

## 脳/心血管領域におけるアンメットニーズに対応する創薬研究

研究代表者 澤 芳樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授

### [研究要旨]

大阪大学は、早期・探索的臨床試験拠点整備事業においては世界的にも急務とされる脳・心血管領域におけるアンメットニーズに対応するため、総合大学として薬学系/工学系等の研究科はもとより、(独)医薬基盤研究所や北里大学等他大学、製薬メーカー各社との連携により、シーズ探索から臨床応用への共同開発や橋渡し研究を行う創薬基盤を形成することを目的としている。本研究事業は、拠点整備事業の基盤を元に下記6つの重点シーズについて早期の臨床試験実施を目指す。

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発
2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用
3. 左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフレーシス治療の確立
4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発
5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応
6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

本研究事業のシーズは、いずれもアカデミア発のシーズをアカデミア主導で臨床試験まで目指すものであり、基礎的研究成果の社会還元にもつれた一層の加速ならびに国際競争力の強化に資するものである。

### [研究分担者]

|       |  |
|-------|--|
| 松村 泰志 | 大阪大学大学院医学系研究科・教授   |
| 名井 陽  | 大阪大学医学部附属病院・准教授  |
| 玉井 克人 | 大阪大学大学院医学系研究科・<br>寄附講座教授                                   |
| 中神 啓徳 | 大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・<br>浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学<br>研究科・寄附講座教授 |
| 宮川 繁  | 大阪大学大学院医学系研究科・講師   |
| 南野 哲男 | 大阪大学大学院医学系研究科・講師   |
| 平田 雅之 | 大阪大学大学院医学系研究科・<br>特任准教授(常勤)                                |
| 前田 和久 | 大阪大学大学院医学系研究科・<br>寄附講座准教授                                  |
| 大園 恵一 | 大阪大学大学院医学系研究科・教授   |
| 高倉 伸幸 | 大阪大学微生物病研究所・教授   |
| 山下 俊英 | 大阪大学大学院医学系研究科・教授   |
| 齋藤 洋一 | 大阪大学産学連携本部・特任教授<br>(常勤)                                    |
| 齋藤充弘  | 大阪大学医学部附属病院・講師   |
| 赤澤 宏  | 大阪大学大学院医学系研究科・<br>特任准教授(常勤)                                |

|                   |                          |
|-------------------|--------------------------|
| 森下 竜一             | 大阪大学大学院医学系研究科・寄附講座<br>教授 |
| Yao Xiang<br>Jing | 大阪大学医学部附属病院・特任教授<br>(常勤) |

### A. 研究目的

大阪大学は、早期・探索的臨床試験拠点整備事業においては世界的にも急務とされる脳・心血管領域におけるアンメットニーズに対応するため、総合大学として薬学系/工学系等の研究科はもとより、(独)医薬基盤研究所や北里大学等他大学、製薬メーカー各社との連携により、シーズ探索から臨床応用への共同開発や橋渡し研究を行う創薬基盤を形成することを目的としている。本研究事業は、拠点整備事業の基盤を元に下記6つの重点シーズについて早期の臨床試験実施を目指す。

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍

生体内損傷組織が放出する high mobility group box1(HMGB1)が、抹消循環を介して骨髄間葉系幹細胞を損傷組織に集積させて組織再生を誘導しているという我々が発見した新たな生体内組織再生誘導メカニズムを基盤として、HMGB1の骨髄間葉系幹細胞遊走活性ドメインペプチドを用いた抹消循環不全性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。

## 2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

大阪大学で同定した新規ペプチドAG30から、血管新生作用と抗菌活性を併せ持つ新規ペプチド(SR-0379)を作成した。このSR-0379を用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。

## 3. 左室補助人工心臓(LVAD)を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

LVAD(Left Ventricular Assist Device/左室補助人工心臓)を装着した患者を対象に重症心不全治療の新たな選択肢としてトリプトファンをリガンドとするアフエーシス治療を行い、心移植までの待機期間のリスク軽減、患者のQOL(Quality of Life/生活の質)の向上を図ることを目的とする。

## 4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

心筋梗塞は過去20年間で発症数が2倍にも増加しており梗塞後の心不全の進展を抑制する治療法開発が強く望まれている。我々が世界に先駆けて見出した、ナノサイズリポソームが障害心筋へ特異的に集積しリポソームに封入された保護薬の薬効増強と副作用軽減する技術を用い、リポソーム製剤の新規心筋梗塞治療薬を開発することを目的とする。

## 5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア(ONO-1301MS)製剤の重症心不全への適応

重症心不全患者に対して従来的人工心臓、心臓移植療法や長期培養を必要とする自己細胞移植療法にかかって治療効果が高く、細胞培養が不要な低分子合成化合物(ONO-1301MS)を製剤化し心臓に直接投与することにより汎用性が高く、緊急使用も可能な心血管・心筋再生療法剤を開発することを目的とする。

## 6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

国内で発見されたHGF(肝細胞増殖因子/hepatocyte growth factor)プラスミドは、各種の心不全モデル動物に対して抗線維化作用、心筋細胞に対する抗アポトーシス作用、血管新生作用による心機能改善

効果が認められている。年々増加する慢性心不全を対象に、開胸下HGFプラスミドを心筋に直接注入投与するHGF補充療法を確立し重症心不全患者の救命およびQOLの向上を図る。

## B. 研究方法

### 1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

同定したHMGB1の骨髄間葉系幹細胞遊走活性ドメイン構造を基に、シュシュのペプチドをデザインし、骨髄間葉系幹細胞の血中動員活性を評価し、最終開発候補ペプチドの選定を行うとともに、医師主導治験Phase開始に必要な非臨床試験内容について検討する。

### 2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

血管新生作用と抗菌活性を併せ持つ新規ペプチドを用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。大阪大学で同定された新規抗菌ペプチド(AG30)から、治験に向けた改良ペプチド(SR-0379)の作成、薬効薬理試験、薬物動態試験、非臨床試験(GLP)を順次進める。また、治験薬GMPでの原薬合成・製剤化の準備を進め、今後健康人での皮膚刺激性試験(パッチテスト)、皮膚潰瘍患者でのフェーズI試験などを計画している。

### 3. 左室補助人工心臓(LVAD)を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

試験機器である選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1(製品名:イムソーバTR、旭化成クラレメディカル(株))」を用いて、我々は症例が増えつつあるLVAD装着者のみに対象をしばって臨床研究を行い、データを測定・集積する。

### 4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

ナノサイズリポソームが障害心筋へ特異的に集積し、リポソームに封入された心保護薬の薬効増強と副作用軽減することを世界に先駆けて見出した。本技術を用い、ラット心筋梗塞モデルにおいて、低用量リポソーム製剤による心筋梗塞サイズ縮小増強効果を確認した。そこで本研究では、リポソーム製剤を新規心筋梗塞治療薬として開発する。

### 5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア(ONO-1301MS)製剤の重症心不全への適応

ONO-1301MS剤心臓局所投与における各種重症心

不全モデルで薬効薬理試験を実施し、有効性を確認している。

1) マウス左冠動脈結紮心筋梗塞モデルに対し、梗塞心筋周囲にONO-1301MS (4週間徐放剤) を直接筋注射与し、その効果を検討した。

2) アメロイドコンストラクターをブタ心臓左回旋枝(LCx)の根部に埋め込み、4週間後にONO-1301MS剤(4週間徐放剤) およびONO-1301を含まないMS剤を虚血周辺部の心筋内に投与し、2群間比較を行った。

3) ONO-1301MS (3週間徐放剤) を用いて、イヌ高速ペーシング(拡張型心筋症)モデルで誘発された拡張型心筋症モデルに対する心機能改善効果の検討を行った。

4) 心筋梗塞マウスへのONO-1301MS (4週間徐放剤) 心臓貼付の治療効果に関して、骨髄由来細胞の影響について検討した。

5) -筋グリカン欠損自然発症拡張型心筋症モデルであるJ2N-K/ハムスターに、ONO-1301MS (4週間徐放剤) をアテロコラーゲン膜に浸透させたシートを心臓に直接貼付投与群、ONO-1301を含まないMS剤群、および正常群にて比較を行った。

6) ミニブタ陳旧性心筋梗塞(OMI)モデルを用いて、ONO-1301MS (4週間徐放剤) 心臓貼付投与での心機能改善効果を示す最小有効投与量を検討した。

## 6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

国内で発見された HGF (肝細胞増殖因子/hepatocyte growth factor:HGF) は、プラスミドDNAの導入により各種の心不全モデル動物に対して、抗線維化作用、心筋細胞に対する抗アポトーシス作用、血管新生作用による心機能改善効果が認められている。我々は、開胸下で HGF プラスミドを心筋へ直接注入投与する医師主導治験を計画する。

### (倫理面への配慮)

基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミドDNAあるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施した。

動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行った。

## C. 研究結果

### 1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

平成25年度は、HMGB1の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性ドメインペプチドのアミノ酸配列を基にして種々の候補ペプチドを化学合成し、骨髄間葉系幹細胞血中動員活性を指標にして候補ペプチドの絞り込みを進め、最終開発候補ペプチドの選定を終了した。また平成26年度における医師主導治験 phase I 開始に必要な非臨床試験項目の内容を検討し、非臨床安全性試験の実施項目を決定した。さらに、非臨床安全性試験および Phase I 試験開始に用いるペプチド大量合成を依頼する CRO の選定を進め、パイロット合成を進めた。

### 2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

SR-0379の測定系を確立し、薬物動態試験を行った。血中半減期は4.8分であり、血中および皮下投与下での薬物動態を調べた。PMDAに薬事相談および対面助言を行って、非臨床試験の充足性を確認し、必要な非臨床試験として、ラット4週反復毒性試験、ウサギでの眼刺激性試験、皮膚刺激性試験、モルモットでの感作性試験、ラットでの安全性薬理試験(呼吸系・中枢系)を行った。CMCとして原薬合成の予備検討(規格値の決定など)、製剤化の予備検討(安定性試験、容器の決定など)を行った。

### 3. 左室補助人工心臓(LVAD)を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

平成25年度は学内の「治験外臨床研究医学系研究科医学倫理委員会」にての承認を得て、3例の集積を目標に平成25年8月より臨床研究を開始した。3症例にアフエーシスを実施し、現在まで医療機器と因果関係がある重篤な有害事象は認めていない。現在最後の症例のアフエーシス後のフォローアップ期間中である。

### 4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

製剤では心筋梗塞サイズ縮小効果はないが、リポソーム製剤で著明な心筋梗塞サイズ縮小効果を認めた。GMPリポソーム製剤の組成・製造については、PMDA相談を反映し、市販リポソーム製剤ドキシルと同様の組成で、ロット間の均一性を担保しつつ製造

している。

#### 5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

低分子合成化合物であるオキシム誘導体の徐放性製剤（ONO-1301MS）を、心臓に直接投与（心筋内投与および心臓表面に貼付）することにより、各種内因性修復因子（HGF、VEGF、SDF-1、HMGB1等）が産生促進される。その結果、骨髄細胞から梗塞部へ修復細胞が誘導されることにより、心機能の改善等に有効性があることを、各種重症心不全（虚血性心筋症および拡張型心筋症）モデルにおいて確認した。また、臨床予定投与ルート（ゼラチンシートにONO-1301MSを吸収させ心臓梗塞部に貼付）での、ブタ虚血心筋症（OMI）モデルにおける最小有効投与量性を確認した後、PMDA 対面助言にて追加非臨床試験項目・内容を決定した。現在追加非臨床試験を実施しており、平成26年3QにPMDA 対面助言にて医師主導治験プロトコルを決定し、平成26年度内にFirst in human 試験を開始する予定である。

#### 6. 慢性心不全治療薬としての HGF プラスミドの開発

PMDA 薬事戦略相談対面助言を実施して、遺伝子治療の確認申請制度廃止後の「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成25年7月 | 日薬食審査発0701第4号別添）の指針に規定された品質及び安全性に係る基本的な技術要件を満たす事を確認した。また実施計画書の内容に関してもPMDAからの助言を受け、虚血性心筋症を基礎疾患とする慢性心不全を対象としてHGF プラスミドの臨床での安全性の確認を目標に医師主導治験の準備を進めることとした。各種書類の準備を進め、臨床試験デザインの詳細について検討をしながら、本事業期間中の平成26年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備中である。

### D . 考察

本研究事業のシーズは、いずれもアカデミア発のシーズをアカデミア主導で臨床試験まで目指すものであり、基礎的研究成果の社会還元にもけた一層の加速ならびに国際競争力の強化に資するものである。

#### 1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

現在開発を進めている最終開発候補化合物は化学合成HMGB1断片ペプチドであり、HMGB1タンパクと比較して血中での安定性は極めて低く、現在進めつつある探索的安定性試験ではラット静脈内投与数分後に検出感度以下まで消失する。また、これまで実施した非臨床薬効薬理試験では推定投与用量の50倍量を投与しても毒性は得られていない。

以上の事実から、HMGB1ペプチドの安全性は極めて高いと予想される。

#### 2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

医師主導治験として、自ら開発した化合物を原薬・製剤化から取り組んでおり、治験薬GMPの体制作り・ドキュメント整理などから実施してきたが、今年度ではほぼ予備検討を終了することができた。非臨床試験において、全身毒性は認めず、刺激性試験も陰性であったが、感作性試験（アジュバントと同時に投与したモルモットの感作性試験）でのみ陽性を認めたため、今後の臨床試験で注意して進める必要性がある。

#### 3. 左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

心抑制性心筋自己抗体を測定し、陽性を示す症例の中で同意の得られた3症例に、選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1（製品名：イムソーバTR）」によるアフエーシス治療の臨床研究を安全に施行することができた。

#### 4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

基礎的検討では、リポソーム製剤の用量設定、濃度測定の実験系構築、薬理薬効試験、薬物動態試験をおこなった。また、リポソーム製剤のGMP院内製造に向け、1) GMP基準受け入れ態勢の構築と手順書の作成、2) 阪大病院薬剤部にGMP基準対応リポソーム製造機を設置した。

#### 5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

本製剤（ONO-1301MS）は細胞から多種の体内再生因子を持続的に誘導するため、細胞治療の持つ有意性と薬物治療の利便性を同時に併せ持つ、理想的な心不全治療薬剤となる。本製剤は、心移植に代わり重症心不全患者を救済することが可能となり、医療経済へも貢献し、わが国発の基礎的研究成果の社会還元にもけた一層の加速ならびに国際競争力の強化に資するものである。

臨床投与予定ルート（ゼラチンシートに ONO-1301MS を吸収させ心臓梗塞部に貼付）におけるブタ虚血性心筋症モデルでの有効性薬理試験は、現在実施中である。

#### 6. 慢性心不全治療薬としての HGF プラスミドの開発

平成25年度は、遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保の体制の整備を終了した。また、臨床試験デザインを検討し実施計画書を作成した。医師主導治験に必要な各種手順書、試験薬概要書、患者説明文書等を作成し、IRB申請に必要な準備を開始した。

### E . 結論

#### 1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

骨髄間葉系幹細胞血中動員活性医薬開発のための HMGB1 ペプチド最終候補化合物選定を終え、非臨床薬効薬理試験により得られた推定ヒト投与量を基にした非臨床安全性試験プロトコル内容を確定した。

#### 2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

非臨床試験を概ね終了した。SRペプチドを合成し難治性皮膚潰瘍治療の治験に向けた非臨床試験を進め、今後は治験薬製造と臨床試験を実施予定である。

#### 3. 左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエレーシス治療の確立

DCM患者に対しFIHを実施し、心抑制性心筋抗体との関連も検討する予定である。

#### 4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

リポソーム製剤の基礎的検討と、阪大病院薬剤部無菌製剤室に設置するGMP基準対応無菌リポソーム製造装置インフラ整備を中心に行った。27年度に、医師主導治験の準備完了を目指す。

#### 5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

非臨床のデータ集積を積極的に実施した。有効性薬理試験結果から、臨床試験開始に必要な非臨床試験項目を決定してゆく。平成26年度にFirst in huma

n試験を開始する予定である。

#### 6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

平成26年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備中である。

### F . 健康危険情報

特になし