

20124300/A

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
(臨床試験関係研究分野)

国立がん研究センターPhaseIセンター
早期開発研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大津 敦

平成25 (2013) 年 5月

目 次

I. 総括研究報告書	
国立がん研究センターPhase I センター早期開発研究	
研究事業全体の総括	1
[大津敦]	
II. 分担研究報告	
1. 研究事業 1. 抗体 DDS 製剤開発	5
[松村保広、安永正浩、土井俊彦、佐藤暁洋、大津敦]	
2. 研究事業 2. TAS102 に関する研究	7
[土井俊彦、安井博史、室圭、仁科智裕、高橋俊二、山口研成、 土原一哉、落合淳志]	
3. 研究事業 3. RPN2 標的核酸医薬に関する研究	9
[藤原康弘、落谷 孝広、竹下文隆、小野麻紀子、松田範昭、小林智]	
4. 研究事業 4. VEGF 阻害薬	13
[藤原康弘、細田雅人、小松弘嗣、肥塚靖彦、松崎尹雄]	
5. 研究事業 5. PARP 阻害剤 医師主導治験	23
[藤原康弘、田村研治、安藤正志、米盛勸]	
III. 研究成果の刊行に関する一覧票	29

総括研究報告書

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 (臨床試験関係研究分野))
総括 研究報告書

国立がん研究センターPhase Iセンター早期開発研究

研究代表者 大津 敦 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター長

研究要旨

早期・探索的拠点整備事業で整備中の基盤を用いて、アカデミア・ベンチャー発シーズの臨床導入 (研究事業 1, 3, 4)、製薬企業と共同で未承認薬を用いた早期臨床開発試験 (研究事業 2, 5) を実施した。平成 24 年度は、医師主導治験 1 試験が終了、1 試験が開始するなど概ね順調な進捗が認められた。次年度以降は、産学連携体制の整備などの環境整備と合わせて、各研究事業を更に進める。

研究分担者氏名	所属研究機関名および職名
大津 敦	独) 国立がん研究センター東病院、臨床開発センター長
松村 保広	独) 国立がん研究センター東病院臨床開発センター、部長
安永 正浩	独) 国立がんセンター東病院 臨床開発センター、室長
土井 俊彦	独) 国立がん研究センター東病院、科長
安井 博史	静岡県立静岡がんセンター、部長
室 圭	愛知県がんセンター中央病院、部長
仁科 智裕	国立病院機構四国がんセンター、医長
高橋 俊二	公益財団法人がん研究会有明病院 総合腫瘍科 部長
山口 研成	埼玉県立がんセンター 消化器内科 副部長
土原 一哉	独) 国立がん研究センター東病院臨床開発センター、室長
落合 淳志	独) 国立がん研究センター東病院臨床開発センター、部長
佐藤 暁洋	独) 国立がん研究センター東病院臨床開発センター、室長
藤原 康弘	独) 国立がん研究センター中央病院、科長/副院長
落谷 孝広	独) 国立がん研究センター研究所、分野長
竹下 文隆	独) 国立がん研究センター研究所、主任研究員
小野 麻紀子	独) 国立がん研究センター研究所、リサーチレジデント
松田 範昭	(株)スリー・ディー・マトリックス、社員
小林 智	(株)スリー・ディー・マトリックス、社員

細田 雅人	インタープロテイン株式会社、代表取締役
小松 弘嗣	インタープロテイン株式会社、本部長
肥塚 靖彦	インタープロテイン株式会社、部長
松崎 尹雄	インタープロテイン株式会社、ラボヘッド
田村 研治	独) 国立がん研究センター中央病院、医長

A. 研究目的

高い基礎研究能力を有するわが国が、特にアカデミアでの医薬品開発において欧米の後塵を拝するに至っている原因は、前臨床～早期臨床開発に至る開発能力がアカデミアに決定的に欠如しているためであり、これを是正するために、早期・探索的拠点整備事業で整備を進める基盤を用いて、アカデミア・ベンチャー発シーズの臨床導入 (研究事業 1, 3, 4)、製薬企業と共同で未承認薬を用いた早期臨床開発 (研究事業 2, 5) を実施し、各々の薬剤開発のみならず産官学連携の早期臨床開発のモデルを確立することが本研究の目的である。

○研究事業1 (抗体付加抗がん剤内包ミセル製剤)

抗ヒト組織因子 (TF) 抗体の作成とそれを附加したDDS製剤の開発と前臨床を行い臨床導入することを目的とする。

平成24年度は、抗TF抗体の作成と特性評価および最適化を行い、それを用いた強力なDDS製剤の作成と抗腫瘍効果の評価を行い、その後、非臨床研究、GMP/GLP試験を行ったあとに医師主導のPOC試験を行い企業開発に橋渡す予定である。

○研究事業2 (TAS102)

未承認の新規抗がん剤を用いて企業のfirst indicationへの開発とは異なるsecond indicationへ研究者のアイディアを元に研究者主導医師主導治

験で展開し、企業治験に引き継がせることによってアカデミア発の早期開発を行うことを目的とする。

平成24年度は、昨年度開始した未承認薬であるTAS102を用いた進行胃癌患者を対象とするPOC取得を目的とした医師主導治験を実施する。また、同様に研究者主導で実施する新規早期臨床研究について検討を行う。

○研究事業3 (RPN2核酸製剤)

乳癌の「がん幹細胞」に特異的に発現するRPN2に対し、その発現をノックダウンするRPN2siRNAと、合成ペプチドA6Kをキャリアとしたコンプレックス製剤について、安全性試験、イヌの自然発症乳癌に対する非臨床試験を実施し、Triple Negative乳癌に対するFirst in humanの医師主導治験の開始を目標とする。

平成24年度は、昨年度に引き続き、POCの確認、GMP製造と安定性などの確認、GLPでの前臨床試験の実施する。

○研究事業4 (経口VEGF阻害剤)

抗VEGF抗体製剤を、同じ作用メカニズムの低分子化合物に置き換える新規薬剤を開発することを目的とする。

平成24年度はリード化合物の最適化を行う。

○研究事業5 (Olaparib)

予後不良の乳がんを対象とし、国内外未承認の新規薬剤の早期開発試験を、POC取得を目的とした医師主導治験として実施することで、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、医師主導治験で未承認薬の早期開発の経験をとおして、その手法・管理体制の国内確立を目指す。

平成24年度は医師主導治験の開始を目指す。

B. 研究方法

国立がん研究センターを中心に産官学が連携し、アカデミア・ベンチャー発シーズの臨床導入(研究事業1, 3, 4)、製薬企業と共同で未承認薬を用いた早期臨床開発(研究事業2, 5)を医師主導治験・治験として実施する。前臨床・TR実施に当たっては、TR支援部門(東病院臨床開発センター、研究所、中央病院)、医師主導治験に当たってはPhase Iチーム(東・中央病院)が中心で、臨床試験支援室(両院)が支援する。また、公開シンポジウムなどにて新薬開発に関する啓蒙活動を行う。

○研究事業1 (抗体付加抗がん剤内包ミセル製剤)

平成24年度は、抗TF抗体の複数クローンを作成し、抗凝固作用、ELISA活性などの特性評価を行う。そこで最適化された抗TF抗体をチュブリン阻害剤およびエピルビシン内包ミセルへ付加したDDS製剤を作成して抗腫瘍効果を評価する。

○研究事業2 (TAS102)

昨年度開始した、前治療で増悪した進行性胃癌患者を対象にTAS102の非盲検single-armの早期第II相医師主導治験を実施する。実施に当たっては、適格性・安全性・進捗状況などを確認するための定期的カンファレンスを多施設Webカンファレンスとして実施し、安全に試験を遂行する。

○研究事業3 (RPN2核酸製剤)

平成24年度は、POC試験(薬効薬理試験)としてイヌの自然発症乳腺腫瘍を用いて、腫瘍縮小効果の確認と切除検体を用いたRPN2mRNAのノックダウンの確認を行う。製剤製造に関しては、GMP施設にて製造したヒトRPN2siRNAとペプチドキャリアA6Kを用いて安定性試験を行う。前臨床試験としては、GLP施設でICH S9ガイドラインに従って単回および4週間の反復投与試験を実施する。

○研究事業4 (経口VEGF阻害剤)

平成24年度は、リード化合物誘導体の合成、その薬理的・薬物動態学的評価、in silicoの独自分子設計法を用いたリード化合物の最適化を行う。

○研究事業5 (Olaparib)

アンスラサイクリン系薬剤・タキサン系薬剤の治療歴を有し、ホルモン受容体陰性・HER2過剰発現のない再発・転移性乳がんを対象とし、Olaparib(未承認薬:PARP阻害薬、アストラゼネカ社)とエリブリン(国内承認薬:抗悪性腫瘍薬、エーザイ社)併用の第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ことを目的とし、平成24年度は試験の開始を目指す。

(倫理面への配慮)

国立がん研究センターにて運用している受託研究審査委員会および倫理審査委員会を構成する。また、それらの委員会には施設外部からの委員も含む。これらの体制によってヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、GCPなどの臨床研究に関する各指針に従って臨床研究・治験を実施する。また、倫理審査委員会委員に対しては臨床試験の方法論や倫理に関する教育を行い委員の質の均一化を図る。院内の臨床研究に関わるスタッフに対しても同様の教育を行い人財の育成を図る。多施設臨床試験における参加施設においても上記と同様の体制を取る。患者の個人情報に関しては各施設の個人情報管理規定なども考慮しつつ最大限の保護を行う。

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」を踏まえ、各施設における動物取扱の取り決めを遵守して行う。また、遺伝子改変動物の取り扱いについては「カルタヘナ法」を順守し、各施設における動物倫理委員会および遺伝子組換え実験安全委員会の審査を受けて実施する。

C. 研究結果

未承認薬を用いた医師主導治験を支援する臨床試験支援室の整備・TRを支援するTR支援部門を整備すると共に、以下の各研究事業を推進した。平成24年9月に国立がん研究センター内に早期・探索臨床研究センターを設立(H25年から正式に独立)し、TR支援も含めた体制整備を行っている。

また、産官学連携に関する合同シンポジウムの主催(参加者数323名)や、早期・探索的臨床試験拠点整備事業記念シンポジウム等を通じて、広く普及啓発活動を実施した。

○研究事業1 (抗体付加抗がん剤内包ミセル製剤)

抗ヒトTF抗体クローンを複数作成し、抗凝固作用、

ELISA活性を評価していずれも活性が高いクローン
を同定した。その抗体をそれぞれMMAEおよびエピル
ピシン内包ミセルに付加して製剤化し、それを皮下
腫瘍モデルを用いて抗腫瘍評価を行い、いずれも抗
腫瘍効果を確認することに成功した。

○研究事業2 (TAS102)

試験開始時点の4施設（国立がん研究センター東
病院、四国がんセンター、愛知県がんセンター、静
岡県がんセンター）から更に2施設（埼玉県立がん
センター、癌研究会有明病院）を追加して合計6施
設で試験を実施した。第1ステージにおけるPPS8W
のdisease controlが12例中8例（66.67%）であり、
第2ステージに移行し、最終的に平成25年1月19日
目標症例29名登録終了となった。試験遂行上は大き
な問題は認められなかった。現在治療効果の経過観
察中であるが、高用量でのさらなる有効性が期待で
きるため探索的コフォートを追加設定し、検討を行
う予定とした。

○研究事業3 (RPN2核酸製剤)

POCの確認（薬効薬理試験）に関しては、イヌの
自然発症乳腺腫瘍において腫瘍縮小効果を確認し、
切除腫瘍においてアポトーシスとRPN2mRNAのノッ
クダウンを確認した。製剤の安定性に関しては、品
質試験方のバリデーションが確立し非臨床試験期
間までの安定性を確認した。前臨床試験に関しては、
ICH S-9ガイドラインに従い、単回投与および4週間
の反復投与・回復試験をラット及びサルを用いて実
施したが、毒性は非常に軽微で問題は認められな
かった。

○研究事業4 (経口VEGF阻害剤)

3種類の骨格から107種類の化合物を合成し、生物
学的評価および作用機序の検討を行い2つの化合物
に絞り込み、in vivo PK、in vitro生物活性、腫瘍
増殖抑制効果などを検討し、それを基に今後の合成
展開方針を決定した。

○研究事業5 (Olaparib)

プロトコール及び説明同意文書、薬物動態研究の
立案などを行い、平成25年1月より医師主導治験を
開始した。

D. 考察

平成24年度は未承認薬を用いた医師主導治験1試
験（研究事業2）が終了し、更に医師主導治験1試
験を開始した（研究事業2, 5）。また、前臨床段階に
あるシーズ（研究事業1, 3, 4）についても、一部を
除き概ね計画通り進捗している。これらの支援部門
についても国立がん研究センター内に早期・探索臨
床研究センターとして独立して組織され、臨床試験
支援部門及びTR支援部門の整備も進んだことから、
本研究事業研究も全体的に順調に進捗している。

さらに、これらのプラットフォーム・ノウハウを
活用した本研究事業以外の研究として開始された
医師主導治験が3試験あり、この研究事業1～5で得
られた早期開発の経験・ノウハウ・問題点が蓄積さ
れ、効率的な運営管理体制を確立されつつある。次
年度は、更にこれらのノウハウや積極的な広報活動
を通じて産官学連携コンソーシアムの構築を推進
する予定である。本研究事業での経験を活かし、他
のアカデミアおよび規制当局、製薬企業等とも連携

を進め、世界トップレベルのがん新薬早期開発拠点
を構築するとともに、政策提言などへの展開も目指
したい。

E. 結論

各研究事業ともに、整備事業による基盤構築と相
まってほぼ順調に進捗した。より効率的な運営管理
体制の確立、産官学連携体制の構築についても順調
に進捗している。来年度は、さらにTRの強化、広報
活動などの充実に取り組み、各研究事業の進捗を促
進していくと共に政策提言などへの展開も進める。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Doi T, Hamaguchi T, Shirao K, Chin K, Hat
ake K, Noguchi K, Otsuki T, Mehta A, Ohts
u A. Evaluation of safety, pharmacokineti
cs, and efficacy of vorinostat, a histone
deacetylase inhibitor, in the treatment
of gastrointestinal (GI) cancer in a phas
e I clinical trial. *Int J Clin Oncol*. 201
3 Feb;18(1):87-95.
- ② Yoshino T, Yamazaki K, Yamaguchi K, Doi T,
Boku N, Machida N, Onozawa Y, Asayama M,
Fujino T, Ohtsu A. A phase I study of in
travenous aflibercept with FOLFIRI in Jap
anese patients with previously treated me
tastatic colorectal cancer. *Invest New Dr
ugs*. 2012 Nov 20. [Epub ahead of print]
- ③ Doi T, Ohtsu A, Fuse N, Yoshino T, Tahara
M, Shibayama K, Takubo T, Weinreich DM.
Phase I study of trebananib (AMG 386), an
angiogenesis targeting angiopoietin-1/2
antagonist, in Japanese patients with adv
anced solid tumors. *Cancer Chemother Phar
macol*. 2013 Jan;71(1):227-35.
- ④ Yoshino T, Mizunuma N, Yamazaki K, Nishin
a T, Komatsu Y, Baba H, Tsuji A, Yamaguch
i K, Muro K, Sugimoto N, Tsuji Y, Moriwak
i T, Esaki T, Hamada C, Tanase T, Ohtsu A.
TAS-102 monotherapy for pretreated metas
tatic colorectal cancer: a double-blind,
randomised, placebo-controlled phase 2 tr
ial. *Lancet Oncol*. 2012 Oct;13(10):993-10
01.
- ⑤ Doi T, Ohtsu A, Yoshino T, Boku N, Onozaw
a Y, Fukutomi A, Hironaka S, Koizumi W, S
asaki T. Phase I study of TAS-102 treatme
nt in Japanese patients with advanced sol
id tumours. *Br J Cancer*. 2012 Jul 24;107
(3):429-34.
- ⑥ Kawamoto Y, Tsuchihara K, Yoshino T, Ogas
awara N, Kojima M, Takahashi M, Ochiai A,
Bando H, Fuse N, Tahara M, Doi T, Esumi
H, Komatsu Y, Ohtsu A. KRAS mutations in
primary tumours and post-FOLFOX metastati
c lesions in cases of colorectal cancer.
Br J Cancer. 2012 Jul 10;107(2):340-4.

2. 学会発表
特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
各分担研究報告書を参照。

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

分担研究報告書

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 (臨床試験関係研究分野)
分担 研究報告書

研究事業1. 抗体DDS製剤開発に関する研究

研究分担者	松村 保広	国立がん研究センター東病院	臨床開発センター	がん治療開発部	部長
	安永 正浩	国立がん研究センター東病院	臨床開発センター	がん治療開発部	室長
	土井 俊彦	国立がん研究センター東病院	臨床開発センター	消化管内科	副科長
	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	臨床試験支援室	室長
	大津 敦	国立がん研究センター東病院	臨床開発センター	センター長	

研究要旨

抗がん剤内包ミセルの一部は phase 3 が開始されようとしている。一方でがん治療領域において抗体療法あるいは抗体抗がん剤複合体の有用性も証明されつつある。このような状況でがん関連抗体をいくつか樹立しその腫瘍学領域での意義を解析するとともにそれら抗体の内、抗 Tissue Factor (TF)抗体をミセルに付加し第2世代の DDS を創製した。また抗 TF に MMAE を付加した抗体抗がん剤複合体を作製した。

A. 研究目的

我々が提唱した腫瘍血管の血管透過性亢進を利用して選択的腫瘍集積性を計る抗がん剤内包ミセルの機能をさらに高めるためにがん細胞表面特異抗体あるいはがん間質特異抗体を作製し、それらを低分子化し、ミセル表面に付加した。これにより passive targeting および active targeting 能力の両方を持たせることでさらにパワーアップした DDS 製剤を創製する。また、抗 TF 抗体に強力な抗がん剤 MMAE を付加した、抗体抗がん剤複合体 (ADC) を作製した。非臨床研究、GMP/GLP 対応試験を施行後 First in human 治験および引き続き POC 取得を目的とした医師主導治験を実施し、良好な結果が得られれば企業治験に引き渡すことを目標とする。

B. 研究方法

- 1) 血液凝固のトリガー組織因子 Tissue factor (TF) の抗マウスおよび抗ヒト TF モノクローナル抗体 (mAb) 作製とその特性評価
TF は外因系血液凝固のトリガー因子として知られている。また、多くのヒトがん細胞表面に発現し、腫瘍血管を含む異常血管および間質細胞においても強発現している。ラットにてヒトあるいはマウス TF 抗原で免疫しそれぞれの抗体を作製した。遺伝子配列、CDR およびエピソードの同定を行った。
- 2) 抗 TF 抗体の抗凝固作用、ELISA 活性および Internalization 能につき評価した。
- 3) 抗 TF 抗体 1849 へのチュブリン阻害剤 MMAE 付加
- 4) エピルビシン内包ミセル表面への抗 TF 抗体の付加体の in vitro、in vivo 抗腫瘍効果の評価

(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」を踏まえ、各施設における動物取扱の取り決めを遵守して行う。また、遺伝子改変動物の取り扱いについては「カルタヘナ法」を順守し、各施設における動物倫理委員会および遺伝子組換え実験安全委員会の審査を受けて実施する。

C. 研究結果

- 1) 抗ヒト TF 抗体クローン 1849、600、1006、1084、1859、444 をえることができた。このうち抗凝固作用があり、ELISA 活性および Internalization 能力が高い 1849 につき可変部の H 鎖および L 鎖の遺伝子配列、CDR を決定した。またエピソードもほぼ同定した。現在 1859 につき同様な解析を行っている。
- 2) それぞれの抗体クローンの特性として、抗凝固作用をもつのが 1849、1084、444 であり、他は有意に弱かった。ELISA 活性はほぼ同等であった。Internalization 能は 1849 と 1084 と 1859 が高かった、1006 は認められ無かった。600 と 444 は未施行である。
- 3) MMAE 付加 1849 の抗腫瘍効果をヒト膀胱がん BxPC3 皮下腫瘍において著しい抗腫瘍効果を発揮することが判明した。また抗マウス TF 抗体の MMAE-ADC においても抗腫瘍効果を発揮した。
- 4) 抗 TF 抗体 1849 付加エピルビシン内包ミセルの外郭のポリエチレングリコール (PEG) にマレイミドを介して抗ヒト TF 抗体をつけることに成功した。ヒト胃がん 44As3Luc 皮下腫瘍モデルにおいて、抗体複合体ミセルのほうがミセル体のみ比べて有意な抗腫瘍効果を示すことを証明した。

D. 考察

TF はがん細胞および腫瘍血管内皮細胞で恒常的

に発現し、がん以外では病的状態でのみ一過性に発現していることから、腫瘍特異的ターゲットになる可能性が示唆される。昨年度は抗マウスと抗ヒトの TF 抗体が得られさらに両者において低分子化抗体の作製と精製方法を確立した。さらにそれら抗体をミセルに結合する方法もほぼ確立できた。本年度は抗 TF 抗体の一部のクローンにつき可変部遺伝子の配列を明らかにし、エピトープもほぼ決定した。また、各クローンの抗凝固能、親和性、Internalization 能などの特徴を解明した。今後、これらの特性を詳細に評価して、どの抗体が最も臨床応用に適切かを判断することになる。

E. 結論

TF をターゲットにした抗 TF の ADC も抗 TF 付加抗がん剤内包ミセルも有意な抗腫瘍効果を示した。これら抗体 DDS 製剤の臨床開発への POC が得られたものと判断する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1.S Murata, Y Koga, Y Moriya, T Akasu, S Fujita, S Yamamoto, Y Kakugawa, Y Ohtake, N Saito, Y Matsumura. Application of miRNA expression analysis on exfoliated colonocytes for colorectal cancer diagnosis. *Gastrointestinal Cancer Targets and Therapy*. 2:11-18, 2012.

2.M Yasunaga, S Manabe, D Tarin, Y Matsumura. Tailored immunoconjugate therapy depending on a quantity of tumor stroma. *Cancer Sci*. 104(2):231-7.2013.

2. 学会発表

1. Yasuhiro Matsumura. Anti-cancer agents incorporation micelles in oncology. 2nd International Conference on Biomaterials Science in Tsukuba. March 19, 2013.

2. Yasuhiro Matsumura. Cancer Stromal Targeting(CAST) Therapy in Oncology. *Molecular Med TRI-CON 2013*. Feb. 12. Moscone North Convention center. San Francisco.

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

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 (臨床試験関係研究分野))
 分担 研究報告書

研究事業2. TAS102に関する研究

研究分担者	土井 俊彦	国立がん研究センター東病院
研究分担者	安井 博史	静岡県立静岡がんセンター
研究分担者	室 圭	愛知県がんセンター中央病院
研究分担者	仁科 智裕	四国がんセンター
研究分担者	高橋 俊二	癌研究所所有明病院
研究分担者	山口 研成	埼玉県立がんセンター
研究分担者	土原 一哉	国立がん研究センター東病院
研究分担者	落合 淳志	国立がん研究センター東病院

研究研究要旨

未承認薬である新規抗がん剤 TAS102 を用いた医師主導治験を実施した。平成 24 年 2 月 14 日に治験届け、国立がん研究センター東病院、国立四国がんセンター、愛知県がんセンター中央病院、静岡県立静岡がんセンター、埼玉県立がんセンター、癌研究所所有明病院で実施した。第 1 ステージにおける PPS8W の disease control が 12 例中 8 例 (66.67%) であり、第 2 ステージに移行した。試験継続を決定し最終的に平成 25 年 1 月 19 日 29 名登録終了となった。現時点で、安全性については、既報と差はなく、また試験としてのモニタリング、監査にても特に問題を認めていない。今後、最終解析を実施する予定である。

A. 研究目的

未承認薬である新規抗がん剤 TAS102 を用いた医師主導治験体制を確立し実施する。

B. 研究方法

前治療で増悪した進行胃癌患者を対象として、TAS-102 を投与したときの有効性と安全性を探索的に評価する非盲検、単群、多施設共同第 II 相臨床試験を計画し実施する。本試験は第 1 ステージと第 2 ステージの 2 段階から構成され、主要評価項目：病勢制御割合 (DCR)、副次的評価項目は奏功割合 (RR)、無増悪生存期間 (PFS)、全生存期間 (OS)、有害事象、薬物動態学的パラメータである。

(倫理面への配慮)

本試験は、治験として薬事法の下で行われる。本試験に関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 (平成 20 年厚生労働省告示 415 号)」に従って本試験を実施する。

C. 研究結果

大鵬薬品株式会社との共同研究契約締結後、平成 24 年 2 月 14 日に治験届けを実施、国立がん研究センター東病院、国立四国がんセンター、愛知県がんセンター中央病院、静岡県立静岡がんセンター、埼玉県立がんセンター、癌研究所所有明病院にて実施した。試験の進捗においては、web での定期的カンファを実施し、参加施設との情報共有を行うとともに、適格性および安全性などの確認も行うことで未承認薬での医師主導治験においても安全性に十分に配

慮した。第 1 ステージにおける PPS8W の disease control が 12 例中 8 例 (66.67%) と閾値である 4 例 (30%)

を上回っていたため、第 2 ステージに移行した。最終的に 29 名にて平成 25 年 1 月 19 日に登録を終了した。施設へのモニタリング、監査も実施し、現時点で GCP 違反など重要な逸脱は認めていない。今後、データカットオフを行い最終結果を報告する。また、高用量でのさらなる有効性が期待できるため探索的コホートを設定し、検討を行う予定とした。

D. 考察

本試験は本邦における初の未承認薬による医師主導治験である。登録の進捗、安全性、試験の質的にも極めて良好であり、本試験の試験体制およびインフラ整備により継続して、未承認薬を用いた試験の体制が可能と考えられる。

E. 結論

未承認薬である新規抗がん剤 TAS102 を用いた医師主導治験体制を実施し、全登録を完遂した。試験全体の安全性、監査・モニタリング実施による重大な逸脱も認めていない。今後、最終解析を実施する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto N, Murakami H, Nishina T, Hirashima T, Sugio K, Muro K, Taka hashi T, Naito T, Yasui H, Akinaga S,

- Koh Y, Boku N.. The effect of CYP2 C19 polymorphism on the safety, tolerability, and pharmacokinetics of tivantinib (ARQ 197): results from a phase I trial in advanced solid tumors. *Annals of Oncology*; Feb;14;1-7;2013
- 2) Yoshino T, Mizunuma N, Yamazaki K, Nishina T, Komatsu Y, Baba H, Tsuji A, Yamaguchi K, Muro K, Sugimoto N, Tsuji Y, Moriwaki T, Esaki T, Hamada C, Tanase T, Ohtsu A. TAS-102 monotherapy for pretreated metastatic colorectal cancer: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Oncology*; 13(10); 993-1001;2012

- (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
特記すべき事無し

2. 学会発表

安井 博史

- 1) 第50回日本癌治療学会総会 ランチョンセミナー36「TS-1の眼の副作用」～処方医の立場から～
- 2) 第50回日本癌治療学会総会 「既治療の進行再発胃癌患者を対象とする選択的c-MET阻害剤 ARQ 197単剤の第II相臨床試験」
- 3) 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会 「A Phase 2 Trial of Ixabepilone in Asian Patients with Advanced Gastric Cancer Previously Treated with Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy」
- 4) 第85回日本胃癌学会総会 ランチョンセミナー14「TS-1の眼の副作用」

室 圭

- 1) 胃癌治療における分子標的治療薬の位置づけ. 第109回日本内科学会 シンポジウム 1.悪性腫瘍の最近の治療と進歩-化学療法と分子標的薬・抗体療法- 京都 2012
- 2) 進行・再発胃癌に対する化学療法の現状と展望. 第85回日本胃癌学会総会, 教育セミナー, 大阪, 2013.
- 3) HER2陽性胃癌の治療ートラスツズマブ導入前からの変化と導入後の治療戦略ー. 第85回日本胃癌学会総会, 特別シンポジウム, 大阪, 2013.

仁科 智裕

- 1) Nishina T, Hironaka S, Tsuji A, Suzuki K, Otsuji T, Shibata T, Morita S, Okamoto I, Boku N, Hyodo I. Final analysis of randomized phase III study WJOG4007 comparing irinotecan (CPT-11) with weekly paclitaxel (wPTX) in advanced gastric cancer (AGC) refractory to chemotherapy (CT) of fluoropyrimidine plus platinum (FP). ESMO ウィーン2012.9.

G. 知的財産権の出願・登録状況

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 (臨床試験関係研究分野))
分担 研究報告書

研究事業3. RPN2標的核酸医薬に関する研究

研究分担者	藤原 康弘	独) 国立がん研究センター中央病院、乳腺・腫瘍内科	科長
研究分担者	落谷 孝広	独) 国立がん研究センター研究所、分子細胞治療研究分野	分野長
研究分担者	竹下 文隆	独) 国立がん研究センター研究所、分子細胞治療研究分野	主任研究員
研究分担者	小野 麻紀子	独) 国立がん研究センター研究所、分子細胞治療研究分野	リサーチレジデント
研究分担者	松田 範昭	株) スリー・ディー・マトリックス、事業開発部	社員
研究分担者	小林 智	株) スリー・ディー・マトリックス、事業開発部	社員

研究要旨

乳癌の「がん幹細胞」に特異的に発現するRPN2に対し、その発現をノックダウンするRPN2siRNAと、合成ペプチドA6Kをキャリアとしたコンプレックス製剤について、安全性試験、自然発症乳癌に対する非臨床試験を実施し、Triple Negative乳癌に対するFirst in humanの医師主導治験の開始を目標とする。本年度は、自然発症乳癌での前臨床試験およびGLP安全性試験を実施した。顕著な治療効果およびアポトーシスの惹起を認め、有効性を確認した。単回投与による安全性試験を完了し、毒性を認めなかった。また、サルへの4週間反復投与による安全性試験においても、有害事象は認められなかった。コンプレックス製剤の評価についても完了した。

A. 研究目的

研究分担者らは、Ribophorin II (RPN2) 遺伝子が乳癌の「がん幹細胞」に特異的に発現することを見出しており、乳癌検体よりRPN2の発現量と腫瘍サイズおよび予後の悪さの相関を確認している。また、RPN2遺伝子に対しその発現をノックダウンするRPN2siRNAの導入による、乳癌に対する抗腫瘍効果をマウスにおいて検証している。本研究では、siRNAのキャリアとして、研究分担者らの開発した合成ペプチドA6Kを用い、RPN2siRNAとのコンプレックス製剤を作製する。自然発症乳癌に対する非臨床試験を実施し、有効性を検証する。GLPにて、コンプレックス製剤の安全性試験を実施し、投与量の設定と安全性を検証する。通常の治療法が効を奏しにくいTriple Negative乳癌症例に対して、本コンプレックス製剤を用いたFirst in humanの医師主導治験の開始を目標とする。日本発の核酸医薬の推進役として期待される。

B. 研究方法

自然発症乳癌に対する非臨床試験においては、イヌ乳腺腫瘍のRT-PCR解析によりRPN2遺伝子を同定し、RPN2発現レベルと乳腺腫瘍の悪性度の相関を確認する。イヌ自然発症乳癌腫瘍症例のうち、悪性度が高いと推測される症例にRPN2siRNA/A6K

コンプレックス製剤を投与し、腫瘍の縮小効果および経過観察を行う。一部の症例を除いて、投与約48時間後に手術により腫瘍を摘出し、免疫染色によるアポトーシスの測定および、RPN2mRNAのノックダウンの確認を行う。また、炎症性乳癌の症例に対しては手術を行わず、コンプレックス製剤の複数回投与と長期的経過観察を行う。

GMP対応施設にて、ヒトRPN2siRNAおよびペプチドキャリアA6Kを合成し、確認試験および各種品質試験を実施する。原薬および投与水溶液について、委託試験施設での信頼性基準にて、長期安定性試験および非臨床試験期間を担保する安定性試験を実施する。

抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン (ICH S9ガイドライン) に則って、GLP施設での委託試験にて非臨床試験を実施する。試験液の分析バリデーション、単回および4週間反復投与毒性試験 (ラット、サル) 等の非臨床試験を実施する。

(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」を踏まえ、各施設における動物取扱の取り決めを遵守して実

施した。

C. 研究結果

1. 自然発症乳癌に対する非臨床有効性試験

悪性・良性乳腺腫瘍におけるRT-PCR解析によりイヌRPN2遺伝子を同定し、RPN2発現レベルは悪性症例において高いことを見出した。RPN2siRNAとペプチドキャリアA6Kによるコンプレックス製剤について、自然発症乳腺腫瘍症例のうち悪性例5例、良性例6例にコンプレックス製剤を投与したところ、悪性症例では有意な腫瘍の縮小がみられた(図1)。摘出腫瘍(悪性)においては、アポトーシスおよびRPN2mRNAのノックダウンが確認された。炎症性乳癌症例において複数回投与を行ったところ、268日に渡り安定(SD)を保ち、その後外科的に腫瘍を切除して退院に至った症例を得た。また、マウス乳腺腫瘍播種モデル(n=40)においても、コンプレックス製剤の投与により有意なノックダウン効果および腫瘍縮小結果を得た。

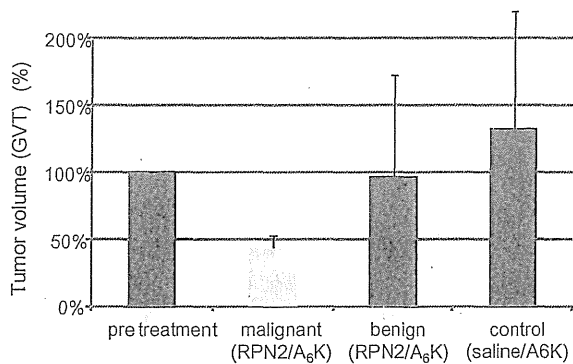


図1 イヌ自然発症乳腺腫瘍における腫瘍縮小効果

2. 原薬の品質試験および安定性試験

ヒトRPN2siRNAおよびペプチドキャリアA6Kについて、品質試験法のバリデーションが完了した。原薬および投与水溶液について、信頼性基準にて安定性試験を実施したところ、非臨床試験期間を十分に担保する安定性をもつことが見出された。長期保存試験、加速試験の結果、適切な保存条件において1年以上の安定性を確認したが、引き続き3年間まで試験を継続する。

3. GLP非臨床安全性試験

ペプチドキャリア単体およびコンプレックス製剤の単回投与試験および4週間反復投与・4週間回復試験について、GLP施設での委託試験にて実施した。薬効を示す臨床想定投与量の約30倍までの範囲において、ラットおよびサルにて毒性を示す所見は現れず、十分な安全性が確認された。また、サルの反復投与回復試験に関しては、観察期間中有害事象は認められなかった。

D. 考察

RPN2siRNAとペプチドキャリアA6Kのコンプレックス製剤の局所投与により、自然発症悪性乳腺腫瘍に対するアポトーシスの惹起および縮小効果が得られたことから、本製剤の有効性が確認された。また、RPN2siRNA、ペプチドキャリアA6Kともに原薬の長期間安定性が確認された。25年度では、PMDAとすり合わせながらGMP製造のスペックを確定し、実生産を行う予定である。ICH-S9ガイドラインに則った、ラットおよびサルにおける単回ならびに反復投与毒性試験(GLP)の結果、顕著な毒性は見られなかった。今後、PMDAとの連携を密にしながら、医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンスに基づいて十分な安全性試験結果を蓄積することで、First in humanの医師主導治験の開始が可能になると考える。これまでに得られたGLP安全性試験データは、治験薬概要書の一部とする。

E. 結論

RPN2siRNAおよびペプチドキャリアA6Kの原薬としての安定性を確認し、コンプレックス製剤の乳癌に対する有効性を見出した。GLP非臨床安全性試験の結果、薬効を示す臨床想定投与量にて毒性は見られなかった。今後、治験開始に向けた安全性試験結果を蓄積し、医師主導治験の開始を目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

落谷孝広、竹下文隆、小野麻紀子

1. Uchino K, Takeshita F, Takahashi RU, Kosaka N, Fujiwara K, Naruoka H, Sonoke S, Yano J, Sasaki H, Nozawa S, Yoshiike M, Kitajima K, Chikaraishi T, Ochiya T. Therapeutic effects of microRNA-528-5p and -3p on the inhibition of bladder cancer progression. *Mol Ther*, 21: 610-619, 2013
2. Kosaka N, Takeshita F, Yoshioka Y, Hagiwara K, Katsuda T, Ono M, Ochiya T. Exosomal tumor-suppressive microRNAs as novel cancer therapy: "Exocure" is another choice for cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev*, in press
3. Kobayashi S, Yamada-Okabe H, Suzuki M, Natori O, Kato A, Matsubara K, Jau Chen Y, Yamazaki M, Funahashi S, Yoshida K, Hashimoto E, Watanabe Y, Mutoh H, Ashihara M, Kato C, Watanabe T, Yoshikubo T, Tamaoki N, Ochiya T, Kuroda M, Levine AJ, Yamazaki T. LGR5-positive colon cancer

- stem cells interconvert with drug-resistant LGR5-negative cells and are capable of tumor reconstitution. *Stem Cells*, 30:2631-2644, 2012
4. Ohno S, Takanashi M, Sudo K, Ueda S, Ishikawa A, Matsuyama N, Fujita K, Mizutani T, Ohgi T, Ochiya T, Gotoh N, Kuroda M. Systemically Injected Exosomes Targeted to EGFR Deliver Antitumor MicroRNA to Breast Cancer Cells. *Mol Ther.* in press
 5. Gailhouste L, Ochiya T. Cancer-related microRNAs and their role as tumor suppressors and oncogenes in hepatocellular carcinoma. *Histol Histopathol.* in press
 6. Goda T, Masuno K, Nishida J, Kosaka N, Ochiya T, Matsumoto A, Miyahara Y. A label-free electrical detection of exosomal microRNAs using microelectrode array. *Chem Commun*, 48:11942-11944, 2012
 7. Hagiwara K, Kosaka N, Yoshioka Y, Takahashi RU, Takeshita F, Ochiya T. Stilbene derivatives promote Ago2-dependent tumor suppressive microRNA activity. *Sci Rep*, 2:314, 2012
 8. Hamasaki T, Suzuki H, Shirohzu H, Matsumoto T, D'Alessandro-Gabazza CN, Gil-Bernabe P, Boveda-Ruiz D, Naito M, Kobayashi T, Toda M, Mizutani T, Taguchi O, Morser J, Eguchi Y, Kuroda M, Ochiya T, Hayashi H, Gabazza EC, Ohgi T. Efficacy of a novel class of RNA interference therapeutic agents. *PLoS One*, 7:e42655, 2012
 9. Hirose Y, Saijou E, Sugano Y, Takeshita F, Nishimura S, Nonaka H, Chen YR, Sekine K, Kido T, Nakamura T, Kato S, Kanke T, Nakamura K, Nagai R, Ochiya T, Miyajima A. Inhibition of Stablin-2 elevates circulating hyaluronic acid levels and prevents tumor metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109:4263-4268, 2012
 10. Suetsugu A, Honma K, Saji S, Moriwaki H, Ochiya T, Hoffman RM. Imaging exosome transfer from breast cancer cells to stroma at metastatic sites in orthotopic nude-mouse models. *Adv Drug Deliv Rev.* in press
 11. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Hagiwara K, Takeshita F, Ochiya T. Competitive interactions of cancer cells and normal cells via secretory microRNAs. *J Biol Chem*, 287:1397-1405, 2012
 12. Kosaka N, Ochiya T. Unraveling the mystery of cancer by secretory microRNA: horizontal microRNA transfer between living cells. *Front Genet*, 2:97, 2012
 13. Morita S, Takahashi RU, Yamashita R, Toyoda A, Horii T, Kimura M, Fujiyama A, Nakai K, Tajima S, Matoba R, Ochiya T, Hata I. Genome-wide analysis of DNA methylation and Expression of microRNAs in breast cancer cells. *Int J Mol Sci*, 13:8259-8272, 2012
 14. Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, Kumada T, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi YH. Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease. *PLoS One*, 7:e48366, 2012
 15. Takeshita F, Takahashi RU, Onodera J, Ochiya T. In vivo imaging of oligonucleotide delivery. *Methods Mol Biol*, 872:243-253, 2012
 16. Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Kato T. Micromanaging iron homeostasis - Hypoxia-inducible micro-RNA-210 suppresses iron homeostasis-related proteins. *J Biol Chem*, 287:34110-34119, 2012
2. 書籍
藤原康弘、落谷孝広、小野麻紀子
1. Ochiya T. RNA interference. In: Schwab M (ed), *Encyclopedia of Cancer*, 3rd edition. Germany, Springer, 2012
 2. Ono M, Fujiwara Y, Ochiya T. Breast cancer stem cell: translating to the clinic. In: Hayat MA (ed), *Stem Cells and Cancer Stem Cells*, volume 4. Germany, Springer-Verlag, pp 249-257, 2012
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許出願
落谷孝広
 1. 出願番号: 国際出願PCT/JP2011/064527, 発明者: 落谷孝広: がん幹細胞を含むまたはそれに由来するがんの治療、予防および診断のための方法および組成物 (PCT出願済み、日本国、米国、欧州、中国、韓国に移行済み)
 2. 出願番号: 特願2011-33772, 発明者: 落谷孝広, 小坂展慶, 井口晴久: 腫瘍縮小剤 (日本国特許申請済み)
 3. 出願番号 : 国際出願 PCT/IB2012/002626, MicroRNA-Based Methods and Assays for Osteosarcoma (PCT出願済み)
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

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(臨床試験関係研究分野))
 分担 研究報告書

研究事業4. VEGF阻害薬

研究分担者	藤原 康弘	国立がん研究センター中央病院	乳腺・腫瘍内科	科長
研究分担者	細田 雅人	インタープロテイン株式会社	代表取締役	
研究分担者	小松 弘嗣	インタープロテイン株式会社	事業開発本部長	
研究分担者	肥塚 靖彦	インタープロテイン株式会社	研究開発部長	
研究分担者	松崎 尹雄	インタープロテイン株式会社	分子設計ラボヘッド	

研究要旨

高額抗体医薬アバスチン（ベバシズマブ）と同じメカニズムによる経口 VEGF阻害薬のFirst in humanを含む早期臨床試験を医師主導臨床開発により完遂し、アライアンス、グローバル臨床試験につなぎ、日本発、世界初のサイトカインと受容体の結合阻害、すなわち低分子蛋白質間相互作用（VEGFとVEGF受容体相互作用）制御薬のグローバル市場での価値創出を目論む。

A. 研究目的

腫瘍の分子生物学的な研究の進展に伴い、がん治療に有用な標的分子が次々に明らかにされ、抗体やキナーゼ阻害剤などの様々な分子標的薬が開発され、従来の化学療法剤をはるかに凌ぐ臨床成績を実現したグリーベックなどの薬剤が開発された。このように、現在は、抗体医薬品やキナーゼ阻害剤などの分子標的薬が抗がん剤開発の主流であるが、それぞれに長所と短所があることから、新しい分子標的薬開発の標的として、蛋白質間相互作用 (protein-protein interaction; PPI)を制御できる低分子化合物が注目され、その研究が着実に増加している (図1)。このような流れの中で、表1に示すように、様々な標的に対するPPIを制御する低分子化合物が見いだされ、その中のいくつかの化合物は、臨床試験が行われている。そして、数種類のPPI制御低分子化合物が医薬品として販売されるに至っている (図2)。

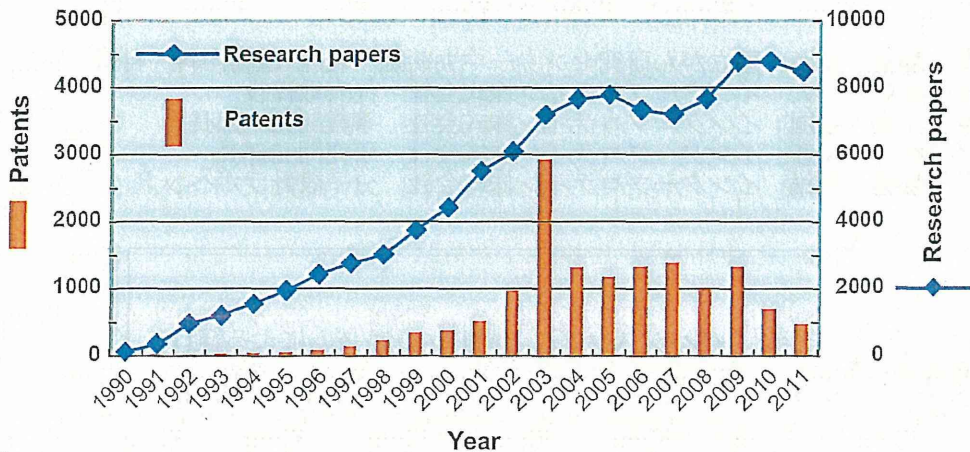
インタープロテインは、PPI制御薬の開発に際して、抗体医薬により標的の有用性と市場ポテンシャルがvalidateされた標的をターゲットとして、抗体医薬と同じプロファイルを有する低分子化合物を創出することにより、医薬品創出の成功確度の向上を目指している。この目的に適合する標的としては、サイトカインとその受容体の相互作用の制御がそのメカニズムの面および有効性の面から有望であると考えている。そして、市場性の面からは、抗VEGF抗体、アバスチンが2018年には、世界最高の売上が期待され、その年間

売上高は全世界で7556億円 (1 USD = 100円) であることが、EvaluatePharma社により予測されている。

すなわち、本研究事業の目的は、VEGFを標的として、アバスチンと同じ作用機序を有する世界初の低分子PPI経口阻害剤を開発し、世界トップレベルの早期臨床開発拠点である国立がん研究センターにおいてphase 1臨床試験を実施することにより、‘真’のイノベーションの創出を実現することである (図3)。

Trend in PPI-related Researches

Changes in numbers of PPI-related papers and patents



Note:

1. Research papers and patents were searched with a keyword "protein-protein-interaction (within title, abstract and keywords)" in a database "SCOPUS" provided by Elsevier on December 13, 2011.
2. An outstanding number of patent in 2003 seems to be relevant to increased application of patents of PPI-detecting methodologies mainly by US companies.
3. Numbers in 2011 are in a limited period of January 1 to December 13.

図1 PPI関連研究数の推移

表1 低分子PPI阻害剤の開発状況

Representative small molecule PPI inhibitors whose biochemical parameters have been well characterized

PPI	P-P dissociation constant (Kd, μM)	Ligand (PDB ID)	Ligand MW	P-L binding constant (μM)	PSA/100A ²
Bcl/Bak	0.34	N3C (ABT-737)	813	not available	0.001
HDM2/p53	0.6	DIZ	581	0.08 (Kd)	0.67
XDM2/p53	not available	IMY (Nutlin-3)	582	0.16 (IC ₅₀)	0.66
HDM4/p53	0.21	WW8	630	not available	0.60
Xiap/caspase 9	75	997	535	0.005 (Kd)	1.00
Xiap/Smac	not available	BI6	487	0.067 (Ki)	0.91
ZipA/FtsZ	21.6	WAI	424	12 (Kd)	0.52
HPV E2/E1	0.06	434	608	0.04 (Kd)	1.44
IL-2/IL-2R	0.01	FRH	663	0.06 (IC ₅₀)	1.26
Integrase/LEDGFp75	0.01	723	314	not available	0.47
TNF- α /TNFRc1	not available	307	548	22 (IC ₅₀)	0.38
TNFR1A/TNFB	not available	703	457	0.27 (IC ₅₀)	1.44
LFA-1/ICAM-1	not available	not available	640	0.002 (IC ₅₀)	not available

Targets	Inhibitor	Stage	Indication	Route	MW	
MDM2	RG7112/RO5045337 (Roche)	P-1	sarcoma etc.	oral	581.5	'Rule-of-Four' MW 547 ± 154 (>400) LogP 3.99 ± 2.37 (>4) Rings 4.44 ± 1.02 (>4) HBA 6.62 ± 2.60 (>4)
	JNJ-26854165 (E3) (J&J)	P-1	solid tumors	oral	328.4	
	MI-219 (Michigan Univ.)	P-1	prostate	oral	552.5	
Bcl-2	ABT-263/Navitoclax (Abbott)	P-1/2a	CLL etc.	oral	974.6	
LFA-1	SAR1118 (SARcode)	P-3	dry eye	eye drop	640.0	

Launched small molecule PPI modulators

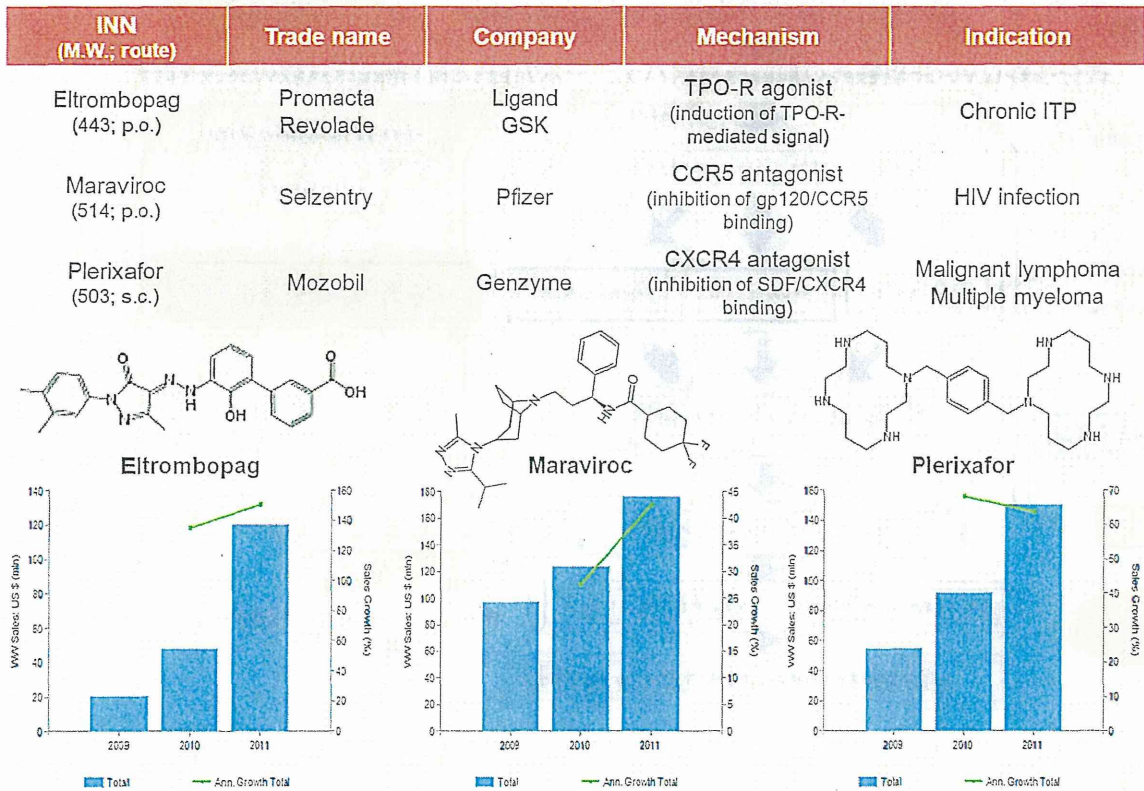
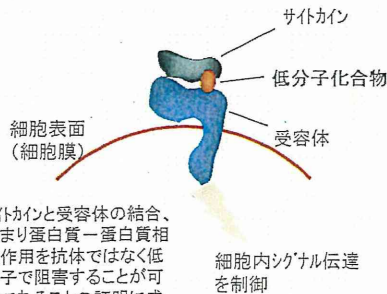
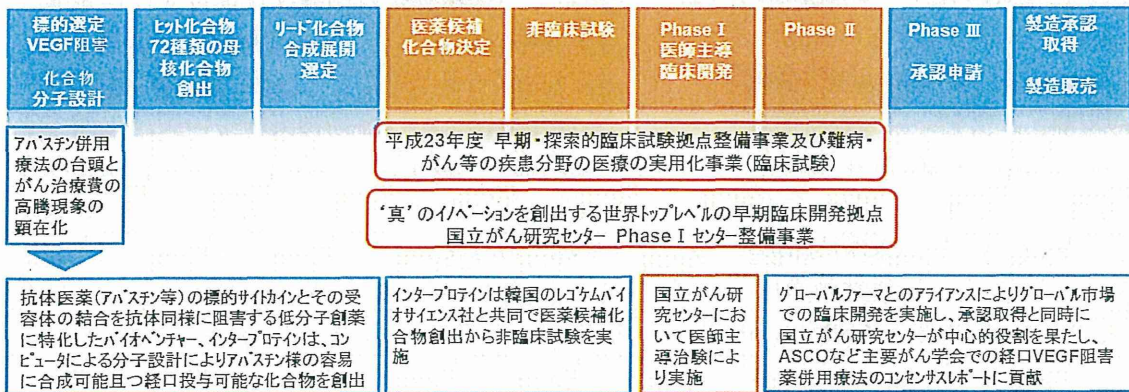


図2 市販されている低分子PPI制御薬

研究事業4. 抗サイトカイン抗体医薬 アバステン(抗VEGF抗体医薬)を置き換える経口VEGF阻害薬の研究開発計画



サイトカインを標的にした抗体医薬		
標的サイトカイン	抗体医薬	適応疾患()内は、特米の適応拡大
VEGF	アバステン	大腸がん、非小細胞肺がん等固形がん
IL-6	アゲムラ	慢性関節リウマチ、キャスルマン病、(がん等の悪液質)
TNF α	レミケド、ヒューマ	慢性関節リウマチ、(がん等の悪液質)
IL-1 β	イリス	クワイオリン関連周期性症候群

抗サイトカイン抗体医薬は、遺伝子組み換えにより製造され、薬効に優れる。しかし、いずれも高額医療の対象であり、使用できる患者は、限定的であり、一日も早く安価に合成可能な経口薬の開発が世界で望まれている。インタープロテイン社は、抗サイトカイン抗体医薬をはじめとする抗体医薬の標的蛋白質をターゲットに経口可能な低分子創薬に注力している。

図3 低分子VEGF阻害剤の研究開発計画

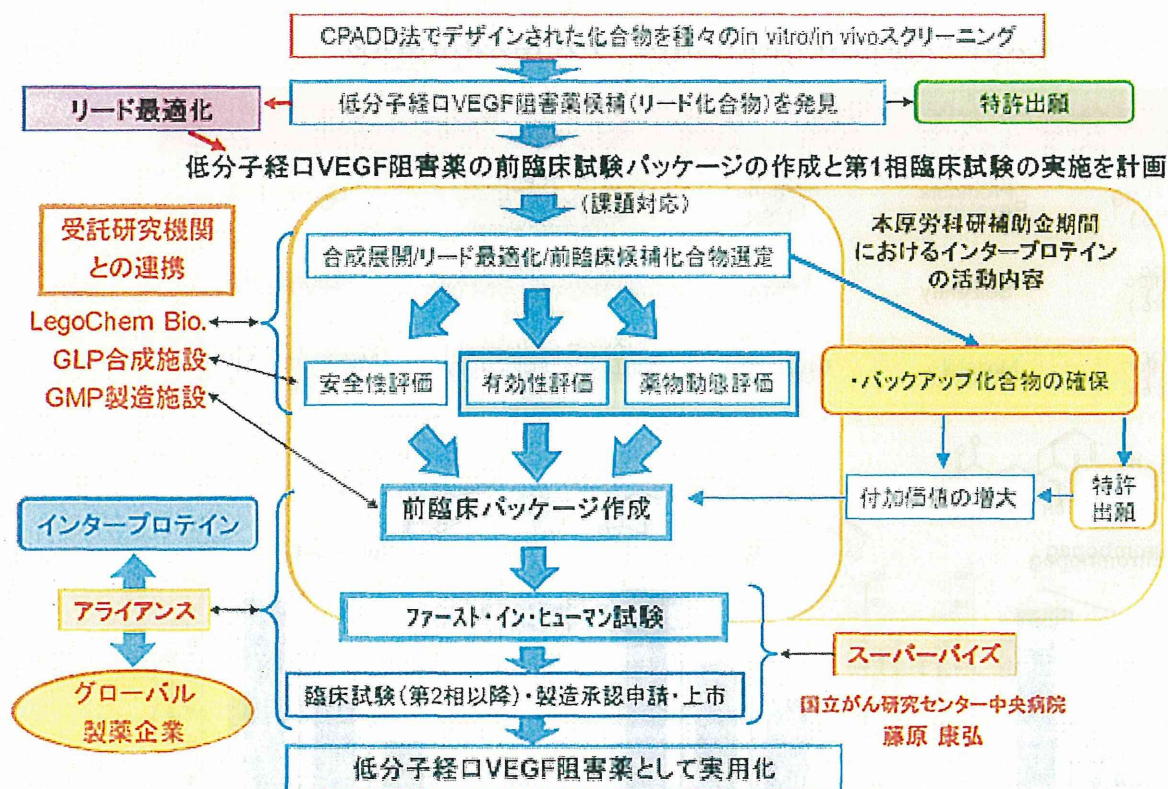


図4 研究方法

B. 研究方法

広くコラボレーションを活用し、Lead Optimizationの展開を図る。具体的には、京都産業大学での生物評価を含めたプロジェクトマネジメントを中心としてLegoChem Bioscience社(韓国デジョン)との合成展開、エヌビー健康研究所(北海道)および理研とのproof of mechanism of actionの展開、丸和栄養食品社(奈良)および宇宙航空研究開発機構(JAXA)とのX線結晶構造解析の展開などを平行に行い、医薬最適化をインタープロテインの独自分子設計法(INTEND D-SBSG法※)コンピュータ計算化学により確認しながらリード最適化を図る(図4)。

※Interprotein Engine for New Drug Design- Structure Based Scaffold Generation

(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」を踏まえ、各施設における動物取扱いの取り決めを遵守して行う。また、遺伝子改変動物の取り扱いについては「カルタヘナ法」を順守し、各施設における動物倫理委員会および遺伝子組換え実験安全委員会の審査を受けて実施する。

C. 研究結果

【リード化合物誘導体の合成展開】

昨年度は、V-103 シリーズの LCB-451, LCB-337 シリーズの LCB-540, V-119 シリーズの V-119-8 が有望であることを報告した。今年度は、この 3 種類の骨格から医薬候補化合物の絞り込みを行い、以降の合成展開方針を決定することを目標として、韓国の LegoChem Biosciences (LCB) 社が、各化合物の誘導体の合成（有望化合物の大量合成を含む）を行い、平成 24 年 4 月 1 日から平成 25 年 3 月 31 日までの 12 ヶ月間に、107 種類の化合物を合成した。合成は、医薬候補化合物決定およびバックアップ化合物決定まで今後も継続する。

【リード化合物誘導体の薬理的・薬物動態学的評価】

今年度上期は、上記の 3 種類の化合物の誘導体を合成し、in vitro、in vivo の生物学的評価および作用機序の検討を行い、最終的に V-103 シリーズの LCB-604 と V-119 シリーズの V-119-24 を有望化合物として選び出し、詳細な検討を行った。

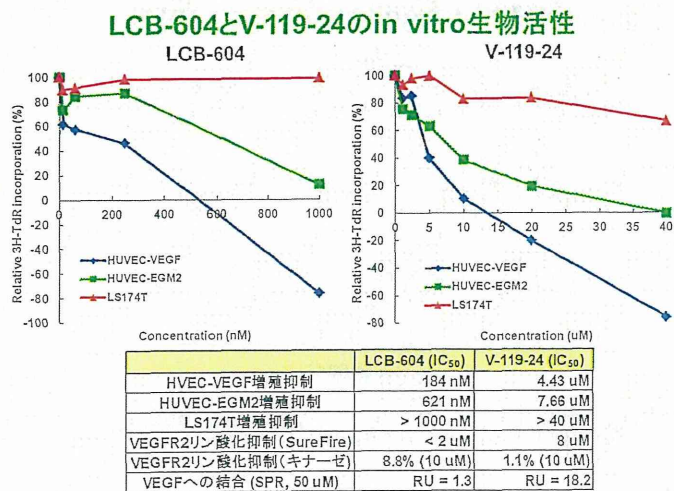


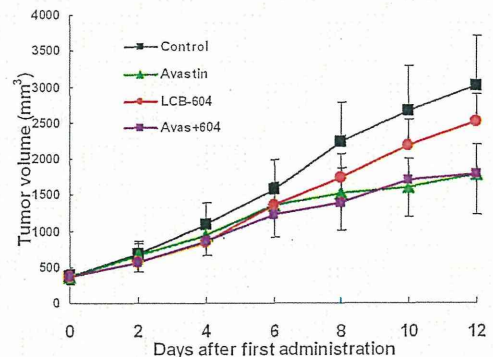
図5 LCB-603とV-119-24のin vitro生物活性

図5に示すように、V-119-24は、直接的にVEGFR2チロシンキナーゼを抑制することなく、VEGF₁₆₅により誘発されるHUVEC（ヒト臍帯静脈内皮細胞）上のVEGFR2の1175番目のチロシンのリン酸化を抑制すること、および、その結果としてVEGF刺激HUVECの増殖を抑制すること（IC₅₀値 = 4.43 uM）が判明した。さらに、SPR法によりVEGF蛋白質に結合することも判明した。これらの結果は、V-119-24は、提案者の想定する作用機序により、VEGFシグナルを抑制している可能性が高いことを示唆する。

一方、LCB-604は、VEGF刺激HUVECの増殖を抑制し、そのIC₅₀値は、0.182 uMとV-119-24のそれに比べて20倍以上良好であった。また、LCB-604は、キナーゼ阻害作用を介さずにVEGF₁₆₅によるVEGFR2のチロシンのリン酸化を抑制することが判明しことから、生物活性の面では、V-119-24より優れていることが示唆された。しかし、SPR法および共結晶法により、LCB-604がVEGF蛋白質に結合するという証拠を得ることができなかった。

有望と考えられるV-119-24およびLCB-604の特徴について上述したが、それぞれに一長一短があることから、これらの知見のみからは、開発候補をどちらか一方に絞り込むことは困難であった。そこで、候補化合物の絞り込みを行うために、両化合物のin vivo腫瘍増殖抑制作用の検討およびin vivo PK (pharmacokinetic)試験を実施した。

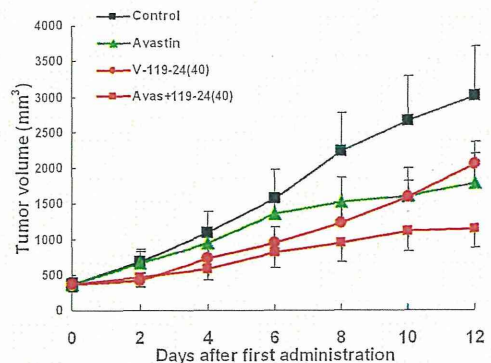
LCB-604の腫瘍増殖抑制作用 (Avastinとの併用)



LS174T細胞をヌードマウスに皮下移植した。1週間後に各マウスの腫瘍体積を測定し、次の4つのグループに分け各群5匹、平均腫瘍体積、370mm³、その日をday 0とした。以下に示す投与スケジュールに従って化合物の投与を行った。

1. Control (vehicle, days 0 - 8 i.p.)
2. Avastin 5 mg/kg day 0, 3, 7 i.p.
3. LCB-604 40 mg/kg days 0 - 8 i.p.
4. Avastin + LCB-604

V-119-24の腫瘍増殖抑制作用 (Avastinとの併用)



LS174T細胞をヌードマウスに皮下移植した。1週間後に各マウスの腫瘍体積を測定し、次の4つのグループに分け各群5匹、平均腫瘍体積、370mm³、その日をday 0とした。以下に示す投与スケジュールに従って化合物の投与を行った。

1. Control (vehicle, days 0 - 8 i.p.)
2. Avastin 5 mg/kg day 0, 3, 7 i.p.
3. V-119-24 40 mg/kg days 0 - 8 i.p.
4. Avastin + V-119-24

図6 LCB-604とV-119-24の腫瘍増殖抑制作用