

201239017A

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

「我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤  
アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服」  
に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 江角 浩安

平成 25 (2013) 年 4 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

臨床導入の統括とTRの実施及び統括 江角浩安	1
---------------------------	---

### II. 分担研究報告

1. 臨床導入の統括とTRの実施及び統括 江角 浩安	5
2. 臨床試験の計画、解析臨床試験実施支援 佐藤 暁洋 試験統計デザイン・データ解析 野村 尚吾 薬事業務 渡邊 協孝	8
3. 臨床試験の実施 池田 公史	10
6. 臨床試験の実施 奥坂 拓志 臨床試験の実施 石井 浩	12
8. TRの実施 三牧 幸代	13
9. 画像診断によるPOC取得と患者層別化 藤井 博史	15
10. 適応決定のためのスクリーニング技術の開発 佐竹 光夫	19
11. PKとファーマコゲノミクスの実施 岸野 吏志	22
12. TRの実施 小嶋 基寛	25

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	27
---------------------	----

# I .総括研究報告書

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第II相試験による膵がん克服

研究代表者 江角浩安 独立行政法人 国立がん研究センター東病院

### 研究要旨

アルクチゲニン高含有牛蒡子エキスGBS-01の、ゲムシタビン不応性膵癌患者を対象とした臨床第I相試験の結果、少なくとも経口投与の50%以上が吸収され尿中に排泄されるなどの高い生物学的利用能、安全性、忍容性が認められた。さらに少数ではあるが抗腫瘍性、有効例が観察された。医師主導治験として臨床第II相試験を事前相談、戦略相談、各医療機関での倫理審査を経て知見届けを提出し、3月11日患者登録を開始した。国立がん研究センター東および中央病院、癌研有明病院ともに症例登録は順調である。アルクチゲニンは培養細胞では幹細胞に対し高い効果を示すことが分かった。ヒトに経口投与すると速やかにグルクロン酸抱合される事が分かった。病変部のβグルクロナダーゼ活性が効果規定因子になる可能性が分かった。患者選択および薬力学的バイオマーカーの検索中である。

### 分担研究者氏名及び所属施設

江角浩安	国立がん研究センター東病院
佐藤暁洋	国立がん研究センター東病院
野村尚吾	国立がん研究センター東病院
渡邊協孝	国立がん研究センター東病院
池田公史	国立がん研究センター東病院
奥坂拓志	国立がん研究センター中央病院
石井 浩	がん研究会 有明病院
三牧幸代	国立がん研究センター東病院
藤井博史	国立がん研究センター東病院
佐竹光夫	国立がん研究センター東病院
岸野吏志	明治薬科大学
小嶋基寛	国立がん研究センター東病院

ある。アルクチゲニンは「日局」収載生薬の牛蒡子に含まれ、クラシエ製薬・富山大学との共同研究によりアルクチゲニン高含有牛蒡子エキスの製法特許を取得し(特願2010-505497)、(PCT/JP2010/051701)及び追加特許出願(特願2010-215118)を行った。この製法によりGMP適合施設で、顆粒剤(GBS-01)を製造し前臨床試験の後、GEM不応膵癌患者を対象とした第I/II相試験(UMIN000005787)を平成23年6月より開始した。GBS-01による有害事象はほとんど無く、用量レベル2でGEM・S-1不応患者1名にPR(4ヶ月継続)が得られた。この結果、本研究ではPhase Iの纏めをするとともに、その結果に基づいて医師主導治験として臨床第II相試験を行うことをさしあたりの目的とする。

### A. 研究目的

本研究は、極度に治療に抵抗する膵臓がん等乏血性腫瘍に対する画期的薬物療法の開発を目的とする。膵がんに対しては手術療法だけが救命的治療法であるがその適応は膵がん患者の2-30%程度である。しかし5年生存率は20%程度である。放射線療法、薬物療法、ワクチン療法などの治療効果も限定的で、標準的薬物療法でも生存の延長はきわめて芳しくない。膵がん組織に見られるような強い低酸素と低栄養条件下では既存の抗がん剤は効果を失う。膵がんはじめ乏血管性腫瘍では、酸素、栄養素ともに供給不足であり特殊な微小環境を標的とした治療薬の開発に取り組んできた。その結果、アルクチゲニンを見出した。定した。この化合物は、低栄養下で選択的毒性を示し低酸素の影響を受けない独創的なもので

### B. 研究方法

本研究では、先行する第I/II相試験を前期第I相試験部分(登録数17名)から引き継ぎ、第II相試験部分を医師主導治験として実施する。国立がん研究センター東病院・中央病院、癌研有明病院を参加施設とし、早期・探索的臨床試験拠点整備事業により整備されている東病院臨床試験支援室がGCPに従った医師主導治験のデータセンター/モニタリングを担う。また、薬事専門家および生物統計家が関与する。具体的には分担研究者 佐藤暁洋が室長を務める、国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援室がデータセンター/モニタリング/統計解析などの支援を担当し。分担研究者 野村尚吾が同臨床試験支援室の生

物統計家として、試験の統計デザイン及びデータ解析を担当する。分担研究者の渡邊協孝が、薬事担当者として薬事戦略立案の支援及び薬事戦略相談の支援を行う。

薬物動態解析は明治薬科大学、付随したマーカー探索・分子イメージングなどのトランスレーショナルリサーチについては東病院臨床開発センターの各部門が担う。

平成 24 年度より薬事戦略相談を実施した上で医師主導治験を開始し、並行してトランスレーショナルリサーチを実施し平成 25・6 年までに終了する。また、GEM もしくは S-1 との併用での第 I/II 相試験についても、先行する単剤での医師主導治験の結果を踏まえて平成 25 年以降に検討を行う。

Phase I 部分は、ゲムシタビン不応の進行膵癌患者を対象として、アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤「GBS01」の第 I 相試験を行い、GBS-01 の投与量規制毒性、有害事象を検討し、臨床第 II 相試験での推奨用量を決定することを目的とした。また、副次的に有効性も検討した。対象患者は、病理組織学的に診断された進行膵癌で、ゲムシタビン不応の患者を対象とした。GBS-01 は、レベルを 3 段階に設定し、各レベル 3 名の用量漸増試験を行った。レベル 1: 2 包 (牛蒡子エキスとして 1.0g) /回、レベル 2: 5 包 (同 2.5g) /回、レベル 3: 8 包 (同 4.0g) /回とし、GBS-01 を 1 日 1 回連日経口投与することとした。投与量規制毒性は GBS-01 投与後 28 日までの Grade 4 の血液毒性、Grade 3 以上の非血液毒性とした。有害事象は CTC AE ver 4.0、抗腫瘍効果は RECIST1.1 にて判定した。Phase II 部分は「ゲムシタビンとフツ化ピリミジン系抗癌剤不応膵癌患者を対象とした GBS-01 の前期第 II 相試験」の題名のもと医師主導治験として取り組んだ。予定登録数: 37 名 (治験実施計画適合集団 (Per Protocol Set: PPS) として) 治験実施予定期間: 2013 年 1 月~2014 年 6 月である。

Primary endpoint: 8 週の病勢制御割合 (Disease Control Rate: DCR)

Secondary endpoints: 有害事象

奏効割合 (response rate: RR)

無増悪生存期間 (Progression free survival: PFS)

全生存期間 (Overall survival: OS)

薬物動態学的パラメー

Exploratory endpoint: バイオマーカー

付随研究として、アルクチゲニンの作用機序の解明に基づくバイオマーカーの開発、特にゲノム、メタボローム、プロテオーム解析を臨床資料についても可能な限り行う。更に、画像技術を臨床的

基礎的に駆使して POC の取得に関し努力することとした。

#### (倫理面への配慮)

当該臨床試験は、ヘルシンキ宣言、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令、薬事法および薬事法施行規則とその関連通知などを準拠して実施される。

### C. 研究結果

#### Phase I 部分の結果

レベル 1: 3 名、レベル 2: 3 名、レベル 3: 9 名が登録された。レベル 3 で投与量規制毒性の評価不能であった 3 名を除く 6 名において、投与量規制毒性の発現は認めなかった。主な Grade 3 以上の有害事象については、 $\gamma$ GTP 上昇 (46.7%)、高血糖 (33.3%)、ビリルビン増加 (20.0%)、AST 増加 (6.7%)、ALT 増加 (6.7%)、ALP 増加 (6.7%) が認められたが、いずれも原病に起因すると考えられた。また、有効性に関しては、15 名中 1 名 [ゲムシタビン+S-1 療法施行後、増悪を認めた症例] に部分奏効 (PR) (5 ヶ月継続)、4 名において安定 (SD) が認められた。無増悪生存期間の中央値は 1.05 ヶ月、全生存期間は 5.68 ヶ月であった。

#### 薬力学的解析

##### 1. 最高血漿中濃度到達時間 (Tmax)

GBS-01 は、服用後速やかに AG あるいは AGG として血漿中に検出された。最高血漿中濃度 (Cpmax) は、0.5~2 時間に認められた。

##### 2. 単回投与時

ゲムシタビン不応膵癌患者 15 例を対象に、GBS-01 を牛蒡子エキスとして Level 1-1.0 g、Level 2-2.5 g、Level 3-4.0 g を 1 日 1 回空腹時に単回経口投与した際の AG 及び AGG の血中濃度推移の詳細は分担研究報告書に記す。全体としては血漿中の AG、AGG 濃度及び AUC は、投与量に依存して変動し、両者間に線形性が認められた。定常状態における最低血漿中濃度 (Cpssmin)

投与 1、5、8、9 日目の投与直前の血漿中 AAG 濃度を表 5 に示す。AGG の半減期は約 6 時間であり、今回の結果からも投与 5 日目には十分に定常状態に達していると推察される。また、牛蒡子エキスとして 4.0g 投与した際の最低血漿中 AGG 濃度は投与 5 日目以降 2.0  $\mu$ g/mL で推移し、同様に蓄積性は認められず定常状態に達している事が確認された。

ヒトの体内では、消化管より吸収された後直ぐに極めて効率よく肝臓でグルクロン酸抱合される

ことが分かった。アルクチゲニンのグルクロン酸抱合体を合成しその細胞レベルでの活性を検討した結果、グルクロン酸抱合体自体には活性が極めて少なく、 $\beta$ グルクロナダーゼでアルクチゲニンに戻った後活性を示すものと考えられた。がん病巣の $\beta$ グルクロナダーゼ活性が薬効のバイオマーカーになると考えられ詳細な検討を行っている。

#### Phase II 部分

平成 24 年 5 月 24 日（研究費採択前）に医薬品医療機器総合機構（PMDA）の薬事戦略相談の事前面談、および同 7 月 6 日の対面助言に関して窓口及び論点整理に関する支援を実施した。（渡邊）

その後、プロトコール作成の支援（佐藤）を行い、統計デザイン・症例数設定および関連するプロトコール記載を行った（野村）。

同 11 月 12 日にプロトコール第 1 版および説明同意文書、関連 SOP 一式を固定し国立がん研究センターおよびがん研有明病院の治験審査委員会へ提出し、平成 25 年 1 月 11 日に承認を得た。（がん研有明は同月 15 日）それを持って、同 1 月 17 日に治験届けを提出し、同 3 月 11 日に登録を開始した。平成 25 年 3 月 31 日までに 5 名の患者登録が行われている。これらの試験の開始準備および登録システムの構築（EDC を使用）、治験届けの支援、スタートアップミーティングの支援、UMIN-CTR への事前登録支援、外注業者との契約締結の支援、患者登録/データマネージメント/モニタリング、国立がん研究センター東病院における CRC 業務などに試験実施に係わる包括的な支援を臨床試験支援室が実施した（佐藤）。

Phase II 部分では、バイオマーカーの検索が極めて大切である、現在動物モデル系、培養細胞レベルでの作用機序、Phase I 部分での初歩的な臨床効果の解析などから分子生物学的、生化学的バイオマーカーとともに、臨床が増額的な患者選択基準の確立のためのバイオマーカー探索を鋭意行っている。

#### D. 考察

Phase I 部分での結果より、栄養飢餓耐性を標的とした GBS-01 は第 I 相試験の結果、レベル 3（牛蒡子エキスとして 4.0g）の忍容性が確認され、推奨用量は牛蒡子エキスとして 4.0g と判断された。また、第 I 相試験で PR 例も認められており、有効性も確認された。今後、第 II 相試験に進み、有効性と安全性を確認する意義は十分であると考えている。

薬力学的解析に関しては、GBS-01 第 I 相臨床試験において、ゲムシタビン不応膵がん患者 15 例を対象とした血漿中 AG 及びその主代謝物 AGG の測定結果を用いて薬物動態学的解析を行なった。

GBS-01 を牛蒡子エキスとして 1.0~4.0 g まで投与した時、吸収は線形を示し用量に依存した C<sub>pmax</sub> 及び AUC の上昇を認めた。牛蒡子エキスとして 4.0 g を 1 日 1 回空腹時経口した時、投与 5 日目には定常状態に達し、蓄積性は認められなかった。また、尿中には GBS-01 成分量 (mol) に対して、AG、AGG として約 50%の排泄を認めた。高い生物学的利用能が認められた。

Phase I の結果であるため、効果を云々するのは早すぎるが、将来的には患者選択のための良いバイオマーカー開発が極めて重要になると考えられた。

今回の医師主導治験への歩みを振り返ってみる。臨床試験支援室による支援（佐藤）、生物統計家による支援（野村）、薬事専門家による支援（渡邊）によって、研究費採択されてから、登録開始まで約 9 ヶ月という短期間で、GCP 準拠の医師主導治験が効果的に準備・開始することが可能であった。医師主導治験としては極めて順調であり、今の支援体制がとても効率よく働いていることを示している。

#### E. 結論

Phase I の結果から、GBS-01 はゲムシタビン不応の進行膵癌患者に対して、忍容性は良好で、腫瘍縮小効果も確認されあ。今後、ゲムシタビンならびにフッ化ピリミジン系抗癌剤に不応の進行膵癌患者に対して GBS-01 の多施設共同で第 II 相試験を行うに値し、有効性と安全性を確認する Phase II 部分の医師主導治験を開始し患者登録は予想以上に順調である。今後の発展のための、POC 取得、躍動的バイオマーカー開発、患者選択バイオマーカー開発が鍵になる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

研究の刊行に関する一覧表に記載。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

出願番号【特願 2010-505497】 アルクチゲニン高含有ゴボウシエキス及びその製造方法 江角浩安、三好千香

出願番号【特願 2012-515281】 アルクチゲニン含有ゴボウシ抽出物及びその製造方法 江角浩安、三好千香

### 特許出願

出願番号【特願 2012-069964】 抗癌剤 江角浩安、池田公史ら

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## Ⅱ.分担研究報告書



我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第II相試験による膵がん克服

（分担する研究項目を記入）研究全体の統括とアルクチゲニンの作用機序の解明

研究分担者 江角 浩安 国立がん研究センター東病院

#### 研究概要

アルクチゲニン高含有牛蒡子エキスGBS-01の、ゲムシタピン不応性膵癌患者を対象とした臨床第I相試験の結果、少なくとも経口投与の50%以上が吸収され尿中に排泄されるなどの高い生物学的利用能、安全性、忍容性が認められた。さらに少数ではあるが抗腫瘍性、有効例が観察された。医師主導治験として臨床第I相試験を事前相談、戦略相談、各医療機関での倫理審査を経て知見届けを提出し、3月1日患者登録を開始した。国立がん研究センター東および中央病院、癌研有明病院ともに症例登録は順調である。アルクチゲニンは培養細胞では幹細胞に対し高い効果を示すことが分かった。ヒトに経口投与すると速やかにグルクロン酸抱合される事が分かった。病変部のβグルクロニダーゼ活性が効果規定因子になる可能性が分かった。患者選択および薬力学的バイオマーカーの検索中である。

#### A. 研究目的

本研究は、極度に治療に抵抗する膵臓がん等乏血性腫瘍に対する画期的薬物療法の開発を目的とする。膵がんに対しては手術療法だけが救命的治療法であるがその適応は膵がん患者の2-30%程度である。しかし5年生存率は20%程度である。放射線療法、薬物療法、ワクチン療法などの治療効果も限定的で、標準的薬物療法でも生存の延長はきわめて芳しくない。膵がん組織に見られるような強い低酸素と低栄養条件では既存の抗がん剤は効果を失う。膵がんはじめ乏血管性腫瘍では、酸素、栄養素ともに供給不足であり特殊な微小環境を標的とした治療薬の開発に取り組んできた。その結果、アルクチゲニンを見出した。定した。この化合物は、低栄養下で選択的毒性を示し低酸素の影響を受けない独創的なものである。アルクチゲニンは「日局」収載生薬の牛蒡子に含まれ、クラシエ製薬・富山大学との共同研究によりアルクチゲニン高含有牛蒡子エキスの製法特許を取得し(特願2010-505497)、(PCT/JP2010/051701)及び追加特許出願(特願2010-215118)を行った。この製法によりGMP適合施設で、顆粒剤(GBS-01)を製造し前臨床試験の後、GEM不応膵癌患者を対象とした第I/II相試験(UMIN000005787)を平成23年6月より開始した。GBS-01による有害事象はほとんど無く、用量レベル2でGEM・S-1不応患者1名にPR(4ヶ月継続)が得られた。この結果、本研究ではPhase Iの纏めをするるとともに、その結果に基づいて医師主導治験として臨床第II相試験を行うことをさしあたりの目的とする。

#### B. 研究方法

本研究では、先行する第I/II相試験を前期第I相試験部分(登録数17名)から引き継ぎ、第II相試験部分を医師主導治験として実施する。国立がん研究センター東病院・中央病院、癌研有明病院を参加施設とし、早期・探索的臨床試験拠点整備事業により整備されている東病院臨床試験支援室がGCPに従った医師主導治験のデータセンター/モニタリングを担う。また、薬事専門家および生物統計家が関与する。具体的には分担研究者佐藤暁洋が室長を務める、国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援室がデータセンター/モニタリング/統計解析などの支援を担当し。分担研究者野村尚吾が同臨床試験支援室の生物統計家として、試験の統計デザイン及びデータ解析を担当する。分担研究者の渡邊協孝が、薬事担当者として薬事戦略立案の支援及び薬事戦略相談の支援を行う。

薬物動態解析は明治薬科大学、付随したマーカー探索・分子イメージングなどのトランスレーショナルリサーチについては東病院臨床開発センターの各部門が担う。

平成24年度より薬事戦略相談を実施した上で医師主導治験を開始し、並行してトランスレーショナルリサーチを実施し平成25-6年までに終了する。また、GEMもしくはS-1との併用での第I/II相試験についても、先行する単剤での医師主導治験の結果を踏まえて平成25年以降に検討を行う。

Phase I 部分は、ゲムシタビン不応の進行膵癌患者を対象として、アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤「GBS01」の第 I 相試験を行い、GBS-01 の投与量規制毒性、有害事象を検討し、臨床第 II 相試験での推奨用量を決定することを目的とした。また、副次的に有効性も検討した。対象患者は、病理組織学的に診断された進行膵癌で、ゲムシタビン不応の患者を対象とした。GBS-01 は、レベルを 3 段階に設定し、各レベル 3 名の用量漸増試験を行った。レベル 1 : 2 包 (牛蒡子エキスとして 1.0g) / 回、レベル 2 : 5 包 (同 2.5g) / 回、レベル 3 : 8 包 (同 4.0g) / 回とし、GBS-01 を 1 日 1 回連日経口投与することとした。投与量規制毒性は GBS-01 投与後 28 日までの Grade 4 の血液毒性、Grade 3 以上の非血液毒性とした。有害事象は CTC AE ver 4.0、抗腫瘍効果は RECIST1.1 にて判定した。Phase II 部分は「ゲムシタビンとフツ化ピリミジン系抗癌剤不応膵癌患者を対象とした GBS-01 の前期第 II 相試験」の題名のもと医師主導治験として取り組んだ。予定登録数 : 37 名 (治験実施計画適合集団 (Per Protocol Set : PPS) として) 治験実施予定期間 : 2013 年 1 月 ~ 2014 年 6 月である。

Primary endpoint : 8 週の病勢制御割合 (Disease Control Rate : DCR)

Secondary endpoints : 有害事象

奏効割合 (response rate : RR)

無増悪生存期間 (Progression free survival : PFS)

全生存期間 (Overall survival : OS)

薬物動態学的パラメー

Exploratory endpoint : バイオマーカー

付随研究として、アルクチゲニンの作用機序の解明に基づくバイオマーカーの開発、特にゲノム、メタボローム、プロテオーム解析を臨床資料についても可能な限り行う。更に、画像技術を臨床的基礎的に駆使して POC の取得に関し努力することとした。

#### (倫理面への配慮)

本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針に従って本試験を実施する。個人情報および診療情報等のプライバシーに関する情報は個人の人格尊重の理念の下、厳重に保護され慎重に取り扱われるべきものと認識し、万全な管理対策を講じ、プライバシー保護に努める。

### C. 研究結果

Phase I 部分の結果

レベル 1 : 3 名、レベル 2 : 3 名、レベル 3 : 9 名が

登録された。レベル 3 で投与量規制毒性の評価不能であった 3 名を除く 6 名において、投与量規制毒性の発現は認めなかった。主な Grade 3 以上の有害事象については、 $\gamma$ GTP 上昇 (46.7%)、高血糖 (33.3%)、ビリルビン増加 (20.0%)、AST 増加 (6.7%)、ALT 増加 (6.7%)、ALP 増加 (6.7%) が認められたが、いずれも原病に起因すると考えられた。また、有効性に関しては、15 名中 1 名 [ゲムシタビン+S-1 療法施行後、増悪を認めた症例] に部分奏効 (PR) (5 ヶ月継続)、4 名において安定 (SD) が認められた。無増悪生存期間の中央値は 1.05 ヶ月、全生存期間は 5.68 ヶ月であった。

アルクチゲニンはヒトの体内では、消化管より吸収された後直ぐに極めて効率よく肝臓でグルクロン酸抱合されることが分かった。アルクチゲニンのグルクロン酸抱合体を合成しその細胞レベルでの活性を検討した結果、グルクロン酸抱合体自体には活性が極めて少なく、 $\beta$  グルクロニダーゼでアルクチゲニンに戻った後活性を示すものと考えられた。がん病巣の  $\beta$  グルクロニダーゼ活性が薬効のバイオマーカーになると考えられ詳細な検討を行っている。

Phase II 部分では、バイオマーカーの検索が極めて大切である、現在動物モデル系、培養細胞レベルでの作用機序、Phase I 部分での初歩的な臨床効果の解析などから分子生物学的、生化学的バイオマーカーとともに、臨床が増額的な患者選択基準の確立のためのバイオマーカー探索を鋭意行っている。

アルクチゲニンの効果は細胞が低酸素や低栄養環境下におかれた時に選択的に毒性を示すものとして餓別された経緯もあり、低酸素低グルコース環境下にあるとされるがん幹細胞に対する効果が大きいのではないかと考えられた。そこで、ヒト膵臓がん細胞株を低酸素低グルコース環境下にて培養し、CD44、CD133、ALDH などが幹細胞マーカーを発現する細胞が、既存の抗がん剤と比較してより強い毒性を示すか否かを検討した。その結果、既存の抗がん剤は幹細胞分画にはあまり効果を示さないが、アルクチゲニンは強い効果を示すことが分かった。がん幹細胞に対する強い効果が期待できる事が分かった。

### D. 考察

GBS-01 は、高い生物学的利用能と、安全性が Phase I で確認できた。さらに初歩的とはいえ抗腫瘍性が観察されたことは大いに臨床的有用性を期待させる。

基礎的には、がん幹細胞マーカーを発現している細胞分画に特に強い効果を示すことが明らかになったことは、栄養飢餓耐性解除という考え方

自体の今後の重要性を示すものであると考えられた。

#### **E. 結論**

G B S-0 1 の臨床的安全性が示された。有効性は示唆された。がん幹細胞を標的にする可能性は根治を目指した治療法の開発の可能性を示した。

#### **F. 健康危険情報**

(総括研究報告書に記載)

#### **G. 研究発表**

##### 1. 論文発表

(研究の刊行に関する一覧表に記載)

##### 2. 学会発表

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況**

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

出願番号【特願 2010-505497】 アルクチゲニン  
高含有ゴボウシエキス及びその製造方法 江角  
浩安、三好千香

出願番号【特願 2012-515281】 アルクチゲニン  
含有ゴボウシ抽出物及びその製造方法 江角  
浩安、三好千香

##### 特許出願

出願番号【特願 2012-069964】 抗癌剤 江角浩  
安、池田公史ら

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

分担研究報告書

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服

臨床試験の計画、解析・臨床試験実施支援

研究分担者 佐藤暁洋 国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援  
試験統計デザイン・データ解析

研究分担者 野村尚吾 国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援  
薬事業務

研究分担者 渡邊協孝 国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援

研究要旨

「ゲムシタビンとフッ化ピリミジン系抗癌剤不応膵癌患者を対象とした GBS-01 の前期第Ⅱ相試」に関して、国立がん研究センター臨床試験支援室によるデータセンター/モニタリング/治験調整事務局の支援（佐藤）、生物統計家による試験デザイン・症例数設計（野村）、薬事専門家による薬事戦略立案、薬事戦略相談の支援（渡邊）を行い、当該医師主導治験の開始準備及び実施を支援した。

A. 研究目的

「ゲムシタビンとフッ化ピリミジン系抗癌剤不応膵癌患者を対象とした GBS-01 の前期第Ⅱ相試」に関して、臨床試験の計画、試験統計デザイン、開発薬事戦略の立案及び薬事戦略相談の実施、および臨床試験の実施支援を行う。

B. 研究方法

分担研究者 佐藤暁洋が室長を務める、国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援室がデータセンター/モニタリング/統計解析などの支援を担当し。分担研究者 野村尚吾が同臨床試験支援室の生物統計家として、試験の統計デザイン及びデータ解析を担当する。分担研究者の渡邊協孝が、薬事担当者として薬事戦略立案の支援及び薬事戦略相談の支援を行う。

（倫理面への配慮）

当該臨床試験は、ヘルシンキ宣言、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令、薬事法および薬事法施行規則とその関連通知などを準拠して実施される。

C. 研究結果

平成 24 年 5 月 24 日（研究費採択前）に医薬品医療機器総合機構（PMDA）の薬事戦略相談の事前面談、および同 7 月 6 日の対面助言に関して窓口及び論点整理に関する支援を実施した。（渡邊）

その後、プロトコール作成の支援（佐藤）を行い、統計デザイン・症例数設定および関連するプロトコール記載を行った（野村）。

同 11 月 12 日にプロトコール第 1 版および説明同意文書、関連 SOP 一式を固定し国立がん研究セ

ンターおよびがん研有明病院の治験審査委員会へ提出し、平成 25 年 1 月 11 日に承認を得た。（がん研有明は同月 15 日）それを持って、同 1 月 17 日に治験届けを提出し、同 3 月 11 日に登録を開始した。平成 25 年 3 月 31 日までに 5 名の患者登録が行われている。これらの試験の開始準備および登録システムの構築（EDC を使用）、治験届けの支援、スタートアップミーティングの支援、UMIN-CTR への事前登録支援、外注業者との契約締結の支援、患者登録/データマネージメント/モニタリング、国立がん研究センター東病院における CRC 業務などに試験実施に係わる包括的な支援を臨床試験支援室が実施した（佐藤）

D. 考察

臨床試験支援室による支援（佐藤）、生物統計家による支援（野村）、薬事専門家による支援（渡邊）によって、研究費採択されてから、登録開始まで約 9 ヶ月という短期間で、GCP 準拠の医師主導治験が効果的に準備・開始することが可能であった。

E. 結論

臨床試験の支援部門（佐藤）および生物統計家（野村）、薬事専門家（渡邊）の支援によって、アカデミア発の医師主導治験を円滑かつ効率的に準備し、臨床試験の方法論および関連法規に則った倫理的・科学的な臨床研究を開始する事が可能となった。

F. 健康危険情報

（総括研究報告書に記載）

**G.研究発表**

1.論文発表

(研究の刊行に関する一覧表に記載)

2.学会発表

**G. 知的財産権の出願・登録状況**

(予定を含む。)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

分担研究報告書

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服  
臨床試験の実施

研究分担者 池田 公史 国立がん研究センター東病院 肝胆膵内科

**研究要旨**

ゲムシタビン不応の進行膵癌患者を対象として、アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤 GBS-01 の第Ⅰ相試験を行った。レベル1：2包（牛蒡子エキスとして1.0g）/回、レベル2：5包（同2.5g）/回、レベル3：8包（同4.0g）/回として、投与量規制毒性を検討した。レベル1：3名、レベル2：3名、レベル3：9名が登録された。各レベルで、GBS-01の投与量規制毒性は認められず、牛蒡子エキスとして4.0gが推奨用量となり、忍容性も良好であった。また、1名に部分奏効も認めており、有効性が期待できる結果であった。今後、多施設共同で第Ⅱ相試験を行い、GBS-01の有効性と安全性を検討する予定である。

**A. 研究目的**

ゲムシタビン不応の進行膵癌患者を対象として、アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤「GBS01」の第Ⅰ相試験を行い、GBS-01の投与量規制毒性、有害事象を検討し、臨床第Ⅱ相試験での推奨用量を決定することを目的とした。また、副次的に有効性も検討した。

**B. 研究方法**

病理組織学的に診断された進行膵癌で、ゲムシタビン不応の患者を対象とした。GBS-01は、レベルを3段階に設定し、各レベル3名の用量漸増試験を行った。レベル1：2包（牛蒡子エキスとして1.0g）/回、レベル2：5包（同2.5g）/回、レベル3：8包（同4.0g）/回とし、GBS-01を1日1回連日経口投与することとした。投与量規制毒性はGBS-01投与後28日までのGrade4の血液毒性、Grade3以上の非血液毒性とした。有害事象はCTC AE ver 4.0、抗腫瘍効果はRECIST1.1にて判定した。

**（倫理面への配慮）**

本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針に従って本試験を実施する。個人情報および診療情報等のプライバシーに関する情報は個人の人格尊重の理念の下、厳重に保護され慎重に取り扱われるべきものと認識し、万全な管理対策を講じ、プライバシー保護に努める。

**C. 研究結果**

レベル1：3名、レベル2：3名、レベル3：9名が登録された。レベル3で投与量規制毒性の評

価不能であった3名を除く6名において、投与量規制毒性の発現は認めなかった。主なGrade3以上の有害事象については、 $\gamma$ GTP上昇（46.7%）、高血糖（33.3%）、ビリルビン増加（20.0%）、AST増加（6.7%）、ALT増加（6.7%）、ALP増加（6.7%）が認められたが、いずれも原病に起因すると考えられた。また、有効性に関しては、15名中1名[ゲムシタビン+S-1療法施行後、増悪を認めた症例]に部分奏効(PR)（5ヶ月継続）、4名において安定(SD)が認められた。無増悪生存期間の中央値は1.05ヵ月、全生存期間は5.68ヵ月であった。

**D. 考察**

栄養飢餓耐性を標的としたGBS-01は第Ⅰ相試験の結果、レベル3(牛蒡子エキスとして4.0g)の忍容性が確認され、推奨用量は牛蒡子エキスとして4.0gと判断された。また、第Ⅰ相試験でPR例も認められており、有効性も確認された。今後、第Ⅱ相試験に進み、有効性と安全性を確認する意義は十分であると考えている。

**E. 結論**

ゲムシタビン不応の進行膵癌患者に対して、GBS-01は忍容性は良好で、腫瘍縮小効果も確認されあ。今後、ゲムシタビンならびにフッ化ピリミジン系抗癌剤に不応の進行膵癌患者に対してGBS-01の多施設共同で第Ⅱ相試験を行い、有効性と安全性を確認する予定である。

**F. 健康危険情報**

（総括研究報告書に記載）

## G.研究発表

### 1.論文発表

(研究の刊行に関する一覧表に記載)

### 2.学会発表

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1.特許取得

出願番号【特願 2012-069964】 抗癌剤 江角  
浩安、池田公史ら

### 2.実用新案登録

なし。

### 3.その他

特になし。

分担研究報告書

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服

（分担する研究項目を記入）臨床試験の遂行

研究分担者 奥坂拓志 国立がん研究センター中央病院

研究分担者 石井 浩 癌研有明病院

**研究概要**

アルクチゲニン高含有牛蒡子エキスGBS-01の、ゲムシタビン不応性膵癌患者を対象とした臨床第Ⅰ相試験の結果、少なくとも経口投与の50%以上が吸収され尿中に排泄されるなどの高い生物学的利用能、安全性、忍容性が認められた。さらに少数ではあるが抗腫瘍性、有効例が観察された。これらの結果を受け、医師主導治験として臨床第ⅠⅠ相試験を立案した。事前相談、戦略相談、各医療機関での倫理審査を経て知見届けを提出し、年度内に患者登録を開始した。国立がん研究センター中央病院、癌研有明病院ともに症例登録は順調である。

**A. 研究目的**

「ゲムシタビンとフッ化ピリミジン系抗癌剤不応膵癌患者を対象とした GBS-01 の前期第Ⅱ相試」の実施を行いGBS-01の臨床的有用性の評価をする。

**B. 研究方法**

ゲムシタビン不応性膵癌患者に対するGBS-01の臨床第Ⅰ相試験の結果を解析し、これに基づき医師主導治験としての臨床第ⅠⅠ相試験の立案と遂行を行う。同時に、付随研究としてPOCの取得、バイオマーカーの開発を行う。

**（倫理面への配慮）**

本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針に従って本試験を実施する。個人情報および診療情報等のプライバシーに関する情報は個人の人格尊重の理念の下、厳重に保護され慎重に取り扱われるべきものと認識し、万全な管理対策を講じ、プライバシー保護に努める。

**C. 研究結果**

PMDAへの事前相談、戦略相談の後、プロトコルを確定し、各施設のIRBの審査を受け、平成25年3月11日症例登録を開始した。両病院ともに症例登録は順調である。同意取得率もほぼ百パーセントである。また、プロトコルは遵守されている。

**D. 考察**

本治験は実施に関して特に大きな問題はない。

**E. 結論**

医師主導治験としての臨床第ⅠⅠ相試験を開始した。

**F. 健康危険情報**

（総括研究報告書に記載）

**G. 研究発表**

1. 論文発表

（研究の刊行に関する一覧表に記載）

2. 学会発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

（予定を含む。）

1. 特許取得

江角浩安 抗癌剤

出願番号[特願 2012-069964]

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



#### 研究要旨

アルクチゲニン臨床試験において収集される治療前後の膵がん生検材料を用いた超並列シーケンスによる網羅的遺伝子変異解析に必要な技術の開発を行った。ホルマリン固定を行った手術、生検組織検体から抽出したゲノム DNA について、シーケンス施行前の品質コントロール手法を検討し、全エクソンシーケンスの結果との相関を求めた。9割以上の標本で網羅的遺伝子解析に必要なデータ取得に成功した。また通常の生検で採取可能な 500 ng 以下の微量のゲノム DNA から、通常法と遜色ない全エクソンシーケンスが可能であることを明らかにでき、本試験における遺伝子変異解析の技術基盤を確立できた。

#### A. 研究目的

アルクチゲニン臨床試験において収集される治療前後の膵がん生検材料を用いた網羅的遺伝子変異解析に必要な技術の開発

#### B. 研究方法

国立がん研究センター東病院に保管されている手術、生検材料からゲノム DNA を抽出し、総 DNA 量、二本鎖 DNA 量、キャピラリー電気泳動による DNA 断片長、定量 PCR による DNA 合成鋳型としての品質評価を行った。アジレント社 SureSelect Human All Exon キットによるエクソン領域の濃縮ののちイルミナ社 HiSeq2000 システムによる超並列シーケンスを行い、UCSC human genome 19 にマッピングした際のカバレッジを算出し、上記の DNA 品質指標との相関を検討した。

#### （倫理面への配慮）

ゲノム DNA のシーケンス解析はヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に則り、国立がん研究センター倫理審査委員会の承認を得て行った。（2011-137, 2011-201）

#### C. 研究結果

小細胞肺癌、結腸直腸癌の手術切除標本 126 検体（うちメタノール固定 9 検体、ホルマリン固定 117 検体）から 10  $\mu$ m 厚薄切切片 10-20 枚の癌部組織を剔出し DNA を抽出したところ、平均 39.8  $\mu$ g の総 DNA、5.2  $\mu$ g の二本鎖 DNA が回収された。メタノール固定標本の DNA 試料の断片長は 2 kb 以上と良好だったが、ホルマリン固定標本では

1 kb 以下と断片化が進行していることが明らかであった。ただし定量 PCR による増幅効率の評価では完全長ゲノム DNA との Cp 値の差はおおむね 3 以内にとどまっており、DNA ポリメラーゼの鋳型として使用可能であると想定された。この結果に矛盾せず、Cp 値の差が 3 以内のサンプルでは平均カバレッジが 50 以上と、がん細胞における体細胞変異の検出に十分な全エクソンシーケンスデータの取得が可能であった。さらに微量検体からの解析の可能性を検討するため、一般的な生検材料で得られる 500 ng 以下の二本鎖 DNA を鋳型に全エクソン解析を行った。その結果、最低 90 ng の DNA から平均カバレッジが 100 を超えるデータが取得できた。

#### D. 考察

生検で得られる微量のホルマリン固定組織を用いた全エクソン解析の報告は少なく、方法論の確立は本試験のバイオマーカー研究の成否を左右する課題であった。今回の検討で通常の方法による生検材料が利用できることが明らかとなった。

#### E. 結論

アルクチゲニン臨床試験における膵がん生検組織材料による網羅的体細胞変異解析の技術基盤が確立した。

**F. 健康危険情報**

(総括研究報告書に記載)

**G. 研究発表**

1. 論文発表

(研究の刊行に関する一覧表に記載)

2. 学会発表

日本癌学会学術総会 (2012)

P-3333 FFPE サンプルを用いた全エクソンシ  
ークエンスの検討

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

特記なし

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服  
画像診断による POC 取得と患者層別化

研究分担者 藤井 博史 国立がん研究センター東病院・機能診断開発分野・分野長

研究概要

アルクチゲニンの作用機序の検証やアルクチゲニンに対する感受性を予測するために重要と考えられるがん低酸素環境の存在を *in vivo* で可視化するための技術開発を、腫瘍内低酸素細胞に良好な親和性を示す分子プローブの開発を中心に行った。具体的には、1)  $^{18}\text{F}$ -FMISO の正常組織からの洗い出しを改善させた pimonidazole 類似物質の  $^{18}\text{F}$  標識 PET プローブ  $^{18}\text{F}$ -FPINI、2) PET 製剤よりも汎用性の高い  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  標識 SPECT プローブ、3) 低酸素環境で安定化する hypoxia inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  活性を可視化するための SPECT プローブの開発を進めた。その結果、1)  $^{18}\text{F}$ -FPINI は、担癌マウスを用いた *in vivo* イメージングにおいて  $^{18}\text{F}$ -FMISO よりも良好な低酸素領域対バックグラウンド比を示した。2)  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  標識低酸素イメージング SPECT 製剤として、低酸素細胞に良好な選択的親和性を示す化合物は得られた。しかし、*in vivo* イメージングに十分な低酸素領域対バックグラウンド比を得ることが難しく、さらなる改良により、プローブの体内動態の改善が必要と考えられた。3) HIF-1 $\alpha$  中の oxygen dependent degradation domain を組み込んだタンパク質プローブを  $^{125}\text{I}$  標識することにより、HIF 活性の *in vivo* 可視化を目指した。 $^{125}\text{I}$  標識タンパク質プローブは腫瘍内に不均一に分布し、HIF 免疫染色における濃染部位との間には良好な相関関係を確認することができた。今後、*in vivo* イメージングで良好な成績が得られた分子プローブに関しては、臨床応用を視野に入れて、検討を進めていく予定である。これらの研究が結実すれば、アルクチゲニンの膵癌に対する感受性予測などに役立つ技術の確立が期待できるものと考えられる。

A. 研究目的

アルクチゲニン治療が奏効するためにはがん病巣が低酸素低栄養環境に存在していなければならない。したがって、アルクチゲニンの作用機序の検証やアルクチゲニンに対する感受性を予測するためには、腫瘍内低酸素環境の存在の可視化が重要と考えられる。このため、腫瘍内低酸素環境の存在を *in vivo* で可視化するための分子プローブ開発研究を実施した。

B. 研究方法

腫瘍内低酸素環境の局在を *in vivo* で可視化するため、以下の3種類の分子プローブの開発を進めた。

1. 健常組織から良好なクリアランスを示す PET 低酸素イメージングプローブの開発

腫瘍内低酸素領域を可視化する PET プローブとして、これまで  $^{18}\text{F}$  標識 fluoro- misonidazole (FMISO) を用いた臨床研究が精力的に行われて

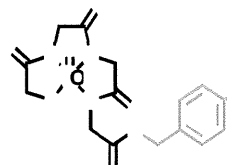
きたが、筋肉などの健常組織(=常酸素組織)からの  $^{18}\text{F}$ -FMISO の洗い出しが緩徐で、低酸素領域と健常組織との間に良好なコントラストが得られるのに長時間を要し、 $^{18}\text{F}$ -FMISO の臨床応用を阻んでいた。このため、健常組織からの洗い出しが misonidazole よりも良好であることが知られている pimonidazole の分子構造を修飾して新規低酸素イメージング PET プローブの開発を試みた。具体的には、pimonidazole の水酸基を  $^{18}\text{F}$  で置換して標識することにより、投与後早期に、良好なコントラストで腫瘍内低酸素領域を可視化できる新規 PET プローブの開発を試みた。

2. PET プローブよりも汎用性が高い  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  標識低酸素イメージング SPECT プローブの開発

PET 装置は高い感度と良好な定量性が特長の核医学検査であるが、検査が実施可能な施設は未だ限られているため、より汎用性の高い SPECT 検査用の低酸素イメージングプローブの開発は臨床的な有用性が非常に高い。

一般的に、低酸素細胞内では還元代謝活性が亢

進しているため、還元状態に置かれることにより脱離し、細胞内に停滞する部分に SPECT 核種を結合させておくことにより、新規の低酸素イメージングプローブの開発が行えると考えた。本研究では、 $^{99m}\text{Tc}$  をキレートし、脱離後、その細胞内にとどまるような構造を組み込んだ分子設計について検討を加え、新規低酸素 SPECT イメージングプローブの開発を進めた。



$^{99m}\text{Tc}$ -SD32

これまでに合成した  $^{99m}\text{Tc}$ -SD32 (上図) と同様にベンジル基と  $^{99m}\text{Tc}$  をキレートする分子構造を組み合わせた化合物を複数個合成し、低酸素環境下で培養した FM3A マウス乳癌細胞への親和性を確認した結果、化合物 X (特許申請中) が、低酸素腫瘍細胞に良好な親和性を示すことを確認した。

さらに化合物 X を FM3A 担癌マウスに投与し、化合物 X が  $^{99m}\text{Tc}$ -SD32 よりも、腫瘍組織移行性および健常組織からのクリアランスが優れていることを確認した。

### 3. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 $\alpha$ 活性を可視化する SPECT プローブの開発

腫瘍細胞内での HIF-1 $\alpha$  活性の亢進は血管新生の促進など腫瘍病変の悪性度増強につながったり、放射線治療や化学療法に対する抵抗性の原因となったりするため、その *in vivo* 可視化は、がん細胞内の物理的な低酸素状態の評価と同様に臨床的に重要な意味合いを持つ。このため、腫瘍細胞内での HIF-1 $\alpha$  活性の *in vivo* 可視化は有用性が高いと考えられる。本研究では、低酸素領域で安定する HIF-1 $\alpha$  中の oxygen dependent degradation (ODD) domain や streptavidin を組み込んだキメラ蛋白質 (POS) に  $^{125}\text{I}$  で標識した biotin を結合させることにより、HIF-1 $\alpha$  活性を可視化する SPECT プローブの合成を試みた。

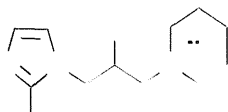
#### (倫理面への配慮)

動物を対象とした実験的研究は、国立がん研究センター動物実験倫理委員会の承認を受けて実施した。

## C. 研究結果

### 1. 健常組織から良好なクリアランスを示す PET 低酸素イメージングプローブの開発

まず、腫瘍内低酸素領域に良好な親和性を示すことが知られている pimonidazole の水酸基を  $^{18}\text{F}$  で置換する化学合成法を確立し、標識化合物  $^{18}\text{F}$ -FPINI を得た。



$^{18}\text{F}$ -FPINI

$^{18}\text{F}$ -FPINI が、低酸素環境で培養した FM3A マウス乳癌細胞に良好な親和性を示すことを確認した後、FM3A 担癌マウスに投与して、 $^{18}\text{F}$ -FMISO と体内動態を比較し、 $^{18}\text{F}$ -FPINI が  $^{18}\text{F}$ -FMISO よりも良好な腫瘍内低酸素領域対バックグラウンド比を示すことを確認した。

### 2. PET プローブよりも汎用性が高い $^{99m}\text{Tc}$ 標識低酸素イメージング SPECT プローブの開発

### 3. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 $\alpha$ 活性を可視化する SPECT プローブの開発

合成した  $^{125}\text{I}$  標識 POS は、低酸素細胞内で安定し、常酸素細胞内では崩壊することを確認した。 $^{125}\text{I}$  標識 POS を FM3A 担癌 C3H/He マウスに投与し、小動物用 SPECT/CT 装置で撮像したところ、 $^{125}\text{I}$  標識 POS の腫瘍病巣内の不均等分布の可視化に成功した。摘出標本のオートラジオグラフィと HIF 免疫染色における濃染部位との間には良好な相関関係が認められた。また、MRI との融合画像により、詳細な形態学的情報との対比が容易となった。

## D. 考察

### 1. 健常組織から良好なクリアランスを示す PET 低酸素イメージングプローブの開発

Pimonidazole 類似体の  $^{18}\text{F}$ -FPINI が、従来の低酸素イメージング PET プローブ  $^{18}\text{F}$ -FMISO よりも優れている可能性が示されたため、今後、合成過程を検証し、生成物中の  $^{18}\text{F}$ -FPINI の純度を高め、臨床試験に向けての準備を進めていく予定である。

### 2. PET プローブよりも汎用性が高い $^{99m}\text{Tc}$ 標識低酸素イメージング SPECT プローブの開発

SPECT 検査は汎用性高いものの、PET 検査と比較して感度が劣る。低酸素イメージング検査では、元々、組織血流量が少なく、分子プローブの標的組織への移行率が低い領域に集積する分子プローブを評価する必要があるため、感度が低いことは良好な画質のシンチグラムを得るうえで大きな問題となる。今回、合成に成功した化合物 X は、従前の  $^{99m}\text{Tc}$  標識化合物 ( $^{99m}\text{Tc}$ -SD32 など) と比較すると、低酸素イメージング製剤としての性質は優れていたものの、*in vivo* イメージングで実地診療に耐えうる画質のシンチグラムを得るには更な