、周知の方法にしたがって製造することができる。以下に、製造方法の一例を説明する。
- [0066] 例えば、ホモミキサー（例えば、プライミクス株式会社製）や万能ミキサー（例えば株式会社ダルトン製）を用いて調製することができる。基剤が室温において固体である場合、基剤を液体になるまで加熱し、液体状の基剤と、有効成分が溶解した溶液とを混合すればよい。例えば、室温において固体である各種成分（例えば、ロウ類、パラフィン類、ワセリンなど）を融点以上（例えば70℃）に加熱して溶解し、当該溶解物へ、有効成分が溶解した溶液を添加し、攪拌する。そして、攪拌しながらこの混合物を室温付近にまで（例えば40℃）冷却し、軟膏剤を製造することができる。
- [0067] 別の方法として、基剤を全て70℃～80℃で溶解し、自転公転ミキサー（株式会社シンキー製）を用い、攪拌モードで、800rpmにて30分間、次いで1000rpmにて5分間、次いで2000rpmにて1分間（15℃）攪拌し、当該基剤に有効成分を溶解した溶液を加え、更に1000r

p mにて1分間、次いで2000rpmにて1分間（冷却なし）で攪拌することで、有効成分を含む非常に微細な粒子がより分散した良質な軟膏を調製することができる。

[0068] 上述した他の成分を軟膏剤に含有させる場合、有効成分と他の成分とを所望の溶媒に溶解させた溶液を調製し、当該溶液に基剤を添加し、添加以後の工程は上述した方法にしたがって軟膏剤を調製すればよい。

実施例

[0069] <1. 外用薬の調製>

シロリムス（ラパマイシン）を、エタノールまたはイソプロパノールに添加して溶解した後、更に水（具体的には、注射用水）を添加および混合して、混合溶液を調製した。当該混合溶液にカーボポール（登録商標）（具体的には、カーボポール（登録商標）934P NF）を添加および混合して、均一な懸濁液を調製した。当該懸濁液に中和剤（具体的には、トリスヒドロキシメチルアミノメタン）を添加および混合して、ゲル剤（外用薬1～9）を調製した。ゲル剤の組成を下記表1および表2に示す。

[0070] 一方、サラシミツロウ、流動パラフィン、固形パラフィン、白色ワセリンを全て同一容器に量り取り、これらを70℃～80℃で溶解し、自転公転ミキサー（株式会社シンキー製）を用い、攪拌モードで、800rpmにて30分間、次いで1000rpmにて5分間、次いで2000rpmにて1分間（15℃）攪拌し、当該溶解物に対して、シロリムスを炭酸プロピレンで60～70℃の湯浴上で溶解した溶液を加え、更に1000rpmにて1分間、次いで2000rpmにて1分間（冷却なし）で攪拌して、軟膏剤（外用薬10）を調製した。

[0071]

[表1]

	シロリムスの濃度 [%]	シロリムスの含量 [mg]	カーボホール 934P NFの含量 [mg]	エタノールの含量 [mg]	トリスヒドロキシメチルアミノメタンの含量 [mg]	水の含量 [mg]	全量 [mg]
外用薬1	0	0	16	488	6	490	1000
外用薬2	0.05	0.5	16	487.5	6	490	1000
外用薬3	0.1	1	16	487	6	490	1000
外用薬4	0.2	2	16	486	6	490	1000
外用薬5	0.8	8	16	480	6	490	1000

[0072] [表2]

	シロリムスの濃度 [%]	シロリムスの含量 [mg]	カーボホール 934P NFの含量 [mg]	イソプロパノールの含量 [mg]	トリスヒドロキシメチルアミノメタンの含量 [mg]	水の含量 [mg]	全量 [mg]
外用薬6	0.05	0.5	16	487.5	6	490	1000
外用薬7	0.2	2	16	486	6	490	1000
外用薬8	0.4	4	16	484	6	490	1000
外用薬9	0.8	8	16	480	6	490	1000

[0073] [表3]

	シロリムスの濃度 [%]	シロリムスの含量 [mg]	炭酸ブドウ糖の含量 [mg]	サリシチクの含量 [mg]	流動パラフィンの含量 [mg]	固形パラフィンの含量 [mg]	白色ワセリンの含量 [mg]	全量 [mg]
外用薬10	0.2	2	58	5	10	30	895	1000

[0074] <2. びまん性神経線維腫に対する外用薬の効果>

神経線維腫症1型を患う患者（3名）のびまん性神経線維腫に、外用薬4を12週間塗布した。具体的に、外用薬4を、1日あたり1回、びまん性神経線維腫に塗布した。また、1回の塗布で、びまん性神経線維腫300cm²に対して1gの外用薬4を塗布した。塗布を開始してから84日後に、シロリムスの組織中の濃度および血液中の濃度を測定し、組織染色によって組織の状態を確認し、かつ、患者の自覚症状の有無を確認した。

[0075] 試験結果を、表4および図1（d）に示す。下記表4において、「血中のシロリムス濃度」および「組織中のシロリムス濃度」の欄の「-」は、測定限界（1ng/mL、または、1ng/mg）以下の濃度であることを示す

。また、「患者の自覚症状」の欄の「－」は、治療前後において、自覚症状に変化が無かったことを示す。なお、「血中のシロリムス濃度」は、ARCHITECT（登録商標）Sirorimus、ARCHITECT（登録商標）Sirorimus キャリブレーション Reagent を用いて、病院検査室で測定し、「組織中のシロリムス濃度」は、LC-ESI/MS法で測定した。

[0076] 表4に示すように、本実施例の外用薬は、組織中のシロリムスの濃度を高く（治療有効濃度に）維持することができる一方で、血液中のシロリムスの濃度を低く抑えることができることが明らかになった（経口投与薬であれば、血液中のシロリムス濃度は、略5～10 ng/mL、または、それ以上になる）。このことは、本実施例の外用薬は、びまん性神経線維腫を効果的に治療できるのみならず、副作用を防ぐことができることを示している。

[0077] 表4の「組織の所見」の欄の試験結果を、別途、図1（d）に示す。なお、図1（d）は、治療前後のびまん性神経線維腫をヘマトキシリン・エオジン染色した染色像を示している。なお、ヘマトキシリン・エオジン染色は、パラフィンブロックから切片をつくり、当該切片からパラフィンを除去した後で、当該切片を和光純薬のマイヤーヘマトキシリンと、エオジンとを用いて、染色した。治療の前後において、びまん性神経線維腫に組織学的な変化（具体的には、細胞数の減少、および、抗原繊維の膨化）が認められた。このことは、本実施例の外用薬は、びまん性神経線維腫を縮小させる効果を有していることを示している。

[0078] 更に、表4の「患者の自覚症状」の欄に示すように、衣類の着用が容易になったとの自覚症状が現れた患者も存在した。このことも、本実施例の外用薬は、びまん性神経線維腫を縮小させる効果を有していることを示している。

[0079]

[表4]

	患者	血中の シロリムス濃度 [ng/mL]	組織中の シロリムス濃度 [ng/mg]	組織の所見	患者の自覚症状
塗布開始前	患者A	—	—	神経線維腫特有の組織	—
	患者B	—	—	神経線維腫特有の組織	衣類の着用が困難
	患者C	—	—	神経線維腫特有の組織	—
塗布開始後 12週間	患者A	—	2.6~2.8	神経線維腫の皮下組織が膨化	—
	患者B	1.3	1.6~1.9	神経線維腫の皮下組織が膨化	衣類の着用が容易
	患者C	—	0.8~0.9	神経線維腫の皮下組織が膨化	—

[0080] <3. シロリムスの組織中の濃度および血液中の濃度>

BALB/c miceに、外用薬6~8の各々を12日間塗布した。具体的に、外用薬6~8の各々を、1日あたり1回、BALB/c miceに塗布した。なお、1回の塗布で、BALB/c miceの皮膚10cm²に対し100mgの外用薬6~8を塗布した。塗布を開始してから12日後に、シロリムスの組織中の濃度および血液中の濃度を測定した。

[0081] また、hairless miceに、外用薬6~9の各々を3週間塗布した。具体的に、外用薬6~9の各々を、1日あたり1回、hairless miceに塗布した。なお、1回の塗布で、hairless miceの皮膚10cm²に対して100mgの外用薬6~9を塗布した。塗布を開始してから21日後に、シロリムスの組織中の濃度および血液中の濃度を測定した。

[0082] BALB/c miceの試験結果を図2に示し、hairless miceの試験結果を図3に示す。図2および図3に示すように、本実施例の外用薬は、組織中のシロリムスの濃度を高く（治療有効濃度に）維持することとできる一方で、血液中のシロリムスの濃度を低く抑えることができることが明らかになった。

[0083] 更に、図2および図3に示すように、外用薬中のシロリムスの濃度を0.

2%から0.4%へ変化させた場合、組織中のシロリムスの濃度は大きく増加するのに比べ、血液中のシロリムスの濃度は略同じであった。このことは、外用薬中のシロリムスの濃度が略0.4%（例えば、0.2～0.8重量%（または、0.2重量%以上0.8重量%未満）、好ましくは0.3～0.8重量%（または、0.3重量%以上0.8重量%未満）、より好ましくは0.4～0.8重量%（または、0.4重量%以上0.8重量%未満））であれば、血液中のシロリムスの濃度を極力低下させた状態で、組織中のシロリムスの濃度を極力上昇させることができること、つまり、当該構成であれば、副作用を極力抑えた状態で、びまん性神経線維腫を効果的に治療することができる。

[0084] <4. 外用薬に含まれるアルコールに関する検討>

hairless miceに、エタノールを含有している外用薬4、または、イソプロパノールを含有している外用薬7の各々を3週間塗布した。具体的に、外用薬4または外用薬7を、1日あたり1回、hairless miceに塗布した。また、1回の塗布で、hairless miceの皮膚10cm²に対して100mgの外用薬4または外用薬7を塗布した。塗布を開始してから21日後に、シロリムスの組織中の濃度および血液中の濃度を測定した。

[0085] 試験結果を図4に示す。図4に示すように、イソプロパノールを含む外用薬と比較して、エタノールを含む外用薬の方が、シロリムスの組織中への吸収効果が高いことが明らかになった。また、図4に示すように、エタノールを含む外用薬も、組織中のシロリムスの濃度を高く（治療有効濃度に）維持することでできる一方で、血液中のシロリムスの濃度を低く抑えることができることが明らかになった。

[0086] <5. 外用薬と内服薬との比較（単回投与）>

外用薬：15mgの外用薬5（合計120μgのシロリムス）を、hairless miceの背に、1回塗布した。塗布してから、1時間、3時間、6時間、12時間、24時間、36時間、48時間、および、72時間

後に、マウスの背をテープストリッピングし、背から角質を除いた後で、組織中のシロリムスの濃度を測定した。

[0087] 内服薬：250 μ g / 200 μ L の濃度にてシロリムスを含有する溶液 200 μ L を、マウスに 1 回内服させた。内服させてから、1 時間、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間、36 時間、48 時間、および、72 時間後に、マウスの背をテープストリッピングし、背から角質を除いた後で、組織中のシロリムスの濃度を測定した。

[0088] 試験結果を図 5 に示す。図 5 に示すように、内服薬よりも外用薬の方が、組織中のシロリムスの濃度を、はるかに上昇させ得ることが明らかになった。

[0089] <6. 外用薬と内服薬との比較（連続投与）>

外用薬：15 mg の外用薬 5（合計 120 μ g のシロリムス）を、hairless mice の背に、1 日あたり 1 回塗布した。当該塗布を、5 日間連続して行った。連続投与を開始してから、1 日、2 日、3 日、4 日、および、5 日後に、組織中のシロリムスの濃度、および、血液中のシロリムスの濃度を測定した。

[0090] 内服薬：250 μ g / 200 μ L の濃度にてシロリムスを含有する溶液 200 μ L を、マウスに 1 日あたり 1 回内服させた。当該内服を、5 日間連続して行った。連続投与を開始してから、1 日、2 日、3 日、4 日、および、5 日後に、組織中のシロリムスの濃度、および、血液中のシロリムスの濃度を測定した。

[0091] 試験結果を図 6 に示す。図 6 に示すように、血液中のシロリムスの濃度が略同一であるときを比較すると、外用薬の方が、内服薬よりも、組織中のシロリムスの濃度が略 100 倍高いことが明らかになった。

[0092] <7. シロリムスの細胞増殖抑制作用および細胞死誘導作用に関する検討>

周知の方法にしたがって神経線維腫症 1 型を患う患者のびまん性神経線維腫に由来する線維芽細胞を培養した。当該線維芽細胞を培養している培地に

、最終濃度が0.1 nM、1 nM、10 nMまたは100 nMとなるようにシロリムスを加えて培養した後で、線維芽細胞の細胞増殖と細胞死とを解析した。なお、シロリムスに対するネガティブコントロールとしては、DMSOを用いた。

[0093] 細胞増殖は、MTT アッセイ法にしたがって解析し、より具体的には、ナカライ株式会社製のCell Count Reagent SFを用いて解析した。一方、細胞死は、Trypan blue セルカウント法にしたがって解析し、より具体的には、Bio-rad株式会社製のTrypan Blue #145-0021を用いて解析した。具体的な方法は、各キットに添付のプロトコールにしたがった。

[0094] 試験結果を図7に示す。図7に示すように、シロリムスの濃度依存的に、細胞増殖が抑制され、かつ、細胞死が誘導されることが明らかになった。

産業上の利用可能性

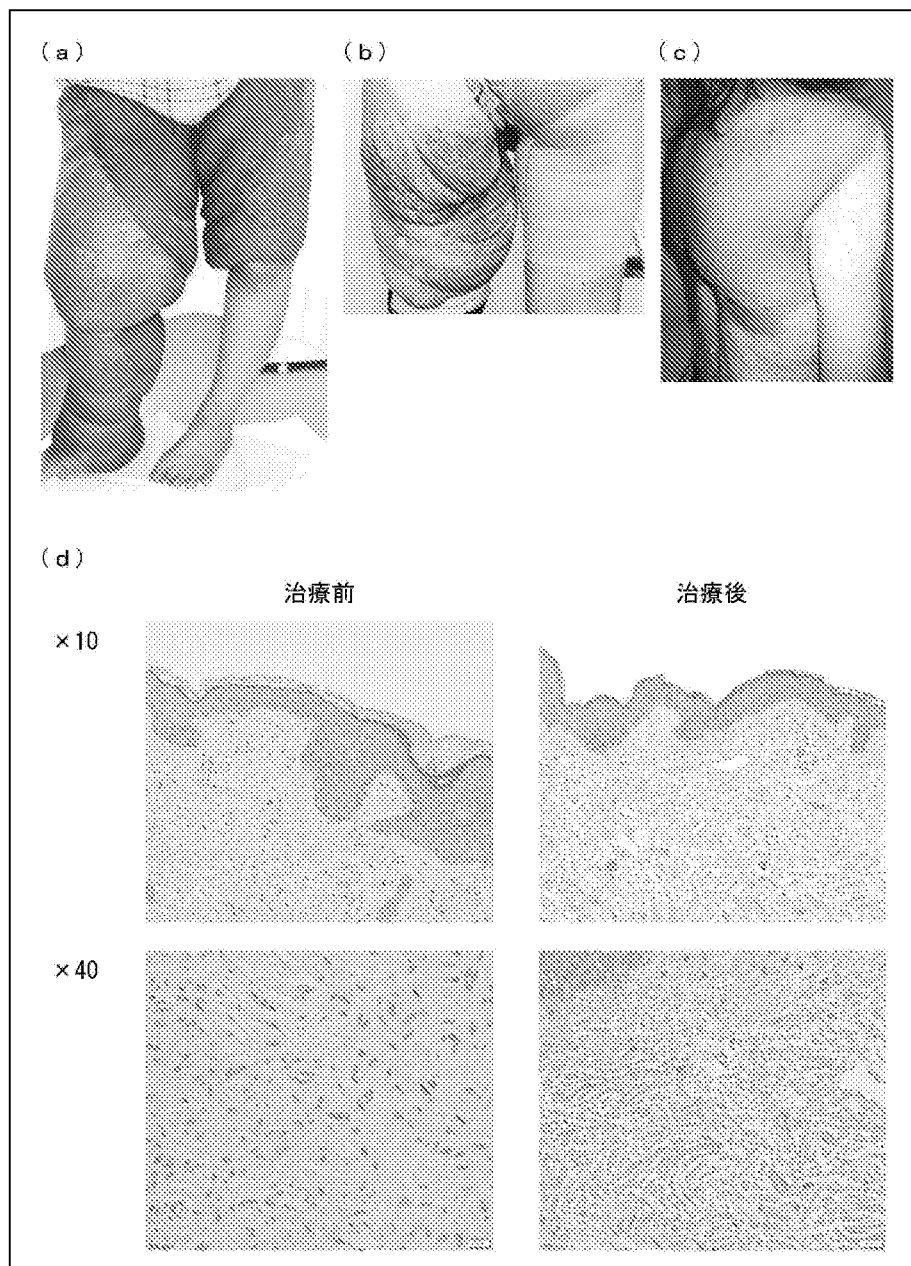
[0095] 本発明は、びまん性神経線維腫（例えば、神経線維腫症1型を患う患者に発症する、びまん性神経線維腫）の処置または治療に利用することができる。

請求の範囲

- [請求項1] 有効成分として、シロリムスおよびシロリムス誘導体からなる群より選択される少なくとも1つを含有していることを特徴とする、びまん性神経線維腫用の外用薬。
- [請求項2] 上記外用薬は、ゲル剤であることを特徴とする請求項1に記載の、びまん性神経線維腫用の外用薬。
- [請求項3] エタノールを含有していることを特徴とする請求項1または2に記載の、びまん性神経線維腫用の外用薬。
- [請求項4] 上記エタノールを、20～60重量%含有していることを特徴とする請求項3に記載の、びまん性神経線維腫用の外用薬。
- [請求項5] 上記有効成分を、0.2～0.8重量%含有していることを特徴とする請求項1～4の何れか1項に記載の、びまん性神経線維腫用の外用薬。

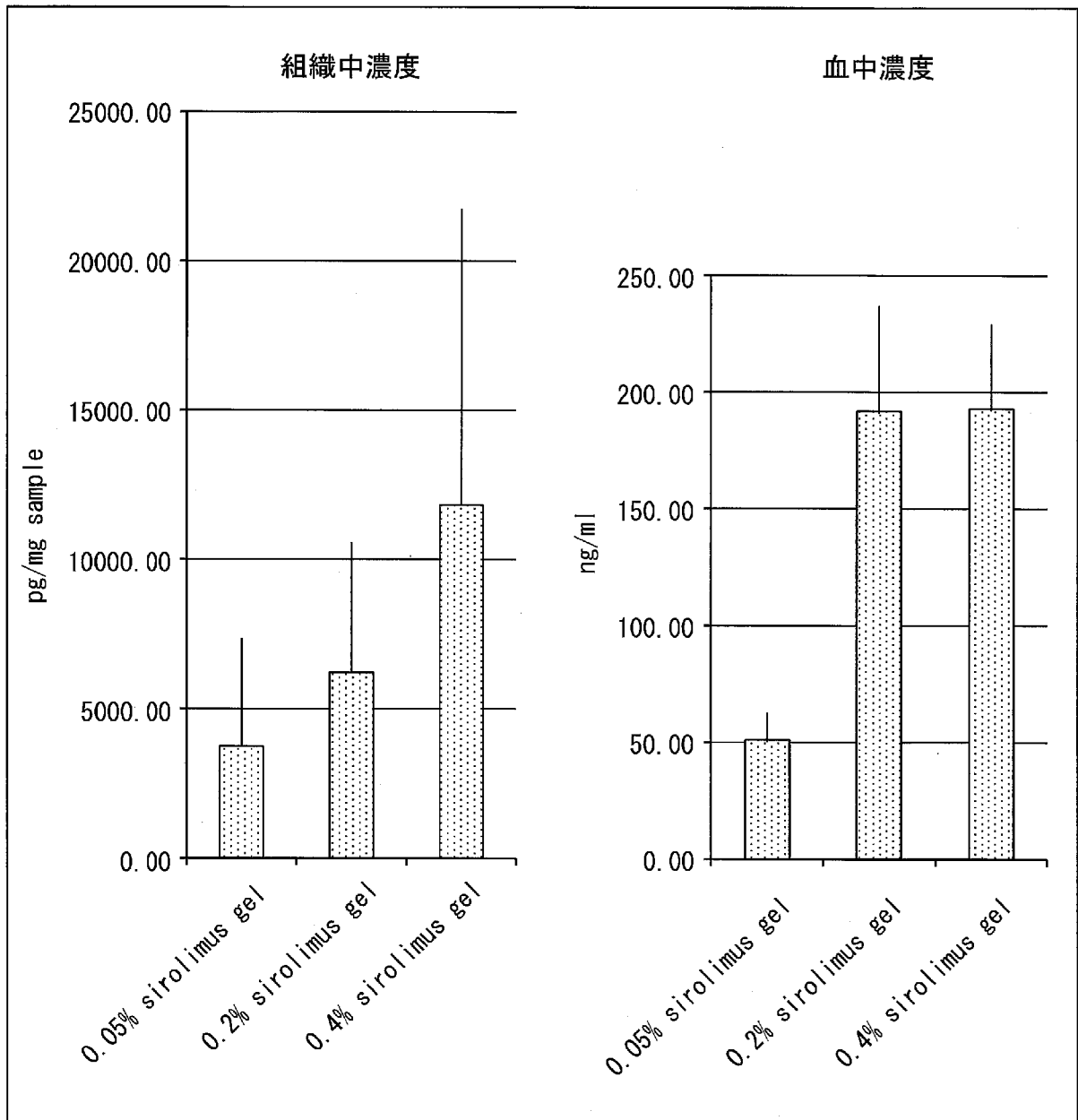
[図1]

図 1



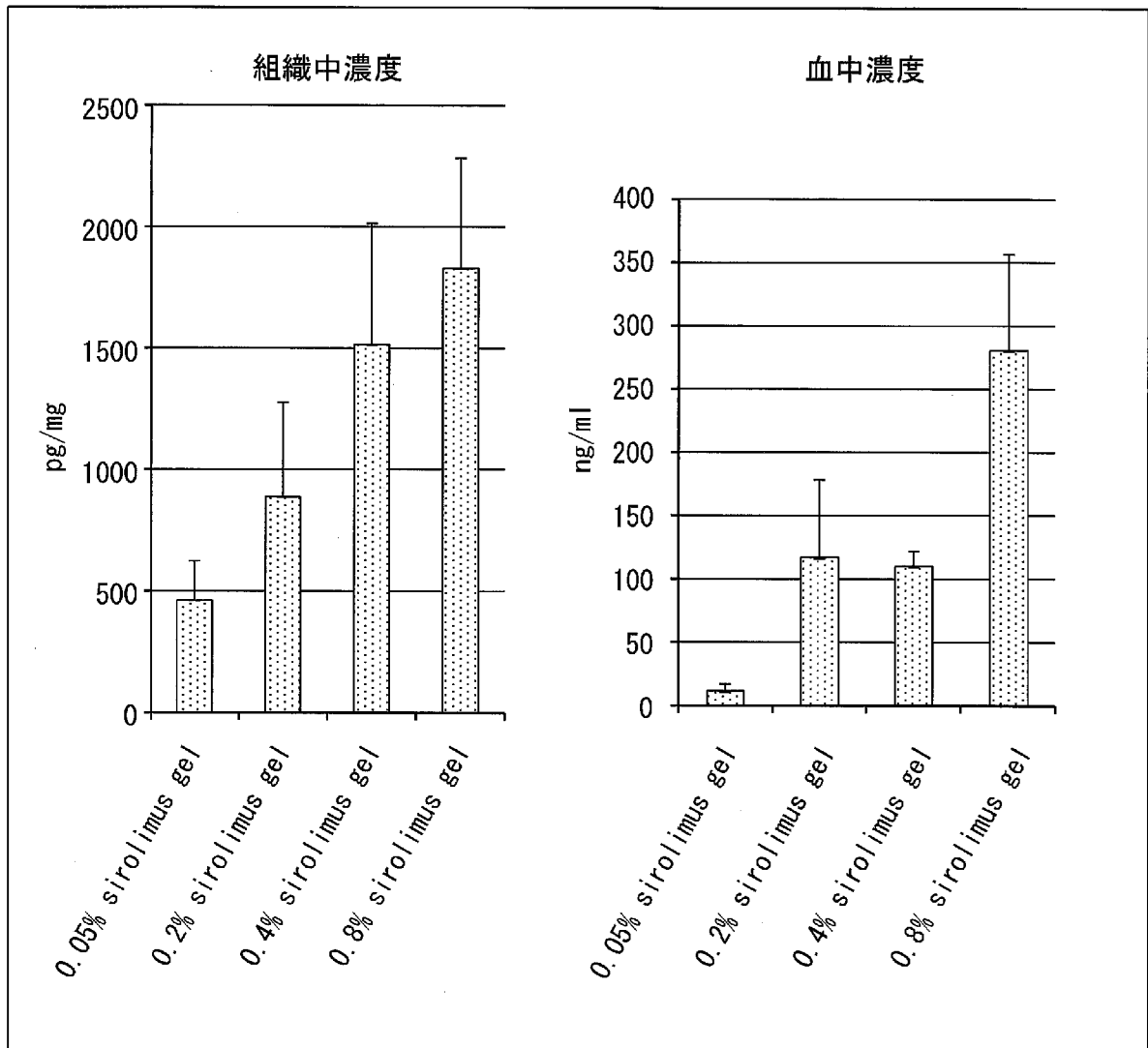
[図2]

図 2



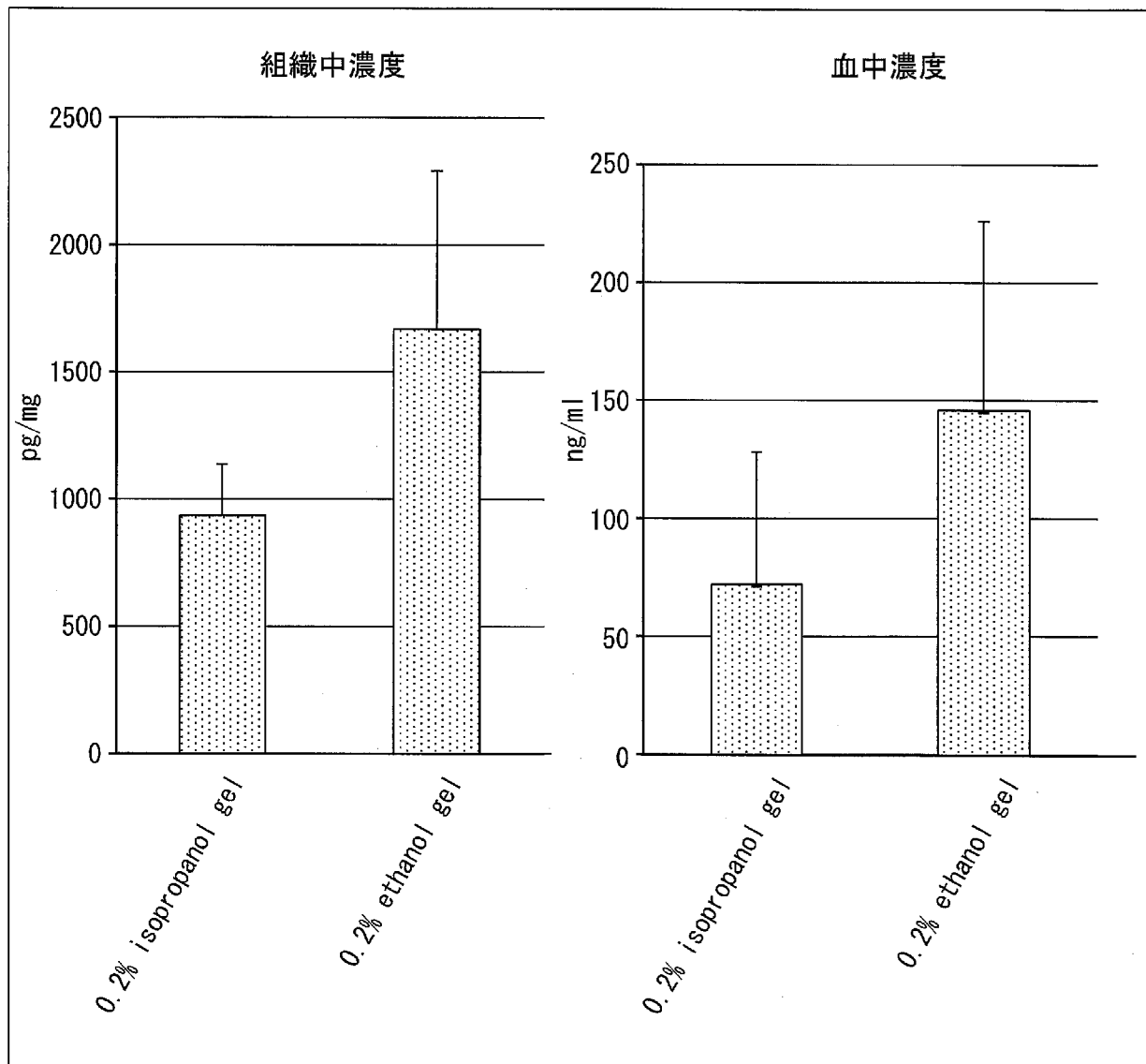
[図3]

図 3



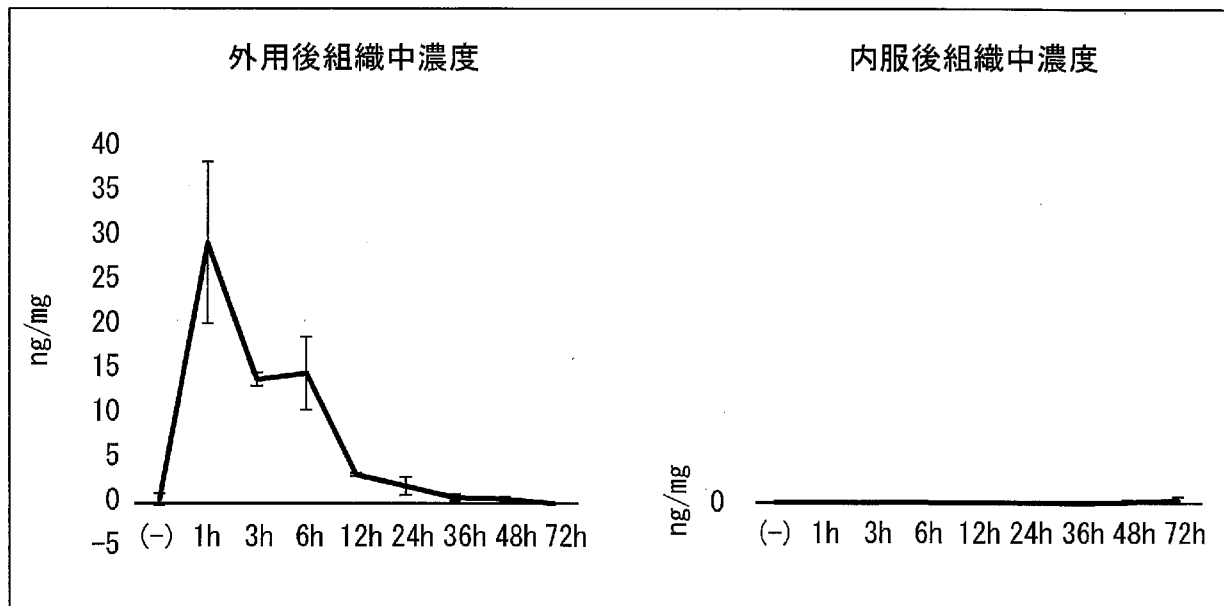
[図4]

図 4



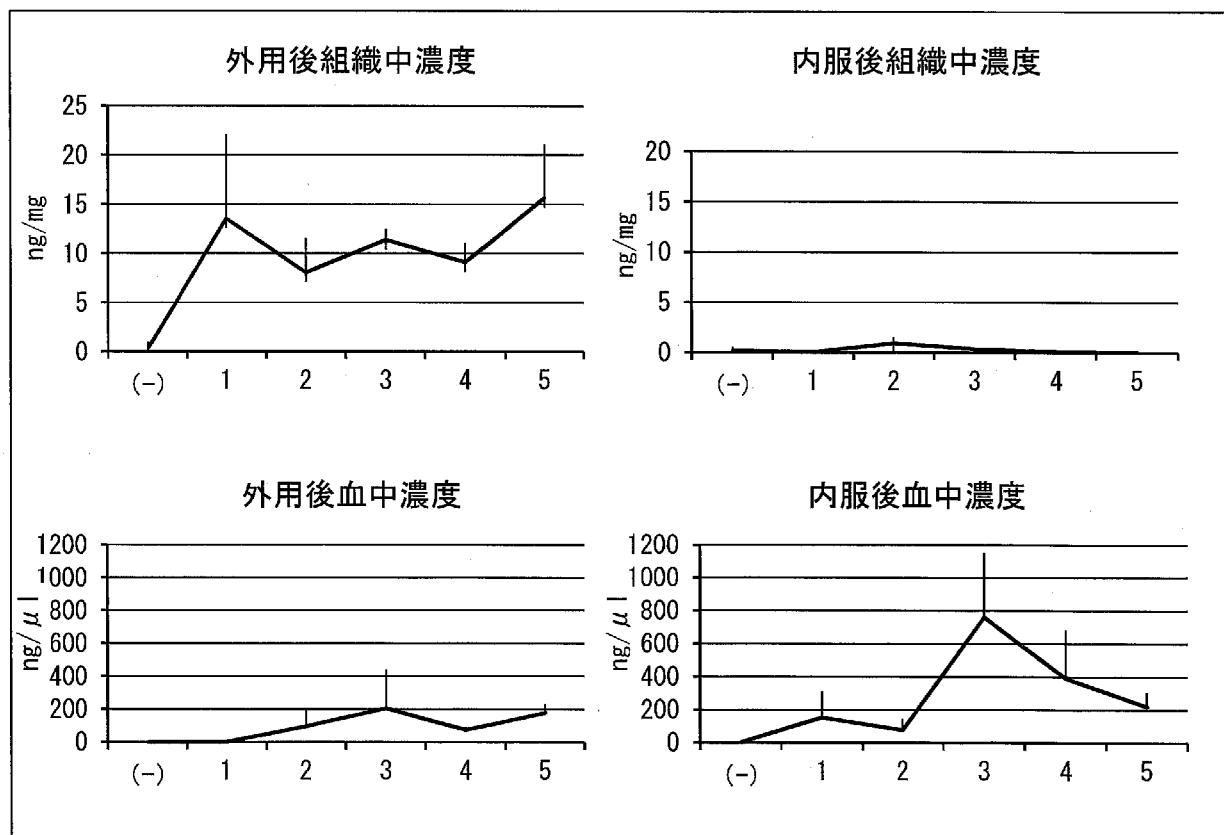
[図5]

図 5



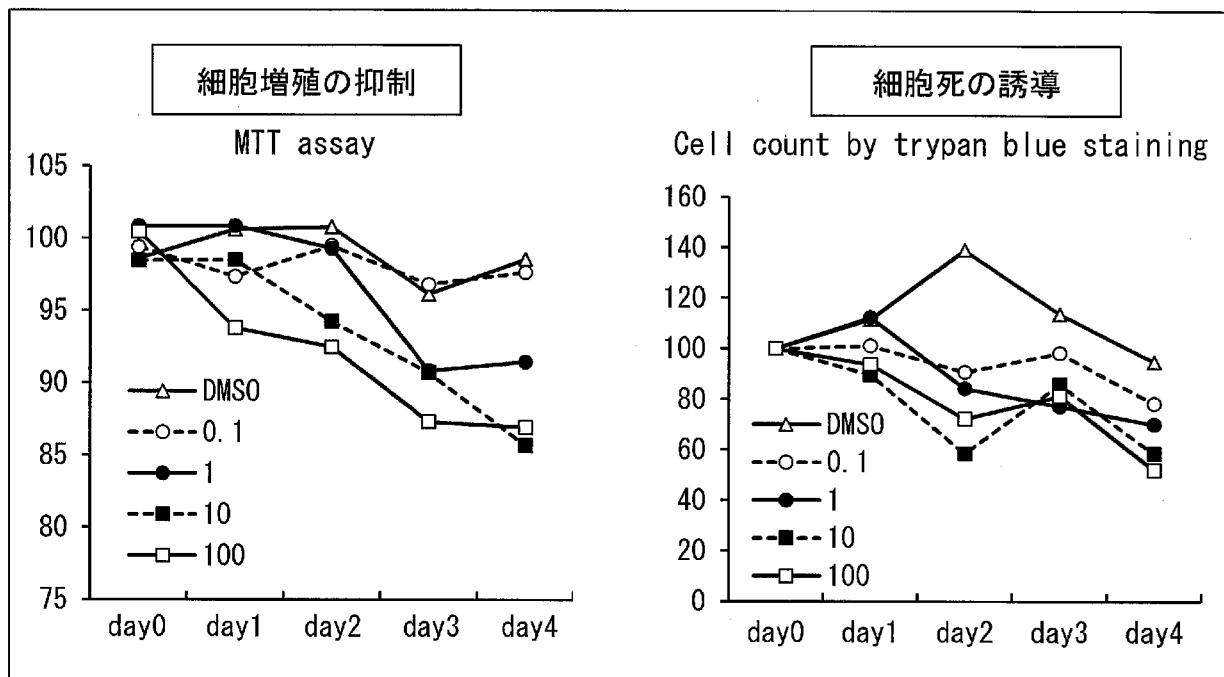
[図6]

図 6



[図7]

図 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/057330

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/436(2006.01)i, A61K9/06(2006.01)i, A61K47/10(2006.01)i, A61P21/00(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/436, A61K9/06, A61K47/10, A61P21/00, A61P25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012/105521 A1 (Osaka University), 09 August 2012 (09.08.2012), claims; paragraphs [0010] to [0011], [0019], [0030], [0036], [0076] to [0078]; examples & US 2013/0317053 A1 claims; paragraphs [0020] to [0021], [0029], [0071], [0077], [0117] to [0119]; examples & EP 2671583 A1 & AU 2012211809 A & CA 2825786 A	1-5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 May 2016 (26.05.16)

Date of mailing of the international search report

07 June 2016 (07.06.16)

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,

Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/057330

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2009-525294 A (Novartis AG.), 09 July 2009 (09.07.2009), claims; paragraph [0007] & US 2010/0305150 A1 claims; paragraph [0008] & GB 602123 A & WO 2007/088034 A2 & EP 1983984 A & CA 2637255 A & KR 10-2008-0090493 A & CN 101378751 A & RU 2008135131 A & AU 2007211613 A & KR 10-2014-0016439 A & CN 104000818 A & AU 2011205053 A	1-5
Y	WO 2006/071966 A2 (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.), 06 July 2006 (06.07.2006), claims; page 4, B. & US 2006/0160837 A1	1-5
Y	Yuichi YOSHIDA et al., "Bohansho Idensei Shikkan Saizensen; Shindan, Chiryo to Taio Shinkei Sen'ishusho 1-gata (NF1) no Shindan to Chiryo", Japanese Journal of Dermatology, 2012, vol.122, no.13, pages 3189 to 3191, Hajimeni, 2., 4., fig. 1, table 1	1-5
Y	Toshihiro ITO, "Origin of Melanin Containing Cells of Diffuse Plexiform Neurofibroma in Patients with Neurofibromatosis 1", Jikeikai Medical Journal, 2002, vol.117, no.4, pages 277 to 284, abstract, I.	1-5

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. A61K31/436(2006.01)i, A61K9/06(2006.01)i, A61K47/10(2006.01)i, A61P21/00(2006.01)i, A61P25/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. A61K31/436, A61K9/06, A61K47/10, A61P21/00, A61P25/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2016年
日本国実用新案登録公報	1996-2016年
日本国登録実用新案公報	1994-2016年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 2012/105521 A1 (国立大学法人大阪大学) 2012.08.09, 特許請求の範囲, [0010]~[0011], [0019], [0030], [0036], [0076]~[0078], 実施例 & US 2013/0317053 A1 (CLAIMS, [0020]~[0021], [0029], [0071], [0077], [0117]~[0119], EXAMPLES) & EP 2671583 A1 & AU 2012211809 A & CA 2825786 A	1-5
Y	JP 2009-525294 A (ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト) 2009.07.09, 特許請求の範囲, [0007] & US 2010/0305150 A1 (CLAIMS, [0008]) & GB 602123 A & WO 2007/088034 A2 & EP 1983984 A & CA	1-5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26.05.2016

国際調査報告の発送日

07.06.2016

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

上條 のぶよ

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

4U

9454

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
	2637255 A & KR 10-2008-0090493 A & CN 101378751 A & RU 2008135131 A & AU 2007211613 A & KR 10-2014-0016439 A & CN 104000818 A & AU 2011205053 A	
Y	WO 2006/071966 A2 (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.) 2006.07.06, CLAIMS, 4 頁 B. & US 2006/0160837 A1	1 - 5
Y	吉田雄一, 母斑症・遺伝性疾患最前線; 診断, 治療と対応 神経線維腫症 1 型(NF1)の診断と治療, 日本皮膚科学会雑誌, 2012, Vol.122, No.13, p.3189-3191, はじめに, 2., 4., 図1, 表1	1 - 5
Y	伊藤寿啓, 神経線維腫症 1 にみられるびまん性神経線維腫内のメラニン含有細胞の由来に関する形態学的・免疫組織化学的検討, 東京慈恵会医科大学雑誌, 2002, Vol.117, No.4, p.277-284, 要約, I.	1 - 5



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107708694 A

(43)申请公布日 2018.02.16

(21)申请号 201680030048.4

(22)申请日 2016.03.09

(30)优先权数据

2015-059041 2015.03.23 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.11.23

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2016/057330 2016.03.09

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/152519 JA 2016.09.29

(71)申请人 国立大学法人大阪大学

地址 日本大阪市

(72)发明人 金田真理 片山一郎

(74)专利代理机构 北京超凡志成知识产权代理
事务所(普通合伙) 11371

代理人 李丙林 魏彦

(51)Int.Cl.

A61K 31/436(2006.01)

A61K 9/06(2006.01)

A61K 47/10(2006.01)

A61P 21/00(2006.01)

A61P 25/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书11页 附图5页

(54)发明名称

弥漫性神经纤维瘤用的外用药

(57)摘要

本发明提供弥漫性神经纤维瘤用的外用药，
本发明的弥漫性神经纤维瘤用的外用药含有选
自于由西罗莫司和西罗莫司衍生物所组成的组
中的至少一个作为有效成分。

1. 一种弥漫性神经纤维瘤用的外用药,其特征在于,作为有效成分,含有选自于由西罗莫司和西罗莫司衍生物所组成的组中的至少一个。
2. 如权利要求1所述的弥漫性神经纤维瘤用的外用药,其特征在于,所述外用药为凝胶剂。
3. 如权利要求1或2所述的弥漫性神经纤维瘤用的外用药,其特征在于,含有乙醇。
4. 如权利要求3所述的弥漫性神经纤维瘤用的外用药,其特征在于,上述乙醇的含量为20~60重量%。
5. 如权利要求1~4中任一项所述的弥漫性神经纤维瘤用的外用药,其特征在于,上述有效成分的含量为0.2~0.8重量%。

弥漫性神经纤维瘤用的外用药

技术领域

[0001] 本发明涉及一种弥漫性神经纤维瘤用的外用药。

背景技术

[0002] 神经纤维瘤病是生物体的多个器官(例如,皮肤和神经等)产生各种异常的疾病。

[0003] 神经纤维瘤病存在各种类型。作为例子,能够列举神经纤维瘤病I型(NF1,雷克林豪森病: von Recklinghausen disease)和神经纤维瘤病II型(NF2)。已确认了神经纤维瘤病I型和神经纤维瘤病II型分别是原因不同的疾病,例如,神经纤维瘤病I型是因17号染色体的NF1基因异常而发作的常染色体显性遗传性疾病。

[0004] 神经纤维瘤病I型和神经纤维瘤病II型在生物体中出现的症状也有很大不同。例如,作为神经纤维瘤病I型的症状,可列举神经纤维瘤、咖啡牛奶斑、骨骼异常和视神经胶质瘤等,神经纤维瘤病I型在皮肤中出现严重的症状。另一方面,作为神经纤维瘤病II型的症状,可列举听神经的肿瘤等,与神经纤维瘤病I型相比,神经纤维瘤病II型中大多出现中枢神经肿瘤的症状,较少出现皮肤症状。进一步地,神经纤维瘤病I型大多伴有嗜铬细胞瘤、胃肠道间质瘤(Gastrointestinal Stromal Tumor, GIST)或血管畸形等各种并发症,使治疗变得困难。

[0005] 专利文献1公开了含有西罗莫司和西罗莫司的衍生物中的至少一个的凝胶组合物和软膏组合物。非专利文献1公开了口服使用西罗莫司来治疗神经纤维瘤病I型的神经纤维瘤,但未获得治疗效果。

[0006] 作为神经纤维瘤病的症状之一的神经纤维瘤存在各种类型,各类型为分别具有独特的性质且在医学上可区分的各个症状。例如,能够列举皮肤神经纤维瘤(cutaneous neurofibroma)、弥漫性神经纤维瘤(diffuse plexiform neurofibroma)、神经的神经纤维瘤(nodular plexiform neurofibroma)、恶性外周神经鞘瘤(malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST)。

[0007] 弥漫性神经纤维瘤是在患有神经纤维瘤的患者的约10%中发现的纤维瘤。当弥漫性神经纤维瘤巨大时,神经纤维瘤的表面富有褶皱壁而松弛,也有以舌状下垂的情况。当弥漫性神经纤维瘤遍及整个下肢时,可观察到神经纤维瘤从皮下浸润至皮下脂肪组织、肌肉内,也可观察到骨骼肥大和延长,还呈现巨肢症的状态。弥漫性神经纤维瘤根据部位而出现单侧面部肥大、眼睑下垂、巨肢症等,当面部产生上眼睑的肿瘤引起的视野障碍、鼻部变形等时,即使是小型也往往会成为问题(参照图1(a)~(c))。

[0008] 另外,弥漫性神经纤维瘤血管丰富,组织脆弱,有时轻微的磕碰会形成巨大的血肿。有时也会在短时间内急剧地形成巨大的血肿,但有时也会在几天内逐渐增大。由于一旦出血,就会从多个小血管出血,因此难以止血,有时也存在因大量出血而引起休克、死亡的病例。

[0009] 皮肤神经纤维瘤没有特别的好发部位,在全身多发的病例中,以躯干为主,产生无数个。肿瘤是表面为常色或淡红色的柔软的肿瘤,大小形状多种多样。在皮肤神经纤维瘤

中,也存在凸起成半球状的肿瘤。皮肤神经纤维瘤的个数根据病例而显著不同,从出现几十个的病例到出现无数病例都有。

[0010] 神经的神经纤维瘤是从末梢神经的神经束膜发生的神经纤维瘤,出现在全身各处。例如,出现在脑周围、脊椎周围、骨盆腔内或皮下等各种部位。当神经的神经纤维瘤出现在皮肤浅的部位时,沿着神经的走行,在皮下出现边界较清晰且纺锤形的触摸弹性硬的肿瘤。也存在这些神经的神经纤维瘤连接成为念珠状或形成一块大肿瘤的情况。

[0011] 对于弥漫性神经纤维瘤,轻微的外伤会引起大量出血,成为恶性肿瘤(例如,胶质母细胞瘤和恶性外周神经鞘瘤(Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor,MPNST)等)的发生部位。因此,急需开发弥漫性神经纤维瘤的有效治疗药、治疗方法。

[0012] 现有技术文献

[0013] 专利文献

[0014] 专利文献1:W02012/105521 A1(2012年8月9日公开)

[0015] 非专利文献

[0016] 非专利文献1:Brian Weiss et.al.,Pediatr Blood Cancer 2014,61,982-986

发明内容

[0017] 发明要解决的问题

[0018] 对于神经纤维瘤,由于每种类型具有各不相同的性质,因此,当进行治疗时,需要选择适于各神经纤维瘤的治疗药、治疗方法。

[0019] 当神经纤维瘤小、神经纤维瘤与正常组织的边界较鲜明时,能够通过手术切除神经纤维瘤。然而,由于弥漫性神经纤维瘤的血管丰富且浸润性高,因此,肿瘤与正常组织的边界不清晰,而且,肿瘤与血管或神经复杂地缠绕。因此,弥漫性神经纤维瘤具有用手术难以治疗的问题。特别是,如果弥漫性神经纤维瘤巨大化,则肿瘤很重,甚至身体移动也变得困难。当下肢具有巨大的肿瘤时,存在不得不截肢的情况。对于巨大化的弥漫性神经纤维瘤而言,目前尚未建立有效的治疗药、治疗方法。

[0020] 另外,弥漫性神经纤维瘤具有放射线疗法不能有效地发挥作用的问题。

[0021] 曾经尝试了用口服药治疗弥漫性神经纤维瘤,但尚未有确认了显著治疗效果的口服药的报告。

[0022] 另外,根据以下(i)和(ii)的偏见,未曾尝试过用外用药治疗弥漫性神经纤维瘤。

[0023] (i)对于外用药而言,特别是在西罗莫司那样分子量大的物质的情况下,有效成分向弥漫性神经纤维瘤的患部(换言之,肥厚的皮肤组织)的输送效率低;

[0024] (ii)用外用药治疗巨大的纤维瘤的方法没有效果,口服药才是有效的治疗方法。

[0025] 本发明是鉴于上述以往的问题而完成的,其目的在于,提供能够治疗弥漫性神经纤维瘤的外用药。

[0026] 解决问题的技术方案

[0027] 本发明人等鉴于上述问题进行了专心研究,结果发现通过将含有西罗莫司或西罗莫司衍生物的外用药涂布在弥漫性神经纤维瘤上,能够治疗弥漫性神经纤维瘤,从而完成了本发明。另外,对于西罗莫司和西罗莫司衍生物而言,发现了以下(a)~(d),从而完成了本发明。

[0028] (a) 在口服药的情况下,有效成分的血中浓度上升,而皮肤组织(换言之,弥漫性神经纤维瘤的患部)中有效成分的浓度难以达到治疗有效浓度;

[0029] (b) 如果要通过口服药将皮肤组织中的有效成分的浓度升高至治疗有效浓度,则需要对患者给药大量的口服药,在这种情况下,产生全身性副作用的危险性增加;

[0030] (c) 在外用药的情况下,皮肤组织中(局部)有效成分的浓度升高至治疗有效浓度,而另一方面,有效成分难以向血液中移行;

[0031] (d) 通过使用含有醇的外用药,能够使皮肤组织更有效地吸收外用药中包含的有效成分。

[0032] 为了解决上述问题,本发明的弥漫性神经纤维瘤用的外用药,其特征在于,作为有效成分,含有选自于由西罗莫司和西罗莫司衍生物所组成的组中的至少一个。

[0033] 本发明的弥漫性神经纤维瘤用的外用药优选为凝胶剂。

[0034] 本发明的弥漫性神经纤维瘤用的外用药优选含有乙醇。

[0035] 本发明的弥漫性神经纤维瘤用的外用药优选含有20~60重量%的上述乙醇。

[0036] 本发明的弥漫性神经纤维瘤用的外用药优选含有0.2~0.8重量%的上述有效成分。

[0037] 发明效果

[0038] 本发明的外用药能够治疗尚未建立有效的治疗药、治疗方法的弥漫性神经纤维瘤。特别是,使不能进行手术的巨大化的弥漫性神经纤维瘤缩小,显著改善患者的生活质量(Quality of life, QOL)。另外,能够防止磕碰等造成的血肿形成、大量出血。通过早期开始治疗,能够抑制肿瘤的巨大化。

[0039] 本发明的外用药吸收率高,能够使有效成分高效地到达作为患部的皮肤组织、肌肉组织。

[0040] 本发明的外用药能够将皮肤组织、肌肉组织等局部的有效成分保持在高浓度,而吸收的有效成分的血液移行量少。因此,其是产生全身性副作用的危险性低的安全的制剂。

[0041] 本发明的外用药与全身给药不同,能够仅外用于有限的病变部位。

附图说明

[0042] 图1(a)~(c)是表示弥漫性神经纤维瘤的症状的照片,(d)是表示给药本发明实施例的外用药前后的弥漫性神经纤维瘤的组织学变化的照片。

[0043] 图2是表示给药本发明实施例的外用药后组织中和血液中的西罗莫司浓度的测定结果的图。

[0044] 图3是表示给药本发明实施例的外用药后组织中和血液中的西罗莫司浓度的测定结果的图。

[0045] 图4是表示给药本发明实施例的外用药后组织中和血液中的西罗莫司浓度的测定结果的图。

[0046] 图5是将单次给药本发明实施例的外用药时组织中的西罗莫司浓度与单次给药口服药时组织中的西罗莫司浓度作比较的图。

[0047] 图6是将连续给药本发明实施例的外用药时组织中和血液中的西罗莫司浓度与连续给药口服药时组织中和血液中的西罗莫司浓度作比较的图。

[0048] 图7是表示本发明实施例中基于噻唑蓝(MTT)比色法的细胞增殖的解析结果以及基于台盼蓝细胞计数法的细胞死亡的解析结果的图。

具体实施方式

[0049] 下面,对本发明的一实施方式进行说明,但本发明并不限于此。本发明不限于以下说明的各构成,在权利要求书所示的范围内能够进行各种变更,而且,将不同的实施方式、实施例分别与公开的技术手段适当组合而得到的实施方式、实施例也包含在本发明的技术范围内。另外,本说明书中记载的全部学术文献和专利文献均作为参考文献援引在本说明书中。另外,在本说明书中,除非特别说明,表示数值范围的“A~B”表示“A以上且B以下”。

[0050] 本实施方式的外用药是用于处理和/或治疗弥漫性神经纤维瘤的外用药,含有选自由西罗莫司和西罗莫司衍生物所组成的组中的至少一个有效成分。

[0051] 以往,西罗莫司(别名:纳巴霉素)、西罗莫司衍生物也用于其他疾病的治疗,确认了临床的安全性。因此,如果使用这些药物,能够实现安全性更高的弥漫性神经纤维瘤用的外用药。

[0052] 作为上述西罗莫司衍生物,没有特别的限定,例如,能够列举依维莫司(everolimus)、替西罗莫司(temsirolimus)、地磷莫司(ridaforolimus)和佐他莫司(zotarolimus)。已知这些药物具有与西罗莫司的基本骨架大致相同的基本骨架,具有与西罗莫司同等的生理活性。因此,这些西罗莫司衍生物也与西罗莫司同样地能够作为本实施方式的外用药的有效成分使用。从容易制备外用药的观点来说,在上述药物中,优选使用西罗莫司和/或依维莫司。另外,在上述药物中,与通常认为分子量大、水溶性且难以透皮吸收的依维莫司等相比,优选使用确认透皮吸收的纳巴霉素。

[0053] 对本实施方式的外用药中含有的有效成分的量没有特别的限定,只要本实施方式的外用药能够使皮肤组织内高效地吸收有效成分即可。另外,也能够使有效成分到达弥漫性神经纤维瘤的肥厚皮肤组织。

[0054] 例如,对于本实施方式的外用药中含有的有效成分的量而言,以外用药的总重量为基准,可以为0.05~1.0重量%、0.1~0.9重量%、0.2~0.8重量%(或者0.2重量%以上且小于0.8重量%)、0.3~0.7重量%、0.35~0.6重量%、0.4~0.6重量%、或者0.4~0.5重量%。

[0055] 从尽可能地抑制有效成分移行至血液中且通过将皮肤组织中的有效成分浓度提高至治疗有效浓度而抑制全身性的副作用并得到治疗效果的观点出发,以外用药的总重量为基准,本实施方式的外用药中含有的有效成分的量优选为0.2~0.8重量%(或者0.2重量%以上且小于0.8重量%),更优选为0.3~0.7重量%,更优选为0.4~0.6重量%。

[0056] 本实施方式的外用药能用于弥漫性神经纤维瘤的处理(换言之,症状进行的阻止)和/或治疗。能够使用本实施方式的外用药的弥漫性神经纤维瘤,例如可以为伴随神经纤维瘤病I型发作的弥漫性神经纤维瘤。

[0057] 本实施方式的外用药不仅能够用于人,也能够用于非人动物。作为非人动物,例如能够列举除人以外的哺乳类。作为除人以外的哺乳类,例如,能够列举牛、野猪、猪、绵羊、山羊等偶蹄类;马等奇蹄类;小鼠、大鼠、仓鼠、松鼠等啮齿类;兔等兔目;狗、猫、鼬等食肉类

等。另外,这些非人动物不限于家畜或伴侣动物(玩赏动物),也可以为野生动物。

[0058] 对生物体的单位表面积的本实施方式的外用药的涂布量没有特别的限定,可以为 $0.001\text{g}/\text{cm}^2 \sim 0.01\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $0.002\text{g}/\text{cm}^2 \sim 0.009\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $0.003\text{g}/\text{cm}^2 \sim 0.008\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $0.004\text{g}/\text{cm}^2 \sim 0.007\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $0.005\text{g}/\text{cm}^2 \sim 0.006\text{g}/\text{cm}^2$ 。

[0059] 以该涂布量将本实施方式的外用药每天或每2~3天涂布一次即可。优选每天涂布。当每天涂布时,优选1天涂布1~3次,进一步优选1天涂布2~3次,最优选1天涂布2次。

[0060] 如果使用本实施方式的外用药,则能够有效地处理和/或治疗弥漫性神经纤维瘤,而且,能够防止副作用产生。

[0061] 本实施方式的外用药可以为凝胶剂、软膏剂、巴布剂、搽剂、洗剂和霜剂等剂型。

[0062] 例如,i)通过将含有有效成分的溶液凝胶化,能够制备凝胶剂。另外,ii)通过将软膏基质与有效成分混合,能够制备软膏剂。另外,巴布剂、搽剂、洗剂和霜剂能够按照众所周知的方法制备。此外,与软膏剂相比,凝胶剂的有效成分容易被皮肤组织吸收,可以说是更优选的剂型。

[0063] 下面,说明凝胶剂的具体构成的一例以及软膏剂的具体构成的一例,但本发明不限于这些构成。

[0064] (A) 凝胶剂

[0065] 如上所述,本实施方式的外用药也可以是将含有有效成分的溶液凝胶化而得到的凝胶剂。

[0066] 当制备凝胶剂时,只要使用凝胶化剂将含有有效成分的溶液凝胶化即可。作为凝胶化剂,例如,能够列举聚羧乙烯、羧甲基纤维素、氢氧化铝、膨润土等。

[0067] 对聚羧乙烯的具体构成没有特别的限定,能够使用卡波普(Carbopol,注册商标)、HIVISWAKO(ハイビスワコー,注册商标)、AQUPEC(アクペック,注册商标),但从作为外用药涂布时质感优良的观点出发,优选其中的卡波普(注册商标)934P NF或卡波普(注册商标)980。

[0068] 当使用卡波普(注册商标)时,在含有卡波普(注册商标)的溶液中添加pH调整剂(例如,三羟甲基氨基甲烷、三乙醇胺),由此将溶液的pH调整为中性,从而能够使溶液凝胶化。

[0069] 本实施方式的外用药优选含有醇。通过醇能够使皮肤组织高效地吸收外用药中包含的有效成分并到达患部。作为醇的例子,能够列举乙醇和异丙醇,但从使皮肤组织更高效地吸收有效成分的观点出发,更优选乙醇。

[0070] 对本实施方式的外用药中包含的醇的量没有特别的限定,以外用药的总重量为基准,可以为10~70重量%、20~70重量%、30~70重量%、40~70重量%、45~70重量%、50~70重量%、55~70重量%、60~70重量%、10~60重量%、20~60重量%、30~60重量%、40~60重量%、45~60重量%、10~55重量%、20~55重量%、30~55重量%、40~55重量%、45~55重量%、10~50重量%、20~50重量%、30~50重量%、40~50重量%、或者45~50重量%。优选为20~60重量%。

[0071] 醇量必须为能够充分溶解西罗莫司的量,优选20重量%以上。为了制备能够期待效果的浓度的凝胶,醇量优选为凝胶重量的30重量%以上,进一步优选为40重量%以上。如果醇量大于60重量%,则由于醇容易从制剂中蒸发,因此,保存(保管)稳定的有效成分浓度

的制剂变得困难。因此,更优选为50重量%左右(45~55重量%)。通过含有有效成分充分溶解的醇量,能够使皮肤组织更高效地吸收有效成分。如果是50重量%以下,则醇量越多,有效成分越充分溶解,越能够使皮肤组织更高效地吸收。

[0072] 对凝胶剂中包含的凝胶化剂的量没有特别的限定,只要是使含有有效成分的溶液凝胶化所需的充分的量即可。以凝胶剂的总重量为基准,凝胶剂中包含的凝胶化剂的量例如可以为1.5重量%以上(更具体地说,1.5~20重量%、1.5~15重量%、1.5~10重量%、1.5~5重量%、或者1.5~2.5重量%)。

[0073] 对凝胶剂中包含的pH调整剂(中和剂)的量没有特别的限定,可以根据溶剂和凝胶化剂的量适当设定。以凝胶剂的总重量为基准,凝胶剂中包含的pH调整剂的量例如可以为0.5~5.0重量%、0.5~2.5重量%、或者0.5~1.0重量%。

[0074] 更具体地说,当使用卡波普(注册商标) 934P NF等凝胶化剂和三羟甲基氨基甲烷等pH调整剂时,以凝胶剂的总重量为基准,凝胶化剂的量为1.6重量%,以凝胶剂的总重量为基准,pH调整剂的量例如可以为0.4重量%、0.6重量%或0.8重量%。当然,本发明不限于该比率。

[0075] 对凝胶剂中包含的有效成分的量没有特别的限定,可以为作为“外用药中包含的有效成分的量”已经说明的量。

[0076] 在凝胶剂中也可以包含除了上述有效成分、溶剂(醇)、凝胶化剂以及pH调整剂(中和剂)以外的其他成分。作为该其他成分,例如,可列举水溶性高分子以及除了上述有效成分以外的所期望的有效成分。

[0077] 作为上述水溶性高分子,例如,能够列举聚乙二醇、淀粉、甲基纤维素、羟丙基纤维素(HPC)、聚乙烯醇、聚乙烯基甲醚和聚乙烯吡咯烷酮等。如果凝胶剂中包含羟丙基纤维素,则能够提高该凝胶剂的粘性。即,凝胶剂能够难以从皮肤脱落。

[0078] 对凝胶剂中包含的上述其他成分的量没有特别的限定,以凝胶剂的总重量为基准,例如可以为50重量%以下、40重量%以下、30重量%以下、20重量%以下、10重量%以下、5重量%以下、或者1重量%以下。

[0079] (B) 软膏剂

[0080] 如上所述,本实施方式的外用药可以为含有基质和有效成分的软膏剂。

[0081] 对软膏剂中包含的有效成分的量没有特别的限定,可以为作为“外用药中含有的有效成分的量”已经说明的量。由于已经对该量进行了说明,因此,在此省略具体的说明。

[0082] 作为基质,例如,能够列举蜡类(例如,白蜂蜡、羊毛脂、巴西棕榈蜡、鲸蜡等天然蜡;褐煤蜡等矿物蜡;合成蜡等)、石蜡类(例如,液体石蜡、固体石蜡等)、凡士林(例如,白凡士林、黄凡士林等)等。

[0083] 对软膏剂中包含的基质的量没有特别的限定,以软膏剂的总重量为基准,例如可以为10重量%以上、20重量%以上、30重量%以上、40重量%以上、50重量%以上、60重量%以上、70重量%以上、80重量%以上、或者90重量%以上。

[0084] 软膏剂能够包含碳酸亚丙酯、固体石蜡和白凡士林。另外,软膏剂除了碳酸亚丙酯、固体石蜡和白凡士林以外,进一步地也能够包含液体石蜡。另外,软膏剂除了碳酸亚丙酯、固体石蜡、白凡士林和液体石蜡以外,进一步地也能够包含白蜂蜡。

[0085] 软膏剂能够按照众所周知的方法制备。下面说明制备方法的一例。

[0086] 例如,能够使用均质混合器(例如,谱莱密克司株式会社制)、万能混合器(例如,道尔顿株式会社制)制备。当基质在室温下为固体时,对基质进行加热直至成为液体,将液体状的基质与溶解有效成分的溶液混合即可。例如,将在室温下为固体的各种成分(例如,蜡类、石蜡类、凡士林等)加热至熔点以上(例如70℃),溶解,将溶解有效成分的溶液添加至该溶解物中,搅拌。接着,一边搅拌一边将该混合物冷却至室温附近(例如40℃),从而能够制备软膏剂。

[0087] 作为其他方法,在70℃~80℃条件下将基质全部溶解,使用自转公转混合器(新基株式会社制)在搅拌模式下以800rpm搅拌30分钟,然后以1000rpm搅拌5分钟,接着以2000rpm搅拌1分钟(15℃),在该基质中加入溶解有效成分的溶液,进一步地以1000rpm搅拌1分钟,接着以2000rpm搅拌1分钟(不冷却),从而能够制备包含有效成分的非常微细的粒子更加分散的优质软膏。

[0088] 当软膏剂中含有上述其他成分时,制备使有效成分和其他成分溶解在所期望的溶剂中而成的溶液,在该溶液中添加基质,对于添加后的工序,按照上述方法制备软膏剂即可。

[0089] 实施例

[0090] <1.外用药的制备>

[0091] 将西罗莫司(纳巴霉素)添加在乙醇或异丙醇中并溶解后,再添加水(具体而言,注射用水)并进行混合,制备混合溶液。在该混合溶液中添加卡波普(注册商标)(具体而言,卡波普(注册商标)934P NF)并进行混合,制备均匀的悬浮液。在该悬浮液中添加中和剂(具体而言,三羟甲基氨基甲烷)并进行混合,制备凝胶剂(外用药1~9)。将凝胶剂的组成示于下述表1和表2。

[0092] 另一方面,量取全部白蜂蜡、液体石蜡、固体石蜡、白凡士林置于同一容器内,在70℃~80℃的条件下将其溶解,使用自转公转混合器(新基株式会社制)在搅拌模式下以800rpm搅拌30分钟,然后以1000rpm搅拌5分钟,接着以2000rpm搅拌1分钟(15℃),在该溶解物中加入用碳酸亚丙酯在60~70℃水浴上溶解西罗莫司而成的溶液,进一步地以1000rpm搅拌1分钟,接着以2000rpm搅拌1分钟(不冷却),制备软膏剂(外用药10)。

[0093] [表1]

[0094]

	西罗莫司的浓度 [%]	西罗莫司的含量 [mg]	卡波普 934P NF 的含量 [mg]	乙醇的含量 [mg]	三羟甲基氨基甲烷的含量 [mg]	水的含量 [mg]	全部重量 [mg]
外用药 1	0	0	16	488	6	490	1000
外用药 2	0.05	0.5	16	487.5	6	490	1000
外用药 3	0.1	1	16	487	6	490	1000
外用药 4	0.2	2	16	486	6	490	1000

[0095]

外用药 5	0.8	8	16	480	6	490	1000
-------	-----	---	----	-----	---	-----	------

[0096] [表2]

[0097]

	西罗莫司的浓度 [%]	西罗莫司的含量 [mg]	卡波普 934P NF 的含量 [mg]	异丙醇的含量 [mg]	三羟甲基氨基甲烷的含量 [mg]	水的含量 [mg]	全部重量 [mg]
外用药 6	0.05	0.5	16	487.5	6	490	1000
外用药 7	0.2	2	16	486	6	490	1000
外用药 8	0.4	4	16	484	6	490	1000
外用药 9	0.8	8	16	480	6	490	1000

[0098] [表3]

[0099]

	西罗莫司的浓度 [%]	西罗莫司的含量 [mg]	碳酸亚丙酯的含量 [mg]	白蜂蜡的含量 [mg]	液体石蜡的含量 [mg]	固体石蜡的含量 [mg]	白凡士林的含量 [mg]	全部重量 [mg]
外用药 10	0.2	2	58	5	10	30	895	1000

[0100] <2. 外用药对弥漫性神经纤维瘤的效果>

[0101] 在患有神经纤维瘤病I型的患者(3名)的弥漫性神经纤维瘤上,涂布12周外用药4。具体而言,每天一次将外用药4涂布在弥漫性神经纤维瘤上。另外,在一次涂布中对弥漫性神经纤维瘤300cm²涂布1g的外用药4。涂布开始84天后,测定西罗莫司在组织中的浓度和血液中的浓度,通过组织染色确认组织的状态,并确认患者有无自觉症状。

[0102] 将试验结果示于表4和图1(d)。在下述表4中,“血中西罗莫司浓度”和“组织中西罗莫司浓度”栏的“-”表示其为测定限(1ng/mL或1ng/mg)以下的浓度。另外,“患者的自觉症状”栏的“-”表示在治疗前后自觉症状没有变化。此外,“血中西罗莫司浓度”是使用ARCHITECT(注册商标)西罗莫司、ARCHITECT(注册商标)西罗莫司校准器、ARCHITECT(注册商标)西罗莫司全血沉淀剂在医院检查室测定,“组织中西罗莫司浓度”通过LC-ESI/MS法测定。

[0103] 如表4所示,确认了本实施例的外用药能够保持组织中西罗莫司的高浓度(在治疗有效浓度),另一方面,能够将血液中西罗莫司的浓度抑制得低(如果是口服给药的药物,则血液中的西罗莫司浓度约为5~10ng/mL或5~10ng/mL以上)。这表示本实施例的外用药不仅能够有效地治疗弥漫性神经纤维瘤,而且能够防止副作用。

[0104] 将表4的“组织的观察结果”栏的试验结果另外示于图1(d)。此外,图1(d)表示对治疗前后的弥漫性神经纤维瘤进行苏木素-伊红染色后的染色图像。此外,对于苏木素-伊红

染色而言,由石蜡块制作切片,从该切片除去石蜡后,使用和光纯药工业株式会社的迈耶氏苏木素和伊红对该切片进行染色。在治疗前后,可观察到弥漫性神经纤维瘤的组织学变化(具体而言,细胞数量的减少以及抗原纤维的膨化)。这表示本实施例的外用药具有使弥漫性神经纤维瘤缩小的效果。

[0105] 进一步地,如表4的“患者的自觉症状”栏所示,也存在出现容易穿衣服的自觉症状的患者。这也表示本实施例的外用药具有使弥漫性神经纤维瘤缩小的效果。

[0106] [表4]

[0107]

	患者	血中西罗莫司浓度 [ng/mL]	组织中西罗莫司浓度 [ng/mL]	组织的观察结果	患者的自觉症状
涂布开始前	患者 A	-	-	神经纤维瘤特有的组织	-
	患者 B	-	-	神经纤维瘤特有的组织	穿衣服困难
	患者 C	-	-	神经纤维瘤特有的组织	-
涂布开始后 12 周	患者 A	-	2.6~2.8	神经纤维瘤的皮下组织膨化	-

[0108]

	患者 B	1.3	1.6~1.9	神经纤维瘤的皮下组织膨化	穿衣服容易
	患者 C	-	0.8~0.9	神经纤维瘤的皮下组织膨化	-

[0109] <3. 西罗莫司在组织中的浓度以及血液中的浓度>

[0110] 对BALB/c小鼠分别涂布12天外用药6~8。具体而言,每天一次将外用药6~8分别涂布在BALB/c小鼠上。此外,在一次涂布中对BALB/c小鼠的皮肤10cm²涂布100mg的外用药6~8。涂布开始12天后,测定西罗莫司在组织中的浓度和血液中的浓度。

[0111] 另外,对无毛小鼠分别涂布3周外用药6~9。具体而言,每天一次将外用药6~9分别涂布在无毛小鼠上。此外,在一次涂布中对无毛小鼠的皮肤10cm²涂布100mg的外用药6~9。涂布开始21天后,测定西罗莫司在组织中的浓度和血液中的浓度。

[0112] 将BALB/c小鼠的试验结果示于图2,将无毛小鼠的试验结果示于图3。如图2和图3所示,能够确认本实施例的外用药能够保持组织中西罗莫司的高浓度(在治疗有效浓度),另一方面,能够将血液中西罗莫司的浓度抑制得低。

[0113] 进一步地,如图2和图3所示,当使外用药中西罗莫司的浓度从0.2%向0.4%变化时,与组织中西罗莫司的浓度大大增加的情况相比,血液中西罗莫司的浓度大致相同。如果

外用药中西罗莫司的浓度约为0.4% (例如,0.2~0.8重量% (或者0.2重量%以上且小于0.8重量%),优选为0.3~0.8重量% (或者0.3重量%以上且小于0.8重量%),更优选为0.4~0.8重量% (或者0.4重量%以上且小于0.8重量%)),则在尽可能地降低血液中西罗莫司的浓度的状态下能够尽可能地提高组织中西罗莫司的浓度,即,如果为该构成,则能够在尽可能地抑制副作用的状态下有效地治疗弥漫性神经纤维瘤。

[0114] <4.关于外用药中包含的醇的研究>

[0115] 对无毛小鼠分别涂布3周含有乙醇的外用药4或含有异丙醇的外用药7。具体而言,每天一次将外用药4或外用药7涂布在无毛小鼠上。另外,在一次涂布中对无毛小鼠的皮肤10cm²涂布100mg的外用药4或外用药7。涂布开始21天后,测定西罗莫司在组织中的浓度和血液中的浓度。

[0116] 将试验结果示于图4。如图4所示,能够确认与包含异丙醇的外用药相比,包含乙醇的外用药将西罗莫司吸收到组织中的效果更高。另外,如图4所示,确认包含乙醇的外用药也能够保持组织中西罗莫司的高浓度(在治疗有效浓度),另一方面,能够将血液中西罗莫司的浓度抑制得低。

[0117] <5.外用药与口服药的比较(单次给药)>

[0118] 外用药:将15mg的外用药5(总计120μg的西罗莫司)在无毛小鼠的背上涂布一次。在涂布后1小时、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时和72小时,对小鼠的背进行胶带剥离,从背除去角质后,测定组织中西罗莫司的浓度。

[0119] 口服药:使小鼠口服一次以250μg/200μL的浓度含有西罗莫司的溶液200μL。在口服后1小时、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时和72小时,对小鼠的背进行胶带剥离,从背除去角质后,测定组织中西罗莫司的浓度。

[0120] 将试验结果示于图5。如图5所示,确认了外用药远比口服药更能提高组织中西罗莫司的浓度。

[0121] <6.外用药与口服药的比较(连续给药)>

[0122] 外用药:将15mg的外用药5(总计120μg的西罗莫司)在无毛小鼠的背上每天涂布一次。连续5天进行该涂布。在连续给药开始后第1天、第2天、第3天、第4天和第5天,测定组织中西罗莫司的浓度以及血液中西罗莫司的浓度。

[0123] 口服药:使小鼠每天口服一次以250μg/200μL的浓度含有西罗莫司的溶液200μL。连续5天进行该口服。在连续给药开始后第1天、第2天、第3天、第4天和第5天,测定组织中西罗莫司的浓度以及血液中西罗莫司的浓度。

[0124] 将试验结果示于图6。如图6所示,如果将血液中西罗莫司的浓度大致相同时的情况作比较,能够确认与口服药相比,外用药时组织中西罗莫司的浓度约高100倍。

[0125] <7.关于西罗莫司的细胞增殖抑制作用和细胞死亡诱导作用的研究>

[0126] 按照众所周知的方法培养来自患有神经纤维瘤病I型的患者的弥漫性神经纤维瘤的成纤维细胞。在培养该成纤维细胞的培养基中加入西罗莫司以使终浓度为0.1nM、1nM、10nM或100nM,培养后,对成纤维细胞的细胞增殖和细胞死亡进行解析。此外,作为对于西罗莫司的阴性对照,使用二甲基亚砜(DMSO)。

[0127] 细胞增殖按照噻唑蓝(MTT)比色法进行解析,更具体地说,使用日本NAKARAI公司制的细胞计数试剂SF进行解析。另一方面,细胞死亡按照台盼蓝细胞计数法进行解析,更具

体地说,使用美国伯乐公司制的台盼蓝#145-0021进行解析。具体的方法按照各试剂盒所附的步骤进行。

[0128] 将试验结果示于图7。如图7所示,确认了西罗莫司浓度依赖性地抑制细胞增殖且诱导细胞死亡。

[0129] 工业实用性

[0130] 本发明能够用于弥漫性神经纤维瘤(例如,患有神经纤维瘤病I型的患者中发作的弥漫性神经纤维瘤)的处理或治疗。

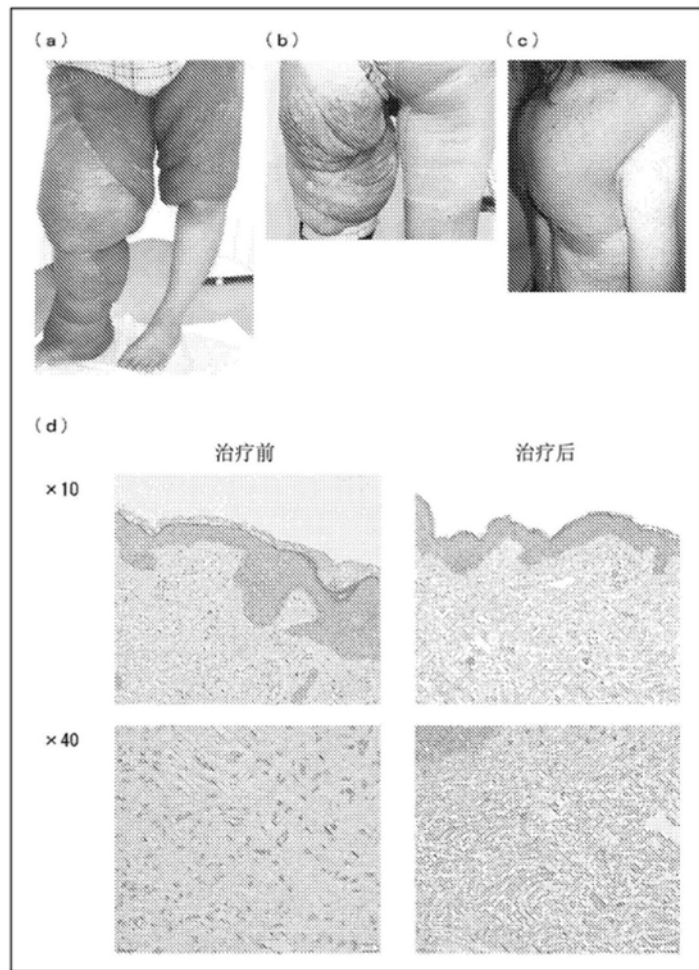


图1

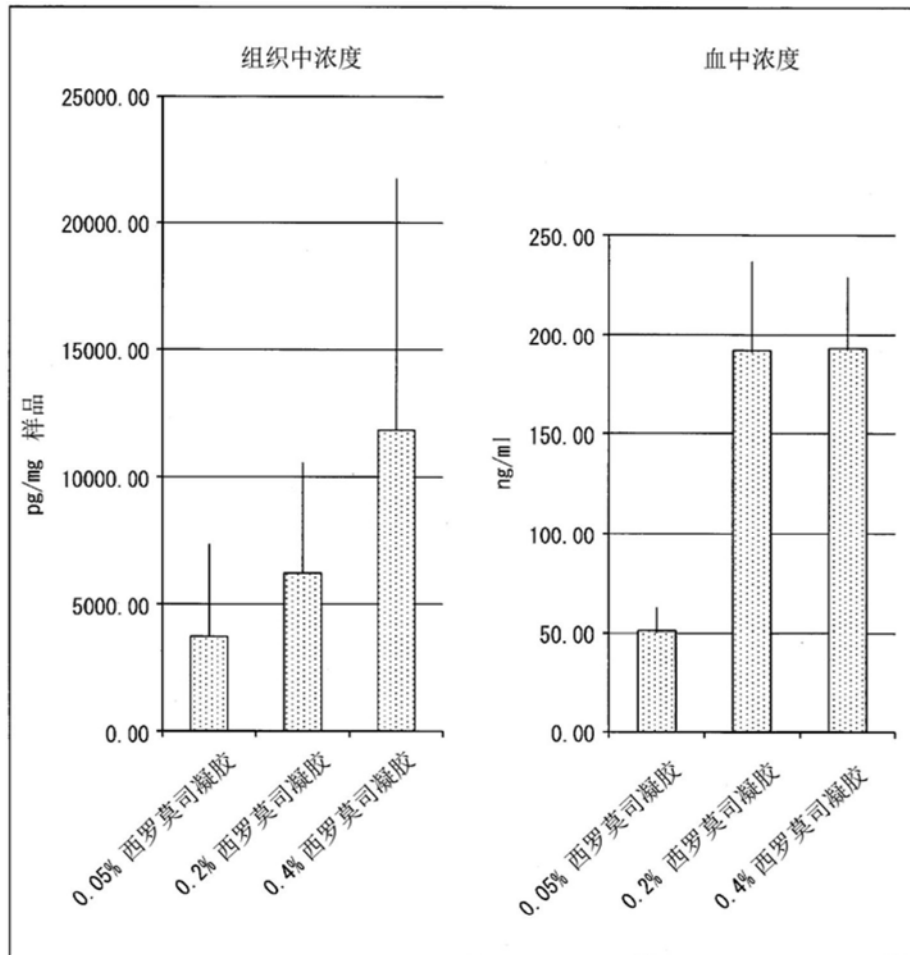


图2

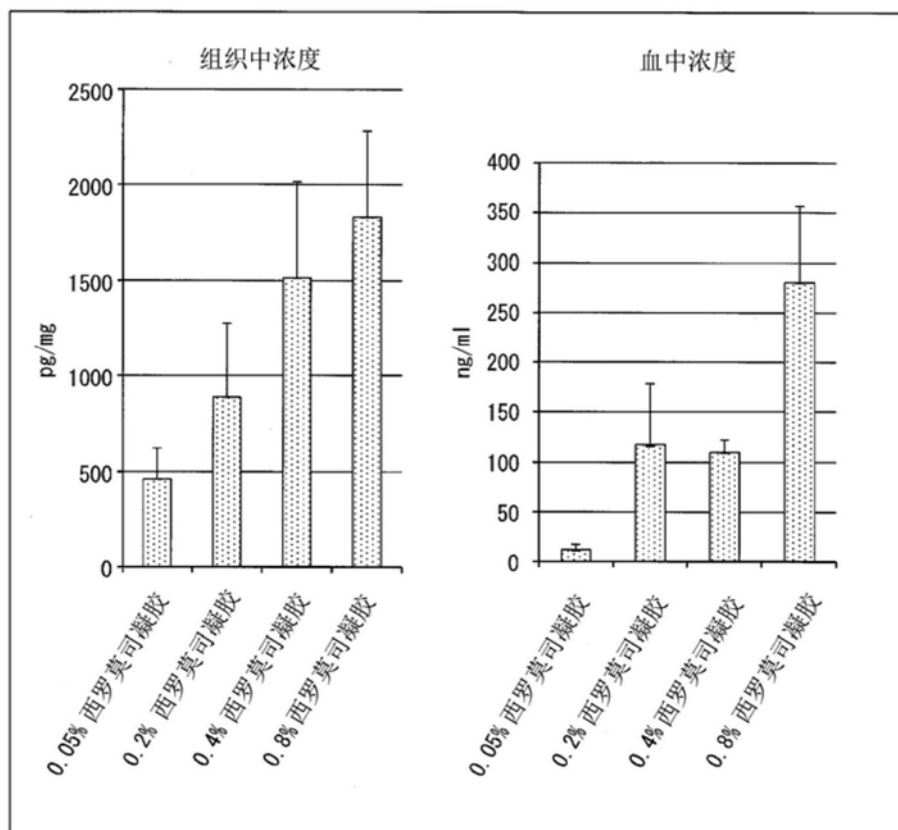


图3

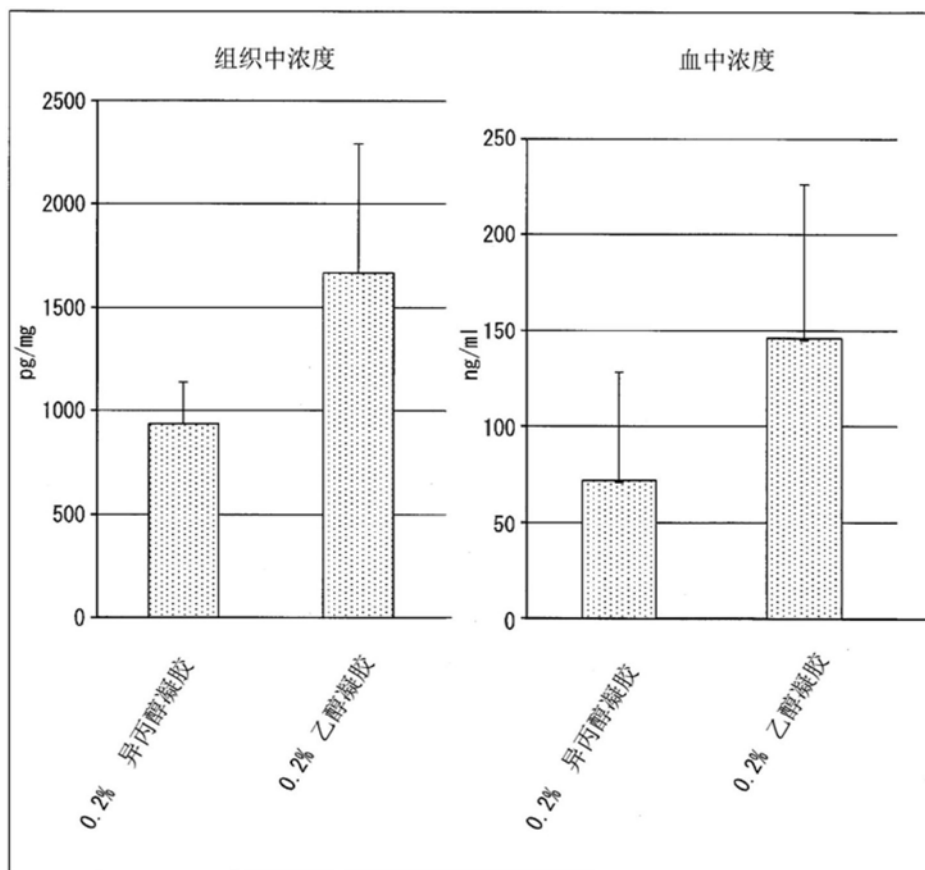


图4

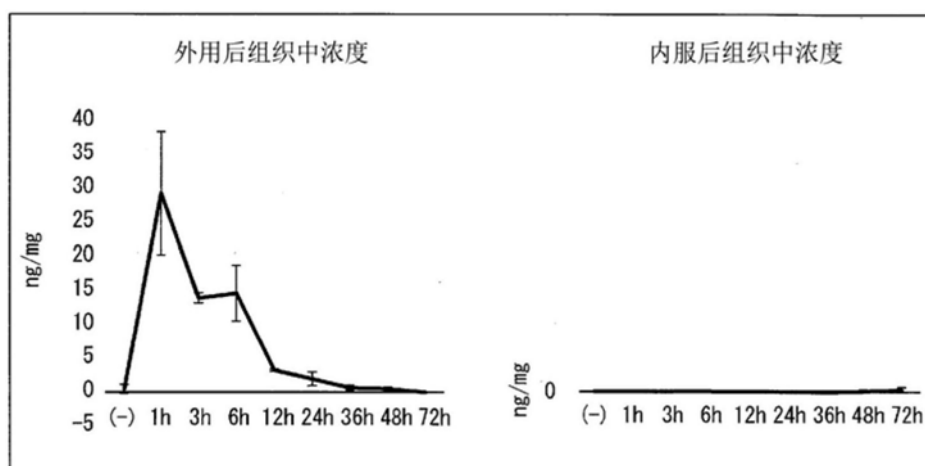


图5

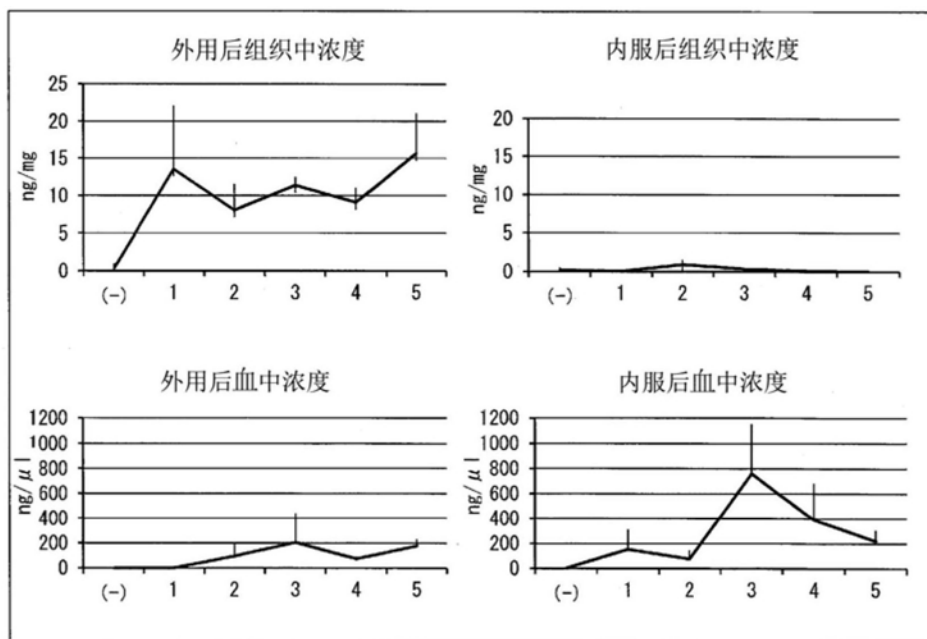


图6

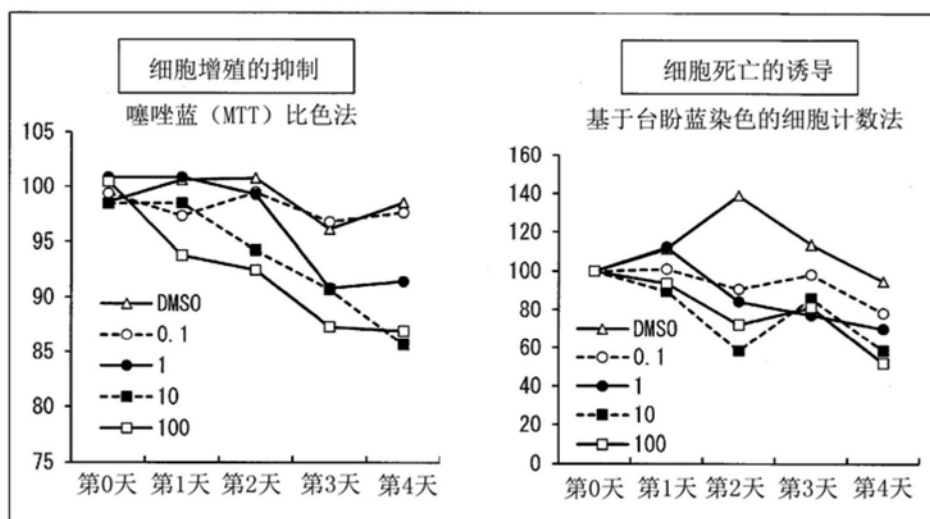


图7