

の欧州情報との相同と 2 用量での用量 vsAUC 若しくは Cmax の比例関係の有無の確認に異議を求めている。薬理的には定量的な変動が期待できるか不明であり、PAI-1 の低下と tPA の増加など臨床的に確認されている凝固・線溶系の変動プロファイルが日本人で再現され、安全に投与できれば、薬効の必要条件を満たすと考えることとした個々の検査値自体の変動幅の意義は不明、かつ個々の検査値のみで臨床効果の代替指標として成立しないことからプロファイルとして評価する。結果、用量反応についての線形確認をすることが目的でないことから 3 用量設定しなかったと回答記載についてコメントをいただきたい。

- ⑤ 健康成人における本治験薬の薬物動態等のプロファイルを検討し、海外データとの比較により民族間に差がないことを確認したい。当該事項の検討の際には、薬物による安全制及び有効性に関連したマーカについても検討予定である。薬物プロファイルの差違が認められた場合も、当該安全性マーカの変化が許容可能である場合には、海外と同一用量での第 II 相試験の用量設定方法の適切性について意見をいただきたい。

(倫理面の配慮)

薬事戦略相談に関する支援に際しては、薬事法第 14 条第 3 項および第 80 条の 2 の規定ならびに平成 9 年 3 月 27 日付厚生省令第 28 号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(改正 GCP。最終改正：平成 20

年 2 月 29 日厚生労働省令第 24 号) を遵守し、倫理的な観点から十分な検討を行った。

### C. 研究結果

PMDA から以下の回答を受領した。

- ① 開始することに特段の問題はない。なお、CMC 関連資料並びに品質関連資料について PMDA に情報提供する必要がある。
- ② ブリッジングの可否を判断するためには、ブリッジング試験において用量反応関係の類似性も検討する必要がある。従って国内第 II 相試験及び EPP 試験における 1 用量のみの検討結果から肝中心静脈閉塞症治療に関する海外第 III 相試験及び EPP 試験の成績を ICH-E5 (R1) ガイドラインに則ったブリッジング戦略により日本人における有効性の主たる根拠として外挿することはできないと考える。しかしながら対象患者の数がきわめて限られておりかつ VOD が急用な疾患であることから国内での翻訳の有効性について検証可能なデザインの臨床試験を実施することは困難であることを考慮すると、海外の臨床試験成績を利用した開発を行うためにいくつかの点に留意して国内での VOD 治療及び予防の臨床試験の試験デザインを検討する必要がある。
- ③ 国内第 I 相試験において、海外と同様の測定方法で測定した物質の薬物動態の結果を、海外と同一用量で国内第 II 相試験を実施することの妥当性を判断する為の根拠の一つとして利用することは

可能と考える。

- ④ 国内外の第 I 相試験における同一用量は 6.5mg/kg のみであることもあり、2 用量の検討では日本人での AUC 又は C<sub>max</sub> の線形性（用量との比較関係）の有無の確認については 2 用量での検討では十分とはいいがたい。しかしながら、これらに関する国内外の結果の比較には限界がある。また、これまでに得られた情報を基に 25mg/kg/day を国内第 II 相試験の検討用量とすることを想定し、国内第 I 相試験では、その 1 回用量（6.25mg/kg）を想定し安全性に最大限配慮して、さらに半量の 3mg/kg から開始することとした説明を踏まえるところの 2 用量で検討することは受け入れ可能である。

- ⑤ 薬物動態や約力学的マーカの国内外の結果の比較には限界があると考えられるものの、国内第 I 相試験において検討される約力学的マーカ、薬物動態及び認容性の結果が海外臨床試験の結果と少なくとも異なることが確認され、安全性マーカが事前に規定した範囲内である場合には、海外試験及び EPP 試験と同一の用量で国内第 II 相試験を実施することは可能である。ただし、国内第 I 相試験のいずれかの評価項目において、海外臨床試験の結果と異なる結果が得られた場合には内因性要因の民族差が存在する可能性を示唆する結果でないか十分に検討した上で、日本人における本薬の至適用量を再検討する必要がある。

#### D. 考察

PMDA からの回答に沿うデザインでの試験計画を立案するよう各分担研究者による検討を開始した。

#### E. 結論

いくつかの条件が付されたものはあるものの、PMDA の回答について了解した。

#### 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  
なし
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（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の国内導入のための研究：第 I 相および第 II 相試験（医師主導治験）に関する研究  
分担研究課題「治験事務局、小児領域の調整、小児領域の移植」

研究分担者 小川 千登世

公立大学法人福島県立医科大学 ふくしま国際医療科学センター

医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 助手

研究要旨

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の国内導入のために医師主導治験として第 I 相および第 II 相試験を行うために研究責任者の研究統括業務を補助し、治験事務局として研究体制整備を行った。具体的には 7 月に医薬品医療機器総合機構にて治験開始の可否ならびに治験デザインについての医薬品戦略相談対面助言を行い、第 I 相試験デザインを決定した。また、治験事務局として、データセンターの選定、効果安全性評価委員会の設置、薬物動態に関わる薬物測定委託先選定、モニタリングおよび監査の委託先選定などの研究総括業務補助を行った。また、第 II 相試験における小児領域の移植施設選定および体制整備を行った。

A. 研究目的

造血細胞移植の致死的合併症である肝中心静脈閉塞症（VOD）に対し唯一の治療/予防薬で欧米標準薬である defibrotide について医師主導治験を実施し、日本人での薬物動態、安全性有効性を検討、薬事承認を含めた一般化を目指す。

B. 研究方法

1. 薬物動態の類似性および高い安全性の確認を目的に健康成人第 I 相試験

を計画、治験実施体制を構築し、平成 24 年度中の治験届け提出、治験開始となるよう治験調整事務局業務を実施する。

2. 欧州 EMA 申請の pivotal である EPP 試験を最大限に利用した小児および成人造血細胞移植患者に対する予防投与の第 II 相+臨床薬理試験実施にむけ、試験計画策定のため、海外治験薬提供者および国内分担研究者との会議を開催し、治験計画検討な

らびに治験実施体制の整備を行う。  
(倫理面への配慮)

本治験は本治験実施計画書、薬事法第14条第3項および第80条の2の規定ならびに平成9年3月27日付厚生省令第28号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(改正GCP。最終改正：平成20年2月29日厚生労働省令第24号)を遵守し、医師主導治験として実施し、実施に際しては、ヘルシンキ宣言の倫理的原則を遵守して、被験者の人権、福祉および安全を最大限に確保する。患者に治験関連の費用負担はなく、GCPに従い治験保険の加入下で実施する。

#### C. 研究結果

1. 治験事務局として、治験体制の構築  
(治験実施施設選定、データセンターの選定、効果安全性評価委員会の設置、薬物動態に関わる薬物測定委託先選定、モニタリングおよび監査の委託先選定等)業務を行い、治験実施体制を整備した。
2. 第I相試験デザインにつき平成24年4月11日に医薬品医療機器総合機構にて実施した事前面談における助言に基づき、薬物動態の類似性および高い安全性の確認を目的に健康成人第I相試験を計画した。7月13日の対面助言において治験開始の可否ならびに治験デザインについての助言を経て第I相計画を固定、平成24年11月20日に治験届け提出、治験を開始した。

3. 欧州EMA申請のpivotalであるEPP試験を最大限に利用した小児および成人造血細胞移植患者に対する予防投与の第II相+臨床薬理試験実施にむけ、試験計画策定のため、海外治験薬提供者および国内分担研究者との会議を開催し、治験計画の検討補ならびに治験実施体制の整備を行った。また、第II相試験における小児領域の移植施設選定および体制整備を行った。

#### D. 考察

科学研究費による医師主導で健康成人第I相、第II相試験全ての体制を構築・管理して行う未承認薬に対する臨床開発は前例がない。欧米でのVODに対する予防・治療の標準薬でありながら国内未承認薬であるdefibrotideの国内導入に向け、本研究における医師主導治験実施は、オープン薬解消の一つのモデルにもなりうる。

次年度以降も、患者対象の第II相試験の計画策定および治験実施体制整備を行い、薬事承認を含めた一般化を目指す。

#### E. 結論

本邦未承認薬defibrotideの国内導入のために医師主導治験治験実施体制を構築し、第I相試験の治験届けを提出、治験を開始した。第II相試験計画も策定中である。

#### 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

なし

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（医療技術実用化総合研究事業）  
分担研究報告書

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の  
国内導入のための治験の試験計画・統計解析に関する研究

研究分担者 吉村 健一

京都大学医学部附属病院 探索医療センター検証部 特定助教

研究要旨

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症に対する本邦未承認薬 defibrotide の国内導入のために実施する治験において検討すべき統計的事項、及びその際に利用する試験デザインについて統計的観点から検討を行うと共に、本薬に関する開発戦略について整理を行った。その結果として本薬の取り巻く状況にあわせた適切な治験の計画を立案することができた。

A. 研究目的

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（以下 VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide（以下本薬）の国内導入のために実施する治験において検討すべき統計的事項、及びその際に利用する試験デザインについて統計的観点から検討を行うと共に、本薬に関する開発戦略について整理を行う。

B. 研究方法

造血細胞移植における VOD が一定の条件下で稀少性を認めるべき重篤な疾患として位置付けられることを前提とする。その下で国内導入を行う際に必要となる要素について整理を行い、治験として実施する第 I 相試験および第 II 相試験において収集されるデータで評価・検討すべきデータにつ

いて検討を行う。

（倫理面の配慮）

治験の試験計画及び統計解析に関する検討に際しては、薬事法第 14 条第 3 項および第 80 条の 2 の規定ならびに平成 9 年 3 月 27 日付厚生省令第 28 号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（改正 GCP。最終改正：平成 20 年 2 月 29 日厚生労働省令第 24 号）を遵守し、倫理的な観点から十分な配慮を行う。

C. 研究結果

造血細胞移植における VOD が一定の条件下で稀少性を認めるべき重篤な疾患として位置付けられることを前提とすると、国内で本薬の有効性について検証可能なデザインの臨床試験を実施することが困難である

と考えられる。この点を考慮すると、本薬の有効性が示された海外の臨床試験成績を利用して開発せざるをえないものと考えられる。国内での VOD 治療および予防の臨床試験の試験デザインを検討する上では以下の点に留意する必要がある。

- ・ 国内で本薬の VOD 予防における有効性を検証可能な臨床試験の実施が困難であるとすると、安全性を主要評価項目として評価せざるをえない。一方、有効性についても一定の精度で検討できるように国内データを収集する必要がある。
- ・ 更に実施可能性の観点で困難がある VOD 治療における本薬の有効性及び安全性については、最低限としてこれらが示唆される結果を得る必要がある。具体的には、統計学的根拠に基づいた症例数設計は困難であるため、適切な評価項目を事前に設定することは必須とするものの、1 例 1 例の詳細な情報収集を行うべき状況である。
- ・ 海外臨床試験成績を本邦における有効性及び安全性を評価するためのデータとして利用するにあたって問題となる国内外の内因性及び外因性の民族的要因の差異については、今後得られる情報も踏まえて引き続き検討する必要がある。

更に最初の開発段階として実施する国内第 I 相試験の計画・実施においては特に以下の点に留意する必要がある。

- ・ 国内第 I 相試験は健康成人を対象とし

て実施する。

- ・ 海外と同一用量で国内第 II 相試験を実施することの妥当性を評価するために、国内第 I 相試験でも海外試験と同様の測定方法を用いて物質の薬物動態を測定する。
- ・ 国内第 I 相試験において、被験者の安全性に最大限配慮して、目標としている 1 回量 (6.25mg/kg) の半量となる 3mg/kg から開始する。
- ・ これまでの本邦での本薬の使用経験を踏まえて、反復投与試験デザインによる検討は必ずしも要さないと考えられる。

#### D. 考察

本分担研究では、造血細胞移植における VOD に対する本薬の国内導入のための治験において検討すべき統計的事項、及びその際に利用する試験デザインについて統計的観点から検討を行うと共に、本薬に関する開発戦略について整理を行った。この結果については本邦の規制当局である (独) 医薬品医療機器総合機構 (PMDA) とも合意することができた。

ここでは、実際の平成 24 年度の本薬を取り巻く状況として、海外試験成績が利用可能な場合を前提に整理を行ったが、海外試験成績が利用可能でない場合においても同様の整理が利用可能であるかもしれない。例えば、本薬の海外試験成績の信頼性についての最新の状況により、試験成績の追加の必要性について検討されているところで

あるが、そのような場合において新たに国際共同治験を計画・実施する際にも本分担研究で整理した事項については同様に留意すべきである。

ここでは本薬に限定して、特定の状況においての整理を行った。しかしながら、小児がん領域においては、本対象疾患と同様に一定の条件下で稀少性を認めるべき重篤な疾患として位置付けられるものは多く、本研究で整理・検討を行った要素は、より広く一般性を有するものと考え。同様の疾患に対して、治療開発戦略を検討する際にも同様のアプローチで検討が可能であると考え。

#### E. 結論

造血細胞移植における VOD に対する本薬の国内導入のために実施する治験において検討すべき統計的事項、及びその際に利用する試験デザインについて統計的観点から検討を行うと共に、本薬に関する開発戦略について整理を行った。その結果として本薬の取り巻く状況にあわせた適切な治験の計画を規制当局とも合意可能なかたちで立案することができた。

#### 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  
なし
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（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

健康成人に対するデフィブロタイド（DF）の安全性試験および薬物動態試験に関する研究

研究分担者 木村 利美

東京女子医科大学病院 薬剤部 薬剤部長

研究要旨

日本人健康成人男性を対象とする DF の薬物動態は、DF3mg/kg および 6.25mg/kg において線形性を示し、速やかに代謝することが予想される。薬物動態試験の採血は点滴開始直前、投与開始後 1h, 2h (終了直前), 投与終了後 5 分, 15 分, 30 分, 60 分 (計 7 ポイント) で実施し、最高血中濃度 (Cmax)、およびその到達時間 (Tmax)、投与開始後 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC<sub>0-24</sub>)、半減期 (T<sub>1/2</sub>)、無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC<sub>0-∞</sub>)、全身クリアランス (CL)、分布容積 (Vd) を算出・比較することが可能。

A. 研究目的

デフィブロタイド (DF) はブタの腸管組織の DNA の脱重合によって得られた平均分子量が 17±3kDa、その 40%が 50mer の一本鎖のポリデオキシリボヌクレオチドの混合物である。全身性の抗凝固作用を示さずに、線溶系の亢進や抗血栓作用、抗虚血作用、抗炎症作用などによる内皮保護作用を示し、1986 年に深部静脈血栓症 (DVT) の予防ならびに血栓性静脈炎の治療薬としてイタリアで承認されている。それらの薬理作用と低毒性であることから、致死性の高い肝中心静脈閉塞症 Venous Occlusive Disease (VOD) に使用されるようになり、米国医薬品食品局 (FDA)、欧州医薬品庁 (EMA) において VOD のオーファン指定がなされている。国

内でもその有用性が認識され個人輸入による使用実績があり、国内導入のための各種承認試験が必要である。

本研究では、健康成人に対する DF の適切な薬物動態試験の実施方法を検討する。

・主要目的

日本の健康成人における DF の体内薬物動態を評価するための適切なサンプリングポイントを検討する。

B. 研究方法

- ・ DF 投与時の薬物動態に関するデータ調査
- ・ DF 既報における薬物動態パラメータの解析
- ・ DF 薬物動態解析の至適採血プロトコール

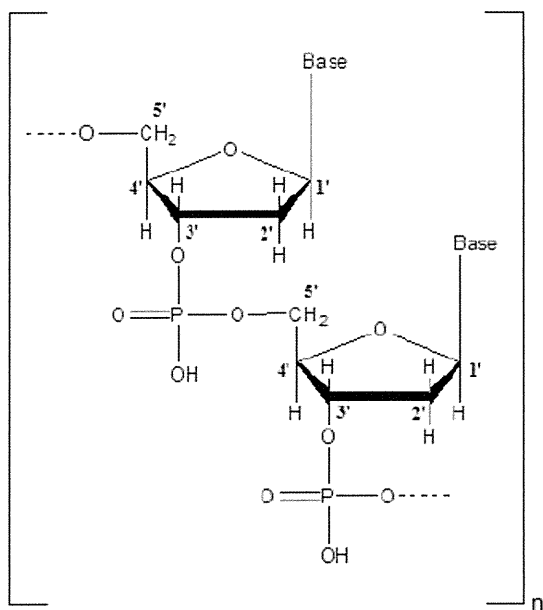
(倫理面の配慮)

薬物動態試験の実施方法に関する検討に際しては、薬事法第 14 条第 3 項および第 80 条の 2 の規定ならびに平成 9 年 3 月 27 日付厚生省令第 28 号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（改正 GCP。最終改正：平成 20 年 2 月 29 日厚生労働省令第 24 号）を遵守し、倫理的な観点から十分な配慮を行った。

### C. 研究結果・D. 考察

・DF 投与時の薬物動態に関するデータ調査

DF は下図の構造式を有するオリゴヌクレオチドであり、人肝ミクロソームを用いた *in vitro* の試験では主な CYP450 (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4) 阻害を示しておらず、薬物間相互作用は報告されていない。



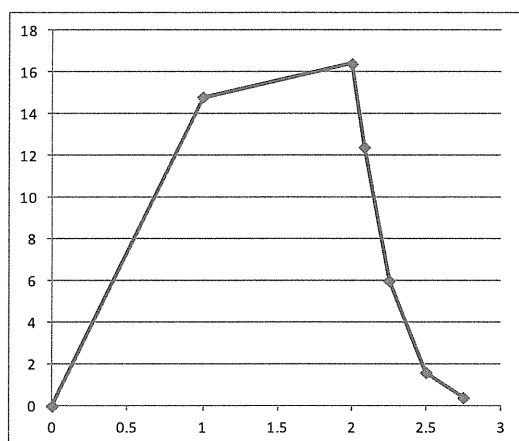
論文報告されている DF の 5 人の健常成人における急速静注時の薬物動態パラメータの報告は 1 コンパートメントモデルに従い、9.8 min (0.5mg/kg), 14.2 min (4mg/kg), 21.1min (16mg/kg)、定常状態への到達時間 90～120min [Haemostasis. 1986;16 Suppl 1:26-30]、健常人と透析患者との比較試験 (3.5, 15, 30, 45, 60, 90min) ではそれぞれの  $\alpha$  相  $\beta$  相が、1.13min, 16.54min ならびに 3.79min, 41.4min などである [Minerva Med. 1991 Dec; 82 (12): 853-7]。

これらのデータに加えて Gentium 社は 52 例の健常男子・女子を対象とし、心毒性試験の一部として薬物動態試験を実施している。6.25mg/kg および 15mg/kg の投与量, 120 分点滴における試験時の採血は投与開始前、投与開始後 1, 2hr, 点滴終了後 5, 15, 30, 45, 60min, 1.5, 2, 4, 10, 16, 21hr で実施された。

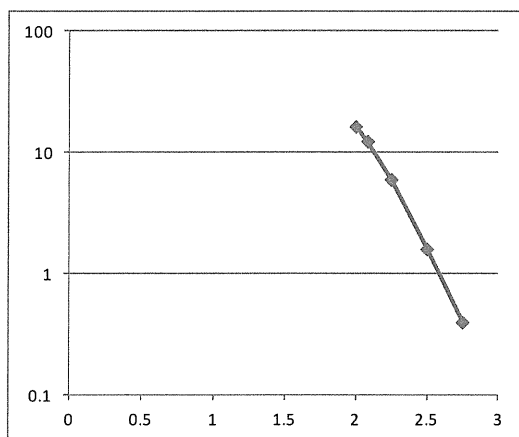
観測されたクリアランス (CL) はそれぞれ  $10.35 \pm 1.77$  と  $9.76 \pm 1.65$  (L/hr) でほぼ等しく、AUC は  $48.14 \pm 6.49$ ,  $113.59 \pm 23.54$  ( $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{mL}$ ) でほぼ線形であり、分布容積 (Vd) はそれぞれの投与量において  $0.99 \pm 3.8$  と  $0.62 \pm 2.5$  (L)、半減期 ( $T_{1/2}$ ) は  $0.71 \pm 0.35$ ,  $0.45 \pm 0.17$  (hr) であった。またほとんどが尿中に 4 時間以内に排泄されている。

・DF 既報における薬物動態パラメータの解析

【図 1】



【図 2】



上記報告に基づいた血中濃度を実数【図 1】ならびに対数【図 2】に変換してプロットした図を示す。

【図 1】から算出できる薬物動態パラメータは最高血中濃度 ( $C_{max}$ )、およびその到達時間 ( $T_{max}$ )、 $T_{1/2}$ 、投与開始後 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_{0-24}$ )、無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 ( $AUC_{0-\infty}$ )、 $CL$ 、 $V_d$  等であり、日本における薬物動態試験においても同様のパラメータ算出を行い比較検討が可能であると考えられた。

また片対数における消失はほぼ直線を示し、コンパートメント解析においては 1 相性であることが分かる。

・DF 薬物動態解析の至適採血プロトコール  
日本における DF 薬物動態試験の投与量は  $3\text{mg/kg}$  と  $6.25\text{mg/kg}$  の 2 用量とし、シリジポンプにて  $12.5\text{mL/h}$  (120 分) で投与する試験である。

上述した薬物動態試験は、投与開始前、投与開始後 1, 2hr, 点滴終了後 5, 15, 30, 45, 60min, 1.5, 2, 4, 10, 16, 21hr で実施されている。物質がオリゴヌクレオチドであり、生体内で速やかな代謝を受けていることから、日本人における代謝も速やかであることが推察され、被験者の精神的・身体的苦痛・拘束を考慮するとより適切な指摘採血プロトコールの検討が必要である。

投与前のコントロールとして投与直前値の採血は不可欠である。また、半減期が極めて短いため、終了直後ではなく、終了直前値 (2hr) を採血することが望ましいと考えられる。

消失相は海外データより 1 相性と考えられるが、仮に 2 相性を示すことも考慮し、投与終了後 5min, 15min, 30min, 60min の採血により、終了直後から 5 ポイントの採血が得られるため、十分な薬物動態情報が得られると考えた。

日本人における薬物動態試験において、適切と考えられる全採血ポイントは、0h, 1h, 2h, 終了後 5 分、15 分、30 分、60 分 (計 7 ポイント)、測定パラメータは  $C_{max}$ 、 $T_{max}$ 、

AUC<sub>0-24</sub>、T<sub>1/2</sub>、AUC<sub>0-∞</sub>、全身クリアランス、分布容積である。

補足 1) 用量設定および単回投与試験について

これまで欧米での臨床試験および compassionate use で使用された DF の使用実態において、体重あたりの投与量は 10mg/kg/day~80mg/kg/day と様々ではあるものの、多くは 25mg/kg/day または 40mg/kg/day であった。ヒトにおいて用量反応性を検討する十分な情報はない。しかし、用量探索のためのランダム化第 II 相試験結果では、25mg/kg/day (分 4) と 40mg/kg/day (分 4) での主要評価項目である完全寛解割合、副次評価項目である生存割合や有害事象発生割合に差はなく、この 2 用量を連続投与中の day1, 2, 7 のサンプルの血漿中 DF 濃度はほぼ 200 μg/ml で一定であり、動物での研究で導かれた治療量と一致したことから、25mg/kg/day は既に効果としては最大化されている可能性が高いと考えられた。この結果を元に、本邦での患者を対象とした DF による VOD 予防および治療の治験 (第 II 相試験) においても、投与量は欧州での試験と同様の 25mg/kg/day とする予定である。

以上より、健康成人を対象とした第 I 相試験である本治験も、当初 25mg/kg/day 4 分割投与の 1 回量である、6.25mg/kg の 1 用量での実施を検討したが、本薬の既報告試験の対象にはモンゴロイドはほとんど含まれていないと考えられることから、安全

性を最大限に考慮し、約半量 (3mg/kg) での第 1 コホートを実施、粗解析にて安全性確認を実施後に、目標用量 (6.25mg/kg) での第 2 コホートを実施することとした。

また、本薬は患者対照の治験、および、本邦で上市された後の使用においては、既報告の海外臨床試験同様、1 回 2 時間投与、6 時間毎に 1 日 4 回投与を予定している。しかし、DF の消失半減期は短く、複数回投与による AUC の増加もなく蓄積性はないと報告されているため、本正常健康人における第 I 相試験においては単回投与で薬物動態の民族差が存在しないことのみを確認し、複数回投与を行わないこととした。

補足 2) DF 血中濃度測定法について

HPLC 法を用いる。

## E. 結論

欧米の薬物動態試験を基に日本人における薬物動態試験の適正化を図れ、ノンコンパートメントモデルおよびコンパートメントモデルに基づいた DF の薬物動態の特徴を検討することができる。

## 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

なし

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（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の  
国内導入のための研究：第 I 相および第 II 相試験（医師主導治験）に関する研究

分担研究課題「薬物濃度測定系の確立と実施に関する研究」

研究分担者 田中 千賀

独立行政法人国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 医員

研究協力者 河本 博

独立行政法人国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 医員

研究要旨

今年度は、欧米推奨用量を国内推奨用量として採用する妥当性確認を目的とする第 I 相試験を実施する。単回投与で安全性が確認できること、欧米との類似性確認を目的として薬物動態試験も同時実施する。Defibrotide（DF）の薬物動態測定方法の同定と確立および薬物測定の実施が本研究分担である。

薬物測定系は、長時間・過酷条件となる海外輸送における安定性の確保が困難であり、欧州で確立している測定系は常に維持されているわけではなく、検査精度も高いといえないこと、測定会社との契約や臨床サンプル送付手続きも煩雑であることから、国内で樹立することとした。

DF がブタ小腸 DNA の酵素分解断片で、分子量にも大きな幅があることから、薬物濃度測定系確立には困難を極めた。しかし、欧米での測定方法を検討し、カラムの取り寄せや、測定濃度範囲を絞ることで、再現性のある薬物濃度測定方法を確立することができた。

第 I 相では低用量と推奨用量の 2 用量を増量試験として実施するが、用量レベル変更前に薬物血中濃度が高くなく、かつ、血中に検出されている（投与）ことを確認、効果・安全性評価委員会承認を行う事としている。今年度は 3mg/kg 投与時の仮測定を行い、想定通り、担保精度以下の 7-9 $\mu$ g/ml であった。

A. 研究目的

以下の様な背景から、本分担研究では薬物濃度測定系の確保と実施を目的とする。

・本研究全体の戦略：

本研究では、Defibrotide（DF）について、投与量の安全性・妥当性確認を健康成

人第 I 相+臨床薬理試験で、患者対象での安全性・有効性を承認前後期試験+小児臨床薬理試験で確認し、これら 2 試験で承認申請臨床パッケージを作成することを目的としている。DF は国内未承認であるものの、現在まで EMA、FDA とともに VOD 治療/予防ともにオーファン指定があり、実地臨床使用歴が豊富で、最近 5 年程度で、主に欧州を中心とした比較的大規模治験が複数実施された。このため EMA 承認申請中であり、既に一定の安全性と有効性が確立しているという良い状況にある。国内では製剤価格が安価であった 2005 年くらいまでは個人輸入実績は多少あるものの、国内実績はない。そのため、上記の通り国内成人第 I 相を含む 2 試験を設定して、欧州エビデンスの利用を前提とした承認戦略を採ることになっている。これは PMDA と合意しているところである。

・ 第 I 相試験のデザインと薬物動態試験の必要性：

今年度は第 I 相試験を実施したが、ここでの用量探索は、欧州推奨用量（小児 VOD ハイリスク患者への予防投与量試験でも用いられ、本研究でも同量を想定している 6.25mg/kg/回 1 日 4 回）の確認を目的とした。DF の欧米で知られる薬物動態（R09-1425 試験）より、6.25mg/kg、15mg/kg の投与量について  $T_{max}$  は  $1.78 \pm 0.42h$ 、 $2.00 \pm 0.01h$  であり、Clearance が 10l/hr と高く  $T_{max}$  程度で検出限界（ $1 \mu g/ml$ ）となることから、継続内服による

薬剤の体内蓄積を考慮することがないとして、1 回投与により十分に毒性評価ができると考えて第 I 相デザイン設計がなされた。なお、第 I 相実施施設（梅村研究分担者）での、他の酵素製剤での治験で、欧米情報と比較して出血傾向が強いという結果になったなどもあり、民族間差が存在する可能性に配慮して、約半量（3mg/kg）投与レベルで安全性確認後に、欧米推奨量での安全性確認をすることとなった。また、凝固/線溶系マーカーの変動がないことを、検査の値が日内変動することを考慮してプラセボ対照（2 例）を含む 10 例コホートでの検討とした。

Clearance の欧米情報を元に第 I 相デザインの設定を行っているため、国内症例での薬物動態パラメータの同定により設定の妥当性を確認することが必須である。また、薬物動態の欧米との類似性が確認できれば推奨用量の適切さを補強することも可能となる。そのため第 I 相には薬物動態試験も含めた。このために薬物測定の実験が生じている。

## B. 研究方法

本研究分担では、以下のように研究を実施した。

- ① 薬物濃度測定系を国内で樹立する必要性の検討
- ② 薬物濃度測定系樹立
- ③ 薬物濃度測定（第 I 相中、増量前に実施する仮測定）

(倫理面への配慮)

①、②については直接臨床研究ではないため、ヒト特異的な倫理面での配慮はない。③についても臨床サンプルを使用するのみで、適切なサンプルの扱いのみが問題となる。今年度は仮測定のみで正式なバリデーションを行う本測定は来年度おこなうため、残検体破棄はしないで保存しているが、検査完了にて患者検体破棄を試験実施計画書では明記している。

### C. 研究結果

#### ① 薬物測定系の樹立決定の理由

以下の理由から試験精度維持には国内での薬物測定系の樹立が適切と決定するに至った。

1. DF はブタ小腸の DNA 断片からなりそれほど安定でないことが想定される。このため欧州測定機関依頼の場合は、長時間の海外輸送には長期の安定性試験や過酷試験が必要となり、欧州測定機関との長時間の調整が必要となる。
2. 常に欧州でも測定系を維持しているわけではなく、欧州でも測定系は再樹立が必要となること、またパテントの問題から測定会社との交渉に欧州治験薬製造元などの契約や手続きも国内樹立に比して煩雑となる。

#### ② 薬物濃度測定系の樹立

DF は、ブタ小腸の酵素分解による自然の DNA 断片であるため、分子量にも大きな

幅があるため、薬物濃度測定系確立には困難を極めたが、最終的には、R09-1425 で得られている 6.25mg/kgCmax (17  $\mu$ g/ml) が確実に測定可能な 10  $\mu$ g/ml 以上で安定な測定を可能とする系が確立できた。そのため半量レベルでの投与では検出感度以下 (精度担保が十分でない 5-10  $\mu$ g/ml) のため薬物濃度評価が困難となることが予想されたが、推奨量 6.25mg/kg での Cmax 測定は可能と判断し、試験開始とした。以下が、測定系開発の時系列的な経緯である。実作業は CRO (新日本科学株式会社) に委託して実施した。

#### < 測定系開発の経緯 >

研究分担者を通じて、欧州製造元の Gentium と新日本科学との間で material transfer agreement を締結し、新日本科学・薬物代謝分析センターに標準物質 DF を直接納入し、2012年10月までに HPLC-UV 法にて測定法の検討を開始した。

欧州で実施された測定法バリデーションの文献をトレースしたところ以下の様な問題が判明した。

- a. この測定法バリデーションの再現は可能だったが、文献通り、検量線が曲線のままで再現し、測定系としては十分な精度とはいえなかった。
- b. DF が DNA 断片の集合体であるためか、分析カラムが 100 回未満のアッセイで詰まって使用できなくなる (アッセイ回数がかかり限定される)。
- c. 文献にない分析カラムを用いると妨害ピークが DF の保持時間と重なり、



定量できない。

d. 別の測定法、核酸測定に有用なイオンペア試薬を用いた測定の検討でも、妨害ピークがDFの保持時間と重なり、定量できない。

c.、d. から分析カラムは欧州仕様のもので購入して実施する事に決定し、アッセイ可能回数は多く設定しないとして、a. に対して再現性のある検査法について検討を行うこととした。

これに対して、低濃度側でのDFのピーク面積が非常に低いことが問題であったこともあり、まず、カラム注入量を増加させるとピーク面積が増加することを確認することとし、注入量を10 $\mu$ L $\rightarrow$ 20 $\mu$ Lに変更して検討を行った。結果、1日目の測定において直線で検量線が作成することができ、2日目に検量線の再現性と日内再現性を確認することができた。3日目に検量線の再現性とキャリーオーバーについても直線で問題ないことを確認でき、再現性のある分析が可能となった。なお、3日目の時点(80本注入)で分析カラムが詰まったため、分析回数と注入量をこれを元に固定し、測定可能な血中濃度幅を検量線に合わせて、測定法バリデーションについてプロトコールを確定した。

3月7日までに以下の項目について測定バリデーションは実施した。このバリデーションにより、ヒト血漿中DF濃度測定法のバリデーション確立として、臨床サンプルの測定を行った。

・バリデーション項目：(今年度は1ヶ

月の安定性、計画では3、6ヶ月を計画(実施中))

特異性、直線性(検量線範囲：10 $\mu$ g/mL $\sim$ 300 $\mu$ g/mL、直線で重み付け：1/X)、日内及び日間再現性、希釈再現性、回収率、マトリクス効果、キャリーオーバー、オートサンプラー安定性、室温保存安定性、-20 $^{\circ}$ C及び-80 $^{\circ}$ Cでの凍結保存安定性、凍結融解安定性、標準溶液安定性。

### ③ 薬物濃度測定(第I相中、増量前に実施する仮測定)

本研究では、第I相では低用量と推奨用量の2用量を増量試験として実施するため、GLP準拠でバリデーションも行う本測定以外に、増量前に薬物血中濃度が高くなり、かつ、血中に検出されている(投与)ことを確認する仮測定を実施する事としている。この結果と安全性情報をあわせて効果・安全性評価委員会で推奨用量への増量コホートに進む承認を得ることを計画した。今年度はこの計画に従い、3mg/kg投与時の仮測定までを実施し、想定通り、投与し血液中に存在すること=検出はできたものの、担保精度以下の7-9 $\mu$ g/mlが確認された。

### D. 考察

未承認薬の第I相試験を行う上では薬物動態試験から多くの情報を得ることができる。本研究の場合、欧州での薬物動態パラメータの先行情報があるため、欧州推奨用量を国内推奨量としていく際に、国内

薬物動態パラメータが欧州のものと類似性を確認することは、妥当性への補強に役立つ。本研究では欧州－日本の成人間での類似性、続く患者対象の承認前試験の前半で成人－小児間の類似性を確認する事で、小児用量の最適化もこの薬物動態試験を利用する予定である。

このため、安定した薬物濃度測定系の確保は必須であるが、このとき多くの場合、臨床サンプルの安定性が問題となる。C. 研究結果の①のような理由で国内樹立したが、結果として、輸送や安定性試験の実施のコスト削減、確実な濃度測定の実施の確保などからは、より効率的であったと考える。

#### E. 結論

薬物濃度測定系を 6 ヶ月までの安定性試験を含めて、欧州よりも安定な系を国内樹立することができた。仮測定を実施したのみであるが、欧米の先行研究の結果に矛盾しない測定結果が得られた。

#### 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

なし

##### 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（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の  
国内導入のための研究：第 I 相および第 II 相試験（医師主導治験）に関する研究

研究分担者 梅村 和夫

国立大学法人浜松医科大学医学部附属病院 臨床研究管理センター

探索的臨床研究部門（TR） 部長

研究要旨

日本人健康成人男性を対象として、DF3mg/kg を 8 人に、またプラセボを 2 人に投与した。その結果、DF3mg/kg において、軽度の肝機能障害が認められたが、安全性に問題ないと思われた。次コホートの 6.25mg/kg に進むことが可能と思われた。

A. 研究目的

肝中心静脈閉塞症 Venous Occlusive Disease (VOD) は重症なものではその 8 割以上が死亡転帰をとる致死性の高い病態である。造血幹細胞移植後の比較的早期に生じることから、中等症の場合であっても他の合併症と併発することで結果として集中治療を要する事が少なくない。Defibrotide (DF) は 1986 年ごろから深部静脈血栓症 (DVT) 予防および血栓性静脈炎の治療薬として用いられていたが、2000 年頃に造血幹細胞移植後に生じる VOD に対する治療としての有効性が症例報告されて以来、世界的に急速に用いられるようになった。2003 年に米国医薬品食品局 (FDA) で治療についてオーファン指定が、欧州医薬品庁 (EMA) では 2004 年に治療と予防の両方でオーファン指定がなされ、compassionate use とし

て使用されている。日本でも緊急薬として認識され、個人輸入によって小児・成人ともに使用実績があり、現在も VOD に対する代替薬の出現をみないことから導入が強く望まれている。

・主要目的

日本の健康成人における DF の安全性を確認し、DF の体内薬物動態を評価する。

・副次目的

DF による線溶・凝固系への影響について評価する。

B. 研究方法

日本人健康成人男性を対象として、中央適格性確認による単施設プラセボ対照非ランダム化第 I 相試験および薬物動態試験を実施した。

DF3mg/Kg について、実薬 8 人＋プラセボ 2 人のコホートを設定した。DF は 2 時間をかけて、静脈内に投与した。

なお、PK 採血や管理上の問題および安全性にも配慮して、コホートで投与機会を 2 回以上に分けて実施し、1 回の投与人数が 6 人以上としないようにした。また、第 1 回目の投与は実薬 1 人＋プラセボ 1 人（計 2 人）、2 回目投与は実薬 2 人＋プラセボ 1 人（計 3 人）、3 回目、4 回目は実薬のみ各々 2 人、3 人とした。

また、2 回目の実薬投与は第 1 回の 1 人目の投与終了約 48 時間後に、安全性を確認後、次の被験者に投与を開始した。2 回目の投与間隔は 30 分間隔で、1 人目と 3 人目に実薬を入れることとし、したがって 2 回目の実薬の投与間隔は 1 時間であった。3 回目、4 回目は実薬のみの投与で、30 分間隔とした。プラセボとしては生理食塩水を使用した。

主要評価項目は、DF についての用量制限毒性の出現の有無とした。

副次的評価項目は、1) DF による有害事象プロファイル、2) DF の体内薬物動態、3) 体内線溶・凝固系因子とした。

#### B-1. GCP の遵守

本治験は本治験実施計画書、薬事法第 14 条第 3 項および第 80 条の 2 の規定ならびに平成 9 年 3 月 27 日付厚生省令第 28 号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（改正 GCP。最終改正：平成 20 年 2 月 29 日厚生労働省令第 24 号）を遵守し、医師主

導治験として実施した。実施に際しては、ヘルシンキ宣言の倫理的原則を遵守して、被験者の人権、福祉および安全を最大限に確保した。

#### B-2. 治験審査委員会（IRB）

実施医療機関の長は、本治験について、実施医療機関に設置された治験審査委員会（IRB）において審査された後に、審査結果に基づいて、治験実施を承認した。

#### B-3. 治験計画の届出

本治験においては、実施医療機関の長が治験審査委員会の意見に基づいて治験の実施を了承した後に、薬事法第 80 条の 2 に基づき実施医療機関の治験責任医師が“自ら治験を実施する者”として厚生労働大臣に治験の計画を届出た上で実施した。

#### B-4. 被験者の同意

##### 同意・説明文書の作成

治験責任医師は、治験への参加の同意を得るために用いる同意・説明文書およびその他の説明文書を作成した。これらの文書の使用にあたっては、あらかじめ治験審査委員会の承認を得た。

#### B-5. 説明事項

同意・説明文書には以下の事項を記載した。

- (1) 治験が研究であること
- (2) 治験の目的
- (3) 治験の方法（治験の試験的側面、被