

201231103A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の  
新規治療法開発

平成 24 年度 総括研究報告書

研究代表者 青木 正志

平成 25（2013）年 3 月

# 目 次

I. 総括研究報告書	1
研究代表者 青木 正志	
肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発	
II. 分担研究報告書	
研究代表者 青木 正志	
肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発	5
研究分担者 安達 喜一	
ALSを対象とする第II相臨床試験開始に向けた非臨床試験および原薬・治 験薬関連試験の実施	8
III. 研究者一覧	

# I . 総括研究報告書

## 肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発

研究代表者 青木 正志 東北大学神経内科 教授

### 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は全身の筋萎縮が進行し呼吸筋麻痺から死に至る過酷な疾患でありながら、有効な治療法のない神経難病の象徴的疾患とされている。世界的にALSの新規治療法開発が切望されて久しいが、国内外での治療研究や臨床試験の結果は絶望的で、これまで認可された薬剤はリルゾールが唯一だが十分な治療効果とは云い難い。東北大学神経内科では世界に先駆けて髄腔内投与が可能なALS動物モデル（ALSラット）の開発に成功した。一方、肝細胞増殖因子（HGF）は日本で発見された神経栄養因子であり、運動ニューロンに対する強力な保護作用が知られている。既に私達はこのALSラットモデルに対して組換えHGF蛋白質の髄腔内持続投与を行うことにより、明確な治療効果を臨床的かつ病理学的にも確認している。同モデルに対してALSの発症期からの投与であっても約63%の罹病期間延長効果があり、これまで報告されたALSモデル動物に対する治療実験の中でも最も良い成績である。

本研究グループは組換えHGFに関する特許や製造ノウハウを確保しており、世界に先駆けて平成23年にALS患者を対象とする第Ⅰ相臨床試験を東北大学病院にて開始した。このように、本研究グループはALSに対するHGFの臨床開発において世界をリードしており、第Ⅰ相臨床試験において髄腔内投与の安全性と薬物動態を確認した後は、速やかに第Ⅱ相臨床試験を実施し、ALS患者に対するHGFの有効性を確認することが必要である。本研究では、ALS患者での有効性を確認する第Ⅱ相臨床試験の治験申請に必要な非臨床試験（カニクイザルでの慢性毒性試験等）、組換えHGF蛋白質の原薬・治験薬製造、原薬のCMC試験（規格、分析試験等）を実施し、第Ⅱ相臨床試験の準備を進める。また、第Ⅱ相臨床試験のプロトコル開発を行うとともに、モニタリング・監査・データマネジメントの体制整備も進めている。

### 研究分担者

安達喜一（クリングルファーマ株式会社）

浅田隆太（京都大学医学部附属病院・探索医療センター・探索医療開発部）

### 共同研究者

加藤昌昭（東北大学病院神経内科）

割田 仁（東北大学病院神経内科）

豎山真規（東北大学病院神経内科）

阿部哲士、福田一弘、井上逸男（クリングルファーマ株式会社）

### A. 研究目的

本研究では、神経難病の象徴的疾患であるALSに

対して、わが国発のHGFを用いた治療法を開発をさらに推進する。本ALS治療研究は、1993年にSOD1遺伝子が家族性ALSの原因遺伝子として北米で発見され、日本からも申請者の青木が中心となり新たなSOD1遺伝子変異を報告した時に始まっている（Nature Genet, 1993）。これまでALS病態に関する仮説が多く提唱されてきた中で、SOD1異常は最も確実な病因の一つである。青木らは変異SOD1導入ALSラットを世界に先駆けて完成し、薬剤がALS病変に効率良く到達できる髄腔内投与法を初めてALSモデル動物で可能にした（J Neurosci, 2001）。このALSラットを用いHGF蛋白を髄腔内持続投与する治療法開発を行った結果、青木らは顕著な治療効果を示している（J Neuropathol Exp

Neurol, 2007)。上記ALSラットに対するHGFは発症期からの投与であっても約63%の罹病期間の延長効果があり、国内外で報告された中で最も良い成績である。このようにALSに対する有効性が期待でき、かつわが国で発見された強力な神経栄養因子HGFは、わが国での創薬が強く求められている。

本研究代表者である青木らは、このHGF髄腔内持続投与によるALS治療法開発を念頭に、霊長類（サル）を用いて臨床用量の設定と安全性試験を実施、髄腔内投与に用いる医療器具と薬物動態の検査施設を選定、治験薬製造、そして第Ⅰ相臨床試験のプロトコル作成と前臨床試験を着実に進めてきた。これらの研究成果をもって現在、ヒトにおける安全性と薬物動態を検証する第Ⅰ相臨床試験（治験）が平成23年7月に東北大学治験審査委員会にて承認され、実施中である。

本研究では第Ⅰ相臨床試験の結果をふまえ、組換えHGF蛋白質の髄腔内投与によるALS治療法開発を第Ⅱ相臨床試験へと進めるため、必須となる非臨床試験、原薬・治験薬製造、CMC試験（規格・分析試験等）、そしてプロトコル開発を行う。以上の研究を通して、第Ⅱ相臨床試験の治験届に必要なデータ・資料を整備し、研究期間内に第Ⅱ相臨床試験を開始することを目標とする。

## B. 研究方法

わが国で発見された神経栄養因子HGFの髄腔内投与によるALS治療法の臨床開発は現在、第Ⅰ相臨床試験を実施中である。本研究では、ALS患者における有効性を確認する第Ⅱ相臨床試験を開始するために必須の、①非臨床試験、②原薬・治験薬製造、③CMC試験、④プロトコル開発を実施する。これらによりALSに対するHGFによる新規治療法開発をさらに推進する。

① 非臨床試験：第Ⅱ相臨床試験では、組換えHGF蛋白質を長期間髄腔内に投与することを予定している。そこで、カニクイザルを用いた最長6ヶ

月の慢性毒性試験を行い、第Ⅱ相臨床試験を開始する前に長期投与の安全性を十分に確認しておく。平成24年度は予備試験（GLP試験は平成25年度に実施）と試験に必要な分析用試薬の調整を行う。これには、組換えHGFに対する抗体産生を確認するために必要となるビオチン化HGFの調整や安定化試験を含む。また、生殖能や次世代の発生に関する安全性を評価するための生殖毒性試験を実施する（平成26年度まで継続）。平成24年度は供試するラットおよびウサギの血漿中HGFおよび抗HGF抗体のELISA測定法のバリデーションを実施し、胚胎児試験（セグメント2）の予備試験を実施する。さらに、ALSの唯一の既存薬であるリルゾールとの薬物相互作用試験を行う。また、組換えHGF蛋白質を静脈内投与した際に血圧低下が起きる可能性が報告されており、長期間の髄腔内投与には十分な注意が必要となった。よって、第Ⅱ相試験においてより安全な臨床用量を設定するために、カニクイザルを用いた血圧評価試験を追加で行う。（担当：青木、安達）

② 原薬・治験薬製造：カニクイザルによる慢性毒性試験（予備試験およびGLP試験）に供する組換えHGF蛋白質の原薬を製造する予定であったが、平成23年度までに製造した原薬で必要量をまかなえることになったため、原薬製造は行わない。第Ⅰ相臨床試験で使用している治験薬の予備安定性試験を行う。（担当：安達）

③ CMC試験：HGF原薬の規格、分析試験として、宿主由来蛋白試験（HGF蛋白質を発現させるCHO細胞由来の蛋白質を測定する試験。平成25年度まで継続）、逆相クロマト試験（逆相クロマトグラムを調べる試験）、CDスペクトル分析試験（HGF蛋白質の立体構造を調べる試験）、ペプチドマップ試験（ペプチドマップで検出される各ピークの帰属を調べる試験）を行う。また、第Ⅱ相臨床試験の治験薬製造の前に、治験薬の効力（生物活性）測定のためのバイオアッセイに使用するウシ胎児血清を評価する必要があるため追加でロットチェックを実施する。（担当：安達）

④ プロトコル開発等：第Ⅱ相臨床試験のプロトコル開発に着手し、併せてモニタリング・監査・データマネジメントの整備を進める（平成26年度まで継続）。（担当：青木、浅田、安達）

#### （倫理面への配慮）

現在施行中の第Ⅰ相臨床試験は東北大学病院 IRB での承認の下で行っている。

### C. 研究結果

#### 1) 研究班全体としての成果

神経難病の象徴的疾患である ALS に対する有効性が強く期待できる HGF を用いた ALS 治療法の開発を推進した。東北大学病院で実施中の第Ⅰ相臨床試験を継続しつつ、第Ⅱ相臨床試験を開始するために必要な非臨床試験を進めており、第Ⅰ相試験終了後は遅滞なく第Ⅱ相試験を開始する予定である。世界的に ALS の新規治療法開発が切望されている中、本研究は、わが国発の神経栄養因子 HGF を画期的な ALS 治療薬として世界に発信できると期待される。

#### 2) 各分担項目の成果

平成 24 年度の研究成果を以下に記す。

##### ① 非臨床試験：

- ・ カニクイザルを用いた慢性毒性予備試験 試験の実施に必要となるサル髄腔内へのカテーテルの長期留置のための術式検討試験、投与ラインへの吸着性試験を終了し、予備試験を開始した。
- ・ 生殖毒性試験 毒性を評価する上で必要となるラットおよびウサギの血漿中 HGF および抗 HGF 抗体の ELISA 測定法のバリデーションを行った。ウサギによる胚胎児試験（セグメント 2）の予備試験を開始した。
- ・ リルゾールとの薬物相互作用試験 条件検討のための予備試験を終了した。
- ・ カニクイザルを用いた血圧評価試験 過剰量の HGF が血中に循環しても重篤な血圧低下を

引き起こさないことを確認した。

##### ② 原薬・治験薬製造：

- ・ 慢性毒性試験に供する組換え HGF 蛋白質の原薬製造 平成 23 年度までに製造した原薬で必要量をまかなえることになったため行わないこととした。
- ・ 治験薬の予備安定性試験 25ヶ月点および33ヶ月点の試験を実施した。

##### ③ CMC試験：

- ・ 宿主由来蛋白試験 形質転換と Mock 候補株の構築を行った。
- ・ 逆相クロマト試験 終了した。
- ・ CD スペクトル分析試験 終了した。
- ・ ペプチドマップ試験 終了した。
- ・ ウシ胎児血清ロットチェック 終了した。

##### ④ プロトコル開発等：

進行中の第Ⅰ相試験のデータを集積しつつ、第Ⅱ相試験のプロトコルを検討中。第Ⅱ相試験で一定の効果があり、安全性が示されればオーファン医薬品として承認申請を前倒しできる可能性もあり、オーファン申請を含め医薬品医療機器総合機構と相談を予定している。また、医療従事者を追加で増員し患者からの問合せに迅速に対応しつつ、第Ⅱ相試験を専任で担当できるように人材育成を行った。

### D. 考察

カニクイザルを用いた慢性毒性予備試験については、平成 24 年度中に試験を開始したものの終了することはできなかった。予備試験を平成 25 年度前半までに終了し、続いて GLP 準拠での慢性毒性試験を同年度内に実施・終了する。ALS 患者への長期投与となる第Ⅱ相試験を開始する上で非常に重要な試験であるため、今後重点的に取り組む。生殖発生毒性試験については、ウサギ・ラットの 2 種で GLP 準拠でのセグメント 2 試験を行う（付随して、検体の安定性バリデーションを平成 25 年度も一部継続する）。リルゾールとの薬物相互作用試験については、平成 25 年度中に本試験を終了す

る。

原薬・治験薬関連試験については、平成24年度中に予定していた試験を終了し、全ての目標を達成した。平成25年度も各種試験を予定どおり実施する。

現在、ALS患者を対象とする第Ⅰ相臨床試験を東北大学病院において実施している。これまでに単回投与群の第一コホート（低用量群）および第二コホート（中用量群）への投与・観察期間を終了した。第一コホートおよび第二コホートでは、治験薬との因果関係が「おそらくあり」とされるグレード2（中等度）以上の有害事象は発生していない。また、各用量に対してほぼ予想どおりの薬物動態を確認することができた。平成25年度には、第三コホート（高用量群）ならびに第四コホート（反復投与群）を終了する予定である。第Ⅱ相試験のプロトコルに関しては、第Ⅰ相試験のデータが出揃うのを待つ必要があるため、現在は検討の初期段階である。平成25年度は、第Ⅰ相試験の結果を踏まえて第Ⅱ相試験のプロトコル開発を行うことに注力する。

第Ⅱ相試験開始までの開発スケジュールを下図に示す。平成24年度の研究達成状況に鑑み、研究期間（平成24～26年度）終了までに第Ⅱ相試験を開始することは、十分に達成可能と考えている。

なお現在施行中の第Ⅰ相臨床試験では試験開始にあたっては東京で記者会見を行い、情報提供

に努めた。開始当初は全国から問い合わせがあったが、その後、患者・主治医からの問い合わせは徐々に少なくなり、エントリーに苦労している。全国の患者へどのように治験の情報を伝えていくかは重要な問題である。患者会が協力して治験の被験候補者を登録するシステムなどの構築が求められる。

## E. 結論

ALSを対象とする第Ⅱ相試験を開始するために必要となる非臨床試験および原薬・治験薬関連試験のうち、平成24年度に実施予定であった試験を概ね終了することができた。平成25年度は引き続き各種試験を遂行し、現在実施中の第Ⅰ相試験を終了した後に、すみやかに第Ⅱ相試験に移行できる体制を整える。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

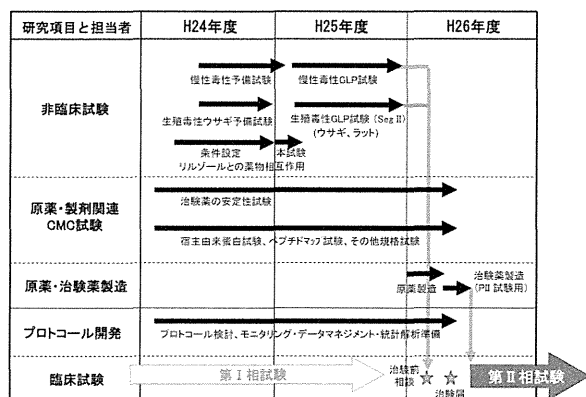
## G. 研究発表（2011/4/1～2012/3/31 発表）

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

開発スケジュール



## Ⅱ. 分担研究報告書



## 肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発

研究代表者 青木 正志 東北大学神経内科 教授

### 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は全身の筋萎縮が進行し呼吸筋麻痺から死に至る過酷な疾患でありながら、有効な治療法のない神経難病の象徴的疾患とされている。世界的にALSの新規治療法開発が切望されて久しいが、国内外での治療研究や臨床試験の結果は絶望的で、これまで認可された薬剤はリルズールが唯一だが十分な治療効果とは云い難い。東北大学神経内科では世界に先駆けて髄腔内投与が可能なALS動物モデル（ALSラット）の開発に成功した。一方、肝細胞増殖因子（HGF）は日本で発見された神経栄養因子であり、運動ニューロンに対する強力な保護作用が知られている。既に私達はこのALSラットモデルに対して組換えHGF蛋白質の髄腔内持続投与を行うことにより、明確な治療効果を臨床的かつ病理学的にも確認している。同モデルに対してALSの発症期からの投与であっても約63%の罹病期間延長効果があり、これまで報告されたALSモデル動物に対する治療実験の中でも最も良い成績である。

本研究グループはALSに対するHGFの臨床開発において世界をリードしており、第Ⅰ相臨床試験において髄腔内投与の安全性と薬物動態を確認した後は、速やかに第Ⅱ相臨床試験を実施し、ALS患者に対するHGFの有効性を確認することが必要である。第Ⅱ相臨床試験のプロトコル開発を行うとともに、モニタリング・監査・データマネジメントの体制整備を進めている。

### 研究分担者

浅田隆太（京都大学医学部附属病院・探索医療センター・探索医療開発部）

### 共同研究者

加藤昌昭（東北大学病院神経内科）

割田 仁（東北大学病院神経内科）

豎山真規（東北大学病院神経内科）

### A. 研究目的

本研究では、神経難病の象徴的疾患であるALSに対して、わが国発のHGFを用いた治療法の開発をさらに推進する。本ALS治療研究は、1993年にSOD1遺伝子が家族性ALSの原因遺伝子として北米で発見され、日本からも申請者の青木が中心となり新たなSOD1遺伝子変異を報告した時に始まっている（Nature Genet, 1993）。これまでALS病態に関する仮説が多く提唱されてきた中で、SOD1異常

は最も確実な病因の一つである。青木らは変異SOD1導入ALSラットを世界に先駆けて完成し、薬剤がALS病変に効率良く到達できる髄腔内投与法を初めてALSモデル動物で可能にした（J Neurosci, 2001）。このALSラットを用いHGF蛋白質を髄腔内持続投与する治療法開発を行った結果、青木らは顕著な治療効果を示している（J Neuropathol Exp Neurol, 2007）。上記ALSラットに対するHGFは発症期からの投与であっても約63%の罹病期間の延長効果があり、国内外で報告された中で最も良い成績である。このようにALSに対する有効性が期待でき、かつわが国で発見された強力な神経栄養因子HGFは、わが国での創薬が強く求められている。

本研究代表者である青木らは、このHGF髄腔内持続投与によるALS治療法開発を念頭に、霊長類（サル）を用いて臨床用量の設定と安全性試験を実施、髄腔内投与に用いる医療器具と薬物動態の

検査施設を選定、治験薬製造、そして第Ⅰ相臨床試験の Protokol 作成と前臨床試験を着実に進めてきた。これらの研究成果をもって現在、ヒトにおける安全性と薬物動態を検証する第Ⅰ相臨床試験（治験）が平成23年7月に東北大学治験審査委員会にて承認され、実施中である。

本研究では第Ⅰ相臨床試験の結果をふまえ、組換えHGF蛋白の髄腔内投与によるALS治療法開発を第Ⅱ相臨床試験へと進めるため、必須となる非臨床試験、原薬・治験薬製造、CMC試験（規格・分析試験等）、そしてProtokol開発を行う。以上の研究を通して、第Ⅱ相臨床試験の治験届に必要なデータ・資料を整備し、研究期間内に第Ⅱ相臨床試験を開始することを目標とする。

## B. 研究方法

わが国で発見された神経栄養因子HGFの髄腔内投与によるALS治療法の臨床開発は現在、第Ⅰ相臨床試験を実施中である。本研究では、ALS患者における有効性を確認する第Ⅱ相臨床試験を開始するために必須のProtokol開発を実施する。第Ⅱ相臨床試験のProtokol開発に着手し、併せてモニタリング・監査・データマネジメントの整備を進める。

### （倫理面への配慮）

現在施行中の第Ⅰ相臨床試験は東北大学病院IRBでの承認の下で行っている。

## C. 研究結果

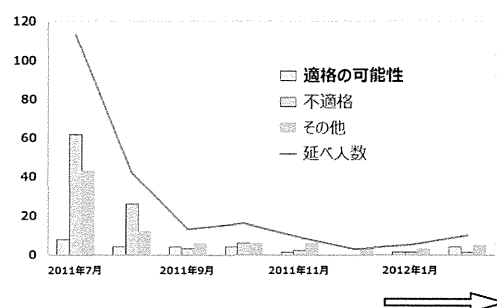
進行中の第Ⅰ相試験のデータを集積しつつ、第Ⅱ相試験のProtokolを検討中である。第Ⅱ相試験で一定の効果があり、安全性が示されればオーファン医薬品として承認申請を前倒しできる可能性もあり、オーファン申請を含め医薬品医療機器総合機構と相談を予定している。また、医療従事者を追加で増員し患者からの問合せに迅速に対応しつつ、第Ⅱ相試験を専任で担当できるように人材育成を行った。

## D. 考察

現在、ALS患者を対象とする第Ⅰ相臨床試験を東北大学病院臨床試験推進センターのデータセンター・開発推進部門・臨床試験実施部門などの全面的な協力の元で、東北大学病院において実施している。これまでに単回投与群の第一コホート（低用量群）および第二コホート（中用量群）への投与・観察期間を終了した。第一コホートおよび第二コホートでは、治験薬との因果関係が「おそらくあり」とされるグレード2（中等度）以上の有害事象は発生していない。また、各用量に対してほぼ予想どおりの薬物動態を確認することができた。平成25年度には、第三コホート（高用量群）ならびに第四コホート（反復投与群）を終了する予定である。第Ⅱ相試験のProtokolに関しては、第Ⅰ相試験のデータが出揃うのを待つ必要があるため、現在は検討の初期段階である。平成25年度は、第Ⅰ相試験の結果を踏まえて第Ⅱ相試験のProtokol開発を行うことに注力する。本年度の研究達成状況に鑑み、研究期間（平成24～26年度）終了までに第Ⅱ相試験を開始することは、十分に達成可能と考えている。

なお現在施行中の第Ⅰ相臨床試験では試験開始にあたっては東京で記者会見を行い、情報提供に努めた。開始当初は全国から問い合わせがあったが、その後、患者・主治医からの問い合わせは徐々に少なくなり、エントリーに苦勞している（図）。全国の患者へどのように治験の情報を伝えていくかは重要な問題である。患者会が協力し

### 問合せ数は 徐々に減少



Division of Neurology, Tohoku Univ. Graduate School of Medicine

Tohoku Univ. ALS Center

て治験の被験候補者を登録するシステムなどの構築が求められる。

#### E. 結論

ALSを対象とする第Ⅱ相試験を開始するために必要となる非臨床試験および原薬・治験薬関連試験のうち、平成24年度に実施予定であった試験を概ね終了することができた。平成25年度は引き続き各種試験を遂行し、現在実施中の第Ⅰ相試験を終了した後に、すみやかに第Ⅱ相試験に移行できる体制を整える。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表（2011/4/1～2012/3/31 発表）

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
「肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発」  
分担研究報告書

ALS を対象とする第Ⅱ相臨床試験開始に向けた非臨床試験  
および原薬・治験薬関連試験の実施

研究分担者： 安達喜一（クリングルファーマ株式会社 事業開発部長）  
共同研究者： 阿部哲士（クリングルファーマ株式会社 医薬開発部長）  
福田一弘（クリングルファーマ株式会社 研究開発部長）  
井上逸男（クリングルファーマ株式会社 品質保証部長）

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）を対象とする肝細胞増殖因子（HGF）の第Ⅱ相臨床試験を開始するために必要となる非臨床試験および原薬・治験薬関連試験を実施した。平成 24 年度は主に以下の項目を達成し、第Ⅱ相臨床試験の準備を着実に進めることができた。

- ◆ カニクイザルを用いた慢性毒性予備試験の術式検討
- ◆ 生殖発生毒性試験に必要な測定法のバリデーション
- ◆ ALSの既存薬であるリルゾールとの薬物相互作用予備試験
- ◆ カニクイザルを用いた血圧評価試験
- ◆ 原薬のCMC試験（規格・分析試験等）
- ◆ 治験薬の予備安定性試験（次年度も継続実施）

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は全身の筋萎縮が進行し呼吸筋麻痺から死に至る過酷な疾患でありながら、有効な治療法のない神経難病の象徴的疾患とされている。肝細胞増殖因子（HGF）は我が国で発見された神経栄養因子であり、運動ニューロンに対する強力な保護作用が知られている。HGFによるALSの新規治療法を開発することは、医学的にも社会的にも大きな意義があり、トランスレーショナルリサーチを実践している点で厚生労働省の難治性疾患克服研究事業の中でも中核となるプロジェクトである。

本研究では、組換え HGF 蛋白質の脊髄腔内投与による ALS 治療法開発を第Ⅱ相

臨床試験へと進めるため、必須となる非臨床試験および原薬・治験薬関連試験を行う。これらの試験を通して、第Ⅱ相試験の治験届に必要なデータ・資料を整備し、研究期間（平成 24～26 年度）終了までに第Ⅱ相臨床試験を開始することを目標とする。

B. 研究方法

1) 非臨床試験

第Ⅱ相臨床試験では、組換え HGF 蛋白質を長期間脊髄腔内に投与することを予定している。そこで、カニクイザルを用いた最長 6 箇月の慢性毒性試験を行い、第Ⅱ相試験を開始する前に長期投与の安全性を十分に確認しておく。平成 24 年度

は予備試験（GLP 試験は平成 25 年度に実施）と試験に必要な分析用試薬の調製を行う。これには、組換え HGF に対する抗体産生を確認するために必要となるビオチン化 HGF の調製や安定化試験を含む。また、生殖能や次世代の発生に関する安全性を評価するための生殖発生毒性試験を実施する（平成 26 年度まで継続実施）。平成 24 年度は供試するラットおよびウサギの血漿中 HGF および抗 HGF 抗体の ELISA 測定法のバリデーションを実施し、胚胎児試験（セグメント 2）の予備試験を実施する。さらに、ALS の唯一の既存薬であるリルゾールとの薬物相互作用試験を行う。また、組換え HGF 蛋白質を静脈内投与した際に血圧低下が起きる可能性が報告されており、長期間の脊髄腔内投与には十分な注意が必要となった。よって、第 II 相試験においてより安全な臨床用量を設定するために、カニクイザルを用いた血圧評価試験を追加で行う。

## 2) 原薬・治験薬関連試験

HGF 原薬の CMC 試験（規格・分析試験等）として、宿主由来蛋白試験（HGF 蛋白質を発現させる CHO 細胞由来の蛋白質を測定する試験。平成 25 年度まで継続）、逆相クロマト試験（逆相クロマトグラムを調べる試験）、CD スペクトル分析試験（HGF 蛋白質の立体構造を調べる試験）、ペプチドマップ試験（ペプチドマップで検出される各ピークの帰属を調べる試験）を行う。また、第 II 相試験の治験薬製造の前に、治験薬の効力（生物活性）測定のためのバイオアッセイに使用するウシ胎児血清を評価する必要があるため追加でロットチェックを実施する。

現在実施中の第 I 相臨床試験で使用している治験薬（凍結製剤）の予備安定性試験を継続して行う。安定性試験は日米

欧医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイドラインに則って実施する。なお、カニクイザルによる慢性毒性試験（予備試験および GLP 試験）に供する組換え HGF 蛋白質の原薬を製造する予定であったが、平成 23 年度までに製造した原薬で必要量をまかなえることになったため、平成 24 年度は原薬製造を行わないこととした。

### （倫理面への配慮）

本研究において、動物を用いた実験はすべて研究委託施設である（株）新日本科学の動物実験倫理規定に基づいて施行し、また利用動物数を極力減らすように努め、動物愛護面に十分配慮した（新日本科学は AAALAC International（国際実験動物管理公認協会）の完全認証取得施設である）。また組換え DNA 実験はすべて実施施設の組換え DNA 実験安全管理規定に基づいて施行された。本研究で実施する慢性毒性試験は、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（H9.3.26 厚生省令第 114 号）（GLP）に従い行う。

また、本研究で実施する治験は「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（H9.3.27 厚生省令第 28 号）（GCP 省令）に従い行う。第 II 相臨床試験は医師主導治験として実施する予定であり、第 II 相試験を実施する際には、東北大学病院の治験審査委員会（IRB）での審査を行い、承認を得る（平成 26 年度を予定）。その際、プロトコルの他に、治験薬概要書、被験者への同意説明文書案なども添付して審査を受ける。その承認後に薬事法第 80 条の 2 第 2 項及び第 80 条の 3 第 4 項に従い、治験計画届を医薬品医療機器総合機構に提出する（平成 26 年度を予定）。治験中に、治験薬による副作用などが起こった場合には、薬事法第 80 条の 2 第 6

項に従い、副作用報告を同機構に提出する。

## C. 研究結果

### 1) 非臨床試験

- ・ カニクイザルを用いた慢性毒性予備試験：試験の実施に必要なサル脊髄腔内へのカテーテルの長期留置のための術式検討試験および投与ラインへの吸着性試験を終了し、予備試験を開始した。
- ・ 生殖発生毒性試験：2種（ウサギ、ラット）で毒性を評価するため、各動物血漿中のヒトHGFおよび抗ヒトHGF抗体のELISA測定法の条件設定を行った。ウサギ血漿中の測定法については検体の2週間凍結安定性までのバリデーションを終了した。ウサギによる胎児試験（セグメント2）の予備試験を開始した。
- ・ リルゾールとの薬物相互作用試験：条件検討のための予備試験を終了した。
- ・ カニクイザルを用いた血圧評価試験：過剰量のHGFが血中を循環しても重篤な血圧低下を引き起こさないことを確認した。

### 2) 原薬・治験薬関連試験

- ・ HGF原薬のCMC試験（規格・分析試験等）：宿主由来蛋白試験（形質転換とMock候補株の構築まで）、逆相クロマト試験、CDスペクトル分析試験、ペプチドマップ試験、ウシ胎児血清ロットチェックを終了し、第Ⅱ相試験の治験届に含める試験データを得ることができた。
- ・ 治験薬の予備安定性試験：25箇月点および33箇月点の試験を実施し、治験薬の安定性に問題がないことを確認した。当該治験薬は、実施中の第Ⅰ相

試験において引き続き使用できると判断した。

## D. 考察

カニクイザルを用いた慢性毒性予備試験については、平成24年度中に試験を開始したものの終了することはできなかった。予備試験を平成25年度前半までに終了し、続いてGLP準拠での慢性毒性試験を同年度内に実施・終了する。ALS患者への長期投与となる第Ⅱ相試験を開始する上で非常に重要な試験であるため、今後重点的に取り組む。生殖発生毒性試験については、ウサギ・ラットの2種でGLP準拠でのセグメント2試験を行う（付随して、検体の安定性バリデーションを平成25年度も一部継続する）。リルゾールとの薬物相互作用試験については、平成25年度中に本試験を終了する。

原薬・治験薬関連試験については、平成24年度中に予定していた試験を終了し、全ての目標を達成した。平成25年度も各種試験を予定どおり実施する。

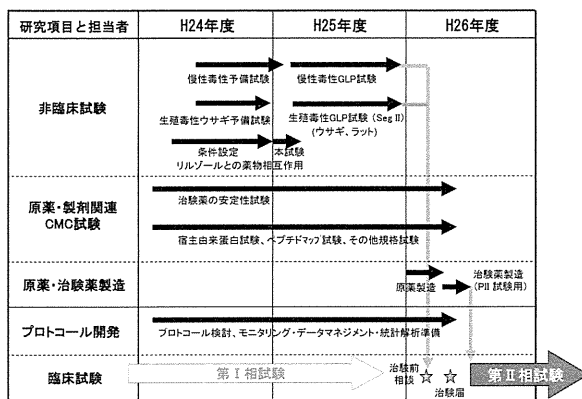
現在、ALS患者を対象とする第Ⅰ相臨床試験を東北大学病院において実施している。これまでに単回投与群の第一コホート（低用量群）および第二コホート（中用量群）への投与・観察期間を終了した。第一コホートおよび第二コホートでは、治験薬との因果関係が「おそらくあり」とされるグレード2（中等度）以上の有害事象は発生していない。また、各用量に対してほぼ予想どおりの薬物動態を確認することができた。平成25年度には、第三コホート（高用量群）ならびに反復投与群（第四コホート）を終了する予定である。第Ⅱ相試験のプロトコールに関しては、第Ⅰ相試験のデータが出揃うのを待つ必要があるため、現在は検討の初期段階である。平成25年度は、第Ⅰ相試験

の結果を踏まえて第Ⅱ相試験のプロトコール開発を行うことに注力する。

第Ⅱ相試験開始までの開発スケジュールを下図に示す。平成24年度の研究達成状況に鑑み、研究期間（平成24～26年度）終了までに第Ⅱ相試験を開始することは、十分に達成可能と考えている。

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
3. その他  
なし。

開発スケジュール



## E. 結論

ALS を対象とする第Ⅱ相試験を開始するために必要となる非臨床試験および原薬・治療薬関連試験のうち、平成 24 年度に実施予定であった試験を概ね終了することができた。平成 25 年度は引き続き各種試験を遂行し、現在実施中の第Ⅰ相試験を終了した後に、すみやかに第Ⅱ相試験に移行できる体制を整える。

## F. 健康危険情報

特記なし。

## G. 研究発表

1. 論文発表  
なし。
2. 学会発表  
なし。

## H. 知的財産権の取得状況（予定を含む）

### Ⅲ. 研究者一覽



### Ⅲ. 研究者一覧

#### 肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	青木 正志	東北大学大学院医学系研究科	教授
研究分担者	浅田 隆太	京都大学医学部附属病院 探索 医療センター 探索医療研究部	特定助教
	安達 喜一	クリングルファーマ株式会社	取締役事業開発部長

