

In particular, EI236 had anti-cancer effect with heat induction in alternating magnetic field. We demonstrated that EI236 is useful in a novel cancer therapy. We are optimizing to use EI236 clinically.

12) 梅村将就、江口晴樹、石川義弘、A novel nano-magnetic particle with cytotoxic and a novel technology of designing intrinsic ferromagnetism compound, 第72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年10月

【発表概要】

We previously reported a novel nano-magnetic particle with anti-cancer effect, EI236. Because of its ferromagnetism, it can be delivered by a magnet and visualized by magnetic resonance imaging (MRI). It also generates heat when exposed to an alternating current magnetic field (ACMF). We found the key structure which contributes this particle to ferromagnetism by X-ray crystallographic analysis. Thus, we succeeded in synthesizing the conventional anti-cancer drug with ferromagnetism, HHPS133. We evaluated its magnetism and anticancer effect. We measured its magnetism by a superconducting quantum interference device system. Proliferation was measured by the MTT assay. Apoptosis and cell cycle were measured by fluorescence activated cell sorting. T2-weighted images were recorded by MRI. We confirmed that it had ferromagnetic property. It suppressed proliferation and promoted apoptosis of breast cancer cells. It also accumulated G2/M phase. We visualized it by MRI. These results suggested that we succeeded in synthesizing the conventional drug with ferromagnetic property. This new technology could make it possible to synthesize various commercial available drugs with ferromagnetic.

13) 岩井麻樹、梅村将就、佐藤格、永迫茜、FENG Xianfeng、星野雄二郎、井上誠一、青木伊知男、江口晴樹、石川義弘、A conventional anti-cancer drug designed artificially with ferromagnetic, EI2573M、第72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年10月

【発表概要】

We previously reported a novel nano-magnetic particle with anti-cancer effect, EI236. Because of its ferromagnetism, it can be delivered by a magnet and visualized by magnetic resonance imaging (MRI). It also generates heat when exposed to an alternating current magnetic field

(ACMF). We found the key structure which contributes this particle to ferromagnetism by X-ray crystallographic analysis. Thus, we succeeded in synthesizing the conventional anti-cancer drug with ferromagnetism, EI2573M. We evaluated its magnetism and anticancer effect. We measured its magnetism by a superconducting quantum interference device system. Proliferation was measured by the MTT Assay. Cell Cycle was measured by fluorescence activated cell sorting. T2-weighted images were recorded by MRI. We confirmed that it had ferromagnetic property. It suppressed proliferation of breast cancer cells and accumulated G2/M phase. We visualized it by MRI. These results suggested that we succeeded in converting the conventional drug to ferromagnetic property. This new technology could make it possible to convert various commercially available drugs to ferromagnetic.

14) 江口晴樹、石川義弘、抗がん作用を有する有機磁性体の開発、日本ハイパーサーミア学会 第30回大会、横浜、2013年8月

【発表概要】

演題名:

抗がん作用を有する有機磁性体の開発

演題名英文表記:

Development of organic based magnetic compound with anti-cancer properties

○江口晴樹(株式会社 IHI)、石川義弘(横浜市立大学)

演題本文:

【目的】

磁性体は従来、酸化鉄に代表される無機化合物に限られていたが、最近では有機化合物の中にも存在することが発見された。そこで、有機化合物の一種である医薬品の磁性体化の可能性をコンピュータ解析で検討した。

【方法】IHI 独自の解析方法である量子論を用いた物質設計手法(第一原理計算)により、従来は知られていなかった磁性をもつ可能性の高い薬剤(EI236)を横浜市大医学部循環制御医学のもつ薬剤化合物ライブラリから見出すことに成功した。その後、EI236の磁気特性を調べた結果、人間の体温を想定した37°Cにおいても磁性体特有の「磁場—磁化曲線」が得られ、磁性体であることを初めて発見し、同時に解析結果の正当性を裏付けた。また、通常の有機化合物の一部を改変し、有機磁性体となるような物質設計にも成功した。

【結果】

マウスに発生させた皮膚がんに対して、投与したEI236が磁場によって誘導できるかどうかの検討

を行った。その結果、治療なしと比較して、抗がん剤投与では明らかながん組織の縮小が見られ、さらにはがん組織において磁石で誘導をかけた群では、がんは大幅に縮小した。これは、磁場により EI236 を患部に誘導できた、つまり、ドラッグ・デリバリー・システムとして機能したことを示す。さらに、MRI 造影剤としても機能するかどうかを検討した。マウス尾静脈より EI236 を全身投与し、尻尾に永久磁石による磁場をかけて EI236 を誘導し、MRI による撮影を行ったところ、磁場誘導部位において EI236 の集積が確認できた。このことは EI236 が MRI 造影剤としても機能することを示す。

【結語】

有機磁性体 EI236 は、室温で強磁性の性質を保有し、かつ化合物自身が抗がん活性を有する。今後は、今後は様々なところで応用が始まっている三位一体型の抗がん剤（磁場誘導 DDS、MRI 診断薬、温熱治療）を用いて新しい抗がん治療を提案したい。

15) 梅村将就、江口晴樹、佐藤格、FENG Xianfeng、岩井麻樹、來生 知、光藤健司、藤内祝、石川義弘、有機磁性体有機化合物を用いた画期的化学・温熱同時療法の新たなる展開、日本ハイパーサーミア学会 第30回大会、横浜、2013年8月

【発表概要】

新規磁性体有機化合物を用いた画期的化学・温熱同時療法の新たなる展開

梅村将就¹、江口晴樹²、佐藤格³、馮先鋒¹、岩井麻樹¹、來生 知³、光藤健司³、藤内祝³、石川義弘¹

- ¹横浜市立大学大学院医学研究科 循環制御医学
- ²株式会社 IHI 基盤技術研究所
- ³横浜市立大学大学院医学研究科 顎顔面口腔機能制御学

【目的】本学が行っている医工連携にて、江戸時代の造船での起業を原点とする(株) IHI の持つ磁性体設計技術を医療転用し、抗がん作用を持つ新規磁性有機化合物を同定した。我々の目的はこの薬剤の持つ特徴を最大限に生かした新しい抗癌治療の開発である。一般に抗がん剤などの医薬品化合物は、有機化合物であるため磁性を持たないとされる。本薬剤は抗がん作用だけでなく、マグネタイトに匹敵する強磁性を有する。従来、様々な方法で薬剤の磁性化が試みられてきたが、体内での安定性の問題などにより、大きな展開には至っていない。一方、本薬剤はそれ自体に強磁性を有するため、生体内でも極めて高い安定性を示す。我々はこの磁性特性を医薬品化合物へ応用した。

先行研究にて本薬剤は、磁性特性により磁場誘導、交流磁場印加による発熱効果、及び MRI における造影効果が得られることがわかっている。【方法】ヒト悪性中皮腫を中心に、様々ながん細胞を対象に本薬剤の効果を検討する。また、独自に開発した交流磁場発生装置を用いてがん細胞に対する温熱効果を評価した。【結果】悪性中皮腫において、本薬剤は強い抗がん効果を持つことがわかった。また、体外からの磁石による磁場誘導にて胸腔内で任意に本薬剤を集積できた。すなわち、磁石にて局所に薬剤濃度を高めることができ、副作用の軽減が期待できる。また、ヒト悪性中皮腫培養細胞にて、交流磁場印可による本薬剤の温熱効果により、薬剤単独投与よりも高い腫瘍殺傷効果を持つことがわかった。【結語】磁場により薬剤を局所に集積したうえで、交流磁場を印可することで従来の温熱療法の課題であった局所選択的な加温が可能である。本薬剤の構造解析にて磁性に寄与する化学構造の詳細も明らかになり、臨床の場で広く使用されているある市販抗がん剤を磁性化することにも成功した。今後は抗がん剤だけでなく、臨床で使用されている様々な薬剤を磁性化し、ドラッグデリバリーや温熱効果などを同時に行う画期的な治療を開発していく。

16) 佐藤格、光藤健司、梅村将就、來生 知、中島英行、江口晴樹、石川義弘、藤内祝、抗がん作用を有する新規磁性微粒子を用いたハイパーサーミアへの応用、日本ハイパーサーミア学会 第30回大会、横浜、2013年8月

【発表概要】

Development of new Thermochemotherapy with controlled drug delivery using a novel magnetic anti-cancer drug

抗がん作用を有する新規磁性微粒子を用いたハイパーサーミアへの応用

佐藤 格¹、光藤健司¹、梅村将就²、來生 知¹、中島英行¹、江口晴樹³、石川義弘²、藤内 祝¹

- ¹横浜市立大学大学院医学研究科 顎顔面口腔機能制御学
- ²横浜市立大学大学院医学研究科 循環制御医学
- ³株式会社 IHI

【目的】口腔癌に対するハイパーサーミアの一つとして磁性体を用いた組織内加温法の開発を行っている。IHI(株)がもつ金属材料技術及び磁性制御技術を医療転用し、抗がん作用を持つ新規磁性有機化合物 (EI236) の同定に成功した。EI236 は、永久磁石を用いることによって腫瘍への集積を可能とし、Drug Delivery System(DDS)による治療効果を実証した。さらに、磁性体であることから高周

波磁場下において発熱作用を有しハイパーサーミアの効果も得られることがわかっている。今回われわれは家兔 VX2 細胞に対する EI236 の抗腫瘍効果についての検討を行った。

【方法】VX2 細胞株を用いて、EI236 単独に比べ高周波磁場下にて発熱させ、温熱効果を加えることで抗腫瘍効果の増強を比較検討した。抗腫瘍効果は、FACS でアポトーシスを検出し判定を行った。また、動物実験（家兔 VX2 舌癌モデル）では、① コントロール群、② EI236 単独連日静脈投与群（5mg/kg）③ EI236 連日投与（5mg/kg）+電磁石による DDS④ EI236 連日投与（5mg/kg）+電磁石（DDS）+ハイパーサーミア（HT）群の 4 群である。治療は 7 日間を 1 クールとし腫瘍径を連日測定し、腫瘍体積率と病理組織学的に抗腫瘍効果を判定した。

【結果】細胞実験より、EI236 単独に比べ高周波磁場下での EI236 は、半分の濃度で同等以上の抗腫瘍効果を認めた。動物実験では、コントロール群と比較して EI236 投与+DDS 群および EI236 投与+DDS+HT 群では明らかな腫瘍縮小効果を認め、特に EI236 投与+DDS+HT 群では腫瘍の著明な抗腫瘍効果を認めた。病理組織学的所見においても、コントロール群と比較して有意に壊死率の増大を認めた。

【結語】EI236 は抗腫瘍効果を有するだけでなく DDS およびハイパーサーミアの併用が可能な新しい癌治療となることが示唆された。

単なる温熱治療だけでなく、温熱を利用した薬剤の放出や画像診断など、これまでにない用途において活用されている。その多くは現段階では動物実験に留まるが、最近では、欧州において新規なる温熱療法が実用化され、大きな注目を集めている。既存のマグネタイト粒子に特殊コーティングを施し、発熱特性を高めた粒子をがん局所に注入し、大型交流磁場発生装置で高熱を発生させ、がん組織の死滅を可能にする装置である。EU27 カ国において脳腫瘍を対象として認可され、様々な医療機関での使用実績をもつ。現在米国を中心に、肝がん等に対する適応拡大を目的とした臨床試験が進んでいる。これらの技術は、マグネタイト粒子の磁性特性を、どのように活用するかにおいて先進的であると考えられる。しかるに近年、産学連携および医工連携プログラムを通じて、(株)IHI 基盤技術研究所における材料設計技術の医療転用が行われ、これにより医薬品に磁性を付加する技術が開発された。これまで船舶やジェットエンジンの材料開発に使用されてきた手法である。本技術を用いることにより、これまでマグネタイト粒子に依存してきた磁性物質に新たな広がりがあった。この広がりの一つが、新規磁性抗がん剤であり、強磁性を持つが、マグネタイト粒子の存在を必要としない。あるいは抗がん剤の分子自体が磁性を持つ。このため、マグネタイト粒子に起因した様々な問題を解決することが出来るため、温熱療法と抗がん治療の新しい治療法が可能となった。さらに抗がん剤自体が磁性を持つため、MRI での定量が可能である。このことは局所で発熱するだけでなく、がん組織への集積量を、画像によって定量できることを意味する。このような異分野技術を用いることにより、様々な新規磁性体物質が開発されており、今後の可能性について検証する。

17) 石川義弘、江口晴樹、温熱治療における新規磁性抗がん剤の役割日本ハイパーサーミア学会 第 30 回大会、横浜、2013 年 8 月

【発表概要】

第 30 回 日本ハイパーサーミア学会
石川義弘 江口晴樹
抄録
温熱治療における新規磁性抗がん剤の役割

がん治療における温熱療法は半世紀以上の歴史を持ち、その有効性と安全性から幅広く世界で支持されてきた。近年ではマグネタイト粒子に様々な活性物質をリンクさせたミセル粒子も開発され、

18) 江口晴樹、黒谷玲子、福村英信、佐藤格、梅村将就、石川義弘、有機自己磁性化合物を用いた磁場誘導ドラッグ・デリバリー・システム、分子デリバリー研究会：物理と薬学のコラボレーション、東京、2013 年 10 月

【発表概要】

有機自己磁性化合物を用いた磁場誘導ドラッグ・デリバリー・システム

江口晴樹^{*1}、黒谷玲子^{*2}、福村英信^{*3}、佐藤格^{*3}、梅村将就^{*3}、石川義弘^{*3}

Magnetic targeted drug delivery using an intrinsic organic based magnetic compound

Haruki Eguchi^{*1}, Reiko Kurotani^{*2}, Hidenobu Fukumura^{*3}, Itaru Sato^{*3}, Masanari Umemura^{*3}, Yoshihiro Ishikawa^{*3}

^{*1} Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501, Japan

^{*2} Faculty of Engineering, Yamagata University, Yamagata 992-8510 Japan

^{*3} Yokohama City University School of Medicine, Yokohama 236-0004, Japan

Abstract: We found an intrinsic organic based magnetic compound (EI236) that exhibits anti-cancer property and possesses a magnetic property as it was readily attached to a conventional permanent magnet. First principles calculations, such as the standard method of physics and chemistry to design functional materials, are applied to identifying the EI236 exhibited ferromagnetic behaviors at 37 °C and inhibited melanoma expansion in mouse tails when delivered to the melanoma lesion using a commercially available permanent magnet. The local accumulation of the compound, as induced by the magnet, was readily visualized by magnetic resonance imaging (MRI) in mice. Thus, this acted as both an anti-cancer drug and an MRI contrast, and had pharmacological effects that could be delivered in a controlled manner. The identification of such compounds may overcome the long-standing problems of controlled drug delivery by magnetic force and may dramatically alter our concept of pharmacotherapy in the future, i.e., drug-targeting using a magnet and drug-dosing using MRI.

Key Words : intrinsic organic based magnetic compound, first principles calculations, magnetic targeted drug delivery, magnetic resonance imaging (MRI).

1. 緒 言

電気を通す有機材料や水素のみを通過させる分離膜材料などの特殊な機能を持った材料の開発では、通常、構造予測と合成そして機能確認試験を繰り返すため、多大な時間と費用が必要になる。IHI ではこのような機能性材料の探索や改良を効率的に行うため、コ

ンピュータを用いた計算を材料設計に応用する技術に取り組んできた。本報告では横浜市立大学と共同で、本技術を適用した磁性を有する有機化合物を材料の探索に適用した。見出した抗がん剤は、室温でも強磁性である有機自己磁性化合物である。マウスを用いた薬理実験の結果、磁場により薬剤を患部に集中させる「ドラッグ・デリバリー・システム」、さらにはMRIの画像診断に有効な「造影剤」としても適用可能であることがわかった。

磁性体は従来、酸化鉄に代表される無機化合物に限られていたが、最近では有機化合物の中にも存在することが発見された(図1)。そこで、有機化合物の一種である医薬品の磁性体化の可能性をコンピュータ解析で検討した。

2. 方 法

磁性体は従来、酸化鉄に代表される無機化合物に限られていたが、最近では有機化合物の中にも存在することが発見された。そこで、有機化合物の一種である医薬品の磁性体化の可能性をコンピュータ解析で検討した。本研究では、量子論を用いた物質設計手法(第一原理計算)により、従来は知られていなかった磁性をもつ可能性のある有機磁性体を横浜市立大学医学部循環制御医学のもつ薬剤化合物ライブラリを用いてスクリーニングをおこなった。

3. 結果および考察

3・1 解析と磁性の評価

計算を用いた材料の機能評価法では、物質を構成している複数個の原子について、その内部電子の回転挙動を詳しく解析する。磁性特性評価のアルゴリズムには独自の解析方法を考案して機能確認を行い、短期間で磁性を持つ可能性の高い薬剤を数個にまで絞り込んだ。次に絞り込んだ数個について磁気特性を調べた。その結果、その中の一つの化合物に磁性材料に特有の「磁場-磁化特性曲線」を保有することが明らかになり、それは有機自己磁性化合物であることを確認した。以下見出した本化合物をEI236と呼称する。

3・2 有効性確認試験

これら薬剤の中の一つについて、医療応用に対する磁性の有効性を調べた。マウスの尻尾に発生させた皮膚がんに対して、投与したEI236が磁場によって誘導できるかどうかの検討を行った。その結果、治療なしと比較して、抗がん剤投与では明らかながん組織の縮小が見られ、さらにながん組織において磁石で誘導をかけた群では、がんは大幅に縮小した。これは、磁場に

より EI236 を患部に誘導できた、つまり、ドラッグ・デリバリー・システムとして機能したことを示す。

さらに、MRI 造影剤としても機能するかどうかを検討した。マウス尾静脈より EI236 を全身投与し、尻尾に永久磁石による磁場をかけて EI236 を誘導し、MRI による撮影を行ったところ、磁場誘導部位において EI236 の集積が確認できた。このことは EI236 が MRI 造影剤としても機能することを示す。

4. 結 論

有機自己磁性化合物 EI236 は、室温で強磁性の性質を保有し、かつ化合物自身が抗がん活性を有する。今後は、今後は様々なところで応用が広まるよう有機自己磁性化合物を用いた新しい抗がん治療を提案したい。

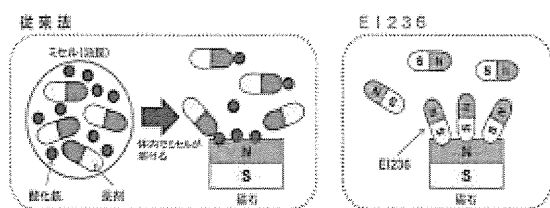


図1 従来法の磁性薬 (左図) と本方法 (EI236) の違い。

19) Feng Xiangfeng, Umemura Masanari, Sato Itaru, Miyajima Akiyoshi, Ohtake Makoto, Makino Ayako, Eguchi Haruki and Ishikawa Yoshihiro, Development of a new cancer-therapeutic method using a nano-magnetic particle for malignant pleural mesothelioma、第 91 回日本生理学会大会、鹿児島、2014 年 3 月

Development of a new cancer-therapeutic method for malignant pleural mesothelioma

Feng Xianfeng¹, Umemura Masanari¹, Sato Itaru¹, Ito Kayoko¹, Miyajima Akiyoshi¹, Ohtake Makoto¹, Makino Ayako¹, Eguchi Haruki², Ishikawa Yoshihiro¹
 1 Yokohama City University Graduate School of Medicine, Cardiovascular Research Institute
 2 IHI corporation, Advanced Applied Science Department Research Laboratory

Background: Malignant pleural mesothelioma (MPM) is one of the worst poor-prognosis tumors of serosal surface, such as the pleura and the peritoneum. Depending on the condition of patient, age, time of diagnosis, and other factors, the survival time is from 4 to 12 months from onset of symptoms. However this tumor is rare once, its

incidence is increasing in the world, as result of widespread exposure to asbestos. It is very difficult to diagnosis to this disease, if can, it is also difficult to cure because of lack of the established regimen for malignant mesothelioma. Therefore, we have developed a new hyperthermia therapy using a nano-magnetic particle, EI236, which we identified. EI236 exhibits not only anti-cancer effect but also ferromagnetism, which could generate heat power in an alternating current magnetic field (AMF).

Method and Results: We have experienced with use of EI236 for treating MPM cells. EI236 promoted reactive oxygen species (ROS) of MPM cells in a dose-dependent manner. We performed the electrophoresis of supercoiled plasmid DNA in the presence of various concentrations of EI236 or cisplatin. The result showed that EI236 induced DNA nicking, which was similar to that of cisplatin. EI236 exhibited potent anti-cancer effect on several MPM cells in a dose-dependent manner by MTT assay. The anti-cancer effect of EI236 was greater than that of cisplatin. EI236 promoted apoptosis of various MPM cells, and further by exposed to AMF.

Conclusion: Our study show EI236 acts simultaneously as anti-cancer drug and hyperthermic effect in MPM cells, suggesting that EI236 can assist us in developing a new treatment method for malignant pleural mesothelioma in the future.

20) Masanari Umemura, Ayako Makino, Itaru Sato, Xianfeng Feng, Maki Iwai, Kayoko Ito, Akiyoshi Miyajima, Makoto Otake, Akane Nagasako, Kousuke Matsuo, Haruki Eguchi and Yoshihiro Ishikawa, A novel treatment for triple-negative breast cancer using intrinsic magnetized paclitaxel, AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA, April 2014

【発表概要】

A novel treatment for triple-negative breast cancer using intrinsic magnetized paclitaxel

Masanari Umemura¹, Ayako Makino¹, Itaru Sato¹, Xianfeng Feng¹, Maki Iwai¹, Kayoko Ito¹, Akiyoshi Miyajima¹, Makoto Otake¹, Akane Nagasako¹, Kosuke Matsuo¹, Haruki Eguchi², and Yoshihiro Ishikawa¹.

¹Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University, Yokohama 236-0004 Japan

²Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501 Japan

Background: We previously reported the

identification of a novel nano-organic compound, EI236, an anti-cancer agent with intrinsic magnetic property. In addition to anti-cancer effect, its ferromagnetic property contributes to unique features. 1) It can be attracted by a magnet. 2) It can be visualized by magnetic resonance imaging (MRI). Hereby, we have identified the key mechanism that contributes to magnetism by X-ray crystallographic analysis, and succeeded in generating a novel paclitaxel with intrinsic magnetism; this is a single paclitaxel compound, and is *not* a paclitaxel encapsulated in micelle with magnetic particles. Our aim is to examine its effect on triple negative-breast cancer (TNBC) cells. Method: The magnetization of the magnetized paclitaxel was measured with a superconducting quantum interference device (SQUID) (Quantum Design MPMS7 system). Breast cancer cells, MDA-MB-453 (TNBC) and MCF7 (Non-TNBC), were obtained from RIKEN Bioresource center. Cell proliferation assay was performed using a commercially available kit, XTT Cell Proliferation Assay Kit. Apoptotic cells were stained with APC Annexin V and 7-AAD, and measured by fluorescence activated cell sorting (FACS), to evaluate early and late apoptosis. Cell cycle analysis was performed using The Cycletest™ Plus DNA Reagent Kit and assessed using FACS. **Results:** Plots of magnetization versus magnetic field revealed that the magnetized paclitaxel exhibits spontaneous magnetization in SQUID. Magnetized paclitaxel was easily attracted by a commercial bar magnet. Magnetized paclitaxel exhibits greater anti-cancer effect than original paclitaxel in TNBC and Non-TNBC cells in a dose-dependent manner. Magnetized paclitaxel induced apoptosis and G2/M arrest in cell cycle analysis in a dose-dependent manner, suggesting that magnetized paclitaxel retained the original anti-cancer property. In MRI T2-weighted imaging, signal intensity was changed in a concentration-dependent manner with magnetized paclitaxel, but not with commercial available paclitaxel. **Conclusion:** These results suggested that various conventional anti-cancer drugs might be similarly magnetized, leading to novel drug development in future cancer chemotherapy.

21) Itaru Sato, Masanari Umemura, Kenji Mitsudo, Xianfeng Feng, Hideyuki Nakashima, Mitomu Kioi, Haruki Eguchi, Iwai Tohnai and Yoshihiro Ishikawa, Development of thermochemotherapy using cisplatin and ferucarbotran (Resovist) in head and neck

cancer, AACR Annual Meeting 2014, San Diego, USA, April 2014

【発表概要】

Development of thermochemotherapy using cisplatin and ferucarbotran (Resovist®) in head and neck cancer

Itaru Sato^{1,2}, Masanari Umemura², Kenji Mitsudo¹, Xianfeng Feng², Hideyuki Nakashima¹, Mitomu Kioi¹, Haruki Eguchi³, Iwai Tohnai¹ and Yoshihiro Ishikawa²

¹ Department of Oral and Maxillofacial surgery, Yokohama City University School of Medicine

² Department of Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University School of Medicine

³ Research Laboratory, IHI Corporation, Yokohama 235-8501 Japan

Background: Radical surgery for patients with advanced head and neck cancer causes dysfunctions as well as decreases quality of life. To overcome this issue, we developed a new combination therapy of cisplatin and inductive hyperthermia using ferucarbotran (Resovist®). Ferucarbotran, which is made of superparamagnetic iron oxide, generates heat when exposed to an alternating magnetic fields (AMF). Herein, we explored whether ferucarbotran could be used as a heat source for hyperthermia upon exposure to AMF in the presence of cisplatin. Our aim is to evaluate the simultaneous therapeutic efficacy of chemotherapy and inductive hyperthermia for head and neck cancer.

Materials and Methods: OSC-19 and HSC-3, human oral cancer cell lines, were used in this study. Cell proliferation was assessed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. The intracellular level of reactive oxygen species (ROS) was measured using fluorescent dye 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate. Apoptotic cells were stained with Annexin V, allophycocyanin conjugate and 7-amino-actinomycin D, and measured by fluorescence activated cell sorting (FACS), to evaluate early and late apoptosis. Thermal images and temperature were obtained by thermography and thermometer. Alternating magnetic fields were generated by a transistor-driven vertical coil at a frequency of 308 KHz and electric current (EC) 250 A.

Results: Ferucarbotran generated heat in a dose- and time-dependent manner when exposed to an AMF, suggesting that ferucarbotran could be used as a heat source for hyperthermia. As we expected, Cisplatin suppressed proliferation of OSC-19 and HSC-3 cells in a dose-dependent manner, not only ferucarbotran. First, we performed MTT assay and ROS generation assay to evaluate whether hyperthermia effect enhanced anti-cancer effect in the presence of cisplatin. Simply incubation at 42 ° C for one hour enhanced the anti-cancer effect and ROS generation in the presence of cisplatin. Cisplatin induced apoptosis of OSC-19 and HSC-3 cells in a dose-dependent manner. Ferucarbotran further promoted cisplatin-induced apoptosis compared to cisplatin alone, when exposed to an AMF for an hour. Thus, the combination of cisplatin with ferucarbotran /AMF was more effective than cisplatin alone, suggesting that we could reduce the amount of cisplatin in clinical usage.

Conclusion: Our findings suggest that combination therapy of cisplatin and ferucarbotran in an AMF may be used to develop a new combination therapy for head and neck cancer.

22) 松尾光祐、福村英信、梅村将就、佐藤格、FENG Xianfeng、江口晴樹、石川義弘、齋藤知行、抗がん活性を持つ新規磁性体有機化合物を用いた温熱・化学同時療法、第41回日本生体電気・物理刺激研究会、横浜、2014年4月

【発表概要】

抗がん活性を持つ新規磁性体有機化合物を用いた温熱・化学同時療法

松尾光祐、福村 英信、梅村将就、佐藤 格、馮 先鋒、江口 晴樹、石川 義弘、齋藤 知行

横浜市立大学大学院医学研究科 運動器病態学、循環制御医学、(株) IHI

【目的】

我々は、磁気的特性と抗がん活性を併せ持つ有機化合物(EI236)を同定した。この有機化合物は磁性という特徴を持つことから、抗がん活性以外にもユニークな特徴を持つ。すなわち本化合物は交流磁場という物理刺激を加えることで化合物自体が発熱する。したがって、単剤で温熱効果と抗がん

効果を併せ持つ温熱・化学同時療法が期待できる。本研究はこの EI236 を用いた新しいがん治療の開発が目的である。

【方法】

実験には日本白色家兎 2~2.5kg を使用し、大腿部に VX2 (ウサギ由来扁平上皮がん細胞) に移植し、担がんモデルを作成した。移植後約 2 週間実験を開始した。交流磁場発生装置は、Hot Shot (Ameritherm Inc, コイル径 5cm, 4 巻き) を使用し、電流 220A, 周波数 250kHz で行った。

ウサギ各 5 羽ずつ無治療群、メトトレキサート動脈投与群、EI236 静脈投与群、EI236 動脈投与群、EI236 動脈投与+交流磁場印可群にわけ、治療群には連日、薬剤を投与し、腫瘍径の長径、短径を計測した。治療期間は 1 週間とし、終了後すぐに腫瘍を摘出し、hematoxylin 染色、Ki67 抗体を用いた免疫染色、TUNEL 染色を行った。また、転移の有無を各個体で確認した。治療効果の評価として腫瘍径の測定より体積を換算し、その推移を記録するとともに、染色による壊死効果を観察した。

【結果】

腫瘍体積評価は治療開始時を 100% として計算し、無治療群は治療終了時には 180% の増加、静注群はほぼ変わらず、動注群では 70% であった。動注+交流磁場併用では約 40% であり、著名な効果を示した。

【結語】

EI236 は単剤でも化学療法として使用可能であり、交流磁場を用いることでさらに温熱効果が得られ、治療効果が増強した。今後は磁性の特徴を活かした方法をさらに検討することでより効果的な治療法を検討する。

23) 磁性薬英文技術紹介資料

IHI
Realize your dreams

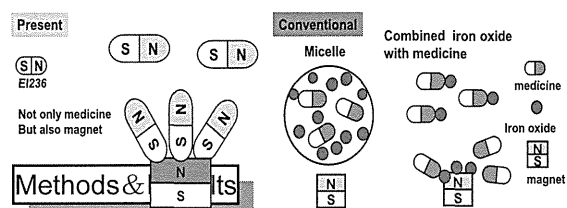
Organic based magnetic compound

Advanced Applied Science
Department / Haruki EGUCHI

Introduction

Controlled drug delivery by magnetic force, as exemplified by magnetic nanoparticles, has been of great interest for decades, simply because it is relatively easy to apply a magnetic force extracorporeally. However, despite these efforts, emulsifying pharmacological compounds in

micelles together with a magnetic particle have had limited clinical use, because these micelles are often too large in size and may be rapidly lost during systemic circulation or digestion *in vivo*. On the contrary, the present method of our patent technology (71 patent applications in total, for example, US 8,246,975 B2 with patent granted in US, PCT/JP2007/063011 with patent granted in EP) uses an organic based magnetic compound. Therefore, the compound can solve the problems of conventional magnetic drug delivery system with emulsifying pharmacological compounds in micelles together with a magnetic particle to mimic a magnetic pharmaceutical compound (see below).



First principles calculations are applied to identifying the organic based magnetic compound (EI236) that possesses a magnetic property as it was readily attached to a magnet. EI236 inhibited melanoma expansion in mouse tails when delivered to the melanoma lesion using a commercially available magnet. Furthermore, EI236 could generate thermal energy due to hysteresis losses within alternating magnetic fields. EI236 possesses hyperthermal and anti-cancer properties, inhibiting tongue cancer cell proliferation in rabbit. Thus, this acted as an anti-cancer drug, thermal medicine and an MRI contrast, and had pharmacological effects that could be delivered in a controlled manner.

Future Actions

The identification of such compounds will be developed on the basis of our concept in the future, i.e., drug-targeting using a magnet, thermal medicine and

drug-dosing using MRI.

24) EI236 のラットにおける 4 週間 間歇 静脈内投与予備毒性試験計画書

1. 表題

EI236 のラットにおける 4 週間 間歇 静脈内投与予備毒性試験

2. 試験目的

EI236 をラットに週 1 回 4 週間 間歇 静脈内投与したときの毒性変化を予備的に調べる。

3. 適用規則

本試験は、適用規則なしとする。

4. 動物福祉

本試験は、株式会社新日本科学 安全性研究所の動物実験委員会により承認されており（承認番号 IACUC371-003）、当研究所の動物実験規程に従って実施する。なお、試験施設は AAALAC International により認証されている。

5. 試験委託者

株式会社 IHI 基盤技術研究所
〒235-8501 横浜市磯子区新中原町
一番地
委託担当者：江口 晴樹

6. 試験施設

株式会社新日本科学 安全性研究所
〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地

7. 試験関係者

試験責任者：岡谷 秀明
被験物質取扱い責任者：塩崎 彩
動物実験担当責任者：伊地知 裕美子
臨床検査責任者：養毛 博文
病理検査責任者：藤島 純子
統計解析責任者：橋口 晃一

8. 試験日程

投与開始前日を - 1 日目，投与開始日を投与 0 日目，投与開始週を投与 1 週目と起算する。

9. 被験物質及び対照物質（媒体）

(SOP: TSB/002)

9.1 被験物質

名称: EI236
提供者: 横浜市立大学
ロット番号: 後日記載
特性
濃度: 30 mg/mL (1.5 g/50 mL)
物理的性状: 後日記載
安定性: 後日記載
受領日: 2014年1月17日
入手日: 後日記載
入手量: 1.5 g/50 mL
保存条件: 室温
保存場所: 被験物質保管所内常温室 (許容範囲: 15~25°C)
取扱い: マスク, キャップ, 手袋及び保護眼鏡を着用する。
残余被験物質: すべて提供者に返却する。

9.2 対照物質 (媒体)

名称: 生理食塩液
製造者: 株式会社大塚製薬工場

10. 被験物質調製液

(SOP: TSB/004)
調製濃度:
2.5 及び 12.5 mg/mL
換算係数: なし
調製方法: 被験物質の必要量を採取し、媒体を加えて調製量にメスアップし、12.5 mg/mL 溶液を調製する。12.5 mg/mL 溶液に媒体を加え、2.5 mg/mL 溶液を調製する。
調製頻度: 用時調製

11. 被験物質及び対照物質の投与

(SOP: GTX/373)
投与経路: 静脈内
投与経路の選択理由: 臨床適用経路は脳実質内だが、大量曝露時の毒性を評価するために静脈内投与を選択した。
投与方法: ディスポーザブル注射筒及び注射針を用いて尾静脈内に投与する。
投与方法の選択理由: ラットの静脈内投与では通常用いられる方法である。
投与回数及び投与期間: 週1回, 4週間投与 (計4回投与)
投与回数及び投与期間の選択理由:

4週間間歇投与したときの毒性を確認するため。

投与容量: 4 mL/kg/回
投与液量は、最新の体重を基に個別に算出する。
投与速度: 1 mL/min
投与時刻: 08:30~13:30

12. 試験系

種: ラット
系統: Crl: CD (SD)
体重
繁殖生産者出荷時:
100 ~ 160 g
検疫馴化開始時:
90 ~ 168 g
週齢
検疫馴化開始時: 5週齢
投与開始時: 6週齢
入手日: 2014年2月4日

入手動物数: 雄17匹
使用動物数: 雄15匹
繁殖生産者及び所在地: 日本チャールス・リバー株式会社
〒529-1633 滋賀県蒲生郡日野町下駒月735
動物選択の理由: 毒性試験に汎用される種、系統である。

13. 飼育条件

(SOP: GTX/189, GTX/310, GTX/541, HTL/303)
飼育室: 562号室
温度: 許容範囲 19~25°C
湿度: 許容範囲 30~70%
換気回数: 15回/時間
照明: 1日12時間 (07:00~19:00点灯) の人工照明 (観察のため上記の照明時間以外に点灯する場合を除く)
飼育ケージ (平床飼育)
材質: ステンレス
大きさ: 300 mm (D) × 170 mm (W) × 180 mm (H)
収容数: 1匹/ケージ
飼料: 固型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社) を自由に与える。ただし、剖検前日 (17:00~19:00より) は絶食とする。使用するロットについてオリエンタル酵母工業株式会社より分析結果を入手し、株式会社新日本科学 安全性研究所の基準値の範囲内であることを確認す

る。
 飲水：水道法水質基準に適合した水を自動給水装置により自由に摂取させる。社団法人鹿児島県薬剤師会試験センターで年4回実施する検査の結果を入手し、株式会社新日本科学安全性研究所の基準値の範囲内であることを確認する。

環境エンリッチメント：
 おもちゃを常時供与する。
 床敷：パルマス μ （株式会社天然素材探索研究所）を用いる。
 清掃及び消毒：床を毎日清掃及び消毒する。
 ケージ及び床敷は週1回以上、給餌器及び架台は4週に1回以上、オートクレーブ滅菌処理（121°C, 30分間）済みのものと交換する。
 落下細菌検査：株式会社新日本科学安全性研究所で年4回実施する落下細菌検査の結果を入手し、株式会社新日本科学安全性研究所の基準値の範囲内であることを確認する。

14. 動物の識別法

（SOP：GTX/502）

個体：検疫馴化期間中は識別を実施しない。群分け以降は耳パンチ法で動物番号により識別する。

ケージ：検疫馴化期間中は試験番号、CAN、性別及びバーコードを表示したケージカードを使用する。群分け以降は試験番号、群、投与量、性別、動物番号及びバーコードを表示したカラーケージカードを使用する。

15. 検疫馴化

（SOP：GTX/371）

動物は8日間の検疫馴化を行う。検疫馴化期間中の観察及び検査の頻度並びに方法の詳細については、「19. 観察及び検査項目」を参照する。検疫馴化期間中に被験物質の評価に適さないと判断した動物については群分けに用いず、初回投与の翌日に、炭酸ガス吸入法で安楽死させる。

16. 動物の群分け

（SOP：GTX/153）

検疫馴化終了日に群間で体重に偏りが生じないように、体重の層別無作為化（MiTOXシステム, Ver 2.0, 三井造船システム技研株式会社）によ

って群分けする。

群分け時の余剰動物については、初回投与の翌日に炭酸ガス吸入法で安楽死させる。

17. 試験群構成

対照群1群、被験物質群2群

群	被験物質及び対照物質	投与量 (mg/k g/回)	投与容量 (mL/k g/回)	投与液濃度 (mg/ mL)	動物数(動物 番号)
					雄
1	生理食塩液	-	4	-	5 (1~5)
2	EI236	10	4	2.5	5 (6~10)
3	EI236	50	4	12.5	5 (11~15)

18. 投与量設定の根拠

委託者にて実施されたマウスの単回予備毒性試験において、LD50は200 mg/kgと判断され、ヌードマウスに50 mg/kgの用量で14日間反復静脈内投与を行っても明らかな状態変化はみられなかった。

このことから、本試験においては反復投与可能な最大用量として50 mg/kgを高用量に設定し、1/5量の10 mg/kgを低用量に設定した。

19. 観察及び検査項目

19.1 一般状態

（SOP：GTX/151, GTX/374）

例数：全例

観察頻度

検疫馴化期間中：

毎日1回以上

投与期間中

投与日：3回以上（投与前，投与後約1時間，投与後約4時間）

非投与日：毎日1回以上

剖検日：1回

観察方法：生死の確認とあわせて一般状態観察を行う。

19.2 体重

（SOP：GTX/377）

例数：全例

測定時期

検疫馴化期間中：検疫馴化開始日及

び終了日に1回
 投与期間中：投与0, 7, 14, 21, 27
 日に1回（投与日は投与前）
 剖検日：1回（剖検時の麻酔量算出
 のため）
 測定方法：電子天秤（GX-4000,
 株式会社エー・アンド・デイ）で測
 定する。測定時ごとの体重の増加量
 も求める。

19.3 摂餌量

（SOP：GTX/375）
 例数：全例
 測定時期
 検疫馴化期間中：2日目に1回
 投与期間中：投与0, 7, 14, 21日目
 に1回（午後）
 測定方法：給餌量を電子天秤
 （GX-4000, 株式会社エー・アンド・
 デイ）で測定し、その翌日に残余量
 を測定して1日あたりの摂餌量を算
 出する。

19.4 血液学的検査

（SOP：GTX/381, HTL/034, HTL/196,
 HTL/225）
 例数：全例
 検査時期：剖検時
 瀕死例は可能な限り実施する。
 採血量：約2.5 mL
 採血方法：剖検のための麻酔下で後
 大静脈腹部から採血する。ADVIA120
 を用いる測定項目に約1 mL採血し、
 EDTA-2Kで抗凝固処理した全血を使用
 する。CA-7000を用いる測定項目
 には、3.8 w/v%クエン酸ナトリウム
 溶液を150 μL添加した注射筒を用
 いて約1.5 mL採血し、遠心分離（室
 温, 1710×g, 3000 rpm, 10分間）し
 て得られた血漿を使用する。
 血液塗抹標本：ライト染色を施した
 血液塗抹標本を作製する。検査を実
 施しない場合は試験終了までに廃棄
 する。
 検査項目及び方法：次の表に示す。

検査項目	単位	測定方法	機種
赤血球	10 ⁶ / μL	2角度レーザーフロ ーサイトメトリー法	ADVI A120 ^{a)}
白血球	10 ³ / μL	2角度レーザーフロ ーサイトメトリー法	
ヘマトク リット	%	計算式：（平均赤血 球容積×赤血球）/10	
ヘモグロ ビン	g/dL	シアンメトヘモグロ ビン変法	
血小板	10 ³ / μL	2角度レーザーフロ ーサイトメトリー法	
平均赤血 球容積	fL	2角度レーザーフロ ーサイトメトリー法	
平均赤血 球ヘモグ ロビン量	pg	計算式：（ヘモグロ ビン/赤血球）×10	
平均赤血 球ヘモグ ロビン濃 度	g/dL	計算式：[ヘモグロ ビン/（赤血球×平均 赤血球容積）]×1000	
網赤血球	%	RNA染色法による レーザーフローサイ トメトリー法	
白血球分 類 ^{b)}	10 ³ / μL, %	ペルオキシダーゼ染 色による フローサイトメトリ ー法及び 2角度レーザーフロ ーサイトメトリー法	
プロトロ ンビン時 間	s	凝固法	CA-70 00 ^{c)}
活性化部 分トロン	s	凝固法	

検査項目	単位	測定方法	機種
ボプラス チン時間			

- a) 総合血液学検査装置 (Siemens Healthcare Diagnostics Manufacturing Ltd.)
- b) 検査項目：好酸球, 好塩基球, 好中球, 単球, リンパ球及び大型非染色細胞
各検査項目については, 絶対数及び比率を計測し, 絶対数のみを評価に用いる.
- c) 全自動血液凝固測定装置 (シスメックス株式会社)

19.5 血液生化学的検査

(SOP: GTX/381, HTL/182, HTL/253)

例数：全例

検査時期：剖検時

瀕死例は可能な限り実施する。

採血量：約 2 mL 以上

採血方法：血液学的検査のための採血後, 腹大動脈から採血し, 室温で 20~60 分間静置後, 遠心分離 (室温, 1710×g, 3000 rpm, 10 分間) して得られた血清, あるいは測定まで超低温フリーザー (許容範囲: -70°C 以下) で凍結保存した血清を用いる。
検査項目及び方法：次の表に示す。

アスパラギン酸トランスアミナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	JCA-BM6070 ^{a)}
アラニントランスアミナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
アルカリフォスファターゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
クレアチンキナーゼ	IU/L	JSCC 標準化対応	
検査項目	単位	測定方法	機種
総ビリルビン	mg/dL	バナジン酸酸化法	
総蛋白	g/dL	ビウレット法	
アルブミン	g/dL	計算式： 総蛋白×アルブミン 比率/100	-
グロブリン	g/dL	計算式：総蛋白- アルブミン	
総コレステロール	mg/dL	COD-HMMPS 法	JCA-BM6070 ^{a)}
トリグリセリド	mg/dL	GPO-HMMPS 法, グリセリン消去法	
ブドウ糖	mg/dL	ヘキソキナーゼ・ G-6-PDH 法	
尿素窒素	mg/dL	ウレアーゼ・GIDH 法	

クレアチニン	mg/dL	クレアチニナーゼ・HMPS 法	
無機リン	mg/dL	PNP・XDH 法	
カルシウム	mg/dL	MXB 法	
ナトリウム	mEq/L	電極法	
カリウム	mEq/L	電極法	
塩素	mEq/L	電極法	
蛋白分画 ^{b)}	%	電気泳動法	AES320 ^{c)}

- a) 自動分析装置（日本電子株式会社）
b) 検査項目：アルブミン比率， α_1 -グロブリン比率， α_2 -グロブリン比率， β -グロブリン比率， γ -グロブリン比率，A/G 比
c) 自動電気泳動分析装置（ベックマン・コールター株式会社）

19.6 病理学的検査

19.6.1 剖検

（SOP：GTX/125，PAT/053，PAT/095）

例数：全例

検査時期

死亡例：

発見後速やかに実施する。

瀕死例：試験責任者の判断により，速やかに実施する。

生存例：4回目投与7日後

検査方法

死亡例：体重を測定後，外表，内部器官及び組織を肉眼的に観察する。

瀕死例及び生存例：体重を測定後，ペントバルビタールナトリウム（東京化成工業株式会社）水溶液（6.48 mg/mL，5 mL/kg）の腹腔内投与により麻酔を行い，検査のための血液を採取した後，放血安楽死させ，外表，内部器官及び組織を肉眼的に観察する。

19.6.2 病理組織学的検査

（SOP：PAT/032，PAT/070）

検査器官：肝臓，腎臓（左右），心臓，肺（左右），脾臓，脳（大脳，小脳，橋，延髄），投与部位（尾），肉眼的異常部位

固定

例数：全例

方法：10%中性緩衝ホルマリン液で固定する。

標本作製

例数：全例

方法：パラフィン包埋及び薄切を行い，HE染色を施す。

検査

例数：全例

方法：病理組織学的に検査する。

20. 統計学的手法

（SOP：CPU/105）

各群の体重、摂餌量、血液学的検査

(白血球分類の比率を除く), 血液生化学的検査のデータについては、まず、Bartlett法により等分散性の検定を行う。その結果、等分散性が認められた場合はDunnett法を用いて、等分散性が認められなかった場合はDunnett型検定(Miller検定)を用いて、それぞれ対照群と被験物質各群との間で多重比較を行う。これらの統計解析にはMUSCOT統計解析ソフトウェア(ユックムス株式会社)を使用し、有意水準はBartlett法は5%、その他の検定は両側5%とする。一般状態、剖検、病理組織学的検査のデータについては検定を実施しない。

21. 試験成績の報告

本試験の成績について、最終報告書の草案を試験委託者に1部提出する。最終報告書(和文)についてはその写し1部を試験委託者に提出する。

別添1 表

- 1) 死亡数(死亡がみられた場合)
- 2) 一般状態
- 3) 体重
- 4) 摂餌量
- 5) 血液学的検査
- 6) 血液生化学的検査
- 7) 剖検所見
- 8) 病理組織学的検査所見

別添2 付表

- 1) 死亡数(死亡がみられた場合)
- 2) 一般状態
- 3) 体重
- 4) 摂餌量
- 5) 血液学的検査
- 6) 血液生化学的検査
- 7) 剖検所見
- 8) 病理組織学的検査所見

22. 記録、資料及び標本の保存

試験施設で発生する記録、資料及び標本は、株式会社新日本科学 安全性研究所(住所:〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町2438番地)の以下の保存場所に最終報告書作成後10年間保存する。

株式会社新日本科学 安全性研究所
データ資料室

試験計画書及び試験計画書変更書
被験物質及び対照物質に関する記録、資料
試験系に関する記録、資料
飼育条件に関する記録、資料
検疫馴化記録
投与記録
一般状態観察記録
体重測定記録
摂餌量測定記録
血液学的検査記録
血液生化学的検査記録
剖検記録
病理組織学的検査記録
統計に関する記録
最終報告書草案
最終報告書
その他、試験に関する資料

株式会社新日本科学 安全性研究所
器官保管室
血液塗抹標本(鏡検した場合)
ホルマリン固定標本(真空パック)
パラフィン包埋標本
組織標本

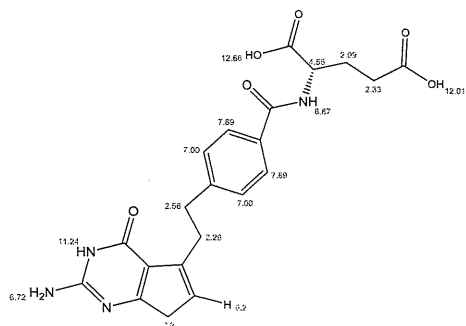
23. 試験計画書の変更

試験計画内容に変更が生じた場合は、試験計画書変更書を作成し、変更箇所及びその理由を明確にする。

25) PerkinElmer 社製ソフト ChemBioDraw を用いて、今回磁性化を試みたペメトレキセドのNMRのシグナルのシミュレーションをおこなった。

図9 (NMR ^1H estimation)、図10 (NMR ^{13}C estimation) に示す。

ChemNMR ^1H Estimation



Estimation quality is indicated by color: good, medium, rough

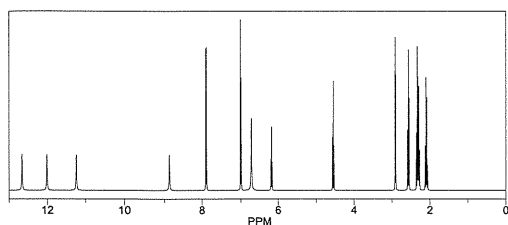
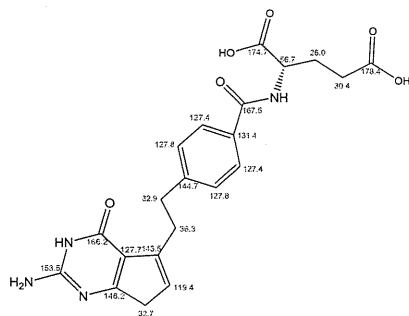


図9 ペメトレキセドのNMRのシグナルのシミュレーション (NMR ^1H estimation)

ChemNMR ^{13}C Estimation



Estimation quality is indicated by color: good, medium, rough

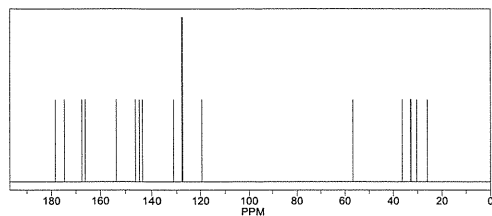


図10 ペメトレキセドのNMRのシグナルのシミュレーション (NMR ^{13}C estimation)

厚生労働科学研究費補助金（第三次対がん総合戦略研究事業）
（分担）研究報告書

悪性中皮腫に対する単剤多機能抗がん治療薬の開発に関する研究
（臨床試験の検討）

研究代表者 石川 義弘 横浜市立大学

研究要旨

新薬の臨床試験については、実施体制のみならず開発支援は重要であり、我が国の開発支援体制について検討を行った。我が国の新薬開発支援の状況を把握し、革新的な抗がん剤の開発に際して、どのような活用が期待できるか支援体制を考察するとともに、今後の課題についてもまとめた。

研究分担者 浦野 勉

横浜市立大学・大学院医学研究科

客員教授

浦野 勉 (研究分担者)

A. 研究目的

近年、重篤な転帰をたどる「がん領域」の医薬品は世界的にも精力的に開発がされており、また、その迅速な市場導入が求められてきている。医薬品の承認審査に必要である臨床試験（治験）に関しては、我が国においてその活性化やあり方等の関心が高まっている^{1, 2)}。特に、国際共同治験をはじめとした治験の迅速化・効率化のための様々な試みが進んでおり³⁾、また、審査自体の体制の強化により、米国で承認されてから、我が国で承認されるまでの審査期間短縮も図られている^{4, 5, 12)}。抗がん剤等早急に市場導入が求められる医薬品の審査・承認プロセスの効率化を促進し、迅速な新薬の開発実施を進めるため、承認審査の現状把握を目的として検討を行った。

また、当該領域の医薬品開発では、個別化医療が考慮され、がんの発生メカニズムの鍵となる因子等をターゲットとした医薬品（抗体製剤等）やがん細胞特有の表面抗原をターゲットとした、いわゆるがん免疫療法等が検討されてきている。

がん治療を目的とした薬剤の開発の背景を見据え、医薬品医療機器総合機構（PMDA）での医薬品開発支援に関する議論をまとめた。

B. 研究方法

我が国における新薬の承認のシステム・組織がどのような現状にあり、必要な改良・改善のためにどのような計画がなされているかを検討した。特に個別化医療に係る、新規の開発コンセプトをもつ最先端の抗がん剤の開発において、現状の開発促進体制および課題の検討を公開資料に基づき整理した。

C. 研究結果

我が国唯一の新薬の審査機関であるPMDAに

おける組織体制の強化等について検討を行った。

① 審査の効率化・体制強化

医薬品等開発の効率化に際しては、評価ガイドライン等の種々の開発マニュアルの意義は大きい。また、審査の予見性や透明化の観点からも、ガイドラインについては開発者から求められている。PMDAでは、同組織において蓄積されている審査やレギュラトリーサイエンスに関する様々な情報を体系的に体系化し、また、グローバル化を見据えて、医薬品および医療機器の審査基準等作成業務の体制強化が行われてきている。平成23年7月に審査迅速化および開発促進につなげることを目指して、新たに規格基準部を設置している。また、PMDAでは、科学と社会をつなぐための調整科学（レギュラトリーサイエンス）の研究の推進を図るとしており^{6, 7)}、これにより最先端技術を応用した画期的新薬・新医療機器の創出、審査の迅速化・高度化に資するガイドライン等の策定につなげると考えられる。本研究課題における磁性抗がん剤においても、今後の開発ガイドラインや当該領域の開発の標準化の可能性もあり、重要な体制と考えられた。

組織人員強化は、平成21年度より平成24年に至り350人から438人の審査員の増員が図られており、審査の迅速化への必要な強化がされつつある。

種々の審査強化策により審査ラグは、平成19年度の1.0年を平成23年度で0.1年と大幅な短縮を図っていた⁸⁾。

② 開発促進の強化

医薬品の開発促進を行うにあたり、規制当局との議論や方針決定等の相談は日米欧各国で行われている。国内での開発に際しては、すでにPMDAにて「治験相談」として実施されているところである。当該治験相談は、医薬品開発に慣れた製薬企業に対する指導・助言であり、比較的高額の費用が生じる。これまで、有望なシーズを持つ大学やベンチャー企

業等を対象とした比較的安価な相談事業の設定はないことが課題であった。PMDAでは、日本初の革新的医薬品・医療機器の創出に向け、特に開発初期からの必要な試験・治験に関する指導・助言を目的に、かつ、大学等へ利用しやすい安価に実施できる「薬事戦略相談」を、平成23年7月より設定している。また、先端的な医薬品・医療機器に対する審査体制の強化をするため、外部機関の位置づけで科学委員会（平成24年5月）を設置し⁹⁾、最新技術や情報を持つ国内の研究者（アカデミア）との科学的側面の議論が促進される場の設定がされている。当該研究課題における磁性抗がん剤においても、薬事戦略相談を考慮し、当該相談を実施して円滑な開発が行われることが必要と考えられる。特に、科学委員会による議論の場が設置されていることは、本研究のような新しいコンセプトのシーズへの確かな助言や大学開発者への懇切丁寧な指導が期待できる。

平成24年度事業として「革新的な医薬品・医療機器等実用化促進事業」が行われ¹⁰⁾、基準やガイドライン等の早期作成が計画されるのみならず、審査員とアカデミアの交流も積極的に行われることとなっている。科学委員会や実用化促進事業によるアカデミアとの交流は、審査員の質的充実を促進できると考えられる。

医薬品開発の後期段階では大規模な臨床試験（第Ⅲ相臨床試験）が実施される。当該臨床試験では、患者の円滑な組み入れ等により治験期間の短縮が見込める国際共同治験が注目されている。PMDAが実施した国際共同治験に関する治験相談件数は、平成20年度以降で毎年度20%を超えている⁸⁾。治験届けでは国際共同治験に関わるものは平成18年では2%程度であったが、平成20年で15%に、平成21年以降は20%を超えている⁸⁾。抗がん剤の治験届けにおいては、その80%以上が第Ⅲ相試験で国際共同治験が実施されている¹¹⁾。

このような努力は継続的に施行されており、先端的な医薬品に対するアクセスの一層の迅速化について^{13, 14)}、的確かつ迅速な審査の実地ができるように、さらなる審査チームの適切な人員の増員および配置が進められている。再評価されているプロジェクトマネジメント制度の効率的かつ有効な活用によって、進行管理の充実が得られたものと考えられる。この中で強調すべきは、審査等業務進行管理委員会や審査セグメント内会議等において、審査の進捗状況にかかわる関係情報を総合的にとらえ、課題解決のための方針決定に用いたことである。また医療関係者のニーズの把握のために、学会や医療関係者との対話を実施し、それを踏まえた相談や審査を実施することの重要性については多方面からの高い評価が寄せられている。また、PMDAの関西支部が設置され、創薬支援ネットワークを有する医薬基盤研究所との連携を図りつつ、薬事戦略相談の支援が行われており、地理的にも開発支援が強化されてきていた。

新薬の総審査期間9か月（行政側期間6か月、申請者側期間3か月）を50%（中央値）達成することを目標としつつ業務施行されている。このために申請件数の増加が見込まれる分野については重点的に審査員、審査チームの増員が行われている。さらに審査業務の進捗状況の把握のために、審査等業務進行管理委員会において分析検討し、進捗管理の実施を行った。審査に長期を要した問題事例に関しては、分析するとともに審査チームにフィードバックを行った。このような努力により、着実な成果が生み出されていると考えられた^{13, 14)}。

国際協調および国際共同治験については、PMDA国際ビジョンおよびPMDA国際戦略に基づいて、米国FDA、欧州EMAと協力のみならず、アジア諸国（タイFDA、中国、インドネシア等）との連携を強化し

ている。米国FDA、欧州EMAと審査および安全に関する情報交換の推進、薬局方の協力強化等が図られているとともに、審査報告書38品目(医薬品33品目)の英文訳の情報発信がされている。特に安全性情報に関しては、可能な限り情報共有を行うことが重要であり、英文HPでの安全生コンテンツを充実させる体制が不可欠と考えられた。

また、国際共同治験については、治験相談中の割合は年々上昇していることや実際の治験届けの件数も同様に上昇していたことから、その推進が適切にされてきていると考えられた^{13, 14)}。

③今後の新しい課題について

新規技術や先端科学技術応用製品に対する課題についても、科学委員会を中心に検討が行われており、注目されたテーマは、抗がん剤の個別化医療や新薬のバイオマーカー開発等に関する課題である¹⁵⁾。これらの課題は、昨今の医薬品開発および医学の進歩を受けて、直面してくる課題であり、PMDAでは様々な分野の外部専門家と意見交換・情報収集を行っている。

近年の遺伝子解析技術の進歩によって、個人ゲノムの時代が開きつつあり、特にがん領域においては、診断や治療選択へ応用されてきている。したがって、これまでのすべての同一疾患の患者に対しては同一の治療が行われていた方針から、変革されつつあると考えられる。典型的な例が、特殊な遺伝子変異がドライバー遺伝子変異となっている癌である。薬剤の使用に当たって、有効性の事前判定のための遺伝子解析が必要とされており、適切な検査基準の我が国への導入や今後の保険診療やカウンセリング体制等検討の課題があると思われる¹⁶⁾。

加えて、今後の新薬開発における非臨床試験のあり方とも大いに関係すると考えられる。いわゆるドライバー変異を標的とした場合の薬剤開発では、ド

ライバー変異と疾患との関係を明確にする必要が出てくる。たとえばALK融合遺伝子の変異は、このようなドライバー変異であるとされているが、どのような遺伝子変異がドライバー変異に該当するかは課題となる¹⁷⁾。また、非臨床薬理試験として当該薬剤の効果を従来の開発のような対象とする臓器別(乳がんや胃がん)に効果を確認する必要性についても課題となる¹⁷⁾。

この点においてバイオマーカー、特にがんバイオマーカーの有効性についての整理が課題である¹⁸⁾。バイオマーカーとは一般に、疾患の性質と個体特性を生物学的に評価し、患者にとって最適化治療を示す指標であるとされている。バイオマーカーへの期待は著しいものの、たとえば、抗体医療におけるバイオマーカーにおいても、タンパク質やmRNA発現量、ゲノム変異等様々なレベルのものが報告されており、各バイオマーカーあるいは組合せに基づく治療が最善のものであるかは十分に検証されていないものも多く、薬剤開発を複雑にすると考えられる。

D. 考察および結論

我が国唯一の審査機関であるPMDAでの取り組みを今後の課題とともに整理した。審査関連の強化は、人員体制の増員のみならず、迅速化、透明性確保のための基準やガイドラインの策定をする規格基準部の設置、また、大学等に対し、シーズはあるものの実用化する上での必要な手続きや知識を含め開発初期からの助言・指導を行うことを目的とした薬事戦略相談の設定と多岐にわたっていた。さらに、最先端の知識を持つ研究者側との積極的な交流の場として科学委員会が設定されており、最先端技術をより早くより的確に開発可能とすることを1つの目的とした体制強化も認められる。本研究の磁性抗がん剤の開発を含む先端的な医薬品や医療機

器の開発に関しては、最先端の技術情報を持つアカデミアとの積極的な交流は、規制当局が開発現場の状況を理解し、開発初期段階についての円滑な議論を行う上で極めて重要と考える。本研究のような新しいコンセプトの抗がん剤の開発はもとより、本研究課題に関連する磁場発生装置、交流磁場印加装置等の医療機器の開発においても重要な役割を果たすことが推測される。ただし、国際開発に際しては、最先端技術のためゆえ、規格基準や開発ガイドライン等の国際統一は容易ではないと考えられ、国際開発へつなげるためには諸外国の動向を含めて、開発者が海外の規制情報を整理する必要もあると考える。

薬事戦略相談では大学やベンチャー企業等薬事手続きを含めて開発に明るくない対象に対して、開発初期の段階から助言が行われている。開発後期となる第Ⅲ相臨床試験の段階で、仮に品質や必要な動物試験の問題点が把握された場合等、開発の初期に立ち返る必要が出てくるため、極めて効率が悪い開発となり得る。したがって、医薬品開発では、開発初期から審査段階での論点や臨床試験の実施条件を理解して開発を進める必要があり、薬事戦略相談により規制当局の指導を受けることが可能となることは開発効率化へ直結すると考える。当該薬事戦略相談を活用することは本研究においては必要と考える。

一般に言われているドラッグ・ラグは、改善されつつあるが、申請ラグ等もなお一層の改善努力の継続が必要と思われる。審査段階の改善が著しく図られていることに加え、開発後期に実施される第Ⅲ相試験は、抗がん剤の分野では国際共同治験として多く実施され、効率化が図られていると考えられる。また、国際共同治験であれば、患者の組み入れ等の効率化により、臨床試験の結果を迅速に得ることが可能でありため、世界同時の薬事申請を目指す状況

が予想される。民族間差の問題もあるものの、今後新薬開発の中心となり得る開発手法であると考え。本研究の磁性抗がん剤のような我が国における世界初の新規薬剤が、欧米諸国においても迅速に普及するためには、日本国内試験のみではなく国際共同治験での実施を視野に入れ効率化を検討すべきと考える。

磁性抗がん剤をはじめとする、画期的な新薬候補が、迅速に薬事承認を受けるためには、適切な臨床試験計画が重要であることは異論がない。審査体制や開発支援において、我が国における体制づくりが進んでいる。また、大学やベンチャー企業のシーズを効率よく実用化につなげるための我が国の方向性は、医薬品のみならず医療機器においても進みつつあり、磁性抗がん剤およびその応用に必要な医療機器の開発支援も同様の状況であると結論づけられる。

PMDAにおける審査関連の体制強化は、人員体制の増員だけでなく、最先端の知識を持つ研究者側との積極的な交流の場として「科学委員会」が設定されている。最先端技術をより早くよりの確に開発可能とすることを1つの目的とした体制強化と考えられる。本研究の磁性抗がん剤の開発を含む先端的な医薬品や医療機器の開発に関して、最先端の技術情報を持つアカデミアとの積極的な交流は、規制当局が開発現場の状況や課題を理解し、開発のごく初期段階でも円滑な議論を行う上で極めて重要と考える。本研究のような新しいコンセプトの抗がん剤の開発はもとより、本研究課題に関連する磁場発生装置、交流磁場印加装置等の医療機器の開発においても役立つことが推測される。

本研究課題でもある抗がん剤の開発では、個別化医療が期待されており、従来の開発では求められなかった、当該薬の効果予測および副作用予測となるバイオマーカーや、がんの発生に重要なドライバー