

Figure 1. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の泳動パターン

M:分子量マーカー

C1~C3:正常サル血清

1~3:7ND投与サル(動物番号101~103)

4~6:7ND投与サル(動物番号201~203)

研究報告 3 :

NF- $\kappa$ B デコイ導入による再狭窄の抑制に関する基礎研究と  
探索的臨床研究

NF- $\kappa$ B デコイ導入による再狭窄の抑制に関する基礎研究と探索的臨床研究

## 【研究要旨】

平成13年度に臨床で用いる REMEDY カテーテルを用いれば NF- $\kappa$ B デコイをバルーン傷害後ならびにステント挿入後の血管壁に導入出来ることをカニクイザルを用いて報告した。平成14年度は高コレステロール血症ウサギにおけるステント内再狭窄モデルを用いて NF- $\kappa$ B デコイ導入によって新生内膜形成が減少することを明らかにしつつある（予備成績）。この試験を平成15年度も引き続き実施する。

探索的臨床研究：学内倫理委員会の承諾を得て、平成14年11月、臨床研究「ステント後再狭窄に対する NF- $\kappa$ B デコイを用いた探索的臨床研究」を開始した。平成15年3月20日の時点で6例にデコイの導入を終了した。平成15年度は、この臨床研究を継続して行う予定である。

臨床研究実施計画書を以下に示す。

NF- $\kappa$ B decoy oligodeoxynucleotides の冠状動脈狭窄への  
ステント後再狭窄に対する探索的臨床研究

臨床研究実施計画書

臨床研究課題名：冠インターベンション(ステント拡張)後再狭窄に対する  
NF- $\kappa$ B デコイによる治療

臨床研究実施責任者：九州大学医学部附属病院循環器内科教授 竹下 彰

臨床研究分担医師：九州大学医学部附属病院循環器内科講師 江頭 健輔

九州大学医学部附属病院循環器内科助手 平川 洋次

九州大学医学部附属病院心臓外科教授 安井 久喬

九州大学医学部附属病院心臓外科講師 森田 茂樹

版 番 号：第 2 版

作 成 日：2002年12月4日

本文書中には臨床研究の直接関係者等に限定して、提供される情報が含まれます。本文書中の内容を公表または第三者に開示する場合は、事前に臨床研究実施責任者の同意を得るようお願いいたします。

要約

研究目的	<p>第一目的：本臨床研究の第一目的は、ステント後再狭窄の治療法としての NF-κB デコイの安全性の検討である。</p> <p>第二目的：付随した目的として、a) NF-κB デコイによる再狭窄予防に関する効果の判定と b) 治療効果を示しうる NF-κB デコイ濃度の決定、を行う。</p>
対象	狭心症状を示す、もしくは心筋梗塞に陥った患者で冠状動脈の閉塞を示す患者
選択基準	<p>(1) 性別. 男性及び女性</p> <p>(2) 年齢. 原則として 20 歳以上</p> <p>(3) 典型的な狭心症の症状を示し、狭心痛もしくは心筋虚血を有することが認められた患者。 ・ 負荷試験（トレッドミル運動負荷試験、エルゴメーター負荷試験、運動負荷心筋シンチグラフィなど）で、心筋虚血の存在が示される患者</p> <p>(4) 血管造影により冠動脈に狭窄もしくは閉塞を認める患者。2 枝以上に病変を認めた場合、1 枝ずつ治療を行い 2 枝を対象としても良い。</p> <p>(5) 血管造影により 冠動脈の完全閉塞もしくは 75% 以上の狭窄を認める患者。閉塞で 10mm 以下、狭窄で 20mm 以下の症例に限られる。</p> <p>(6) 性的能力のある男性および妊娠能力のある女性については、探索臨床研究実施中において、適切な避妊を行うことに 同意が得られたもの。</p> <p>(7) 本探索臨床研究に関する説明・同意文書を用いた十分な説明を受け、その内容を理解し、本研究への参加について自由意思に基づき文書による同意が得られたもの。</p>
除外基準	<p>(1) 冠動脈閉塞が 10mm を越える、もしくは狭窄が 20mm を越える患者</p> <p>(2) 合併症により 1 年以内の余命と考えられる患者</p> <p>(3) 過去 3 ヶ月以内にアルコールもしくは薬依存症の患者</p> <p>(4) 肝機能検査などの生化学的検査に顕著な異常のある患者</p> <p>(5) 他の治験に参加している患者</p> <p>(6) その他、臨床研究実施責任者または分担医師が不相当と判断した者</p> <p>(7) 妊婦、授乳期の女性、妊娠している可能性のある女性</p> <p>(8) その他重大な合併症および既往歴を有するもの</p>
研究方法 (デザイン)	表 1 参照
用法・用量	<p>患者への投与は 1 度のみで、以下のいずれかの用量の投与を受ける。</p> <p>1) 1000 μg/body、2) 2000 μg/body、3) 4000 μg/body、4) 8000 μg/body</p>
併用療法	通常の内服治療（降圧剤、抗血小板薬、血管拡張薬など）を継続しても良い。
有効性評価項目	<p>1 血管造影</p> <p>2 血管内エコー(IVUS) (可能な患者)</p> <p>3 QOL SF36(HRQOL-Health Related Quality of Life)</p> <p>4 再狭窄のクライテリア</p> <p>1)血管造影 定量的冠動脈造影法(QCA)の 50%以上の閉塞を再狭窄と見なす。</p> <p>2)血管内エコー(IVUS) %plaque area が 50%以上の閉塞を再狭窄と見なす。</p>
安全性評価項目	<p>1)臨床検査</p> <p>血液学的検査：赤血球、白血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、白血球分画(好中球,リンパ球,単球,好酸球,好塩基球)、血沈、総蛋白、アルブミン、AST、ALT、ALP、LD(LD<sub>1</sub>,LD<sub>2</sub>,LD<sub>3</sub>,LD<sub>4</sub>,LD<sub>5</sub>)、総ビリルビン、CK (CK-BB,CK-MB,CK-MM)、BUN、クレアチニン、血糖、尿酸、血清電解質 (Na,K,Cl) CRP</p> <p>尿検査： 蛋白、糖、潜血、ケトン、pH、尿沈渣(赤血球,白血球,上皮細胞,円柱)</p> <p>便検査： 便ヘモグロビン</p> <p>2)免疫学的検査(可能なら行う)</p>

	血清サイトカイン,ケモカイン濃度(MCP-1,IL-8,RANTES,可溶性 VCAM-1,IL-1 $\beta$ ,TNF $\alpha$ ,IL-6など) 3)心エコー及びドップラー血流検査 4)胸部X線 5)身体的所見 6)有害事象
観察・検査スケジュール	表2. 参照
目標症例数	24症例
研究実施期間	2002年11月~2003年11月

## 目 次

<b>探索臨床研究実施計画の背景ならびに経緯</b> .....	27
抄録 .....	27
背景 .....	28
1. 目的 .....	34
2. 対象 .....	34
2.1 対象 .....	34
2.2 選択基準 .....	34
2.3 除外基準 .....	34
3. 被験者への情報提供及び同意 .....	35
3.1 説明・同意文書の作成 .....	35
3.2 同意の取得及び同意の記録 .....	35
3.3 被験者への情報提供、説明・同意文書の改訂 .....	36
4. 臨床研究薬関連事項 .....	36
4.1 一般的名称 .....	36
4.2 臨床研究薬の種類 .....	36
4.3 用法・用量 .....	36
4.4 包装 .....	36
5. 臨床研究方法 .....	36
5.1 研究デザイン .....	36
5.2 投与方法、投与量及び投与期間 .....	37
5.3 併用薬・併用療法規定 .....	38
5.4 被験者の登録 .....	38
6. 観察・検査項目及び実施時期 .....	38
6.1 観察・検査項目、スケジュール .....	38
6.2 被験者背景 .....	39
6.3 臨床研究薬の投与状況、併用薬剤、併用療法の内容 .....	39
6.4 負荷試験 .....	40
6.5 有効性評価のための観察・検査項目 .....	40
6.6 安全性評価のための観察・検査項目 .....	40
7. 有害事象 .....	41
8. 被験者の治療または評価の打ち切り .....	43
8.1 中止基準 .....	43
8.2 被験者の都合による臨床研究の中止 .....	43
8.3 個々の被験者の臨床研究中止時の対応 .....	43
9. 評価項目とその関連事項の定義 .....	43
9.1 有効性に関する評価項目 .....	43
9.2 安全性評価項目 .....	44
10. 症例の取扱い .....	44
11. 解析 .....	44
11.1 解析の目的 .....	44
11.2 有効性評価項目の解析 .....	45
11.3 被験者背景の解析 .....	45
11.4 安全性評価項目の解析 .....	46
12. 目標被験者数と設定根拠 .....	46
12.1 目標被験者数 .....	46
12.2 必要被験者数の設定に用いた評価項目と検定方法 .....	46
13. 臨床研究実施期間 .....	46
14. 臨床研究の倫理的実施 .....	46

14.1 倫理委員会による審議	46
14.2 倫理の遵守	47
14.3 臨床研究実施計画書の改訂	47
15. 本臨床研究の安全性の確保	47
15.1 緊急時の対応	47
15.2 緊急時の連絡先	47
15.3 予想される副作用、臨床検査値異常変動	47
16. 臨床研究実施計画書の変更等に関する手順	48
16.1 臨床研究実施計画書の変更	48
16.2 臨床研究の中止	48
17. 被験者の秘密保持	48
18. GCP 関連事項	48
18.1 臨床研究実施責任者の責務	48
18.2 記録類の保存	48
18.3 臨床研究分担医師が提出する資料	49
18.4 原資料の特定と直接閲覧	49
19. 臨床研究の品質管理及び品質保証	49
19.1 品質管理	49
19.2 品質保証	50
20. 健康被害	50
21. 症例報告書	50
21.1 症例報告書の提出及び記載方法	50
21.2 症例報告書の変更・修正方法	50
22. 研究実施体制	50
22.1 実施医療機関並びに臨床研究実施責任者	50
22.2 医学専門家	50
22.3 効果安全性評価委員会	50
22.4 製剤試験責任者	51
22.5 登録・データ管理者	51
23. 臨床研究成績の公表	51



## 探索的臨床研究実施計画の背景ならびに経緯 抄録

冠インターベンション技術（動脈硬化性狭窄・閉塞の拡張）の発達により、虚血性心疾患の治療法は格段に進歩した。しかし、一旦拡張した部位が再び狭くなる「再狭窄」が高率（30-40%）に生じることが問題となっている。再狭窄が生じれば、狭心症の再発、再インターベンションもしくは冠動脈バイパス術が必要になる。欧米では血管内放射線照射やラパマイシンステントの有望性が報告され始めている。しかし、現時点で確立した治療法は未だない。冠インターベンション後再狭窄に対する画期的な治療法は見出されていないのが現状である。

再狭窄の病態には種々の因子が関与しているが、その最も重要なものの一つに炎症反応がある。炎症反応には NF- $\kappa$ B という転写因子が中心的役割を果たしており、NF- $\kappa$ B を抑制することにより再狭窄を抑制できるという動物実験成績がいくつかの施設から発表されている。大阪大学医学部加齢医学・遺伝子治療学ではすでに NF- $\kappa$ B デコイ法を用いた再狭窄抑制治療が学内倫理委員会で承認され、下肢動脈に対する臨床治療研究が開始されている。本研究は大阪大学ならびに東京医科歯科大学循環器内科学との共同研究により、「冠インターベンション後再狭窄に対する NF- $\kappa$ B デコイによる治療」を実施するものである。

この臨床研究は大阪大学医学部附属病院遺伝子治療学・加齢医学（代表研究者 森下竜一）ならびに東京医科歯科大学循環器内科学（代表研究者 磯部光章）との共同研究として実施されるものです。また、本臨床研究計画は厚生労働省関連法人（医薬品機構）からの研究費の支援を受けて実施される研究です。

## 背景

### A) 再狭窄予防のための医学的対策が急務である

冠インターベンション技術（動脈硬化性狭窄・閉塞の拡張）の発達により、虚血性心疾患の治療法は格段に進歩した。しかし、一旦拡張した部位が再び狭くなる「再狭窄」が高率（30-40%）に生じることが問題となっている（1-8）。再狭窄が生じれば、狭心症の再発、再インターベンションもしくは冠動脈バイパス術が必要になる。欧米では血管内放射線照射やラバマイシンステントの有望性が報告され始めている。しかし、現時点で確立した治療法は未だない。冠インターベンション後再狭窄に対する画期的な治療法は見出されていないのが現状である。

### B) NF- $\kappa$ B デコイによる炎症反応抑制は再狭窄の新しい治療法になりうる

#### 1) 炎症反応抑制の役割

冠動脈拡張術では 30-40%に再狭窄が起こる。その機序として炎症に引き続いて生じる新生内膜の増殖が考えられている(9)。すなわち、血管拡張術後再狭窄（新生内膜形成）は、大部分は血管傷害により活性化される多数の増殖因子により誘導される平滑筋細胞の遊走と増殖による。最近、この平滑筋細胞の遊走・増殖の過程には、炎症が関与していると考えられており、接着因子やケモカイン発現増加が重要な役割を果たしている。転写因子NF- $\kappa$ Bは、抑制因子であるI- $\kappa$ Bに結合しており、NF- $\kappa$ Bの解離は、インターロイキン6などのサイトカイン、VCAM-1を含む接着因子、MCP-1などのケモカイン遺伝子群の活性化を引き起こし、炎症ならびに細胞増殖をもたらすと推測されている（10-18）。

#### 2) デコイ法の原理と安全性

遺伝子の正常な発現調節は、発育期のみならず成熟した個体においても、必須である。そのような調節は、転写以降の過程も重要であるが、通常 DNA の転写とRNAポリメラーゼによるRNAへの転写レベルで行われる（19）。特定の遺伝子の転写は、転写因子として知られる調節タンパクによって行われる（19）。転写因子は、共通の DNA 結合部位の配列によって幾つかのファミリーに分類される。転写因子は、DNA に結合する部位に加え、RNAポリメラーゼと作用する部分や転写に関連するタンパクが結合する部分などで構成される。これらの因子の重要な役割は、転写因子の不活化が病態の改善、ひいては治療に成りうる可能性を示している。最初、レトロウイルスに組み込まれた TAR と呼ばれる転写因子結合部位の過剰発現（TAR デコイ）が、エイズウイルスの複製を抑制することが報告された（20）。現在、TAR デコイは短いRNAオリゴによって作成され、エイズウイルスの発現調節タンパク Tat の TAR 配列への結合を阻害することにより、エイズウイルスの発現と複製を抑制するために用いられている（21-23）。しかし、そのようなRNAデコイは生体での使用は困難である。また、デコイを遺伝子として発現させる方法は、発現調節が難しい。これらの問題を解決するために、大阪大学の森下らは転写因子に高い親和性を持つ合成二重鎖核酸を“デコイ”（おとり）として生体へ導入する事を考案した。導入されたデコイは、転写因子に特異的に結合し、目標転写因子が活性化する遺伝子の発現抑制をもたらす。これら遺伝子群の発現抑制は、治療として期待される(20,24-26)。デコイ法の特徴として以下の点が上げられる：1) 対象となる転写因子の同定が容易である、2) 特異的配列を有するデコイの合成は比較的単純であり、特異性が高い、3) 目標とする転写因子の結合部位が同定されれば、目標転写因子の構造を同定する必要がない、4) デコイは、常在的に発現している因子の抑制や同じ結合部位に結合する転写因子が複数存在する時、アンチセンス以上に有効である。また、アンチセンスのメカニズムの詳細が未だ明らかでないのに比べ、デコイの原理は、転写因子の結合阻害に基づくプロモーター活性の消失であり、単純である。

以上の様なデコイの有用さに基づき、以前大阪大学遺伝子治療学講座では E2F に対する結合部位

(コンセンサス配列 "TTTTTCGGCGC")を含む E2F デコイを作成し、ラット頸動脈バルーン傷害モデル及びブタ冠動脈バルーン傷害モデルへの E2F デコイの単回投与が E2F の結合活性を阻害し、ターゲット遺伝子発現の抑制と平滑筋細胞の増殖抑制・新生内膜形成阻害をもたらすことを示した(27)。また、デコイの有用性は血管拡張術後再狭窄と類似した病態として知られているバイパス術後血管内膜新生抑制における有効性も確認されている。既に、米国では、1996年10月 FDA より E2F デコイの臨床試験の許可を得、41 例の解析が終了し、グラフト後再狭窄抑制と開存率の改善が報告されている(28)。また、安全性において特に副作用は見られないことも明らかにされた。既に、E2F デコイによる血管拡張術後再狭窄抑制に関する臨床研究も、1999 年 11 月大阪大学医学部倫理委員会より承認され、2000 年 4 月開始された。少数例の検討ではあるが（現在までに 4 名実施）、副作用は見られていない。

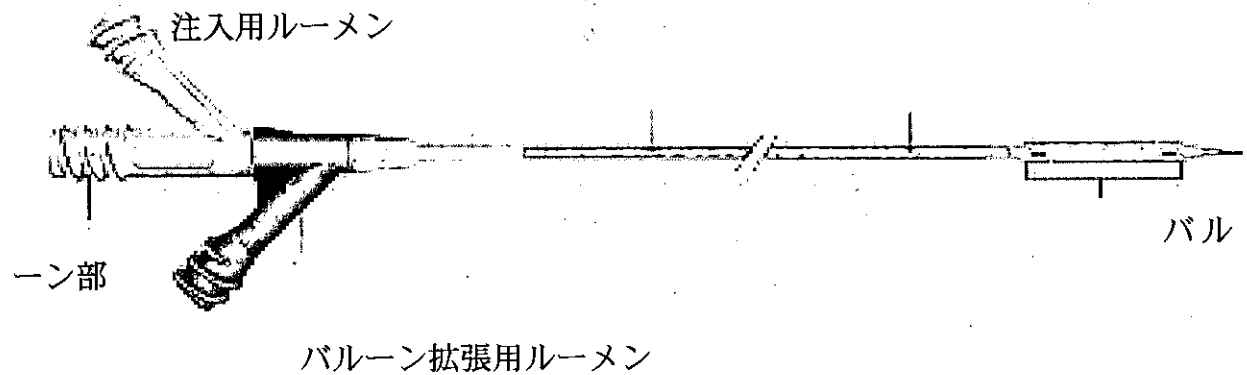
### 3) チャンネルバルーンカテーテルによる血管壁へのオリゴ導入

ドラッグデリバリー用チャンネルバルーンカテーテル (REMEDY、ボストンサイエンティフィック社、5 ページの図参照) を用いて経皮的にオリゴが導入されることをサルの上腸骨動脈バルーン傷害モデルで明らかにした (九州大学医学部附属病院循環器内科、江頭健輔、未発表成績)。このカテーテルは拡張用バルーンと注入用ルーメンは独立した構造をとるため、バルーン拡張中のオリゴ溶液の注入が容易に行える。

麻酔下にカニクイサルの大腿動脈から 4F Fogarty catheter を挿入し総腸骨動脈のバルーン傷害を行った。バルーン傷害直後、REMEDY カテーテルを上腸骨動脈に挿入し、バルーンを傷害部位に留置した。その後、バルーンを3分間拡張し、その間1-2気圧で FITC 標識 NF- $\kappa$ B デコイを注入した。3日後に血管を摘出しホルマリン固定した後、抗 FITC 抗体を用いて免疫染色を行った (6 ページの図)。その結果、傷害部位の中膜細胞 (平滑筋と思われる)、とくに内腔側に強陽性所見が得られた。一部の外膜細胞にも弱陽性所見が認められた。連続で切片を検索していくと中膜が断列している部分があることから、NF- $\kappa$ B デコイが一部外膜へ漏れた結果、外膜細胞に取り込まれた可能性があると考察している。

なお、バルーン傷害を行っていない反対側の腸骨動脈ではこのような陽性染色所見は全く得られなかった (未発表)。

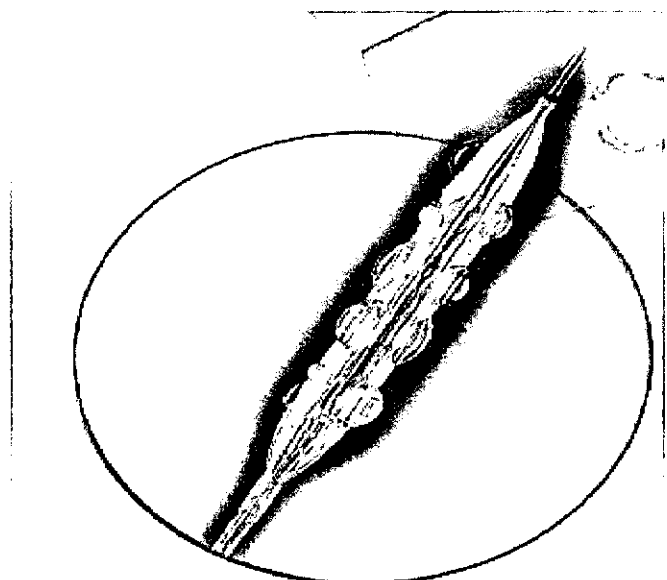
ドラッグデリバリー用チャンネルバルーンカテーテル  
(REMEDY、ボストンサイエンティフィック社)：拡張用バル  
ーンと注入用ルーメンは独立した構造をとる。



バルーンの断面写真



注入ルーメンから  
生理食塩水を  
投与中の写真

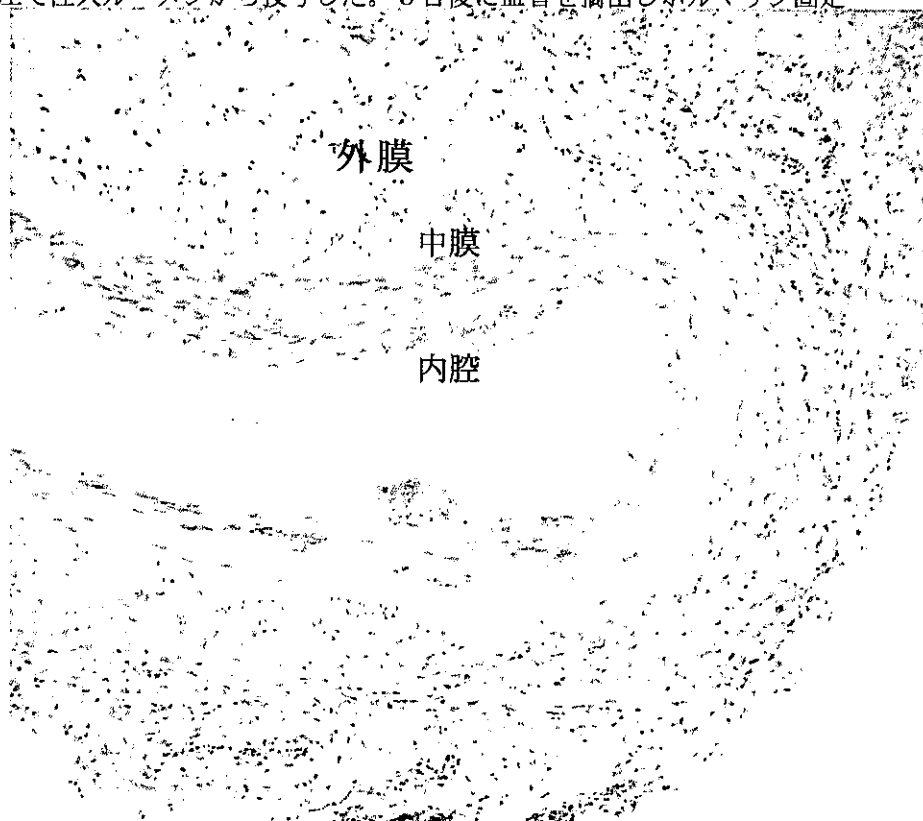


### NF- $\kappa$ B デコイの導入

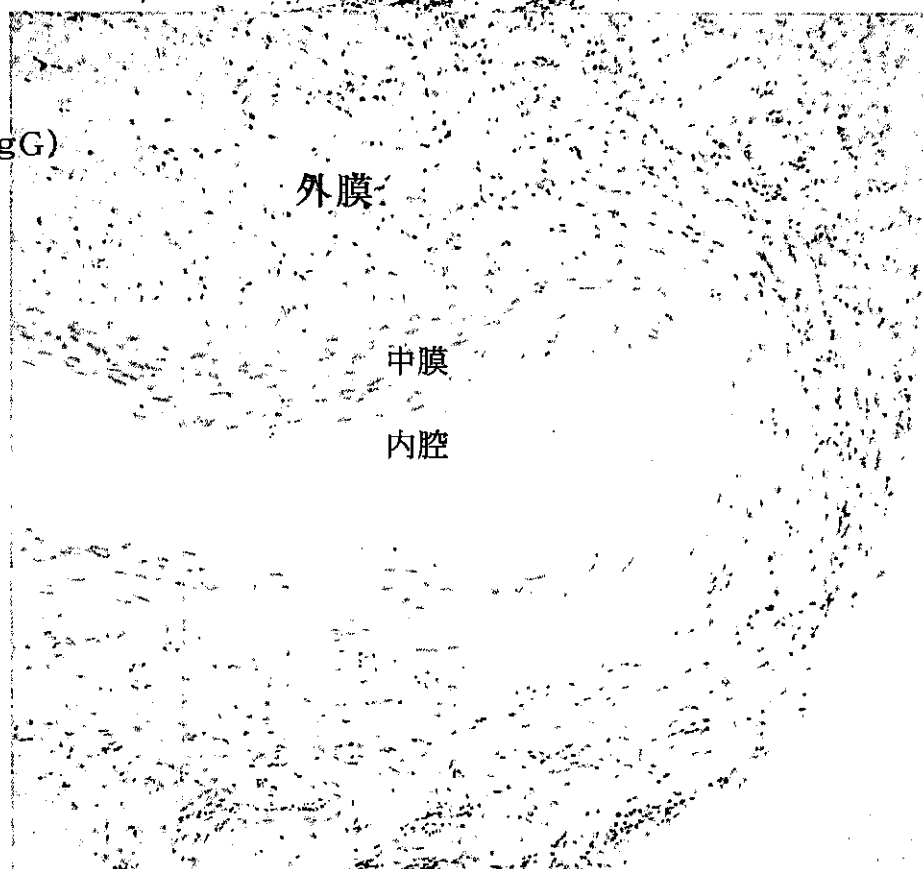
—サル総腸骨動脈バルーン傷害モデル—

バルーン傷害直後に REMEDY カテーテル (サイズ 2.5 mm) を 6 気圧で拡張し、拡張中に FITC 標識 NF- $\kappa$ B デコイを 1-2 気圧で注入ルーメンから投与した。3 日後に血管を摘出しホルマリン固定した後免疫染色に供した。

### 抗 FITC 抗体



### Negative control (IgG)



#### 4) 経皮血管壁オリゴ導入により再狭窄が抑制されることが明らかになった

血管拡張術後再狭窄に対しては、現在までのところ有効な薬物治療は認められていない。再狭窄は、血管平滑筋細胞の再増殖により起こるものと考えられており、各種増殖因子に加えサイトカインや接着因子などの関与が示唆されている。動脈硬化における平滑筋細胞増殖は、炎症反応の関与が現在明らかにされ、NF- $\kappa$ B によって発現調節されるインターロイキン 1 や 6, マクロファージの遊走・浸潤に関与する ICAM や VCAM などの接着因子が重要である(29-40)。炎症反応関連遺伝子群のプロモーター領域には NF- $\kappa$ B 結合配列が存在している。転写因子 NF- $\kappa$ B は静止期では不活性化されているが、バルーン障害等の刺激により活性化される。NF- $\kappa$ B は、炎症反応関連遺伝子群を活性化し、細胞増殖を引き起こす(41-43)。大阪大学では NF- $\kappa$ B に対する結合部位(コンセンサス配列 "CCCTAAAGGG")を含む NF- $\kappa$ B デコイを作成した。ゲルシフトアッセイによる解析で、バルーン障害により NF- $\kappa$ B 結合活性が増加する事が明らかになった。更に、NF- $\kappa$ B デコイの血管内皮細胞への導入により、TNF- $\alpha$ 刺激により誘導される IL-1/IL-6 及び ICAM の遺伝子発現が強力に阻害されることを、ノーザンブロット及び ELISA 法にて明らかにした(44)。対照的に、NF- $\kappa$ B の結合配列部位を置換したスクランブルデコイでは、NF- $\kappa$ B 結合活性も阻害されず、IL-1/IL-6 及び ICAM の遺伝子発現も抑制されなかった。これら培養細胞の実験により、デコイにより内因性遺伝子の発現と細胞周期調節が可能であることが初めて示され、NF- $\kappa$ B デコイによる目的遺伝子発現抑制が非特異的ではなく、配列特異的で NF- $\kappa$ B デコイ特異的な作用であることが明らかになった。

さらに大阪大学ではラット頸動脈バルーン傷害モデルを用いて NF- $\kappa$ B デコイの有用性を生体で検討している。バルーン傷害後、ICAM 及び VCAM 遺伝子発現は増加した。NF- $\kappa$ B デコイの導入はこれら接着因子遺伝子群の発現を抑制した。更に、NF- $\kappa$ B デコイは、傷害後2週間における新生内膜形成を抑制した。抑制効果は、HVJ-リポソームのみの投与、スクランブルデコイ群、AP-1 デコイ群では、認められなかった(45)。また、NF- $\kappa$ B デコイ投与により動脈硬化進展に重要な役割を果たしているマクロファージやTリンパ球の傷害血管への浸潤も抑制していた。重要なことに、NF- $\kappa$ B デコイの単回投与による新生内膜抑制効果は、血管平滑筋細胞の細胞死(アポトーシス)増加を伴っており、積極的に増殖細胞を除去していることも示唆された。また、そのメカニズムとしてがん抑制遺伝子 p53 の発現亢進が確認された。以上の結果により、NF- $\kappa$ B デコイの投与が NF- $\kappa$ B の結合活性を阻害し、ターゲット遺伝子発現の抑制と平滑筋細胞の増殖抑制・新生内膜形成阻害をもたらすことが明らかになった。

一方、再狭窄抑制において重要な役割を持つ内皮細胞に関しては、平滑筋細胞と異なり保護的な作用を持つことが明らかになった(46)。虚血による内皮細胞死には、NF- $\kappa$ B の活性化が伴っていることから、ヒト内皮細胞へ NF- $\kappa$ B デコイ投与を行った。その結果、ヒト血管内皮細胞における虚血によるアポトーシスによる細胞死は、NF- $\kappa$ B デコイ投与により抑制され、そのメカニズムとして抗アポトーシス因子 bcl-2 の発現低下を抑制することが明らかになった。従って、NF- $\kappa$ B デコイは再狭窄抑制に関して、血管内皮保護の面からも優れていることが明らかになった。同様の細胞保護作用は、ラット心筋梗塞モデル、移植心再灌流モデル、肝移植モデルなど多くのモデルで示されている(47-49)。

またヒト再狭窄に最も類似したと考えられているブタ冠動脈バルーン傷害モデルにおけるハイドロゲルカテーテルによる NF- $\kappa$ B デコイの投与の検討も行われている。ラット頸動脈バルーン傷害モデルと同様に、NF- $\kappa$ B デコイの投与はバルーン傷害後30日目の新生内膜形成を抑制していることが、血管内エコー(IVUS)で明らかになった。この結果は、経皮血管的カテーテルによる NF- $\kappa$ B デコイ導入による再狭窄抑制の初めての報告であり、ヒト再狭窄抑制法として NF- $\kappa$ B デコイが有用であることを示している。心移植後の動脈硬化(狭窄)やウイルス性心筋炎に対して NF- $\kappa$ B デコイ投与が抑制することが明らかになった(50)。申請者らは、慢性的一酸化窒素産生抑制による冠動脈硬化モデルを用いて、NF- $\kappa$ B デコイ導入が動脈硬化の成立を防止することを明らかにした(51)。また、ヒト臨床研究の予定投与量の10倍以上のデコイ(16.8 mg/body)をサルに静脈内投与した急性毒性に関する安全性検査においても、骨髄検査を含むいかなる異常も認められなかった(大阪大学遺伝子治療学の未発表 Data)。

NF- $\kappa$ B デコイの投与は以下の2点において優れていると考えている。第一に、血管における治療として最も重要なことは、必要な期間理想的な高い濃度を局所で維持することである。未だ証明はされていないが、動脈投与、静脈投与、筋肉内投与によるいかなる薬剤の投与より、NF- $\kappa$ B デコイの局所への投与は安全性の面及び効果の面から望ましいと考えられる。第二に、経済的な問題である。従来の治療法は、開発の課程や複数回の投与が必要であるなど、NF- $\kappa$ B デコイよりも費用が

かかる。現在までのところ、NF- $\kappa$ B をターゲットとする薬剤としてステロイドやアスピリンが知られているが、ステロイドは高濃度必要であり、重篤な副作用をもたらすため、再狭窄抑制には使用できない。アスピリンは再狭窄抑制効果が不十分である。

これらの結果は、冠動脈病変に対する血管拡張術後再狭窄を抑制する新しい治療法として、NF- $\kappa$ B デコイの血管内投与が有効であることを示している。冠動脈拡張術後再狭窄に対する有効な薬物療法は未開発であるため、本臨床研究で対象とする患者は血管内デコイ治療の良い対象であると考えている。

## 1. 目的

第一目的：本臨床研究の第一目的は、ステント後再狭窄の治療法としての NF- $\kappa$ B デコイの安全性の検討である。

第二目的：付随した目的として、a) NF- $\kappa$ B デコイによる再狭窄予防に関する効果の判定と b) 治療効果を示しうる NF- $\kappa$ B デコイ濃度の決定、を行う。

## 2. 対象

### 2.1 対象

狭心症状を示す、もしくは心筋梗塞に陥った患者で冠状動脈の閉塞を示す患者

#### 【設定根拠】

一般的なステント留置の適応となりうる患者を選択している。これらの患者にステント留置を施すと、術後に一定の率にて再狭窄が予想される。

### 2.2 選択基準

- (1) 性別. 男性及び女性
- (2) 年齢. 原則として 20 歳以上
- (3) 典型的な狭心症の症状を示し、狭心痛もしくは心筋虚血を有することが認められた患者。  
・負荷試験（トレッドミル運動負荷試験、エルゴメーター負荷試験、運動負荷心筋シンチグラフィなど）で、心筋虚血の存在が示される患者
- (4) 血管造影により冠動脈に狭窄もしくは閉塞を認める患者。2 枝以上に病変を認めた場合、1 枝ずつ治療を行い 2 枝を対象としても良い。
- (5) 血管造影により冠動脈の完全閉塞もしくは 75% 以上の狭窄を認める患者。  
閉塞で 10mm 以下、狭窄で 20mm 以下の症例に限られる。
- (6) 性的能力のある男性および妊娠能力のある女性については、探索臨床研究実施中において、適切な避妊を行うことに同意が得られたもの。
- (7) 本探索臨床研究に関する説明・同意文書を用いた十分な説明を受け、その内容を理解し、本研究への参加について自由意思に基づき文書による同意が得られたもの。

#### 【設定根拠】

- (1) 性別による差は見られない。
- (2) 年齢の下限は本人からの同意取得が可能な 20 歳とした。また、被験者の安全性を配慮したため未成年者は除外した。
- (3) (4) (5) ステント留置の適応となりうる患者で、適切な薬効評価が可能な患者を選択するために設定した。
- (6) 被験者の安全性確保の面から設定した。
- (7) 「ヘルシンキ宣言」および「医薬品の臨床試験の実施の基準(1997 年 3 月 13 日付)」に準じた。

### 2.3 除外基準

以下のいずれかに該当するものは対象から除外する。

- (1) 冠動脈閉塞が 10mm を越える、もしくは狭窄が 20mm を越える患者
- (2) 合併症により 1 年以内の余命と考えられる患者
- (3) 過去 3 ヶ月以内にアルコールもしくは薬依存症の患者
- (4) 肝機能検査などの生化学的検査に顕著な異常のある患者
- (5) 他の治験に参加している患者
- (6) 妊婦、授乳期の女性、妊娠している可能性のある女性
- (7) その他重大な合併症および既往歴を有するもの



- (8) 臨床研究実施責任者または分担医師が不適当と判断した者

【設定根拠】

- (1) このような広範囲にわたり、冠動脈閉塞もしくは狭窄がある患者は、ステント留置による、再灌流療法の適応とはならないため。
- (2) 当該疾患の治療を実施しても、効果判定など所定の検査が不可能なため。
- (3) 臨床研究薬による効果判定が困難なため。
- (4) (5) (6) (7) 被験者の安全性確保の面から設定した。
- (8) 一般的な除外基準

### 3. 被験者への情報提供及び同意

#### 3.1 説明・同意文書の作成

臨床研究実施責任者は研究の実施に先立ち、少なくとも下記の 18 項目の説明事項を盛り込んだ臨床研究の説明・同意文書を作成する。作成された説明・同意文書は、各施設の倫理委員会の承認を得る。

なお、臨床研究の同意を得るために用いられる文書では、「被験者」は「患者」の用語に置き換えてもよいこととする。また、説明事項についても下記の 18 項目を盛り込んだ内容であれば、各項目の順序及び項目のまとめ並びに用語の変更は可とする。

【被験者への説明事項】

- (1) 臨床研究（以下、研究）が研究的側面を伴うこと。
- (2) 研究の目的
- (3) 研究の方法（研究的側面、被験者の選択基準）
- (4) 被験者の研究への参加予定期間
- (5) 研究に参加する予定の被験者数
- (6) 予期される臨床上的利益及び危険性または不便（被験者にとって予期される利益がない場合には、被験者にその旨を知らせなければならない。）
- (7) 患者を被験者にする場合には、当該患者に対する他の治療方法の有無及びその治療方法に関して予測される重要な利益及び危険性
- (8) 研究に関連する健康被害が発生した場合に被験者が受けることができる補償及び治療
- (9) 研究への参加は被験者の自由意思によるものであり、被験者は、被験者の研究への参加を随時拒否または撤回することができること。また、拒否・撤回によって被験者が不利な扱いを受けたり、研究に参加しない場合に受けるべき利益を失うことはないこと。
- (10) 研究への参加の継続について被験者の意思に影響を与える可能性のある情報が得られた場合には速やかに被験者またはその代諾者に伝えられること。
- (11) 研究への参加を中止させる場合の条件
- (12) 倫理委員会が原医療記録を閲覧できること。その際、被験者の秘密は保全されること。また、同意文書に被験者が記名捺印または署名することによって閲覧を認めたことになること。
- (13) 研究の結果が公表される場合であっても、被験者の秘密は保全されること。
- (14) 被験者が費用負担をする必要がある場合にはその内容
- (15) 被験者に金銭等が支払われる場合にはその内容
- (16) 臨床研究実施責任者、分担医師または臨床研究協力者の氏名、職名及び連絡先
- (17) 被験者が研究及び被験者の権利に関してさらに情報が欲しい場合または研究に関連する健康被害が生じた場合に照会すべきまたは連絡をとるべき実施医療機関の相談窓口
- (18) 被験者が守るべき事項

#### 3.2 同意の取得及び同意の記録

臨床研究実施責任者または分担医師は研究の実施に先立ち、3.1 に定める説明・同意文書を用いて、臨床研究の内容、その他研究に関する事項を被験者となるべき者に十分説明し、内容をよく理解したことを確認した上で、本研究への参加について、被験者となるべき者の自由意思による同意を文書で得るものとする。

説明・同意文書には被験者本人の署名、同意年月日、説明を行った臨床研究実施責任者または分担医師の署名、説明年月日を残すこととする。なお、説明・同意文書は、原本を診療録に貼付して保存し、その副本を被験者に手渡すものとする。また、症例報告書には、被験者イニシャル、被験者識別コード、同意者、同意取得日を記載する。

### 3.3 被験者への情報提供、説明・同意文書の改訂

被験者の同意に関連し得る新たな非臨床、臨床の情報が得られた場合には、臨床研究実施責任者は速やかに当該情報に基づき説明・同意文書を改訂し、倫理委員会の承認を得るものとする。なお、当該情報を得た際、既に臨床研究に参加している被験者がいる場合には、臨床研究実施責任者または分担医師は当該情報を速やかに被験者に伝え、臨床研究継続の意思を確認するとともに、改訂された説明・同意文書を用いて改めて臨床研究継続について自由意思による文書同意を得るものとする。

## 4. 臨床研究薬関連事項

### 4.1 一般的名称

一般的名称：NF- $\kappa$ B Decoy Oligodeoxynucleotides

### 4.2 臨床研究薬の種類

臨床研究薬として、下記の製剤を使用する。1回1バイアルを生理食塩水 2.0ml にて用時調整し、うち 0.5ml を病変部位へ導入する。

- 1) 1000  $\mu$ g 投与用 NF- $\kappa$ B デコイ：1バイアル中に NF- $\kappa$ B デコイを 4000  $\mu$ g 含有
- 2) 2000  $\mu$ g 投与用 NF- $\kappa$ B デコイ：1バイアル中に NF- $\kappa$ B デコイを 8000  $\mu$ g 含有
- 3) 4000  $\mu$ g 投与用 NF- $\kappa$ B デコイ：1バイアル中に NF- $\kappa$ B デコイを 16000  $\mu$ g 含有
- 4) 8000  $\mu$ g 投与用 NF- $\kappa$ B デコイ：1バイアル中に NF- $\kappa$ B デコイを 32000  $\mu$ g 含有

貯法：冷凍保存 開封後は光を遮り、保存すること

### 4.3 用法・用量

患者への投与は1度のみで、以下のいずれかの用量の投与を受ける。

- 1) 1000  $\mu$ g/body、2) 2000  $\mu$ g/body、3) 4000  $\mu$ g/body、4) 8000  $\mu$ g/body

### 4.4 包装

本研究に用いる臨床研究薬は、NF- $\kappa$ B デコイバイアル包装を用いる。

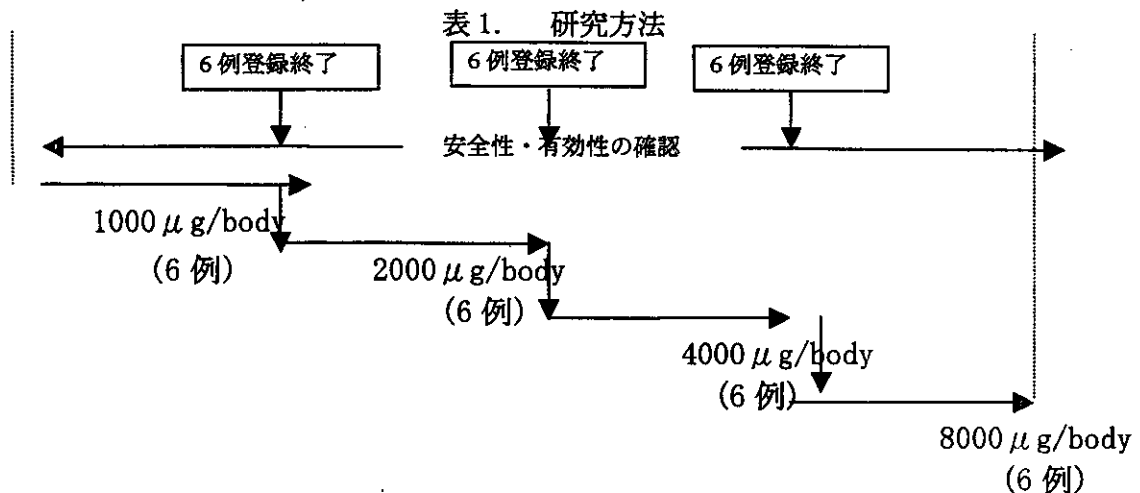
なお、臨床研究薬の取り扱い（保管・管理および回収）に関しては、別途手順書にて定めることとする。

## 5. 臨床研究方法

### 5.1 研究デザイン

狭心症状を示す、もしくは心筋梗塞に陥った患者で冠状動脈の閉塞を示す患者を対象とした、NF- $\kappa$ B デコイを用いたオープン臨床研究である。NF- $\kappa$ B デコイの投与量は1) 1000  $\mu$ g/body、2) 2000  $\mu$ g/body、3) 4000  $\mu$ g/body、4) 8000  $\mu$ g/body の4用量である。各投与群当たりの症例数は6例で、目標症例数は24例となる。臨床研究実施責任者または分担医師は、中央割付により指示された薬剤を投与する。中央割付は大阪大学附属病院に配置する登録・データ管理者が行い、割付方法は低用量 1000  $\mu$ g/body から開始され、各用量での登録症例数が6例になり次第、その次の用量

の割付けが開始される。臨床研究実施責任者または分担医師は 6 ヶ月の観察期間においては、安全性を確認しながら、定められた時期に観察・検査を行う。



#### 【設定根拠】

##### (1) NF- $\kappa$ B デコイの用法・用量の根拠

ブタ冠動脈バルーン障害モデルによる E2F デコイの投与では、1 mg/body (ブタの体重は 18-23 kg) の用量にてバルーン障害後 30 日目で新生内膜形成を抑制している。また、16.8 mg/body の NF- $\kappa$ B デコイをサルに静脈内投与した急性毒性に関する安全性試験においても、いかなる異常も認められていない。今回は、それらの投与量を参考に設定した。

##### (2) オープン臨床研究にて 4 用量を用いた根拠

低用量群より投与を開始し、安全性を確認しながら研究を進め、有効用量を把握するため 4 用量を用いることとした。

## 5.2 投与方法、投与量及び投与期間

### 5.2.1 投与方法

#### デコイ導入前

- 1) 患者の処置は、通常のス TENT 留置と同じに行う。
- 2) 血管造影は、狭窄が判別できるように最低 2 方向から撮影する。
- 3) 血管内エコーも可能なかぎり実施する。NF- $\kappa$ B デコイが血管リモデリングに及ぼす影響も検討できるように、病変及び近位・遠位の周辺部位の測定を行う。

#### 血管壁へのデコイ導入

- 1) 患者は、NF- $\kappa$ B デコイ導入を一度だけ受ける。
- 2) デコイの導入方法  
 ス TENT 挿入を行った後、チャンネルバルーンカテーテルを挿入し病変部位にて拡張させると同時に、NF- $\kappa$ B デコイ導入を行う。病変部位への NF- $\kappa$ B デコイ導入量は、0.5 ml であり、用時調整した 2.0 ml の薬剤のうち、0.5 ml が導入されるよう操作する。

#### デコイ導入後

- 1) 血管造影を実施する。
- 2) すべての患者において、合併症を注意深く観察する。

### 5.2.2 投与量、投与期間

- 1) 1000  $\mu\text{g}/\text{body}$ 、2) 2000  $\mu\text{g}/\text{body}$ 、3) 4000  $\mu\text{g}/\text{body}$ 、4) 8000  $\mu\text{g}/\text{body}$  の 4 用量のうち、いずれかの用量の NF- $\kappa$ B デコイの投与を 1 度のみ受ける。

## 【設定根拠】

投与量：

5.1「臨床研究デザイン」の項参照

投与期間：

通常のス TENT 留置に付随して行うため、投与は1回となる。

## 5.3 併用薬・併用療法規定

通常の内服治療（降圧剤、抗血小板薬、血管拡張剤など）を継続しても良い。

## 【設定根拠】

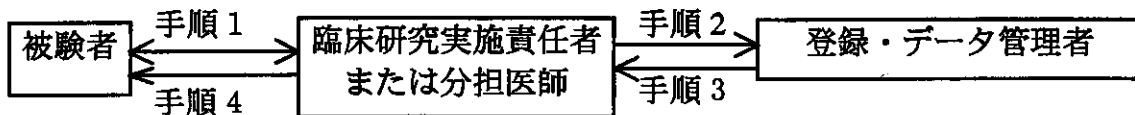
現在までのところ再狭窄予防に明らかな効果を発揮する薬剤は認められていない為、本研究薬に対する影響はないと考えられる。

## 5.4 被験者の登録

臨床研究実施責任者または分担医師は、被験者からの文書同意の取得及び選択基準・除外基準に関連する項目（「2.2 選択基準」、「2.3 除外基準」）にて被験者の適格性を確認した後、「被験者登録票」に必要な事項を記載し、大阪大学附属病院に設置する登録・データ管理者（以下、登録・データ管理者とする）へ送付し、適格性判定の適否の報告を受ける。

臨床研究実施責任者または分担医師は、登録・データ管理者から被験者の適格性の適否の通知を受ける。また、適格であれば登録・データ管理者は、低用量から臨床研究薬の割付を行い、被験者に該当する用量群を臨床研究実施責任者または分担医師に指示する。

臨床研究実施責任者または分担医師は、当該被験者の次回来院時に、指示された用量の臨床研究薬を投与する。なお、被験者が適格でないことが判明した場合、臨床研究実施責任者または分担医師は、当該被験者の臨床研究を終了する。



手順 1：被験者の同意取得と適格性調査

手順 2：登録票を登録・データ管理者へ送付

手順 3：登録・データ管理者は、効果安全性評価委員会の委員に再度判定を依頼し、その判定に基づき、適格性を連絡。

手順 4：被験者の適格性に基づき、適格であれば臨床研究開始（適格でなければ、当該被験者の臨床研究を終了）。登録・データ管理者により、臨床研究薬が低用量群から 6 例ずつ割付けが指示され、その指示に従い、該当する用量の研究薬を投与。

## 6. 観察・検査項目及び実施時期

## 6.1 観察・検査項目、スケジュール

表 2 に示した観察・検査及び実施スケジュールに従い、臨床研究の同意が得られた被験者の検査・観察を行う。臨床研究実施責任者または分担医師は、中央割付によって指示された用量の薬剤を投与し、安全性を確認しながら、その後 6 ヶ月後まで経過観察する。4 つの用量に関し同様の方法にて観察、検査を実施する。

表 2：観察・検査項目及び実施スケジュール