

は、LCB-451 や LCB-540 の作用機構と異なる可能性が高いと考えられる。

そこで、V-119-8 10 μ M を添加して培養した HUVEC と LCB-451 あるいは LCB-540 1 μ M を添加して培養した HUVEC の形態学的な違い等違について検討したところ、V-119-8 は、血管の成熟化・安定化を誘導する可能性が示唆されたことから、今後、作用機構についての詳細な検討を並行して実施予定である。

D. 考察

【Proof of Mechanism of Action】

本補助金を活用することにより Proof of Mechanism of Action を SPR 法に加え、SureFire 法および NMR 法の系を立ち上げ、定常的に化合物の結合の証明をできることになったことで合成展開により得られる新規化合物のメカニズム評価が進展した。

【in vitro 活性】

サイトカインである VEGF とその受容体 VEGFR2 との結合阻害の活性、および細胞評価系である HUVEC の増殖阻害活性で観ると、最低でも一桁活性の上昇を目指し、医薬候補化合物に近づけるべく合成展開を図っているが

未だ IC50 は 100 nM ~ 400 nM 程度である。共結晶構造、NMR などの情報の精度を上げることが最重要課題であり medicinal chemist に本情報を還元し、活性上昇を達成する必要がある。

【選択性】

化合物の特性上、総じて脂溶性が高く選択性は、概ね 10 倍程度である。そのため選択性を数十倍に高めるための合成展開も重要課題である。

【安全性】

これまでに設計、合成を重ねてきた化合物群は、細胞毒性が極めて低く、細胞傷害性を示す抗がん剤様の毒性の懸念は現時点ではない。特に 103 シリーズ化合物については、一部の化合物で 14 日間の毒性試験を 100 mg/kg まで実施した経緯があり、毒性を示唆する所見は見られなかった、近い将来の非臨床試験、さらには FIH に向かうにあたり自信を深めている。

【Xenograft Model 試験】

本補助金期間の一年目は、補助金活用により the rapapeutics model を LS174T で実施するにあたり化合

物投与開始時期の腫瘍サイズを 200 mm³ 程度にすることで、より厳しい条件での評価を継続することができた。その結果これまで述べてきたとおりアバスタチンと同様あるいはそれ以上の活性を示す化合物が出てきたことも大きな成果である。

【PK プロファイル】

本補助金期間の一年目においては、PK プロファイルリングが十分には実施できていない。そのため次年度は、PK プロファイルの問題点の克服にも重点を置き、取り組む必要がある。

【総括】

当初の計画より遅れている理由は、Mechanism of Action がクリアなリード化合物で、もう一段の活性の上昇 (IC50 が二桁 nM)、選択性の向上 (数十倍程度)、druggable な PK プロファイルを有する化合物に仕立てるのに時間を要しているためである。本補助金の活用によりリード最適化のための環境が改善したことを踏まえ出来る限り短時間でリード最適化を目指しつつ、化合物の material transfer agreement (MTA) に基づく再評価を希望している欧州のファーマとの再度の MTA にも向け課題遂行を進める。

E. 結論

本補助金初年度の目標であるリード最適化には、至らなかったが複数の母核の化合物からリード最適化を進める体制は本補助金により強化されており、結果を短時間で出すべく研究開発を進めていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2011年10月に特許出願
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業研究事業）
分担 研究報告書

研究事業5. PARP阻害剤 医師主導治験

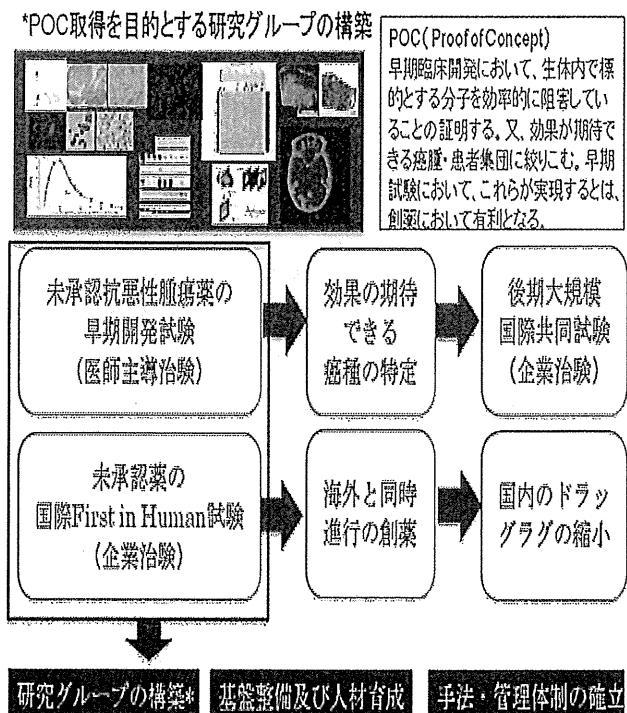
研究分担者	藤原 康弘	国立がん研究センター中央病院	副院長
	田村 研治	国立がん研究センター中央病院	医長
	安藤 正志	国立がん研究センター中央病院	医長
	米盛 勸	国立がん研究センター中央病院	医員

研究要旨

遺伝子修復に関与するPARPの阻害剤であるオラパリブ（国内外未承認薬、アストラゼネカ社）を用いて、トリプルネガティブ乳癌を対象に、新たな抗がん剤との併用レジメンを開発する第I/II相試験を、POC取得を目的とする医師主導治験として実施する。又、サイトカインレセプターやBcr-Ablの下流に位置する、セリン・スレオニンキナーゼであるPIMの阻害剤を用いたGlobal First in Human試験を、アストラゼネカ社の治験として実施する。未承認薬の早期臨床試験を医師主導治験として行う体制の確立、および、国内でのドラッグ・ラグの縮小を目標とした、海外と同時進行のFirst in Human早期臨床試験を行う体制を確立する。

A. 研究目的

国内外未承認の新規薬剤の早期開発試験についてPOC（Proof of Concept）取得を目的とする医師主導治験として実施することは新たな治療法を開発し、後期大規模開発（国際共同試験）への橋渡しへとつながる。さらに、医師主導治験で未承認薬の早期開発の経験を通じて、その手法・管理体制の国内確立を目指す。また、Global First in Human試験に参画することは、海外と同時進行の創薬を目指し、国内でのドラッグ・ラグの縮小を目標とすると同時に、Global First in Human試験の経験を積むことができる。各種試験を遂行すべく基盤整備を進めるとともに人材育成を行い、今後の国内のGlobal First in Human試験を促進する。



B. 研究方法

研究班（分担研究者）は、治験薬提供者（アストラゼネカ社）の実施した、又は実施中のオラパリブを用いた非臨床試験・臨床試験の情報、開発対象領域における PARP 阻害薬の開発状況をもとに、研究開発計画の戦略設定、医師主導治験の治験実施計画書の作成と研究実施の体制整備を行うこととした。早期探索目的医師主導治験であり治験対象患者に対する薬物動態研究（Pharmacokinetics; PK）・薬力学研究（Pharmacodynamics; PD）・バイオマーカー研究（Pharmacogenomics; PDx、及び Proof of Concept; POC 研究）等が必要であるということから、基礎研究グループと広く連携し、それらの研究計画を立案・調整した。

さらに、PIM 阻害剤を用いた国際 First in Human 臨床試験を、国立がん研究センター中央病院と英国の Christie Hospital の 2 施設で、共通のプロトコル同一の治験として実施することを計画し、実施に必要な体制を整備した。

（倫理面への配慮）

動物を用いる実験においては「動物愛護管理法」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛軽減に関する基準」、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」、「厚生労働省の所轄する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」を遵守して行う。臨床研究はすべて「ヘルシンキ宣言」、「臨床研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」などに基づいて実施する。倫理委員会（IRB）での審査・承認を受けた後に実施する。各患者より文書による説明と同意を得た上で行われる。各患者の人権、プライバシーに充分配慮し、個人情報保護を厳守した形で行われる。臨床検体の解析においては、研究に直接かかわらない「遺伝子情報管理者」を特定し「連結可能匿名化」を行う。外部への解析依頼も匿名化された番号のみを用い個人を特定が不可である形で行う。データの発表に関しても、個人を特定できるような形での発表は行わない。

C. 研究結果

【Olaparib臨床試験：医師主導治験

（早期臨床開発）】

以下の研究を分担研究者で協議を行い実施した。

1. 治療開発コンセプトの検討

生体における PARP の機序、乳がんにおける

PARP 阻害薬を用いた臨床試験を検討し、開発状況、治験実施計画書のコンセプト、毒性等の検討を行った。基本的な臨床試験のコンセプトについて以下に示す。

（第 I 相試験部分）

Eribulin は、 $1.4\text{mg}/\text{m}^2$ を day 1, 8, に静脈投与、オラパリブはレベルに合わせて 1 日 2 回経口投与とし、21 日間を 1 コースとする。第 I 相試験部分は、Level 1 より 3 例ずつ登録を行い、1 コースの有害事象により用量規制毒性（DLT）を評価する。DLT の発現症例数にて最大耐用量（MTD）を確認し、第 II 相試験での推奨用量を推定する。また、レベル 4 まで増量しても MTD にいたらなかった場合は、レベル 4 を推奨用量と推定する。

Level	投与量
Level 1	エリブリン $1.4\text{mg}/\text{m}^2$ Day1, 8 + オラパリブ 25mg 1 日 2 回 ($50\text{mg}/\text{day}$)
Level 2	エリブリン $1.4\text{mg}/\text{m}^2$ Day1, 8 + オラパリブ 50mg 1 日 2 回 ($100\text{mg}/\text{day}$)
Level 3	エリブリン $1.4\text{mg}/\text{m}^2$ Day1, 8 + オラパリブ 75mg 1 日 2 回 ($150\text{mg}/\text{day}$)
Level 4	エリブリン $1.4\text{mg}/\text{m}^2$ Day1, 8 + オラパリブ 100mg 1 日 2 回 ($200\text{mg}/\text{day}$)

（第 II 相試験部分）

II 相試験は、I 相試験において推定された推奨用量を I 相試験と同じスケジュールで投与する。疾患の増悪または有害事象により治療が継続できない場合まで、治験を継続できる。（予定症例数と研究期間試験期間）

予定登録症例数：6-44 例（I 相：最小 26-最大 24 例 II 相：20 例）

登録期間：2 年（2012 年 7 月～ 2014 年 6 月 予定）

追跡期間：最終症例登録終了後 1 年

試験期間：3 年（2012 年 7 月～ 2015 年 6 月 予定）

2. 研究実施計画書案の作成

研究実施計画書案を検討し作成する研究業務及びプロトコルレビューを開始した。

3. 英文研究実施計画書案の作成・登録

研究実施計画書案（和文）を英文に翻訳した。研究実施計画書案（英文）を治験薬提供者（英国アストラゼネカ社）へ提出し、研究実施計画書案の第一次レビューを受けた。

4. 説明・同意文書案の作成

研究実施計画書案に基づき、説明・同意文書案の作成を開始した。

5. 治験における薬物動態研究案の検討

第 I 相開発治験において、日本人におけるオラパリブの薬物動態検討が必要と判断されたことから、薬物動態解析の実施について検討を行った。既に行われたオラパリブ単剤療法の薬物動態検討結果との比較検討が行えるように、治験で使用した測定系である英国 Covance Laboratories での測定検査が必要と判断した。英国 Covance Laboratories との薬物動態測定の交渉を開始した。また、検体の国内・国際搬送に関して Covance Japan との交渉を開始した。

6. 国内規制当局勤務経験者医師による開発計画検討

未承認の薬剤を用いた早期探索目的の開発計画であることから、国内規制当局経験者医師と 今後の規制当局への治験届・手続きに関する事、治験薬提供者の行う企業治験の進捗状況に合わせた本研究の開発進捗管理に関して検討を行った。本治験で使用するオラパリブ錠剤単剤の国内第 I 相治験実施後に医師主導治験を開始する進捗計画が適切であると判断した。

7. Olaparib と抗がん剤の併用効果の検討

乳がん細胞株を用いて、オラパリブと他の抗がん剤（パクリタキセル、エリブリン、イリノテカン等）の併用効果の関係（相乗効果・相加効果）を検討した。研究からは、オラパリブとエリブリンとの併用は相加効果を示し、併用による治療開発候補薬剤として妥当であると判断した。

8. 治験に付随する臨床研究の体制整備

国立がん研究センター研究所と連携し、以下の通り医師主導治験におけるバイオマーカー研究のための研究計画案と実施体制の整備を実施した。

薬物動態 (PK) 研究：

エリブリン単剤、オラパリブ単剤、オラパリブおよびエリブリン併用時のそれぞれの薬剤の薬物動態について評価することとし、エリブリン単剤 9 ポイント、オラパリブ単剤 6 ポイント、併用時のエリブリン 9 ポイント、併用時のオラパリブ 6 ポイントの検体採取ポイントを決定した。血漿中エリブリン及びオラパリブの測定は、熊本大学薬学部大学院（浜田哲暢教授研究室）において、液体クロ

マトグラフィー—タンデム型質量分析法 (LC-MS/MS) を用いて実施することとし、その測定系を完成させた。

薬力学 (PD) 研究：

オラパリブ投与時の末梢血単核球 (PBMC) における PARP 阻害活性は国立がん研究センターもしくは委託分析機関（三菱化学メディエンス株式会社）において実施することとした。Plummer らの方法 (Plummer ER. et al., Clin. Cancer Res. 2005, 11:3402-3409) を改変し、ジギトニン処理により細胞膜を破壊し得た粗抽出液を用いて ex vivo で PARP 活性をプロット法にて測定する測定系を構築した。(図 1) オラパリブ投与時の尿検体、血漿検体中の PAR 代謝物の測定は、国立がん研究センター研究所もしくは委託分析機関（神奈川工科大学高村岳樹教授研究室）において実施することとした。PARP 代謝物である ribosyladenosine および rinosylinosine 等を高速液体クロマトグラフィー—質量分析法 (HPLC-MS/MS) を用いて定量することとした。

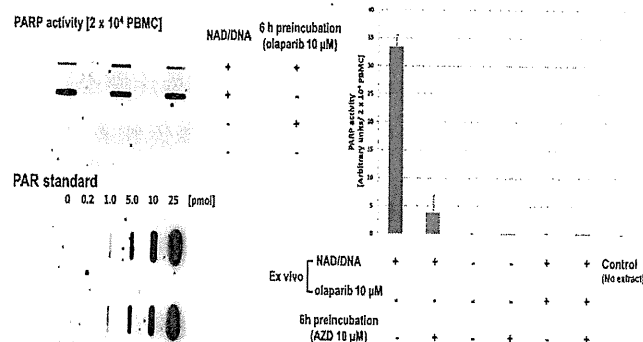


図 1 オラパリブ暴露時の PBMC 中の PARP 活性のドットプロット法による測定

Pharmacogenomics (PGx) 研究：

免疫組織学的染色法 (IHC) を用いて、腫瘍検体における複数のがん関連タンパク質の発現量を測定する。具体的には、Twist, Snail, ERCC1 (Excision repair cross-complementing 1), XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein 1), EGFR (Epidermal growth factor receptor), Cytokeratin 5/6, Cytokeratin 14, Cytokeratin 17、Nucleostemin (NS), TRRT (Telomerase reverse transcriptase), STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) などの発現量を調べる。又、

治療効果を予測するバイオマーカーの候補として、BRCA1 遺伝子変異、BRCA1 メチル化、PIK3CA 遺伝子変異を同定する。

9. 治験薬提供者との検討会議及び国際電話会議
治験薬提供者より 2011 年 12 月 20 日に以下の連絡を受けた。①卵巣癌に対して実施された Olaparib を用いたランダム化比較第 II 相治験の結果は Positive あったが、第 III 相試験に進むには不十分と判断したこと。②オラパリブカプセル剤から錠剤への海外移行試験において、適切な用量設定（錠剤）が同定できなかったこと。①、②のため、オラパリブの乳癌領域の開発計画を再検討するということであった。このような状況から、アストラゼネカ社内でのオラパリブの今後の開発の方針が 2012 年 4 月中旬以降に決定されることとなった。2011 年 4 月 25 日、アストラゼネカ社より正式に当該医師主導治験の実施に関する許可が決定され、プロジェクトが再開された。

【PIM阻害剤臨床試験：企業主導治験

（First in Human早期臨床開発）】

以下の研究を分担研究者や治験依頼者（アストラゼネカ社）、共同研究者（Malcolm Ranson, Christie Hospital NHS Trust）で協議を行った。

1. 治験名

アンストラサイクリン系薬剤とタキサン系薬剤の治療歴を有する Triple negative type の手術不能・再発乳がんに対する Olaparib 併用化学療法の第 I/II 相臨床試験

2. 治験のコンセプト

PIM キナーゼは、細胞周期チェックポイント、及び細胞代謝を介したアポトーシス、及び正常な細胞の増殖を制御するリン酸化基質によってプログラム細胞死を調節する、セリン/スレオニンキナーゼである。非臨床試験から、これらのタンパク質が機能的且つ機械的に細胞生存及び細胞増殖に関与していることが確認された。また、これらのタンパク質の過剰発現が、急性骨髄性白血病（AML）、前立腺癌、膀胱癌、膵臓癌を含む多くのヒトの癌において認められている。AZD1208 は、PIM1、PIM2、PIM3 の 3 種類の PIM キナーゼ阻害剤である。

3. 治験の主要評価項目

進行固形悪性腫瘍患者及び悪性リンパ腫患者に AZD1208 を経口投与したときの安全性及び忍容性を最大耐用量（MTD）に達するまで検討し、今後の臨床評価に用いる用量を決定する。

4. 治験の副次評価項目

AZD1208 を経口投与したときの単回投与後及び反復投与後の定常状態での AZD1208 の薬物動態（PK）を検討する。又、AZD1208 の抗腫瘍効果を検討する

5. 治験の探索的評価項目

血管新生、細胞死、細胞浸潤、並びに抗腫瘍効果及び毒性との関連性が考えられる循環血中のバイオマーカーに対する AZD1208 の作用を検討する。AZD1208 に対する薬物動態、忍容性及び有効性に影響する可能性のある遺伝子／遺伝子変異を探索する。AZD1208 投与後の薬力学的バイオマーカーの変化量を測定する。AZD1208 投与後の循環血中腫瘍細胞数（CTC 数）の変化、並びにその変化と抗腫瘍活性との関連性を検討する。

6. 国内規制当局からの情報収集

First in Human 試験を、海外施設と、同一プロトコルで、同一治験のパッケージをして行うことは国内において稀である。治験の結果を、将来国内での承認申請資料として用いることを想定して、いくつかの問題点について、国内規制当局から情報収集を行い調整した。

7. 治験依頼者、および 共同研究者とのコンセンサスミーティング

治験依頼者、および 共同研究者とコンセンサスミーティングを行い、プロトコルの作成、基準の解釈、治療、研究内容などについてすり合わせを行い、情報を共有化した。

D. 考察

【Olaparib臨床試験：医師主導治験

（早期臨床開発）】

再発・転移性のトリプルネガティブ乳癌におけるオラパリブの併用化学療法はエリブリンと設定した。治験実施施設と協議を重ねエリブリンとの

併用療法の治験は過去に実施されていないため Phase I/II 試験とし、用量検討は4段階（開始用量 25mg 1日2回）と設定した。また医師主導治験における検討として、オラパリブの薬物動態を設定し、エリブリンの薬物動態・PARP の薬力学、バイオマーカーの検討は付随する臨床研究として実施することが妥当と判断した。2011年4月25日、アストラゼネカ社より正式に当該医師主導治験に対する未承認薬オラパリブの提供が許可されたため、プロジェクトを再開した。

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

【PIM阻害剤臨床試験：企業主導治験

（グローバルFirst in Human 第I相試験）】

PIM キナーゼは、新規のがん遺伝子である。多くのヒトの癌で強発現をみとめ、予後不良因子となっている。国内の第I相試験は、海外で既に後期開発に導入されている時点で施行されることがほとんどであり、ドラッグ・ラグの原因となる。本試験は、非臨床試験から、ヒトに初めて投与される First in Human 試験として行われる。又、海外と同時進行であるだけでなく、同一のプロトコルの中で、国立がん研究センター中央病院と、英国、Christie Hospital との間を行われることに意味がある。Global First in Human 試験の経験を積み、基盤を整備し、人材を育成する。

E. 結論

治療抵抗性再発・転移性のトリプルネガティブ乳癌に対する医師主導治験として、オラパリブとエリブリンの併用療法による Phase I/II 試験を、治験実施施設及びデータセンターと立案した。また、治験調整事務局の機能整備、治験実施施設の試験実施体制の整備、付随するバイオマーカー研究に関して国立がん研究センター研究所と研究体制整備を進めた。

PIM 阻害剤の First in Human 早期臨床試験を海外と同一のプロトコルで施行する。対応する情報交換、基盤整備、海外との電話会議、国内規制当局からの情報収集などを行った。平成24年度7月より開始予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Doi T, Murakami H, Ohtsu A.	Phase 1 study of conatumumab, a pro-apoptotic death receptor 5 agonist antibody, in Japanese patients with advanced solid tumors.	Cancer Chemother Pharmacol	68(3)	733-741	2011
Kaneko K, Nagai M, Murakami Y, Kogo M, Oyama T, Kojima T, Ohtsu A, Imawari M.	TS gene tandem repeats in esophageal cancer patients receiving chemoradiotherapy.	Front Biosci.	16	1036-1043	2011
H Bando, T Yoshino, K Tsuchihara, N Ogasawara, N Fuse, T Kojima, M Tahara, M Kojima, M Tahara, M Kojima, Kaneko, T Doi, A Ochiai, H Esumi and A Ohtsu.	KRAS mutations detected by the amplification refractory mutation system-Scorpion assays strongly correlate with the therapeutic effect of cetuximab.	Br J Cancer.	105(3)	403-406	2011
Ohtsu A, Shah M, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK.	Bevacizumab in Combination With Chemotherapy As First-Line Therapy in Advanced Gastric Cancer: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Study.	J Clin Oncol	29(30)	3968-3976	2011
Al-Batran SE, Dumreux M, Ohtsu A.	mTOR as a therapeutic target in patients with gastric cancer.	Int J Cancer,	130(I3)	491-496	2012
Y Matsumura.	Preclinical and clinical studies of NK012, an SN-38-incorporating polymeric micelles, which is designed based on EPR effect.	Adv Drug Deliv Rev	63(3)	184-192	2011

<u>M Yasunaga,</u> <u>S Manabe,</u>	New Concept of Cytotoxic Immun conjugate Therapy Targeting Cancer-Induced Fibrin Clots.	Cancer Sci.	102	1396-1402	2011
<u>M. Yasunaga,</u> <u>S. Manabe,</u> <u>D. Tarin, Y. Matsumura.</u>	Cancer-stroma targeting therapy by cytotoxic immun conjugate bound to the collagen 4 network in the tumor tissue.	Bioconjug Chem	22	1776-1783	2011
<u>R Plummer, Y Matsumura,</u> et al.	A phase I clinical study of cisplatin-incorporated polymeric micelles (NC-6004) in patients with solid tumors.	Brit J Cancer	104	593-598	2011
<u>N Katori, Y Matsumura,</u> et al.	Genetic variations of orosomucoid genes associated with serum alpha-1-acid glycoprotein level and the pharmacokinetics of paclitaxel in Japanese cancer patients.	J Pharm Sci,		22648	2011
<u>C Tanai, Y Matsumura,</u> et al.	Characteristics and Outcomes of Patients With Advanced Gastric Cancer Who Declined to Participate in a Randomized Clinical Chemotherapy Trial.	Journal of Oncology Practice	7(3)	148-154	2011
<u>K Kato, Y. Matsumura,</u> et al.	Phase II study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, for previously treated advanced or recurrent gastric cancer.	Invest New Drugs,		published online	2011
<u>Y Saito, Y Matsumura,</u> et al.	The inhibition of pancreatic cancer invasion-metastasis cascade in both cellular signal and blood coagulation cascade of tissue factor by its neutralization antibody.	Eur J Cancer.	47	2230-2239	2011

<u>Y Matsumura</u>	Cancer stromal targeting (CAST) therapy.	Adv Drug Deliv Rev.	64	710-719	2012
<u>Takahashi R</u> , <u>U, Takeshita F</u> , <u>Fujiwara T</u> , <u>Ono M</u> , <u>Ochiya T.</u>	Cancer stem cells in breast cancer.	Cancers	3	1311-1328	2011

LIMIT
M-225