

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）
総括研究報告書

声帯癬痕患者に対する KP-100(ヒト組み換え HGF ; 肝細胞増殖因子)の声帯内投与
に関する第 I/II 相試験-医師主導治験-（H25-医療技術-一般-007）

研究代表者 平野 滋 京都大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科 講師

研究要旨

声帯癬痕（溝症を含む）を有する患者を対象として、KP-100（ヒト組み換え HGF ; 肝細胞増殖因子）声帯粘膜内投与による声帯再生治療に関する安全性を確認するとともに、有効性評価指標を探索するための第 I/II 相試験（医師主導治験）を行う。20 歳~65 歳の声帯癬痕患者に対し、KP-100 水溶液を経口的に声帯粘膜内に計 4 回注射投与する。患者の適格性検査は京都大学附属病院で行い、症例登録および治験治療は先端医療センター病院で行う。治療後の経過観察は京都大学附属病院で行う予定である。薬剤量は一声帯あたり 1, 3, 10 μ g の 3 容量とし、投与後 24 週まで追跡し、安全性および有効性を検討する。有効性の評価項目として、Voice handicap index-10 (VHI-10), MPT, Jitter, NMWA を用いる。用量、評価項目の検証をおこない、次の検証治験への資料とする。

A. 研究目的

声帯癬痕（溝症を含む）を有する患者を対象として、KP-100（ヒト組み換え HGF ; 肝細胞増殖因子）声帯粘膜内投与による声帯再生治療に関する安全性を確認するとともに、有効性評価指標を探索するための第 I/II 相試験（医師主導治験）を行う。

平成 24 年 10 月 30 日および 12 月 6 日の PMDA との事前相談において、KP-100 の声帯内投与における安全性についての非臨床データの集積を指示され、今年度、その集積を行った。

(1) 局所残留性

KP-100 5 μ g/声帯(両側で 10 μ g)をラット声帯粘膜内に投与し、5 分後、12 時間後、24 時間後、3 日後、7 日後の声帯組織中 HGF 濃度として、喉頭内残留量を ELISA を用いて測定した。

B. 研究方法

1. 非臨床データの収集

(2) 血中移行性

同様の実験系において、投与5分後、12時間後、24時間後において、血中のHGF濃度をELISAを用いて計測した。

(3) 局所刺激性

同様の実験系において、投与直後から7日目まで内視鏡検査および組織検査を行い、炎症所見、アレルギー反応所見の有無を観察した。

2. 医師主導治験の計画

医師主導治験を以下のごとく計画しており、これにそしたプロトコル作成、概要書作成、説明書作成、治験保険の見積もり、監査・報告書作成契約等をすすめる。

【対象】

選択基準：下記の基準を全て満たした患者を対象とする。

- (1) 本治験への参加について本人から文書同意が得られた患者。
- (2) 同意取得時の年齢が20歳以上65歳以下の患者。
- (3) 喉頭ストロボスコーピー検査で声帯の硬化性所見と、振動の減弱、声門閉鎖不全を認め、両側の声帯癒痕と診断された患者。
- (4) 喉頭内視鏡検査で声帯の他の病変および運動障害がない患者。
- (5) 同意取得時のVHI-10スコアが11点以上の患者。
- (6) 同意取得前6ヵ月以内に既存治療（喉頭形成術、コラーゲンや脂肪の声帯注

入術、癒痕除去術、ステロイド投与）が行われていない患者。

除外基準：下記の基準に一つでも当てはまる患者は対象としない。

- (1) 熱傷、火傷による気道損傷を有する患者。
- (2) コントロール不良の糖尿病（HbA1c >8.4% NGSP 値）、自己免疫疾患を有する患者。
- (3) 悪性腫瘍の既往又は合併している患者。
- (4) キシロカイン等の局所麻酔薬に対してアレルギーの既往を有する患者。
- (5) 薬物・アルコール依存症を合併している患者。
- (6) 重篤な合併症を有する患者（重篤は薬安第80号「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」を参考とする）。
- (7) HBs抗原、HCV抗体、HIV抗体、梅毒血清反応が陽性の患者。
- (8) 本治験中に妊娠を希望する女性、妊娠中の女性、授乳中の女性または治験期間中にパートナーが妊娠を希望する患者。ただし、不妊手術を受けているもの、閉経後2年を経過したものを除く。
- (9) 同意取得前3ヵ月以内に他の治験または臨床研究に参加していた患者。
- (10) その他、治験責任医師又は治験分担医師が不適当と判断した患者。

【症例数と期間】

目標症例数 : 18 例 (1, 3, 10 μ g/片側声帯、各 6 例)

治験実施期間 : 2014 年 6 月 ~ 2016 年 1 月

症例登録期間 : 2014 年 6 月 ~ 2015 年 6 月

症例ごとの実施期間 : 同意取得日から後観察終了日 (治療期終了後 24 週目まで)

【臨床試験のデザイン】

試験デザイン : 反復投与、オープン試験

【治験薬】治験薬 (KP-100)

1 バイアル中に 5-アミノ酸欠損型 HGF 2.5mg を含有する凍結乾燥製剤。投与時は溶解し、調製を行う。

【評価項目】

1) 主要評価項目

・KP-100 投与に対する安全性 (有害事象、臨床検査値、生理学的検査)

2) 副次的評価項目

・治療期開始前 (スクリーニング期) と治療期終了後 24 週目の VHI-10 スコア、MPT、NMWA、GRBAS、jitter の差
 ・治療期終了後 4 週目、12 週目における MPT、NMWA、GRBAS、jitter の改善の有無 (治療期開始前 (スクリーニング期) との比較)

(倫理面への配慮)

研究遂行にあたっては、ヘルシンキ宣言に則り、京都大学・先端医療センター病院の

倫理委員会の承認のもと、インフォームドコンセントを取得したうえで遂行する。被験者の個人情報には匿名化することで公表されないように十分注意する。

C. 研究結果

1 . 非臨床データ

(1) 局所残留性 (表 1)

声帯組織中 HGF は平均値として投与 5 分後に 50.006 μ g/g-tissue であったが、12 時間後には 1.710 μ g/g-tissue、24 時間後には 0.291 μ g/g-tissue、3 日後には 0.008 μ g/g-tissue、7 日後は 0.002 μ g/g-tissue であった。ラット声帯組織においてヒト HGF を測定するにあたってはバックグラウンド値として約 2.5ng/g-tissue が検出され得るため、3 日後には 6 例中 3 例でほぼ消失、7 日後には全例で消失したと考えられた。

(2) 血中移行性 (表 2)

KP-100 5 μ g/声帯 (両側で 10 μ g) をラットの声帯粘膜内に投与した際の血中ヒト HGF 濃度を測定したところ、投与 5 分後において 2 例で 0.73 または 0.76ng/mL と微量が検出されたのみで、他 4 例では定量下限未満であった。また、12 時間後では全例 (n=6) で定量下限未満であった。このことから、声帯に投与した KP-100 が全身に移行して他の組織に対して影響を及ぼす可能性はほとんどないと考えられる。

(3) 局所刺激性

KP-100 5 μ g/片側声帯をラット声帯粘膜内に投与（対照として生理食塩液を対側声帯粘膜内に投与）し、内視鏡所見、組織所見により局所刺激性を検討した。内視鏡所見は投与直後、1時間後、3時間後、6時間後、12時間後、1日後、3日後、7日後に、組織所見は1日後、3日後、7日後に実施した。内視鏡所見では、投与直後に両群で投与部位に腫脹がみられた以外は、異常所見は認められなかった（表3）。組織所見においても、KP-100ならびに生理食塩液のいずれにおいても、異常は認められなかった（表4）。

* 以上の非臨床データについては別紙研究報告書としてまとめ、提出した。（報告書番号 R67-R1, R67-R2）

2. 医師主導治験の進捗状況

プロトコル作成、概要書作成、説明書作成、治験保険の見積もり、監査・報告書作成契約等を順調にすすめているが、PMDAと相談中である。

[PMDA 事前相談(平成 25 年 11 月 27 日、グランフロント大阪)]

上記の非臨床データおよびプロトコル内容について、PMDA と事前相談を行った。その結果、本相談にすすむように指示を受けたが、下記の点を指摘された。

- (1) 声帯局所投与の安全性について: これまでの他の非臨床データ・臨床データを含め、

説明すること

- (2) 声帯局所投与の用量・用法について: これまでの動物実験のデータおよびフィブラストを用いた臨床データを整理し、用量、投与回数の妥当性を相談資料に記載すること
- (3) 今回の非臨床データは GLP ではないが、ウサギの筋注データも用いて安全性を十分に説明できるか、相談資料に記載すること。
- (4) VHI-10 のプラセボ効果に関する論文がないか確認すること

[PMDA と対面助言(本相談): H26 年 2 月 27 日]
対面助言において、上記に対する回答を行うとともに、下記の通りとなった。

・PMDA の見解: 治験スケジュールとして今回の I/II 相のあとに III 相を行うということであれば、今回の治験においてプラセボをおくことを必要とする。

・相談の結果: 今回の相ではプラセボ群への救済処置ができないなかで、プラセボをおくのは、被験者の負担から考えるとリクルートに困難が予想され、実現可能性が低くなると思われた。したがって、今回はあくまで探索的治験として I 相のみとし、投与量、観察期間、評価項目の探索を行ったうえで、II 相、III 相を検討することとした。

* この結果をふまえ、プロトコルを変更した（別紙: 治験実施計画書番号: KP-100LI-2012-12）

D. 考察

1. 非臨床データについて

非臨床試験において、ラットを用いた KP100LI の声帯内投与では、局所残留性は 3 日でほぼなくなり、血中移行はほとんど観察されなかった。局所刺激性は内視鏡検査および組織検査いずれにおいても声帯の浮腫や炎症所見を認めず、本治療法の安全性が確認されたと考えられた。

2. 治験の進捗状況について

対面助言を終了し、プロトコルを確定させた。今後 2014 年 5 月 IRB, 6 月治験届、7 月より治験開始を目標としていくこととなった。

E. 結論

今年度の非臨床データの集積により、LKP100-LI が局所刺激性、残留性、血中移行性において問題のないことが確認された。PMDA との対面助言においてプロトコル修正のうえ治験開始にむけた準備が整った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Mizuta M, Hirano S, Ohno S,
Kanemaru S, Nakamura T, Ito J.
Restoration of Scarred Vocal

Folds Using 5 Amino

Acid-Deleted Type Hepatocyte
Growth Factor. Laryngoscope in
press.

Graupp M, Kiesler K, Friedrich
G, Ainödhofer H, Gruber HJ,
Kieslinger P, Saxena A, Hirano S,
Gugatschka M. Vocal Fold

Fibroblast Response to Growth
Factor Treatment is Age

Dependent: Results From an In
Vitro Study. J Voice. 2014 E-pub

Gugatschka M, Ainodhofer H,
Gruber H, Graupp M, Kieslinger
P, Kiester K, Saxena A, Hirano S,

Friedrich G. Age effects on
extracellular matrix production
of vocal fold scar fibroblasts in
rats. Eur Arch Otorhinolaryngol
in press

Hirano S, Mizuta M, Kaneko M,
Tateya I, Kanemaru SI, Ito J.

Regenerative phonosurgical
treatments for vocal fold scar and
sulcus with basic fibroblast

growth factor. Laryngoscope.
2013;123(11):2749-2755.

2. 学会発表

平野 滋、楯谷一郎、岸本 曜、

水田匡信、樋渡 直、小林俊樹、
伊藤壽一 . 声帯癒痕に対する肝細胞増殖因子を用いた再生医療 (医師主導治験) . 第 65 回日本気管食道科学会 (東京) , 2013 年 10 月 31 日-11 月 1 日

岸本 曜、平野 滋、伊藤壽一 . Gp46 サイレンシングを用いた声帯癒痕治療 . 第 65 回日本気管食道科学会 (東京) , 2013 年 10 月 31 日-11 月 1 日

Hirano S. Panel; phonosurgery complicated case. International Association of Phonosurgery, 10th Pan-European Voice Conference, Prague, Aug 21-24, 2013.

Hirano S. Surgical treatment of vocal fold scar using basic fibroblast growth factor. International Association of Phonosurgery, 10th Pan-European Voice Conference, Prague, Aug 21-24, 2013.

平野 滋 . 声帯の手術と再生医療 . 第 196 回長久手会 (名古屋) , 2013 年 7 月 27 日 .

平野 滋 . 会長特別企画 : アンチエイジング手術の最前線 - 声帯への再生土台・細胞増殖因子移植を

用いた発声の改善 . 第 13 回日本抗加齢医学会 (横浜) , 2013 年 6 月 28-30 日 .

Hirano S. Implantation of regenerative scaffolds and growth factor for sulcus vocalis. Panel: Vocal fold scar. 20th IFOS Meeting, Seoul, June 1-5, 2013

樋渡 直、平野 滋、金丸眞一、楯谷一郎、石川征司、水田匡信、小林俊樹、金子真美、伊藤壽一 . bFGF 徐放性人工真皮と声帯

fibroblast を用いた 3D cell culture の検討 . 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会 (札幌) , 2013 年 5 月 16-18 日

Hirano S. Plenary session: Innovation of regenerative medicine for the larynx. 2nd European Academy of ORL-HNS, Nice, April 27-30, 2013.

Gugatschka M, Ainoedhofer H, Friedrich G, Gruber H, Kiesler K, Saxena A, Hirano S.

Regeneration potential of chronically scarred vocal fold fibroblasts: An in vitro study.

93rd American Bronchophagological Association, Orlando, April 10-11,

2013.

Hirano S, Kaneko M, Tateya I,
Kanemaru S, Ito J. Regenerative
treatments for vocal fold scar and
sulcus with basic fibroblast
growth factor. 134th American
Laryngological Association,
Orlando, April 10-11,2013.

平野 滋、片田彰博 . シンポジウ
ム 2 基礎「喉頭の基礎研究最前
線」 第 2 5 回日本喉頭科学会(於、
横浜) 2013 年 3 月 7-8 日 .

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし