

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

研究分担者 中神 啓徳

大阪大学大学院 大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・
福井大学連合小児発達学研究所 寄附講座教授

【研究要旨】

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。大阪大学で同定した新規抗菌ペプチド AG30/5C を血清で処理させたのちの分解産物を MALDI-TOF/MS を用いて測定した結果から、この分解産物の中の 20 個のアミノ酸の一部のアミノ酸を D 体で置換した新規ペプチド（SR-0379）を作成した。構造上はアルファヘリックス構造を呈し、緑膿菌・黄色ブドウ球菌・真菌に対する抗菌活性を有し、血管内皮培養細胞での管腔構造形成や線維芽細胞の増速を促進する作用を有していた。SR-0379 の薬理薬効試験では、ラットの皮膚損傷モデルにおいて創修復作用の促進を認めた。SR-0379 の測定系を確立し、薬物動態試験を実施した。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・中枢系）を行った。原薬合成・製剤化の予備検討を行い、次年度から治験薬合成および臨床試験（フェーズⅠ）を開始する予定である。

A．研究目的

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

B．研究方法

SRペプチドの非臨床試験として、薬物動態試験、毒性試験、刺激性・感作性試験、安全性薬理試験を行い、次年度の健康人を用いたパッチテストの準備を行った。

LC-MS/MSを用いたMRM（Multiple Reaction Monitoring）でのSRペプチドの測定法を用いて、静脈内投与あるいは皮下投与下でのラット血漿中のSR-0379濃度測定を行った。

治験薬GMPを想定した原薬合成および製剤化の予備検討を行った。

また、SRペプチドの作用メカニズムの解析として、ヒト皮膚培養線維芽細胞を用いて細胞内情報伝達系を解析・検討した。

（倫理面への配慮）

1）本研究のすべての動物実験は下記の国のガイドライン・法律などを遵守し、実施した。

・「動物の愛護および管理に関する法律」（昭和 48

年法律第 105 号）

・「研究機関などにおける動物実験等の実施に関する基本指針」（平成 18 年度厚生労働省告示第 71 号）

また本研究の動物実験は、その動物実験プロトコールが大阪大学大学院医学系研究科で承認後に施行されている。

2）臨床研究計画は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（厚生省令第 21 号、平成 9 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号 平成 20 年 6 月 13 日）、医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイドライン平成 10 年 11 月 13 日医薬審第 1019 号医薬安全局審査管理課長通知（改正平成 22 年 2 月 19 日 0219 号第 4 号）を順守して進める。

C．研究結果

薬物動態試験ではLC/MS/MSを用いたペプチドの測定法を確立し、1 ng/mlからの微量測定可能な検出系を確立した。ラットにSR-0379を200 µg/kgの投与量で単回静脈内投与した際、血漿中消失半減期は4.8分であった。また、1mg/kg以上

の投与量で皮下投与した際の薬物動態を調べたところ、投与後30分後にはほぼ血中濃度が検出限界以下まで減少していることが分かった。

非臨床試験においては、ラット4週毒性試験で全身毒性を認めず、安全性薬理試験（呼吸・中枢系）でも異常なく、ウサギ皮膚刺激性試験でも陰性であった。モルモット感作生試験においてのみ、陽性所見を認めた。

予備検討として、原薬の規格値の決定、製剤化の安定性試験などを行い、製品標準書を作成した。容器としてスプレー製剤を予定し予備安定性試験では室温・冷蔵では安定であり光刺激に対しても安定であった。

SRペプチドはヒト皮膚培養線維芽細胞の増殖活性を有し、その細胞内情報伝達系の解析ではphosphoinositide 3-kinase/Akt/mTOR経路が活性化されていることを見出した。

次年度の健康人でのパッチテストの準備として、手順書の確認と実施計画書、症例報告書、患者説明文書の作成を行った。

D . 考察

SR-0379は皮膚潰瘍治療薬として外用剤として開発を行っており、これまでの試験で薬効試験での有用性と薬物動態試験で局所治療薬としての特性を見出している。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がある。今後は健康人でのパッチテストを行った後に、患者での試験を予定している。

E . 結論

治験に向けた治療用ペプチドとして20個のアミノ酸からなる新規ペプチド、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ている。

F . 研究発表

1. 論文発表

Tomioaka H, Nakagami H, Tenma A, Saito Y, Kaga T, kanamori T, Tamura N, Tomono K, Kaneda Y,

Morishita R. Novel Anti-Microbial peptide, SR-0379, Accelerates Wound Healing via the PI3 Kinase/Akt/mTOR Pathway. PLOS ONE 2014. Mar 27

2. 学会発表

中神 啓徳「Clinical Application of Novel Angiogenic Peptide for Severe Ischemic Ulcer; from Discovery to Drug Development from Academia」第78回日本循環器学会学術集会、2014.3.23、東京＜シンポジウム＞

3 . 新聞報道

「傷治し感染を抑える化合物を開発、大阪大、皮膚潰瘍に。」2014.3.28. 毎日新聞、中日新聞、西日本新聞、大分合同新聞他

G . 知的財産権の出願・登録状況

新規知財特になし。

すでに取得済の特許

1.名称：血管新生誘導剤及びそれに用いられるポリペプチド

出願番号：特願 2007-29945

出願日：平成19年2月9日

PCT JP2008/052022

発明者：中神啓徳、西川智之、金田安史、森下竜一、前田明人、田村奈緒

2.名称：新規ポリペプチドおよびそれを有効成分として含有する抗菌剤

出願番号：特願 2007-29920

出願日：平成19年2月9日

PCT JP2008/052020

発明者：中神啓徳、西川智之、金田安史、朝野和典、前田明人、田村奈緒

出願人：大阪大学およびジェノミディア（株）

3.名称：血管内皮細胞増殖促進遺伝子

出願番号：特願2004-081688

出願日：平成16年3月19日、

PCT/JP2005/004832

発明者：西川智之、中神啓徳、金田安史

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomioka H, <u>Nakagami H</u> , Tenma A, Saito Y, Kaga T, kanamori T, Tamura N, Tomono K, Kaneda Y, Morishita R.	Novel Anti-Microbial peptide, SR-0379, Accelerates Wound Healing via the PI3 Kinase/Akt/mTOR Pathway.	PLOS ONE (Public Library of Science, PL OS)	Vol. 9 Issue 3 e92597	1-11 (e92597)	2014

