

201336001A

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

(早期・探索的臨床試験分野)

国立がん研究センターPhaseIセンター  
早期開発研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大津 敦

平成26 (2014) 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 [大津敦]	1
II. 分担研究報告	
1. 研究事業 1. 抗体 DDS 製剤開発 [松村保広、安永正浩、土井俊彦、佐藤暁洋、大津敦]	5
2. 研究事業 2. TAS102 に関する研究 [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、朴成和、廣中秀一]	8
3. 研究事業 3. RPN2 標的核酸医薬に関する研究 [田村研治、藤原康弘、落谷 孝広、竹下文隆、小野麻紀子、松田範昭、小林智]	11
4. 研究事業 4. VEGF 阻害薬 [藤原康弘、細田雅人、小松弘嗣、肥塚靖彦、松崎尹雄]	15
5. 研究事業 5. PARP 阻害剤 医師主導治験 [藤原康弘、田村研治、米盛勸]	24
III. 研究成果の刊行に関する一覧票	29

# I. 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(早期・探索的臨床試験分野))  
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 早期・探索臨床研究センター長

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25年度は、医師主導治験の登録、非臨床試験なども概ね順調な進捗が認められ、恒常的に医師主導治験を実施可能な体制が構築された。次年度以降は、このプラットフォームを基盤に、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	細田 雅人	インタープロテイン株式会社、 代表取締役
大津 敦	独) 国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター、センター長	小松 弘嗣	インタープロテイン株式会社、 本部長
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、分野長	肥塚 靖彦	インタープロテイン株式会社、 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、ユニット長	松崎 尹雄	インタープロテイン株式会社、 ラボヘッド
土井 俊彦	独) 国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター、科長	田村 研治	独) 国立がん研究センター中央病院、科長
安井 博史	静岡県立静岡がんセンター、副院長兼部長	米盛 勲	独) 国立がん研究センター中央病院、医長
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、 部長		
山口 研成	埼玉県立がんセンター、科長兼部長		
土原 一哉	独) 国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター、分野長		
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、分野長		
佐藤 暁洋	独) 国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター、室長		
藤原 康弘	独) 国立がん研究センター、局長		
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、 外来研究員		
松田 範昭	(株)スリー・ディー・マトリックス、 チーフエンジニア		
小林 智	(株)スリー・ディー・マトリックス、 チーフエンジニア		

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、これが現在のドラッグラグの一因となっている。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25年度は、ヒト臨床試験での安全性を考慮して、中和活性のない抗体の開発を新たに進めることを目的とする。その後、平成26からGMP製剤、GLP試験を行う。同時にプロトコール作成に着手し、平成27年度よりFirst in human治験を企業主導で28年頃からPOCの医師主導治験を開始し、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25年度は、平成23年度に開始した進行性胃癌患者を対象に未承認薬であるTAS102を用いた非盲検single-armの第II相の医師主導治験の登録(29例)を終了した。その後プロトコール改訂を行い、80mg/m<sup>2</sup>での安全性を、参加施設の中よりPK試験体制が可能な3施設で実施する。

### ○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25年度は、GLP安全性試験を継続して実施し、平成25年度中にサルへの反復投与を含む中核の安全性試験を完了する。RPN2siRNAおよびA6KのGMP製造を開始し、治験プロトコールを作成してFIH医師主導治験の準備を行う。

### ○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25年度は、医薬最適化をインタープロテインの独自分子設計法コンピュータ計算化学により確認し、その上で臨床候補化合物を総合的に判断・決定し、GLP下での非臨床試験開始を目指す。

### ○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おとして、その手法・管理体制の国内確立を目指す。

平成25年度は、開始した医師主導治験の登録を継続して行うことを目指す。

## 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(早期・探索臨床研究センター、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(早期・探索臨床研究センター)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25年度は、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(抗凝固

作用、ELISA活性およびInternalization能などの評価)、抗TF抗体への抗がん剤(MMAE)の付加、エピルピシン内包ミセル表面への抗TF抗体の付加体の抗腫瘍効果の評価を行う。

### ○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相医師主導治験について、平成24年度に予定登録数29例を達成しているが、プロトコール改訂を追加した上でさらなる高容量での探索コホートを実施する。

### ○研究事業3 (RPN2核酸製剤)

平成25年度は、POC試験(薬効薬理試験)としてRPN2siRNA/A6K複合体を用いて、イヌの自然発症乳腺腫瘍を用いて、腫瘍縮小効果の確認を行う。また、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)に基づき、非臨床安全性試験、安全性薬理試験をGLP下にて実施し、その評価項目および結果についてPMDAの薬事戦略相談を行う。

### ○研究事業4 (経口VEGF阻害剤)

平成25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、X線結晶構造解析、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)

平成24年度に開始した、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相医師主導治験の登録を進める。

### (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材の育成を図る。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月に設立した早期・探索臨床研究センターが平成25年4月より正式なセグメントとして独立し、免疫療法開発分野を新設するなど体制整備をさらに進めた。

また、3年連続で産官学連携に関する合同シンポジウムの主催（参加者数 326名）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活性およびInternalization能力を評価し、1クローンについてキメラ化を開始した。このクローンに抗がん剤を付加し、ヒト膵がん皮下腫瘍モデルにて腫瘍縮小効果を確認した。また、同クローンを付加したエピルビシン内包ミセルは、ヒト胃がん・膵がん細胞株において、高いinternalization能力および殺細胞効果を確認した。また、同皮下腫瘍モデルにおいても抗腫瘍効果を確認した。

○研究事業2 (TAS102)  
平成25年1月19日に目標症例29名登録終了となった。この29例ではPPS8Wのdisease controlが29例中19例 (65.5%)と期待するdisease control rateの50%を上回っていた。この結果については、European Society of Medical Oncology 2013にて報告した。さらに、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設定し、6例を登録し、その安全性、薬物動態についても検討を行った。

○研究事業3 (RPN2核酸製剤)  
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た。安全性薬理試験、反復投与毒性試験において顕著な毒性は認められなかった。また、これらの結果から全身投与・局所投与におけるNOAELを得た。また、核酸医薬は遺伝毒性は無視できると考えられるために、A6K単体に関してのみ遺伝毒性試験を行ったが、染色体異常誘発作用を認めなかった。これらの結果を基にFirst in human試験のプロトコール作成を開始した。

○研究事業4 (経口VEGF阻害剤)  
平成24年度に3種類の骨格から107種類の化合物を合成し、その中の3種類の化合物に対して、平成25年度に薬理的・薬物動態学的評価を行った。リード骨格の絞り込みを行ったが、非臨床試験に用いる最適化化合物の同定および非臨床試験の開始には至らなかった。

○研究事業5 (Olaparib)  
平成25年1月より医師主導治験を開始しており、平成25年度は第I相部分において、レベル1~7まで24例の登録を行った。各レベルにおいて容量制限毒性を認めなかった。また、TRとして単核球を用いた生体内でのPARPの阻害活性の評価を行い、Olaparibの生体内でのPARP活性阻害を確認した。

## D. 考察

平成25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, 5）が順調に推移した。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が独立セグメントとして位置づけられ、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、平成25年度は医師主導治験を合計10試験実施した。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、恒常的な運営体制が確立しつつある。次年度は、このプラットフォームを用いて臓器別の医師主導治験（IIT）実施グループの設立などを計画している。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。また、現在検討が進んでいる、臨床研究倫理指針の見直しなどに併せて、他の早期探索・臨床研究中核拠点と共に、ICH-GCP準拠での臨床試験実施手順の提言などを含めて、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、恒常的な開発体制の確立に向けて、各研究事業の進捗を促進していくと共に、IITグループの設立や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 別添の、研究成果に関する一覧表の通り

## 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

## II. 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 (早期・探索的臨床試験分野) )  
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	独)国立がん研究センター東病院臨床開発センター	新薬開発分野	分野長
研究分担者	安永 正浩	独)国立がん研究センター東病院臨床開発センター	新薬開発分野	ユニット長
研究分担者	土井 俊彦	独)国立がん研究センター東病院	消化管内科	科長
研究分担者	佐藤 暁洋	独)国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター	臨床試験支援室	室長
研究分担者	大津 敦	独)国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター		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。抗体付加ミセルに関しては GMP 製剤作製のためのオプティマイゼーションを開始する

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 治験および引き続く 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 およびエピトープの同定を行った。
- 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) エピルピ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。この情報をもとに現在ヒトキメラ化を行なっている。
- 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 は認められなかった。
- 3) MMAE 付加 1849 の抗腫瘍効果をヒト膵がん 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 1157 の MMAE-ADC においても抗腫瘍効果を発揮した。1849 抗体は腫瘍塊に集積しており、1157 抗体は腫瘍血管の周囲すなわち間質に特異的に分布していた。また 1157 抗体治療群の腫瘍内の血管は有意に減弱していた。
- 4) 抗 TF 抗体 1849 付加エピルピシン内包ミセルはヒト胃がん 44As3Luc およびヒト膵がん BxPC3 の



in vitro実験において、抗体付加体が有意に早く有意に高濃度にinternalizationをおこし、勝殺細胞効果も高かった。また同細胞の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。体重減少においては抗体付加の有無に差がなかったが、フリーのエピルビシンは両ミセル体比べて有意な体重減少を認めた。

#### D. 考察

抗TFにMMAEを付加したADCにおいては抗マウスTF抗体ADCはマウス xenograft内のマウス由来腫瘍血管にダメージを与え、抗ヒトTF抗体ADCはxenograftそのものへの抗腫瘍効果を確認したことにより、臨床における抗TF抗体ADCはがんと腫瘍血管の両方をターゲットとする dual targeting 機能を有することが推察される。抗TF付加ミセルは抗体付加無しミセルに比較して有意にinternalization能力が高く、殺細胞効果も有意に高いことが判明し、その機序により、マウスモデルにおいても抗体付加ミセルの高い抗腫瘍効果がしめされた。

#### 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。作用機序についても明らかにしたことによりGMP製剤作製のためのPOCが得られたと判断した。キメラ抗体ができ次第GMP製剤のためのoptimizationを行なう。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. A Takahashi, Y Yamamoto, M Yasunaga, Y Koga, J Kuroda, M Takigahira, M Harada, H Saito, T Hayashi, Y Kato, T Kinoshita, N Ohkohchi, I Hyodo, Y Matsumura. NC-6300, an epirubicin-incorporating micelle, exerts higher antitumor activity and the least cardiotoxicity as compared to conventional epirubicin. *Cancer Sci.* 104(7), 920-927, 2013.
2. N Yamazaki, Y Koga, S Yamamoto, Y Kakugawa, Y Otake, R Hayashi, N Saito, Y Matsumura. Application of the fecal micro RNA test to the residuum from the fecal occult blood test. *Jpn J Clin Oncol*, 43(7), 726-33, 2013.
3. Y Hisada, M Yasunaga, S Hanaoka, S Saijou, T Sugino A, Tsuji, T Saga, K Tsumoto, S Manabe, J Kuroda, J Kuratsu, Y Matsumura. Discovery of an uncovered region in fibrin clots and its clinical significance. *Sci. Rep.* 3, 2604, 2013.
4. Y Matsumura, M Yasunaga, S Manabe. Cancer stromal targeting (CAST) therapy and tailored antibody drug conjugate therapy depending on the nature of tumor stroma. *In Cancer Targeted Drug Delivery, An Elusive Dream* (eds. Bae YH, Mrsny RJ, and Park K) Springer New York Heidelberg Dordrecht London, p.161-181, 2013
5. Y Koga, S Katayose, N Onoda, T Kasamatsu, T Kato, S Ikeda, M Ishikawa, K Ishitani, Y Hirai, H Matsui, Y Matsumura. Usefulness of immuno-magnetic beads conjugated with anti-EpCAM antibody for detecting endometrial cancer cells. *J Cancer Therapy* 4:1273-1282, 2013.
6. Y Koga, N Yamazaki, Y Yamamoto, S Yamamoto, N Saito, Y Kakugawa, Y Otake, M Matsumoto, Y Matsumura. Fecal miR-106a is a useful marker for colorectal cancer patients with false-negative results in immunochemical fecal occult blood test. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 22(10):1844-1852, 2013.
7. M Yasunaga, M Furuta, K Ogata, Y Koga, Y Yamamoto, M Takigahira, Y Matsumura. The significance of microscopic mass spectrometry with high resolution in the visualisation of drug distribution. *Sci. Rep.* 3, 3050, 2013.
8. Y Koga, N Yamazaki, S Takizawa, J Kawauchi, O Nomura, S Yamamoto, N Saito, Y Kakugawa, Y Otake, M Matsumoto, Y Matsumura. Gene expression analysis using a highly sensitive DNA microarray for colorectal cancer screening. *Anticancer Research* 34:169-176, 2014.
9. Y Koga, N Yamazaki, Y Matsumura. New molecular diagnosis and screening methods for colorectal cancer using fecal protein, DNA, and RNA. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 14:107-120, 2014.
10. Y Yamamoto, I Hyodo, M Takigahira, Y Koga, M Yasunaga, M Harada, T Hayashi, Y Kato, Y Matsumura. Effect of combined treatment with the epirubicin-incorporating micelles (NC-6300) and 1,2-diaminocyclohexane platinum (II)-incorporating micelles (NC-4016) on a human gastric cancer model. *Int J Cancer* (2014 in press).
11. K Yanagihara, M Takigahira, T Kubo, T Ochiya, T Hamaguchi, Y Matsumura. Marked antitumor effect of NK012, a SN-38-incorporating micelle formulation, in a newly developed

mouse model of liver metastasis from gastric cancer. *Ther. Deliv.* 5: 129-138, 2014.

2. 学会発表

1. Yasuhiro Matsumura. Nanomicelles DDS technology combined with active targeting. 18<sup>th</sup> JFCR ISCC 4<sup>th</sup> December 2014 Tokyo
2. Masahiro Yasunaga, Shino Manabe, David Tarin, Yasuhiro Matsumura. Development of CAST (Cancer Stromal Targeting) Therapy. 4th International Conference on Tumor Progression and Therapeutic Resistance. March 2014 Boston.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特願2014-18586 抗Tissue Factorモノクローナル抗体 (抗組織因子抗体付加抗がん剤内包ミセル)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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 (早期・探索的臨床試験分野))  
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	独)国立がん研究センター早期・探索臨床研究センター	先端医療科	科長
研究分担者	安井 博史	静岡県立静岡がんセンター	消化器内科	科長
研究分担者	室 圭	愛知県がんセンター中央病院	薬物療法部	部長
研究分担者	仁科 智裕	独)四国がんセンター	内科	医長
研究分担者	土原 一哉	独)国立がん研究センター早期・探索臨床研究センターTR分野		分野長
研究分担者	山口 研成	埼玉県立がんセンター	消化器内科	科長兼部長
研究分担者	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
研究分担者	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	臨床腫瘍病理部	部長
研究分担者	朴 成和	聖マリアンナ医科大学	臨床腫瘍学講座	教授
研究分担者	廣中 秀一	千葉県がんセンター	臨床試験推進部	部長

**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 日に治験届けを行い、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、癌研究所有明病院で実施した。Primary endpoint である PPS8W の disease control が 29 例中 19 例 (65.5%) であり、本薬剤は有望な薬剤であると考えられる。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、報告する予定である。

**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。平成25年1月19日に全29症例の登録を終了

した。第1ステージ、第2ステージを合わせた29症例のPPS8Wのdisease controlが29例中19例 (65.5%) と期待するdisease control rateの50%を上回っていた。施設へのモニタリング、監査も実施し、現時点でGCPについて重要な逸脱は認めていない。すでに平成26年2月にデータカットオフを行っており、今後最終結果を報告する予定である。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フォートを設定し、6例の症例を登録し、その安全性、薬物動態についても検討を行った。

**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、試験の質について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、登録症例の試験治療を完遂した。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、報告する予定である。

**F. 研究発表**

1. 論文発表

安井 博史

1) Watanabe A, Yamazaki K, Kinugasa Y, Tsukamoto S, Yamaguchi T, Shiomi A, Tsumishima T, Yokota T, Todaka A, Machida

N, Fukutomi A, Onozawa Y, Yasui H. Influence of primary tumor resection on survival in asymptomatic patients with incurable stage IV colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*. 2014 Feb 15.

山口 研成

- 1) Koizumi W, Yamaguchi K et al. Randomised phase II study of S-1/cisplatin plus TSU-68 vs S-1/cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 109 (8) 2079-86 2013
- 2) Shirao K, Yamaguchi K, et al. Gastrointestinal Oncology Study Group of the Japan Clinical Oncology Group. Randomised Phase III Study of 5-Fluorouracil Continuous Infusion vs. Sequential Methotrexate and 5-Fluorouracil Therapy in Far Advanced Gastric Cancer with Peritoneal Metastasis (JCOG0106). *Jpn J Clin Oncol*. 43 (10) 972-80 2013
- ③) Takahari D, Yamaguchi K et al. Determination of Prognostic Factors in Japanese Patients With Advanced Gastric Cancer Using the Data From a Randomized Controlled Trial, Japan Clinical Oncology Group 9912. *Oncologist* 2014

室 圭

- 1) Yamamoto N, Murakami H, Nishina T, Sugio K, Muro K, Takahashi T, Naito T, Yasui H, Akinaga S, Koh Y, Boku N. The effect of CYP2C19 polymorphism on the safety, tolerability, and pharmacokinetics of tivantinib (ARQ 197): results from a phase I trial in advanced solid tumors. *Annals of Oncology* 24; 1653-1659 2013
- 2) 門脇 重徳、室 圭 MET阻害薬の特徴と臨床開発 腫瘍内科; 12(3), 337-345, 2013

仁科 智裕

- 1) Yamaguchi K, Sawaki A, Doi T, Satoh T, Yamada Y, Omuro Y, Nishina T, Boku N, Chin K, Hamamoto Y, Takiuchi H, Komatsu Y, Saji S, Koizumi W, Miyata Y, Sato A, Baba E, Tamura T, Abe T, Ohtsu A. Efficacy and safety of capecitabine plus cisplatin in Japanese patients with advanced or metastatic gastric cancer: subset analyses of the AVAGAST study and the ToGA study; *Gastric Cancer*. 16(2); 175-82, 2013

土原 一哉

- 1) Bando H, Yoshino T, Shinozaki E, Nishina T, Yamazaki K, Yamaguchi K, Yuki S, Kajiura S, Fujii S, Yamanaka T, Tsuchihara K, Ohtsu A. Simultaneous identification of 36 mutations in KRAS codons 61 and 146, BRAF, NRAS, and PIK3CA in a single reaction by multiplex assay kit. *BMC Cancer*. 13; 405; 2013
- 2) 土原一哉 次世代シーケンス技術を応用したがん薬物療法最適化への試み; 癌と化学療法; 41; 1-6; 2014.

朴 成和

- 1) Boku N HER2-positive gastric cancer; *Gastric Cancer*; 17(1) 1-12; 2014
- 2) Boku N, Muro K, Machida N, Hashigaki S, Kimura N, Suzuki M, Lechuga M, Miyata Y. Phase I study of sunitinib plus S-1 and cisplatin in Japanese patients with advanced or metastatic gastric cancer; *Invest New Drugs*; 32 (2) 261-70; 2014
- 3) Kang YK, Muro K, Ryu MH, Yasui H, Nishina T, Ryoo BY, Kamiya Y, Akinaga S, Boku N A phase II trial of a selective c-Met inhibitor tivantinib (ARQ 197) monotherapy as a second- or third-line therapy in the patients with metastatic gastric cancer. *Invest New Drugs*. 32(2) 355-61; 2014
- 4) Hironaka S, Ueda S, Yasui H, Nishina T, Tsuda M, Tsumura T, Sugimoto N, Shimodaira H, Tokunaga S, Moriwaki T, Esaki T, Nagase M, Fujitani K, Yamaguchi K, Ura T, Hamamoto Y, Morita S, Okamoto I, Boku N, Hyodo I. Randomized, Open-Label, Phase III Study Comparing Irinotecan With Paclitaxel in Patients With Advanced Gastric Cancer Without Severe Peritoneal Metastasis After Failure of Prior Combination Chemotherapy Using Fluoropyrimidine Plus Platinum: WJOG 4007 Trial. *J Clin Oncol*. 31(35) 4438-4444; 2013
- 5) Paoletti X, Oba K, Bang YJ, Bleiberg H, Boku N, Bouché O, Catalano P, Furse N, Michiels S, Moehler M, Morita S, Ohashi Y, Ohtsu A, Roth A, Rougier P, Sakamoto J, Sargent D, Sasako M, Shitara K, Thuss-Patience P, Van Cutsem E, Burzykowski T, Buyse M; on behalf of the GASTRIC group Progression-Free Survival as a Surrogate for Overall Survival in Advanced/Recurrent Gastric Cancer Trials: A Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst*. 105(21) 1667-70; 2013
- 6) Okamoto W, Yoshino T, Takahashi T, Okamoto I, Ueda S, Tsuya A, Boku N, Nishio K, Fukuoka M, Yamamoto N, Nagaoka K. A phase I, pharmacokinetic and pharmacodynamic study of nimotuzumab in Japanese patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*; 72(5) 1063-71; 2013
- 7) Niwakawa M, Yamaguchi R, Onozawa Y, Yasui H, Taku K, Naito T, Akinaga S, Boku N, Yamamoto N. Phase I study of highly selective inhibitor of VEGFR tyrosine kinase, tivozanib, in Japanese patients with solid tumors. *Cancer Sci*; 104(8) 1039-44; 2013
- 8) Fujisaka Y, Onozawa Y, Kurata T, Yasui H, Goto I, Yamazaki K, Machida N, Watanabe J, Shimada H, Shi X, Boku N First report of the safety, tolerability, and pharmacokinetics of the

Src kinase inhibitor saracatinib (AZ D0530) in Japanese patients with advanced solid tumours. Invest New Drugs; 31(1) 108-14;2013

- 9) Yamamoto N, Murakami H, Nishina T, Hirashima T, Sugio K, Muro K, Takahashi T, Naito T, Yasui H, Akinaga S, Koh Y, Boku N The effect of CYP2C19 polymorphism on the safety, tolerability, and pharmacokinetics of tivantinib (ARQ 197): results from a phase I trial in advanced solid tumors. Ann Oncol. 24(6) 1653-9;2013
- 10) 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 intravenous aflibercept with FOLFIRI in Japanese patients with previously treated metastatic colorectal cancer. Invest New Drugs;31(4) 910-7;2013

落合 淳志

- 1) Kawano Nagatsuma A, Aizawa M, Kuwata T, Doi T, Ohtsu A, Fujii H, Ochiai A. Expression profiles of HER2, EGFR, MET and FGFR2 in a large cohort of patients with gastric adenocarcinoma.; Gastric Cancer[Epub ahead of print]

## 2. 学会発表

土井 俊彦

- 1) Toshihiko Doi. Current Status of New Agent for Advanced Gastric Cancer. The 4th JCA-AACR Special Joint Conference 2013 12/16-18 千葉
- 2) K. Muro, T Doi, H Bando, H Yasui, T Nishina, K Yamaguchi, S Takahashi, N Suzuki, S Nomura, K Shitara, A Sato, A Ohtsu. Multicenter Phase II Study of TAS-102 Monotherapy in Patients with Pretreated Advanced Gastric Cancer: EPOC1201; ECCO-ESMO-ESTRO2013 9/27-10/1 Amsterdam
- 3) 土井 俊彦 胃癌幹細胞を標的とした進行胃癌治療の現状 第86回日本胃癌学会総会 2014. 3/20-22

## 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  
特記すべき事無し

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 (早期・探索的臨床試験分野) )  
 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	田村 研治	独) 国立がん研究センター中央病院、乳腺科・腫瘍内科	科長
研究分担者	藤原 康弘	独) 国立がん研究センター中央病院、戦略企画室	室長
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	特別研究員
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	チーフエンジニア
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	チーフエンジニア

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をキャリアとした複合体製剤について、非臨床安全性試験、自然発症乳癌に対する非臨床試験を実施し、Triple Negative乳癌を初めとする治療抵抗性乳癌患者を対象としたFirst in humanの医師主導治験の開始を目標とする。本年度は、薬効薬理試験を完了し、十分な有効性を確認した。非臨床安全性試験、薬物動態試験、安全性薬理試験を終了、医薬品薬事戦略相談対面助言を終了し、治験プロトコールの作成を行った。GMPでの核酸製剤の製造検討を完了し、平成26年度中のFIHを視野に置いて進行中である。

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との複合体製剤を作製、有効性試験および非臨床安全性試験を実施し、投与量の設定と安全性を検証する。Triple Negative乳癌を初めとする、通常の治療法が効を奏しにくい乳癌症例に対して、本複合体製剤を用いた治験プロトコールを作成し、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

昨年度までに、イヌ自然発症乳癌腫瘍症例において、RPN2発現レベルと乳癌の悪性度の相関を確認している。本年度は、イヌの自然発症乳癌腫瘍症例（悪性例：乳癌および腺管状乳癌N=5頭、良性例：乳癌腫瘍、腺房状/腺管状乳癌腫N=12頭）に対し、RPN2siRNA/A6K複合体（RPN2siRNA 0.5 mg/mLとA6K 5 mg/mLの混合液）を腫瘍内へ0.1

～4.0 mL (RPN2siRNAとして0.005～0.41 mg/kg) 局所投与し、腫瘍細胞の増殖抑制効果について検討した。コントロールとして、悪性乳癌腫瘍に対し、生食を局所投与した。1頭において腫瘍が複数個所ある症例に対しては、最大3か所に同時投与を行った。被験薬の投与から2～11日目（症例による）に腫瘍体積を計測した。

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) を参考に、表1に示す非臨床安全性試験、安全性薬理試験をGLP施設での委託試験にて実施した。試験項目および結果について、PMDA薬事戦略相談の対面助言を受けた。

表1 非臨床安全性試験

試験の種類	動物	被験物質	用量 mg/kg
単回全身投与試験	マウス	RPN2siRNA	5.0
単回全身投与試験	雌性サル	RPN2siRNA	0.025
単回皮下投与試験	ラット	A6K	1.3-39
単回全身投与試験	ラット	A6K	0.4-40
4週間反復皮下投与、 4週間回復毒性試験	雌性サル	RPN2siRNA /A6K 複合体	0.13-3.9 / 1.3-39
7週間反復皮下投与、 7週間回復毒性試験	雌性ラット	RPN2siRNA /A6K 複合体	3.9 / 39 / 1.3-39
哺乳類染色体異常試験	In vitro	A6K	—
細菌復帰突然変異試験	In vitro	A6K	—
安全性薬理試験 (心血管・呼吸機能)	雌性カニ クイザル	RPN2siRNA 複 合体	0.13-3.9 / 1.3-39

RPN2siRNA/A6K複合体の腫瘍内投与について、安全性および忍容性を評価、今後の臨床評価に用いる腫瘍内投与法における推奨用量と至適投与スケジュールを推定することを目的とした、First in Human医師主導治験プロトコルを作成した。プロトコル内容について、PMDA薬事戦略相談の対面助言を受けた。

(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有効性試験

イヌの自然発症乳腺腫瘍症例に対する、RPN2siRNA/A6K複合体の腫瘍内局所投与における、投与2～11日目の腫瘍体積変化を図1に示す。悪性腫瘍に対してRPN2siRNA/A6K複合体を投与した部位においては、投与前に比べて腫瘍体積の縮小がみられた。一方、生食を投与した部位および良性腫瘍にRPN2siRNA/A6K複合体を投与した部位においては、腫瘍体積の縮小は見られなかった。なお、悪性乳腺腫瘍へのRPN2siRNA/A6Kの部位あたり平均投与量は $2.15 \pm 0.92$  mLであり、RPN2siRNAとしての体重あたり平均投与量は $0.18 \pm 0.04$  mg/kgであった。

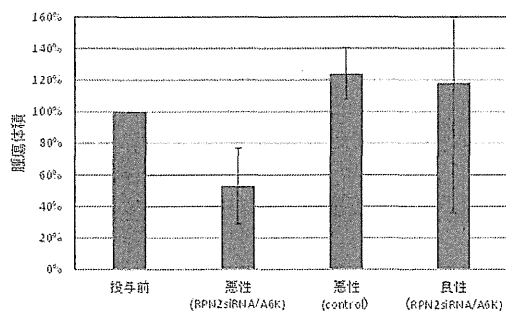


図1 イヌの自然発症乳腺腫瘍症例への局所単回投与による腫瘍体積変化

悪性または良性の乳腺腫瘍への被験物質局所単回投与後、投与後2～11日目の腫瘍体積(長径x短径x0.5)の投与前に対する相対値

### 2. GLP非臨床安全性試験

RPN2siRNA/A6K複合体の投与による全身性の反応は、イヌへの薬効薬理試験における投与時に嘔吐、食欲不振(いずれも1日以内に回復)が見られた以外は特記すべき所見は現れず、毒性学的に意義のある全身毒性は認められなかった。また、雌性カニクイザルを用いた皮下局所投与による安全性薬

理試験の結果、心血管および呼吸機能に対する特記すべき変動は認められなかった。

局所投与部においては、雌性カニクイザルへの皮下間歇反復投与によって投与部にA6Kの貯留が起因したと考えられる局所的な変化が認められたが、休薬により回復した。結論として、RPN2siRNA/A6K複合体において、全身への影響に対するNOAELはRPN2siRNA 3.9 mg/kg・A6K 39 mg/kg、投与部局所に対するNOAELはRPN2siRNA 0.13 mg/kg・A6K 1.3 mg/kgと考えられた。また、A6K単体において、全身への影響に対するNOAELは39 mg/kg、投与部局所に対するNOAELは39 mg/kg未満と考えられた。

核酸医薬では遺伝毒性を無視し得るため、A6K単体に関して遺伝毒性試験を行った。細菌復帰突然変異試験の結果からA6Kに遺伝子突然変異誘発作用はなく、哺乳類染色体異常試験の結果から染色体異常誘発作用を有さないと考えられた。

### 3. First in Human治験プロトコル

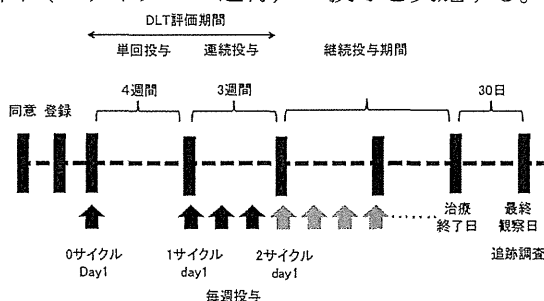
非臨床有効性試験および安全性試験の結果をふまえ、RPN2siRNA/A6K複合体の腫瘍内投与についての治験プロトコルを作成した。対象は、標準的な薬物療法に抵抗性の乳癌で、RPN2siRNA/A6K複合体の腫瘍内投与が可能と判断される体表から触知できる局所病変を有する患者とした。評価項目として、以下の項目を設定した。

主要評価項目:用量制限毒性

副次的評価項目:最大耐用量、推奨用量、推奨スケジュールの推定、有害事象の発現割合、腫瘍縮小割合、各種抗がん剤との併用における安全性

探索的評価項目:局所の腫瘍縮小割合、投与後組織のRPN2ノックダウン

本臨床試験では、RPN2siRNA(最終濃度0.5mg/ml)およびA6K(最終濃度5.0mg/ml)からなる複合体製剤として、各用量群に定められた用量を腫瘍内投与する。各々の患者は最初に安全性評価期として、試験薬を単回投与される。次に28日間の休薬期間後、投与前の有害事象・血液検査値を確認後に、各被験者にDLTに相当する毒性が無い場合には、連続投与評価期として毎週投与のスケジュールにて3回(1サイクル3週毎)の投与を実施する。



## 図2 First in Human治験スケジュール

### D. 考察

RPN2siRNA/A6K複合体製剤の局所投与により、自然発症悪性乳腺腫瘍に対する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。治療抵抗性を示す乳癌においては、がん幹細胞 (CSC) 画分が多く存在し、RPN2遺伝子の発現が高いことが知られている。RPN2遺伝子の発現量をRPN2siRNAによって抑制することで、CSCが有する足場非依存的な細胞増殖 (MS) 形成能を著しく低下させ、さらにがん細胞のアポトーシスを惹起する。本被験薬を治療抵抗性乳癌の腫瘍に局所注射することにより、腫瘍の縮小および増殖抑制効果が期待できる。また、RPN2は胎盤以外の正常組織ではほとんど発現されていないことが知られている。従って、RPN2阻害剤 (RPN2siRNA) は、妊婦以外の対象におけるがん細胞以外の細胞には実質的に作用せず、副作用のない特異的ながん治療薬として有用であると期待される。

非臨床安全性試験の結果をふまえ、PMDA薬事戦略相談対面助言を受けたところ、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインに鑑みて、本被験薬は医師主導治験を実施するのに十分な安全性が確認された。ただし、げっ歯類での被験薬の反復投与毒性試験は実施していないため、平成26年度に当該試験を実施、安全性上の懸念すべき事項が確認された場合、速やかに治験責任医師へその情報を提供し、被験者の安全性を担保するように進める。

RPN2siRNA/A6K複合体製剤の臨床での使用は、現在実施を計画している腫瘍内投与法による医師主導治験が初めてであり、現時点で利用可能な有害事象等の重要な臨床に関する情報はなく、当該臨床試験で適切に収集する。本治験は、単施設で実施する非盲検の試験を予定しており、安全性、薬力学を全ての投与群の被験者で評価する。体表付近の局所病変を有する乳癌患者に対して、副作用の面からのQOLを損なうこと無く、局所制御を可能にして局所の症状による低下したQOLを改善できる可能性がある。

### E. 結論

RPN2siRNA/A6K複合体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をふまえ、PMDA薬事戦略相談対面助言を受けたところ、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインに鑑みて、本被験薬は医師主導治験を実施するのに十分な安全性が確認された。RPN2siRNA/A6K複合体製剤の腫瘍内投与法についてのFirst in Human医師主導治験プロトコールを作成した。平成26年度中の治験開始を予定しており、非盲検試験での安全

性、薬力学を全ての投与群の被験者で評価する。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Takahashi RU, Takeshita F, Honma K, Ono M, Kato K, Ochiya T. Ribophorin II regulates breast tumor initiation and metastasis through the functional suppression of GSK3 $\beta$ . *Sci Rep*, 3:2474, 2013
2. Kosaka N, Iguchi H, Hagiwara K, Yoshioka Y, Takeshita F, Ochiya T. Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2)-dependent exosomal transfer of angiogenic microRNAs regulate cancer cell metastasis. *J Biol Chem*, 288:10849-10859, 2013
3. 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*, 65:376-382, 2013
4. 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*, 65:383-390, 2013
5. Uchino K, Ochiya T, Takeshita F. RNAi therapeutics and applications of microRNAs in cancer treatment. *Jpn J Clin Oncol*, 43:596-607, 2013
6. 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*. 21: 185-191, 2013.
7. Asano J, Hirakawa A, Hamada C, Yonemori K, Hirata T, Shimizu C, Tamura K, Fujiwara Y. Use of Cox's Cure Model to Establish Clinical Determinants of Long-Term Disease-Free Survival in Neoadjuvant-Chemotherapy-Treated Breast Cancer Patients without Pathologic Complete Response. *Int J Breast Cancer*. Epub, 2013
8. Shimma S, Takashima Y, Hashimoto J, Yonemori K, Tamura K, Hamada A. Alternative two-step matrix application method for imaging mass spectrometry to avoid tissue shrinkage and improve ionization efficiency. *J Mass Spectrom*. 48:1285-1290, 2013
9. Harano K, Ando M, Sasajima Y, Yunokawa M, Yonemori K, Shimizu C, Tamura K, Katsumata N, Tsuda H, and Fujiwara Y: Primary yolk sac tumor of the omentum: a case report and literature review. *Case Rep Oncol*. 5(3):671-5, 2013
10. Ono M, Tsuda H, Yunokawa M, Yonemori



- K, Shimizu C, Tamura K, Kinoshita T, Fujiwara Y: Prognostic impact of Ki-67 labeling indices with 3 different cutoff values, histological grade, and nuclear grade in hormone-receptor-positive, HER2-negative, node-negative invasive breast cancers. *Breast Cancer*. Epub, 2013
11. Yunokawa M, Katsumata N, Yamamoto H, Kodaira M, Yonemori K, Shimizu C, Ando M, Tamura K, Fujiwara Y: A pilot feasibility study for cisplatin plus S-1 for the treatment for advanced or recurrent cervical cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 71:1369-1374, 2013
  12. Kondo S, Ueno H, Hosoi H, Hashimoto J, Morizane C, Koizumi F, Tamura K, Okusaka T: Clinical impact of pentraxin family expression on prognosis of pancreatic carcinoma. *Br J Cancer*. 109(3):739-746, 2013
  13. Tamura K, Kurihara H, Yonemori K, Tsuda H, Suzuki J, Kono Y, Honda N, Kodaira M, Yamamoto H, Yunokawa M, Shimizu C, Hasegawa K, Kanayama Y, Nozaki S, Kinoshita T, Wada Y, Tazawa S, Takahashi K, Watanabe Y, Fujiwara Y. <sup>64</sup>Cu-DOTA-trastuzumab PET imaging in patients with HER2-positive breast cancer. *J Nucl Med*. 54:1869-1875, 2013

## 2. 書籍

1. Kosaka N, Yoshioka Y, Hagiwara K, Tominaga N, Ochiya T. Functional analysis of exosomal microRNA in cell-cell communication research. In: Ochiya T (ed), *Methods Mol Biol*, volume 1024. Germany, Springer, pp 1-10, 2013

## G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

### 1. 特許出願

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：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 (早期・探索的臨床試験分野) )  
 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	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	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ンバ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 (protetein-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)。

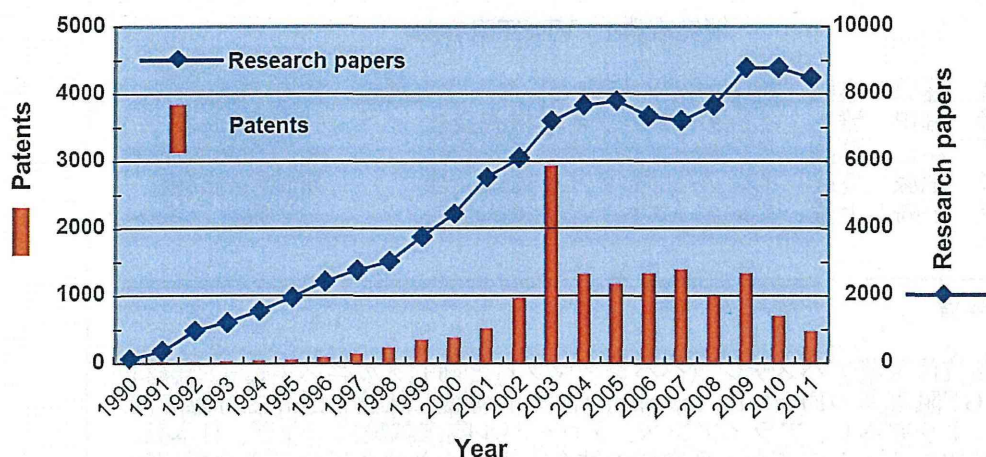
インタープロテインは、PPI制御薬の開発に際して、抗体医薬により標的の有用性と市場ポテンシャルがvalidateされた標的をターゲットとして、抗体医薬と同じプロファイルを有する低分子化合物を創出することにより、医薬品創出の成功確度の向上を目指している。この目的に適合する標的としては、サイトカインとその受容体の相互作用の制御がそのメカニズムの面および有効性の面から有望であると考えている。そして、市場

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, $\mu\text{M}$ )	Ligand (PDB ID)	Ligand MW	P-L binding constant ( $\mu\text{M}$ )	PSA/100A <sup>2</sup>
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 <sub>50</sub> )	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 <sub>50</sub> )	1.26
Integrase/LEDGFp75	0.01	723	314	not available	0.47
TNF- $\alpha$ /TNFRc1	not available	307	548	22 (IC <sub>50</sub> )	0.38
TNFR1A/TNFB	not available	703	457	0.27 (IC <sub>50</sub> )	1.44
LFA-1/ICAM-1	not available	not available	640	0.002 (IC <sub>50</sub> )	not available

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



## Launched small molecule PPI modulators

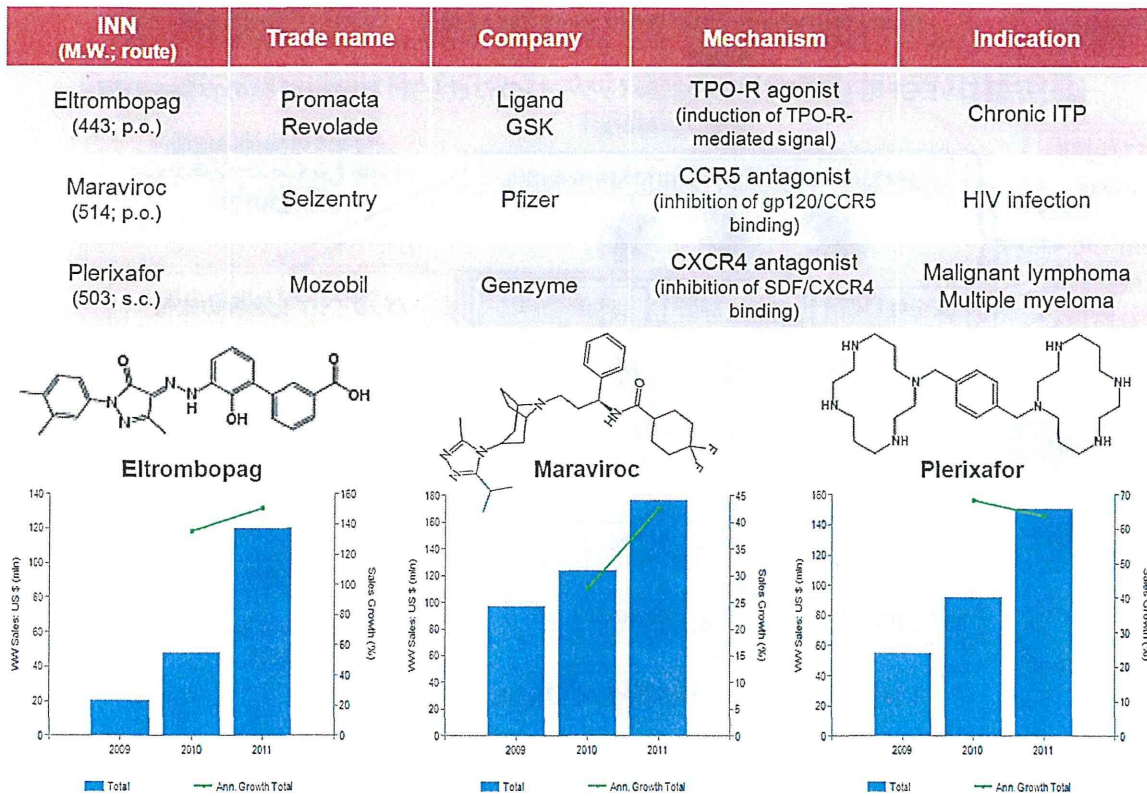
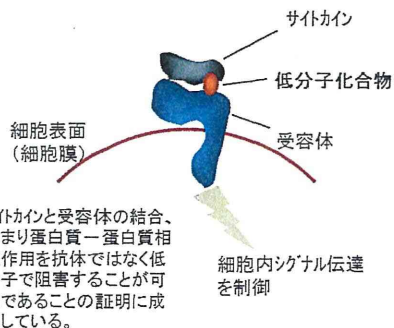
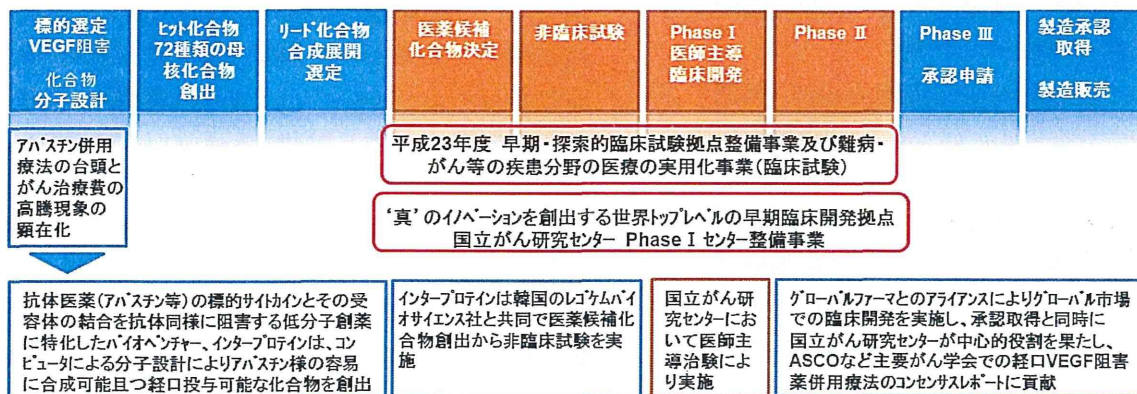


図2 市販されている低分子PPI制御薬

### 研究事業4. 抗サイトカイン抗体医薬 アバスタン(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、将来の適応拡大
VEGF	アバスタン	大腸がん、非小細胞肺がん等固形がん
IL-6	アクトテムラ	慢性関節リウマチ、キャスルマン病、(がん等の悪液質)
TNF $\alpha$	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 $\beta$	イリス	クワイビ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医薬の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