

201337001A

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

(国際水準臨床研究分野)

新規医薬品・医療機器等の創出、難治性疾患の
治療法の開発および最適な治療法の確立に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐藤 典宏

平成 26 (2014) 年 5 月

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

(国際水準臨床研究分野)

新規医薬品・医療機器等の創出、難治性疾患の
治療法の開発および最適な治療法の確立に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐藤 典宏

平成 26 (2014) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告

- 新規医薬品・医療機器等の創出、難治性疾患の治療法の開発および最適な治療法の確立に関する研究
研究事業全体の総括 ----- 1
【佐藤 典宏】

II. 分担研究報告

1. 研究事業 1. 新規培養法による自己骨髄間質細胞による脳梗塞の再生医療 --- 5
【寶金 清博】
2. 研究事業 2. 臨床応用を目指した慢性炎症制御に基づく新規心血管病治療法の開発
----- 7
【筒井 裕之】
3. 研究事業 3. 小児難治性白血病に対するボルテゾミブ併用化学療法 ----- 10
【井口 晶裕】
4. 研究事業 4. 常染色体優性多発性嚢胞腎（ADPKD）患者の肝嚢胞に対する球状塞栓物質による治療法開発 ----- 15
【西尾 妙織】
5. 研究事業 5. 統合失調症ならびに双極性障害患者における糖脂質代謝障害と抗精神病薬使用時の代謝能変化に関する研究 ----- 19
【久住 一郎】
6. 研究事業 6. ベザフィブラートによるミトコンドリア脂肪酸代謝異常症（FAOD）の治療
----- 22
【白石 秀明】【山口 清次】【石毛 美夏】
7. 研究事業 7. 重症クローン病に対する同種卵膜間葉系幹細胞による新たな治療法の開発
----- 25
【大西 俊介】
8. 研究事業 8. HER2 過剰発現・遺伝子増幅陽性腫瘍あるいは HER2 遺伝子変異陽性腫瘍に対する個別化治療の開発 ----- 27
【秋田 弘俊】

I. 総括研究報告書

新規医薬品・医療機器等の創出、難治性疾患の治療法の開発および最適な治療法の確立に関する研究

研究代表者 佐藤 典宏 北海道大学病院 高度先進医療支援センター センター長・教授

研究要旨

臨床研究中核病院整備事業で整備中の基盤を活用し、画期的医薬品等の創出を目標とした細胞治療・再生医療（研究事業 1, 2, 7）、小児疾患・難治性疾患に対する治療法の開発（研究事業 3, 4, 6, 8）、最適治療の確立（研究事業 5）を目指した研究を実施した。平成 25 年度は、1 件で医師主導治験、2 件で安全性を評価する探索的臨床試験、1 件で多施設共同検証的臨床試験を開始した。また、3 件の細胞治療・再生医療の医薬品医療機器総合機構（PMDA）薬事戦略相談を実施、2 件で適応拡大のための PMDA 相談を実施した。以上のように、概ね順調に研究が進んでいる。

A. 研究目的

画期的医薬品等の創出、小児疾患・難治性疾患に対する治療法の開発、最適治療の確立を目指し、臨床研究中核病院整備事業による基盤を活用し、8 つの研究テーマについて治験または臨床試験を実施する。

B. 研究方法

研究事業 1（新規培養法による自己骨髄間質細胞による脳梗塞の再生医療）

医薬品医療機器総合機構（PMDA）薬事戦略相談を行い、再生医療製剤の品質および非臨床試験の検討を行った。また、他家ヒト血小板溶解物（PL）の作成及びそれによる骨髄間葉系細胞の培養を検討した。

研究事業 2（臨床応用を目指した慢性炎症制御に基づく新規心血管病治療法の開発）

PMDA 薬事戦略相談を行い、再生医療製剤の品質および非臨床試験の検討を行った。また、健康人末梢血より治療量を想定した細胞を分離・培養し、その品質・機能等の検討を行った。

研究事業 3（小児難治性白血病に対するボルテゾミブ併用化学療法）

小児難治性白血病に対するボルテゾミブ治療法の安全性確認と薬物血中濃度の測定のため、探索的臨床試験を実施中である。

研究事業 4（常染色体優性多発性嚢胞腎（ADPKD）患者の肝嚢胞に対する球状塞栓物質による治療法開発）

巨大肝嚢胞を有する ADPKD 患者を対象に、球状塞栓物質（Embosphere）の安全性と有効性を検討する

臨床試験を開始した。また、その成果を基に、本剤の薬事承認を目指して PMDA 薬事戦略相談を行った。

研究事業 5（統合失調症ならびに双極性障害患者における糖脂質代謝障害と抗精神病薬使用時の代謝能変化に関する研究）

第二世代抗精神病薬の使用ガイドラインの作成を目標に、多施設共同臨床試験を開始し、登録を進めている。

研究事業 6（ベザフィブラートによるミトコンドリア脂肪酸代謝異常症（FAOD）の治療）

本剤の本疾患への適応を取得するため、医師主導治験を計画し PMDA 薬事戦略相談を行った。その結果治験実施が可能となり、多施設共同による治験実施体制を整え、登録を開始した。

研究事業 7（重症クローン病に対する同種卵膜間葉系幹細胞による新たな治療法の開発）

難治性の重症クローン病に対して、卵膜由来間葉系細胞による新規細胞治療を目指す。基礎研究はほぼ終了しており、製剤化を目指して PMDA 薬事戦略相談を行った。

研究事業 8（HER2 過剰発現・遺伝子増幅陽性腫瘍あるいは HER2 遺伝子変異陽性腫瘍に対する個別化治療の開発）

HER2 陽性が一部の患者で見られる肺癌、稀少癌であるが、HER2 陽性腫瘍への有効性の報告がある唾液腺癌に対して、有効な治療法の開発を目指す。肺癌に対しては HER2 陽性および特異的遺伝子の探索を目的とした臨床研究を検討、唾液腺癌に対しては適応拡大を目的とした治験を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトを対象とする臨床試験においては、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針を遵守して行った。非臨床試験においては、動物愛護精神を持って実施した。

C. 研究結果

研究事業 1

PMDA 薬事戦略相談の事前面談及び対面助言を実施し、本製剤の品質を確定した。引き続き、非臨床試験についても相談を行い、試験項目を設定した。PL は、日本赤十字血液センターの協力を得て、品質及び非臨床試験を行うことができる分量を作成、健康人骨髄を用いて間葉系幹細胞の培養を行った。

研究事業 2

PMDA 薬事戦略相談の事前面談及び対面助言を実施し、本製剤の品質を確定した。引き続き、非臨床試験についても相談を行い、試験項目を設定した。また、これと並行して健康人末梢血細胞由来の本製剤の作成を行い、製造の規格および品質試験の内容を決定した。

研究事業 3

探索的臨床試験として、北海道大学病院で 2 例の患者の治療を行った。安全性に問題はなかった。また、それぞれの患者について薬物血中濃度測定 (PK 試験) を行った。

研究事業 4

5 例の ADPKD 患者に対して Embosphere による塞栓治療を行い、重篤な有害事象は認められず、且つ有効性を示唆する所見が得られた。PMDA 薬事戦略相談事前面談において、薬事承認取得のデータパッケージについて議論を行った。その結果、次年度に医師主導治験を実施する方針となった。

研究事業 5

2014 年 3 月末時点で 38 施設が倫理委員会の承認を得て、本研究に参加している。被験者登録は、323 例まで進んでいる。引き続き、登録を進めていく。

研究事業 6

PMDA 薬事戦略相談では、有効性の評価指標と安全性確保の対策が問題となったが、評価資料として利用できる治験実施計画書が立案できた。2014 年 3 月末時点で 2 施設が倫理委員会の承認を得、1 名が登録された。

研究事業 7

PMDA 薬事戦略相談では、まず品質の相談を行った。細胞培養法は概ね問題はなく、ウィンドウピリオドを考慮した感染症への対策の指導を受けた。非臨床

では、造腫瘍性の検討について指導を受けた。これらを基に、次年度には非臨床試験を実施する予定である。

研究事業 8

肺癌に対しては、HER2 陽性の判定と特異的遺伝子の探索を目的とした臨床研究の研究実施計画書を作成、責任機関である北海道大学病院の倫理審査委員会の承認を得た。唾液腺癌に対しては、医師主導治験を計画し、PMDA 薬事戦略相談の事前面談を受け、プロトコールの骨子について決定した。

D. 考察

研究事業 1、2 及び 7 は、PMDA 薬事戦略相談を終了し、次年度に非臨床試験を行う段階となった。

研究事業 3 は、安全性および薬物動態試験を兼ねた臨床試験を実施中であり、その成果を待つ。

研究事業 4 は、安全性評価の探索的臨床試験の 5 例を実施、並行して PMDA 薬事戦略相談を行っている。次年度に医師主導治験を実施する見通しである。

研究事業 5 は、被験者登録は開始され、臨床試験が進んでいる。引き続き、被験者登録を推進していく。

研究事業 6 は、PMDA 薬事戦略相談を経て医師主導治験を開始した。次年度は引き続き治験を継続する。

研究事業 8 は、唾液腺癌に対しては PMDA 薬事戦略相談を行い、次年度に医師主導治験を実施する見通しである。肺癌に対しては臨床研究でデータの蓄積を行う段階である。

E. 結論

各研究事業とも、臨床研究中核病院整備事業の基盤を活用し、一部は医師主導治験が開始されるなど、当初計画にほぼ準じた進捗状況で研究が進んでいる。次年度は、本年度の成果を進め、臨床試験・治験がさらに進行することが期待できる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表
分担研究報告書に記載
2. 学会発表
分担研究報告書に記載

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

分担研究報告書に記載

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 分担研究報告書

研究事業 1. 新規培養法による自己骨髄間質細胞による脳梗塞の再生医療

研究分担者 寶金 清博 北海道大学病院 脳神経外科 教授

研究要旨

脳梗塞はわが国の主要疾病の一つであり、その後遺症は日常生活に重大な支障を及ぼし、社会的コストは年々増加している。近年、骨髄間質細胞(bone marrow stromal cells; BMSC)を利用した再生医療が、後遺症を改善させる新たな治療法として期待され、自己 BMSC 移植は国内外で臨床試験が開始されつつある。しかし、BMSC の安全で効率的な培養法や移植法は確立されていない。

当院では、『新たな培養・移植・イメージング技術を駆使した自己骨髄間質細胞移植による脳梗塞再生治療 - 治療メカニズムの解明を目的とした臨床試験』(RAINBOW 研究)を、平成 27 年度中の開始をめざし準備中である。本研究では他家ヒト血小板溶解物(platelet lysate: PL)を添加物に用いた BMSC 培養と、細胞を脳内に定位的移植することをプロトコールとしている。現在は、他家 PL を用いて培養されたヒト BMSC の、品質と安全性についての非臨床試験を準備中である。

A. 研究目的

脳梗塞はわが国の主要疾病の一つであり、その後遺症は日常生活に重大な支障を及ぼし、社会的コストは年々増加している。近年、骨髄間質細胞(bone marrow stromal cells; BMSC)を利用した再生医療が、後遺症を改善させる新たな治療法として期待され、自己 BMSC 移植は国内外で臨床試験が開始されつつある。しかし、BMSC の安全で効率的な培養法や移植法は確立されていない。

今年度の本研究の目的は、他家ヒト血小板溶解物(platelet lysate: PL)を添加物に用いた BMSC 培養について、PL のバリデーション、培養細胞の品質と安全性に関し検討することである。

B. 研究方法

ボランティアから血小板を成分採血し、GMP 準拠の濃厚血小板血漿 (PRP) 15-20 単位を作成する。院内 CPC で PRP を凍結、解凍し細胞膜を破壊する。遠心分離の後、上清をとり PL を作成する。基本培地に PL、抗生物質を加え細胞培養に用いる。

ボランティアから、局所麻酔下で腸骨稜より約 50mL の骨髄液を採取する。CPC 内に搬入し遠心分離により単核球だけを採集する。

CPC で培養フラスコに単核球の播種を行う。播種 24 時間後に浮遊細胞を除去し、接着細胞のみの培養を開始する。コンフルエントになった時点で継代を行い、全培養細胞数が細胞移植手術に必要な量(1~5 × 10⁷ 個)に達するまで継代培養を行う。

培養終了時に細胞生存率、無菌検査(細菌感染、マイコプラズマ感染、エンドトキシン)、フローサイトメトリー(CD34、CD45、CD44、CD90、CD105、CD166)、グライコミクス解析を行う。さらに、ラット、マーモセットなどの脳内に BMSC を定位的に移植し、一般毒性試験など安全性を検討する。

(倫理面への配慮)

本申請では、健康成人ボランティアから採取した骨髄細胞を利用する計画のため、「北海道大学大学院医学研究科・医学部 医の倫理委員会」に申請し、承認を得ている。

C. 研究結果

今年度は、自家 BMSC 培養の品質と非臨床安全性について PMDA と薬事戦略相談を行った。品質に関する対面助言を 2013/10/25 に、非臨床安全性に関する対面助言を 12/20 に実施した。また、PL 作成に関して日赤北海道ブロック血液センターと共同で 7 名のボランティアから血小板成分採血を行い、PL 作成を行

った。今後、これらについてバリデーションを行い、PL 作成について臨床試験プロトコルを確定する。さらに、当院血液内科と共同でボランティアから骨髓液採取を行った。今後、少なくとも3名のボランティアから採取する予定である。これらの骨髓とPLを用いてBMSCを培養し、品質試験や非臨床安全性試験等を準備している。

D. 考察

本研究では、脳梗塞を対象疾患とした新規治療法の開発を推進しているが、対象となる患者はまず脳梗塞に対する現時点での標準的な急性期治療を行う。その後、亜急性期～慢性期において細胞移植を行うこととなる。よって本研究の成功の鍵のひとつに、急性期の適切な脳梗塞治療があげられる。

同時期に進行している国内の治験(札幌医大、脳梗塞に対する自家骨髓間葉系幹細胞治療)では、対象患者から脳主幹動脈狭窄合併例を除外するといった、試験後の脳梗塞再発に留意したプロトコルとなっている。特に、移植細胞が動脈硬化病変に集積し、主幹動脈狭窄を悪化させる懸念がもたれているからである。今後は本研究でも、適切な急性期治療と対象患者の選択を行ない再生医療の安全性を高めることを目的とした研究に目を向けていく必要がある。

E. 結論

今年度は臨床試験を見据えて、ボランティアからのPL作成、骨髓採取、BMSC培養を開始した。今後はボランティア由来のBMSCを他家PLにより培養し、品質試験、安全性試験を行うとともに、ヒトへの定位的脳内細胞移植の効率性、安全性に関してもさらに検証していく。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Bone Marrow Stromal Cells Rescue Ischemic Brain by Trophic Effects and Phenotypic Change Toward Neural Cells. Shichinohe H, Ishihara T, Takahashi K, Tanaka Y, Miyamoto M, Yamauchi T, Saito H, Takemoto H, Houkin

K, Kuroda S. Neurorehabil Neural Repair. 2014 Mar 14. [Epub ahead of print]

- 2) Bone marrow stromal cell transplantation enhances recovery of motor function after lacunar stroke in rats. Shichinohe H, Yamauchi T, Saito H, Houkin K, Kuroda S. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2013;73(3):354-63.
- 3) ¹²³I-iomazenil single photon emission computed tomography visualizes recovery of neuronal integrity by bone marrow stromal cell therapy in rat infarct brain. Saito H, Magota K, Zhao S, Kubo N, Kuge Y, Shichinohe H, Houkin K, Tamaki N, Kuroda S. Stroke. 2013 Oct;44(10):2869-74.

2. 学会発表

- 1) Saito H, Magota K, Zhao S, Kubo N, Kuge Y, Shichinohe H, Houkin K, Tamaki N, Kuroda S: ¹²³I-iomazenil single photon emission computed tomography visualizes recovery of neuronal integrity by bone marrow stromal cell therapy in rat infarct brain. WFNS XV World Congress of Neurosurgery, Seoul, 2013. 9. 8-13

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

なし

研究事業 2. 臨床応用を目指した慢性炎症制御に基づく新規心血管病治療法の開発

研究分担者 筒井 裕之 北海道大学大学院医学研究科 内科学講座 循環病態内科学分野 教授

研究要旨

わが国では、人口の高齢化、生活習慣病の増加、急性心筋梗塞に対する急性期治療の普及と治療成績の向上などによって、心血管病の患者が増加の一途をたどっている。特に近年の薬物療法・非薬物療法の進歩によって、心不全患者の予後は格段に改善してきたが、重症例の予後は未だに不良であり、患者は増悪による入院を反復し、最終的には死に至る。したがって、心血管病の中でも心不全の新たな治療法の開発に対する医療現場における必要度は極めて高い。

心筋リモデリングの形成・進展には、心筋組織における炎症の遷延化・慢性化が関与する。ナチュラルキラーT (NKT) 細胞は、マクロファージや樹状細胞 (Dendritic cell; DC) などの抗原提示細胞から刺激を受け種々のサイトカインを産生する炎症細胞のひとつであるが、Th1/Th2 バランスを調節し生体における炎症を制御する「炎症調節細胞」としての役割を担っている。近年、 α -ガラクトシルセラミド (α -GalCer) により NKT 細胞を活性化し Th1/Th2 バランスを Th2 へシフトさせることにより自己免疫疾患やがんの予後を改善できることが報告され、慢性炎症制御は新たな治療戦略として期待されている。

A. 研究目的

本研究は、NKT 細胞の炎症制御における基盤的役割に着目し、DC を担体とした α -GalCer (α -GalCer/DC) を用いた NKT 細胞活性化の心不全における有効性を検証し、新たなパラダイムに基づく心血管病、特に心不全の新規治療法を開発しようとするものである。

B. 研究方法

本研究では、 α -GalCer/DC の心血管病治療における有効性を検証し、新規治療法として開発する。その準備として昨年度は、1) マウス α -GalCer/DC の有効性の確認、2) ヒト α -GalCer/DC の規格決定および品質・安全性試験 (GMP 基準) と効力の確認、3) ヒト α -GalCer/DC (細胞製品) の製造体制の整備 (GLP 基準) の 3 点について研究を遂行し、その概略は前回報告した通りである。今年度は引き続き下記について研究を遂行した。

4) ヒト α -GalCer/DC の心筋梗塞後心不全モデルマウスにおける有効性・安全性の確認 (前臨床試験) : アフェレーシスによってヒト末梢血単核球を分離し、IL-2 および GM-CSF 添加 AIM-V 培地で 6 日間培養後、 α -GalCer を添加してヒト α -GalCer/DC を作製した。ヒト α -GalCer/DC の作製は GMP 基準に準拠し、当院セルプロセッシングセンター (CPC) 内にて行ない、

培養細胞を回収洗浄し、フローサイトメトリーを用いて樹状細胞マーカー発現割合をもとに定めた「規格試験」に適合する最終製品あるいは vehicle を、冠動脈を結紮して心筋梗塞を作成したマウスに手術後 1 日目および 4 日目に経静脈投与し、4 週間飼育した。4 週間の生存曲線、4 週後の心エコー、血行動態測定、心・肺重量、非梗塞部心筋組織を評価し、ヒト α -GalCer/DC の心不全におよぼす効果を検討した。

C. 研究結果

1) マウス α -GalCer/DC の有効性の確認 : マウスの冠動脈を結紮虚血後、結紮解除して再灌流を行った。虚血エリアに対する梗塞サイズの割合は Vehicle 投与群に比し α -GalCer/DC 投与群で有意に抑制された。一方、左室心筋全体に対する虚血エリアは両群で差がなかった。

2) ヒト α -GalCer/DC の規格決定および品質・安全性試験 (GMP 基準) と効力の確認 : アフェレーシス施行後に細胞調製し、ヒト末梢血単核球を採取した。IL-2 および GM-CSF 添加 AIM-V 培地で 6 日間培養後 α -GalCer を添加し、ヒト α -GalCer/DC を作製した。最終製品は培養前に比し樹状細胞マーカー発現が亢進していた。最終製品を 3×10^5 個正常マウスに静脈内投与したところ、血漿サイトカイン濃度の有意な

上昇を認めた (IL-4 は投与 3 時間後、IFN- γ は投与 12 時間後に最高値)。

3) ヒト α -GalCer/DC (細胞製品) の製造体制の整備 (GLP 基準) : 複数の健常人より分離作製したヒト α -GalCer/DC データより、工程内管理試験の基準となる細胞数・胞生存率・単核球割合、規格試験の基準となる樹状細胞マーカー発現割合を定めた。

4) ヒト α -GalCer/DC の心筋梗塞後心不全モデルマウスにおける有効性・安全性の確認 (前臨床試験) : アフェレーシス施行後に細胞調製し、ヒト末梢血単核球を採取した。IL-2 および GM-CSF 添加 AIM-V 培地で 6 日間培養後 α -GalCer を添加し、 α -GalCer/DC を作製した。規格試験に適合する最終製品 (ヒト α -GalCer/DC) 3×10^6 個あるいは vehicle を心筋梗塞後心不全マウスに静脈内投与したところ、最終製品投与群では vehicle 投与群に比し心筋梗塞作成後 4 週間までの死亡率が有意に改善した。さらに、最終製品投与群で生存したマウスの左室拡張末期径および収縮末期径は縮小し、左室短縮率は有意に増加し、また左室拡張末期圧も有意に低下していた。

D. 考察

これまでの研究より、ヒト α -GalCer/DC の規格決定および品質・安全性に加えて、規格試験に適合したヒト α -GalCer/DC (最終製品) の心不全モデルに対する有効性・安全性が確認された。現在マウスを用いた非臨床安全性試験 (反復投与毒性試験および安全性薬理試験、造腫瘍性試験) の準備を進めているが、今後はこれらの試験結果をもとに PMDA 医薬品薬事戦略相談 (事前面談・対面助言) による臨床試験計画策定に関する指導・助言を受けながら、試験計画の策定 (臨床試験準備) を進めてゆく予定でいる。

E. 結論

これまでの本研究の結果から、ヒト α -GalCer/DC を用いて NKT 細胞を活性化することにより、モデルマウスにおいて心筋リモデリングが抑制される結果を得た。これらの基礎的研究の成果をふまえ、ヒト α -GalCer/DC を生体内投与して NKT 細胞を活性化し、Th1/Th2 バランスの適正化を図って心筋リモデリングを抑制するという我々独自の発想に基づいた治療パラダイムが、実際の心不全治療として臨床応用に繋がるのが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yokota T, Kinugawa S, Yamato M, Hirabayashi K, Suga T, Takada S, Harada K, Morita N, Oyama-Manabe N, Kikuchi Y, Okita K, Tsutsui H: Systemic oxidative stress is associated with lower aerobic capacity and impaired skeletal muscle energy metabolism in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Care* 36:1341-1346, 2013
2. Homma T, Kinugawa S, Takahashi M, Sobirin MA, Saito A, Fukushima A, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Masaki Y, Furihata T, Taniguchi M, Nakayama T, Ishimori N, Iwabuchi K, Tsutsui H: Activation of invariant natural killer T cells by α -galactosylceramide ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *J Mol Cell Cardiol* 62:179-188, 2013
3. Takada S, Kinugawa S, Hirabayashi K, Suga T, Yokota T, Takahashi M, Fukushima A, Homma T, Ono T, Sobirin MA, Masaki Y, Mizushima W, Kadoguchi T, Okita K, Tsutsui H: Angiotensin II receptor blocker improves the lowered exercise capacity and impaired mitochondrial function of the skeletal muscle in type 2 diabetic mice. *J Appl Physiol* 114:844-857, 2013
4. Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Yokota T, Matsushima S, Abe T, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Katsuyama R, Oba K, Okita K, Tsutsui H: Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels are correlated with exercise intolerance in patients with heart failure. *Int J Cardiol* 168: e142-4, 2013
5. Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Abe T, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Okita K, Matsushima S, Tsutsui H: Increased plasma soluble (pro)renin receptor levels are correlated with renal

dysfunction in patients with heart failure.

Int J Cardiol 168:4313-4314, 2013

2. 学会発表

1. Tsutsui H: Role of Innate Immunity in Cardiac Inflammation. American Heart Association 2013, 2013年11月20日, Dallas Convention Center (Dallas, America)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

樹状細胞を含有する医薬およびその製造方法
(特願 2014-036070)

平成 26 年 2 月 26 日特許出願

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究事業3. 小児難治性白血病に対するボルテゾミブ併用化学療法

研究分担者 井口 晶裕 北海道大学病院 小児科 助教

研究要旨

寛解導入不能あるいは第一再発以降の小児難治性急性白血病に対するボルテゾミブ併用化学療法の有効性と安全性を検証し薬事承認に繋げることを目的とした医師主導治験を計画した。

治療レジメンは米国の Therapeutic Advances in Childhood Leukemia (TACL) の試験に加えて UK の R3 試験のレジメンを追加した。いずれも従来型の寛解導入療法であるビンクリスチン、デキサメサゾン、アントラサイクリン、L-アスパラギナーゼの骨格にボルテゾミブの4回投与を併用する内容とした。

治験を開始する前にボルテゾミブ併用化学療法の安全性評価のための探索的臨床試験を先行して開始しており既に2症例に投与した。この臨床試験により小児急性白血病におけるボルテゾミブの安全性を評価するとともに小児における薬物動態を確認することとしている。

治験及び探索的臨床試験の実施と併行して、ボルテゾミブの白血病に対する作用機序を明らかにするために今後ユビキチン化タンパク、プロテアソームタンパク、及びアポトーシス関連遺伝子などの遺伝子解析を行う。

A. 研究目的

寛解導入不能あるいは第一再発以降の小児難治性急性リンパ性白血病 (ALL) に対するボルテゾミブ併用化学療法の有効性と安全性を検証し薬事承認に繋げることを目的に、日本小児白血病/リンパ腫研究グループ (JPLSG) と協力し、医師主導治験、探索的臨床試験、及びプロテアソームタンパクに関連する遺伝子解析を行う。

B. 研究方法

治験は JPLSG にて行う。それに先立って安全性探索試験及びプロテアソームタンパクに関連する遺伝子解析については北大で行う。

安全性探索試験

(1) 研究の種類・デザイン

非対照、非盲検の探索的臨床試験

(2) 対象

既存の治療では有効率が低いと考えられる寛解導入不能例 (初回寛解導入不能例は2回以上の異なる治療を施行した症例のみ)、早期再発例、造血幹細胞移植後再発例、頻回再発例などの小児難治性 ALL を対象に以下の選択基準及び除外基準を満たす小児患者を対象とする。

(3) 選択基準

- ①初回寛解導入不能 (2回以上の異なる治療を施行した症例、あるいは第1再発以降の髄外単独再発を除いた小児 ALL (B前駆細胞型及びT細胞性) の患者。
- ②骨髄に25%以上の白血病細胞浸潤を認める患者。
- ③初発診断時の年齢が1歳以上18歳未満かつ本試験登録時の年齢が20歳未満である患者。
- ④登録時に米国 Eastern Cooperative Oncology Score (ECOG) performance status (PS) スコアが 0-2 である患者。
- ⑤登録時にステロイドを除いた前回治療より2週間以上経過しており、骨髄抑制を除き、前回治療の有害事象が解決している患者。
- ⑥造血幹細胞移植後の症例では移植後6ヶ月以上経過しており、その時点で活動性のある GVHD を認めていない患者。ただし免疫抑制剤は投与中であっても減量中であること。
- ⑦十分な肝・腎・心機能を有し、下記の基準を全て満たしている患者。検査値は症例登録日より14日以内の値とする。
 - ・血清総ビリルビン値 2.0mg/dl 以下
 - ・クレアチニンクリアランス 70 ml/min/1.73m² 以上

- ・心電図にて治療を要するような異常を認めない
- ⑧本臨床試験への参加について本人又は代諾者(被験者が16歳以上の未成年者である場合には、本人及び代諾者)から文書で同意が得られている患者。

(4)除外基準

- ①tyrosine kinase inhibitor (TKI) による治療を一度も受けていないPh1陽性ALLの患者。
- ②ダウン症候群の患者。
- ③治療遂行に支障を来すCTCAE ver4.0 Grade3以上の中枢神経出血や白質脳症を伴う患者。
- ④過去にてんかん、ギランバレー症候群、脳炎、脳症の既往がある。難治性てんかんである患者。
- ⑤コントロール困難な感染症(活動性の結核、HIV感染症を含む)を伴う患者。
- ⑥妊娠中、又は妊娠している可能性がある患者。
- ⑦先天性、あるいは後天性免疫不全症候群の既往がある患者。
- ⑧過去の治療などにより、本治療計画に含まれる薬剤の1つ以上が全く使用できない患者。
- ⑨末梢神経障害CTCAE ver4.0 Grade2以上の既往がある患者。
- ⑩マンニトール及びホウ素にアレルギーがある患者。
- ⑪過去にアンスラサイクリン系薬剤がドキシソルピシン換算で350mg/m²以上投与されている患者。
- ⑫過去の治療経過中に間質性肺炎の既往がある、あるいは治療開始時にCTで間質性の異常陰影がある患者。
- ⑬再発ALL以外に二次がんを合併している患者。
- ⑭その他、担当医が本臨床試験に参加することが不適当と判断する場合。

(5)治療スケジュール

TACL レジメン

BZM: day1、4、8、11 に 1.3mg/m²をゆつくり静注。

VCR: day1、8、15、22 に 1.5mg/m²をゆつくり静注。最大投与量は 2.0mg。

DEX: day1~14 に 10mg/m²を分2で経口投与し、その後1週間以上かけて漸減し中止する。腫瘍崩壊症候群が懸念される症例については最大5日間のDEXの先行投与を許容する。経口投与が困難な場合は注射剤に変更し

てもよい。ただし注射剤に変更する場合の用量は経口剤×0.825とする。
DOX: day1、2 に 60mg/m²を1時間以上かけて点滴静注する。

L-ASP: day2、5、8、11、15、18、22、25 に 10000U/m²を6時間かけて点滴静注又は筋注する。5%ブドウ糖に溶解する。Day15、18、22、25投与時は投与前にステロイドホルモン、抗ヒスタミン剤を使用する。

IT MTX: day1にMTXを髄注する。1歳8mg、2歳10mg、3歳以上12mg。但しこの治療研究開始前1週間に髄注を施行している患者は省略する。

IT Triple¹: 全例 day15 に MTX、Ara-C、HDC を髄注する。

Ara-C 1歳20mg、2歳26mg、3歳以上30mg

HDC 1歳6mg、2歳8mg、3歳以上10mg

IT Triple²: 研究開始時 CNS 陽性患者のみ day8、15、21 に MTX、Ara-C、HDC を髄注する。用量は上記と同様。

R3 レジメン

BZM: day1、4、15、18 に 1.3mg/m²をゆつくり静注。

VCR: day1、8、15、22 に 1.5mg/m²をゆつくり静注。最大投与量は 2.0mg。

DEX: day1~5、15~19 に 10mg/m²を分2で経口投与し、その後漸減し中止する。腫瘍崩壊症候群が懸念される症例については最大5日間のDEXの先行投与を許容する。経口投与が困難な場合は注射剤に変更してもよい。ただし注射剤に変更する場合の用量は経口剤×0.825とする。

MIT: day1、2 に 10mg/m²を1時間かけて点滴静注する。

L-ASP: day2、5、9、12、16、19、23、26 に 10000U/m²を6時間かけて点滴静注又は筋注する。5%ブドウ糖に溶解する。Day9、12、23、26投与時は投与前にステロイドホルモン、抗ヒスタミン剤を使用する。

IT MTX: day1にMTXを髄注する。1歳8mg、

2歳 10mg、3歳以上 12mg。但しこの治療研究開始前1週間に髄注を施行している患者は省略する。

IT Triple¹: 全例 day15 に MTX、Ara-C、HDC を髄注する。

Ara-C 1歳 20mg、2歳 26mg、3歳以上 30mg

HDC 1歳 6mg、2歳 8mg、3歳以上 10mg

IT Triple²: 研究開始時 CNS 陽性患者のみ day8、15、21 に MTX、Ara-C、HDC を髄注する。用量は上記と同様。

(6) エンドポイント

探索的臨床試験

プライマリーエンドポイント

有害事象（用量制限毒性：dose limiting toxicity、DLT）の発生の有無

セカンダリーエンドポイント

治療反応率（完全寛解と部分寛解の和）

完全寛解率

DLT 以外の有害事象発生率

4か月無イベント生存率

C. 研究結果

治験については JPLSG を中心とした多施設共同試験で行う。治療内容は R3 レジメンを骨格とし、ボルテゾミブの有無によるランダム化試験とするデザインとすることに決定し、治験開始に向けて PMDA と協議している。

探索的臨床試験は多施設共同の臨床試験として、北海道大学、福島県立医科大学、及び神奈川県立こども医療センターにて患者のエントリーを行う。治療レジメンは米国で報告された TACL レジメンに加えて、今後治験で行う予定の UK の R3 レジメンの 2 つのレジメンで行い安全性を評価する。

これまで TACL レジメンに 2 例がエントリーされ予定の治療を終了している。この 2 例に DLT は生じていない。

VCR 及び DOX などの薬剤耐性細胞株を作成し、薬剤非耐性細胞株に比べて NF- κ B が恒常的に活性化されていること、及び薬剤耐性細胞株では MDR1 の蛋白発現を確認した。今後ボルテゾミブ使用例でプロテアソームタンパク遺伝子解析を含む検討を進める予定である。

D. 考察

小児難治性 ALL に対して効果があると考えられ、かつ作用機序の異なる抗腫瘍効果を有するボルテゾミブをデキサメサゾン、ビンクリスチン、アントラサイクリン、L-アスパラギナーゼの 4 剤と併用する治療の安全性と有効性を確認することで、小児難治性 ALL の治療成績向上と新規治療の導入に繋がるものと考えられる。

E. 結論

小児難治性 ALL に対するボルテゾミブの有効性と安全性を確立することで、ボルテゾミブ併用化学療法が本疾患に対する新たな治療戦略となることが期待される。またプロテアソームタンパク遺伝子解析によりボルテゾミブの小児難治性 ALL に対する作用機序が明らかとなることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Kunishima S, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Muramatsu H, Chiba K, Tanaka H, Miyazaki K, Sakai M, Ohtake M, Kobayashi R, Iguchi A, Niimi G, Otsu M, Takahashi Y, Miyano S, Saito H, Kojima S, Ogawa S. ACTN1 mutations cause congenital macrothrombocytopenia. *Am J Hum Genet.* 92:431-8, 2013
- (2) Sarashina T, Yoshida M, Iguchi A, Okubo H, Toriumi N, Suzuki D, Sano H, Kobayashi R. Risk factor analysis of bloodstream infection in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 35:76-80, 2013
- (3) Toriumi N, Kobayashi R, Yoshida M, Iguchi A, Sarashina T, Okubo H, Suzuki D, Sano H, Ogata M, Azuma H. Risk Factors for Human Herpesvirus 6 Reactivation and its Relationship With Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion After Stem Cell Transplantation in Pediatric Patients. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2013, in press

(4) Asai D, Imamura T, Suenobu S, Saito A, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Matsumoto K, Kawasaki H, Hori H, Iguchi A, Kosaka Y, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M; Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS). IKZF1 deletion is associated with a poor outcome in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Cancer Med.* 2:412-9, 2013

(5) Noris P, Favier R, Alessi MC, Geddis AE, Kunishima S, Heller PG, Giordano P, Niederhoffer KY, Bussel JB, Podda GM, Vianelli N, Kersseboom R, Pecci A, Gnan C, Marconi C, Auvrignon A, Cohen W, Yu JC, Iguchi A, Miller Imahiyerobo A, Boehlen F, Ghalloussi D, De Rocco D, Magini P, Civaschi E, Biino G, Seri M, Savoia A, Balduini CL. ANKRD26-related thrombocytopenia and myeloid malignancies. *Blood.* 122:1987-9, 2013

(6) Shimizu Y, Tha KK, Iguchi A, Cho Y, Yoshida A, Fujima N, Tsukahara A, Shirato H, Terae S. Isolated posterior fossa involvement in posterior reversible encephalopathy syndrome. *Neuroradiol J.* 26:514-9, 2013

2. 学会発表

(1) Iguchi A, Sugiyama M, Terashita Y, Ohshima J, Sato T, Cho Y, Ariga T. Neurological complications in stem cell transplantation of childhood.

39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), April, 2013 (London, UK)

(2) Sugiyama M, Terashita Y, Ohshima J, Sato T, Cho Y, Iguchi A, Ariga T. Sterilization of catheters using povidone-iodine decreases the incidence of catheter-associated bloodstream infection.

55th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition, December, 2013 (New Orleans, USA)

(3) Ohshima J, Sugiyama M, Terashita Y, Sato T, Cho Y, Iguchi A, Ariga T. Clinical presentation and complication of children with hyperleukocytosis at onset of acute leukemia. 第75回日本血液学会学術集会, 2013年10月、札幌

(4) 佐藤篤、井口晶裕、出口隆生、橋井佳子、松本公一、河崎裕英、斎藤明子、遠藤幹也、堀浩樹、原純一、八木啓子、堀部敬三、小田慈
JACLS ALL02 プロトコール治療における再発症例の検討。

第55回日本小児血液・がん学会学術集会、2013年11月、福岡

(5) 仁平寛子、杉山未奈子、寺下友佳代、大島淳二郎、佐藤智信、長祐子、井口晶裕、有賀正、高桑恵美、松野吉宏。

左上腕部腫瘍で発症した芽球性形質細胞様樹状細胞腫瘍(BPDCN)の3歳女児例。

第55回日本小児血液・がん学会学術集会、2013年11月、福岡

(6) 望月慎史、小川千登世、佐野秀樹、木下明俊、篠田邦大、宮下恵実子、今村俊彦、吉岡宏樹、井口晶裕、吉田咲子、西川拓朗、西真範、豊田秀実、熊本忠史、中村和洋、西内律雄、菊田敦、後藤裕明、足立壮一、水谷修紀。

本邦におけるボルテゾミブ併用化学療法を行った小児再発難治性急性リンパ性白血病24例の後方視的検討。

第55回日本小児血液・がん学会学術集会、2013年11月、福岡

(7) 井口晶裕、杉山未奈子、寺下友佳代、大島淳二郎、佐藤智信、長祐子、植木将弘、山崎康博、竹崎俊一郎、山田雅文、小林一郎、小林良二、有賀正。
原発性免疫不全症候群に対する造血幹細胞移植の臨床的検討

第36回日本造血細胞移植学会総会、2014年3月、沖縄

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

なし

研究事業 4. 常染色体優性多発性嚢胞腎（ADPKD）患者の肝嚢胞に対する球状塞栓物質による治療法開発

研究分担者 西尾 妙織 北海道大学病院 内科Ⅱ 助教

研究要旨

多発性肝嚢胞は、嚢胞が肝に多数生じる病気で、嚢胞そのものは良性病変だが、特に常染色体優性多発嚢胞腎（ADPKD: Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease）に併発した場合には、時間が経つにつれ嚢胞は徐々に大きくなり、腹部膨満を生じる。進行すると腫大した肝により消化管（胃、腸）が圧迫され、食物の通過障害を生じ、さらに進行すると体動制限によるADL低下、肺や心臓の圧迫による呼吸障害を生じる。現在金属コイルを用いた肝動脈の塞栓術の報告があるが、再発も多く、長期的な治療効果の持続を得るため球状塞栓物質（Trisacryl gelatin microspheres（Embosphere™））を用いた試験を行った。

A. 研究目的

本試験は、巨大肝嚢胞を有する常染色体優性多発性嚢胞腎患者あるいは多発性肝嚢胞患者に対しての球状塞栓物質を用いたTAE治療の有用性と安全性の検討を行うことを目的としている。

B. 研究方法

以下の適格基準を満たす巨大肝嚢胞を有する患者5例に対して肝動脈にカテーテルを挿入し、Embosphere® Microspheresで塞栓を行い、安全性と治療効果を検討する。

<適格基準>

- 1) 20歳以上である。
- 2) Computed Tomography (CT)、Magnetic resonance imaging (MRI)あるいは超音波検査で多嚢胞肝と診断され、これに起因する腹部膨満・圧迫症状、行動障害、摂食障害、呼吸障害、腹痛、背部痛などのいずれかの自覚症状がある。
- 3) Child-Pugh scoreが6点以下である。
- 4) 主要臓器（骨髄、心など）機能が保持されている。
- 5) 一般状態（Performance Status (ECOG)）が0、1、2の症例。

（倫理面への配慮）

本試験に関与するすべての者は世界医師会「ヘルシンキ宣言」及び「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

本年度は予定の5例すべての症例で塞栓治療を終了し、4名に関しては1年間の観察期間も終了した。現在解析できている6ヶ月までの結果について報告する。

<主要評価項目>

安全性の評価を行った結果、すべての症例においてTAE施行直後から次の日に疼痛、発熱、CRP上昇などの有害事象が起こったが、いずれも通常の塞栓治療の後に発生する塞栓後症候群の範囲内であり、それ以外の重篤な有害事象は発生しなかった。すべての症例がTAE後2週間前後で退院しており、それ以降の有害事象はなかった。

<副次評価項目の評価>

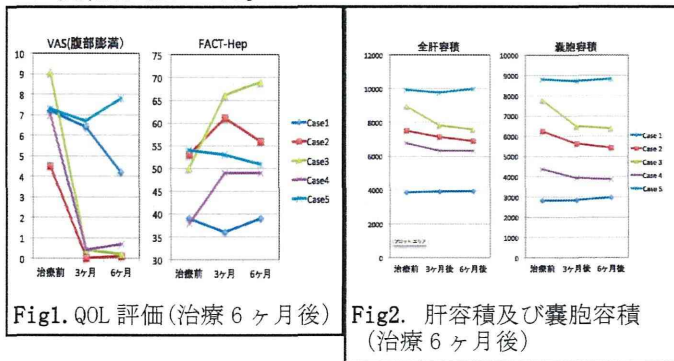
QOLの改善に関してはVAS (Visual Analog Scale)を用い、腹部膨満、疼痛、摂食障害について評価を行った。腹部膨満の治療前中央値は7.2cm(4.5-9.1cm)であり、治療後6ヶ月後には0.7cm(0.1-7.8cm)に改善した (Fig.1左)。同様に摂食障害は治療前中央値3.6cm(0.2-6.8cm)から0.8cm(0-7.8cm)に、疼痛は治療前中央値3cm(0.6-7.8cm)から0.8cm(0-7.6cm)に改善した。更に今回身体的・社会的・感情的・機能的満足度を評

価する FANLTC と肝臓特異的 QOL を評価する FACT-Hep を用いて評価したところ FANLTC は治療前中央値 58 (50-82) から治療 6 ヶ月後に 69 (50-81)、FACT-Hep 治療前中央値 50 (38-54) から 51 (39-69) (Fig. 1 右) に改善している。

肝容積に関しては治療前の肝容積中央値は 7518cm³ (3874-9915cm³)、嚢胞容積中央値は 6250cm³ (2817-8801cm³) であったものが治療 6 ヶ月後には肝容積が 6908cm³ (3940-9982cm³)、嚢胞容積が 5438cm³ (2985-8826cm³) と縮小していた (Fig. 2)。

技術的成功度は 100% であった。

肝機能、血小板数は治療前と治療 6 ヶ月後では特に変化はなかった。



D. 考察

今回の自主臨床試験にて Embosphere® Microspheres の多発性肝嚢胞の治療における安全性は示された。5 例中 3 例については著明に効果を認めたが、2 例について有効性が乏しかった事に関しては、今回の試験では安全性が確認できていなかったために右肝動脈、あるいは左肝動脈のみを塞栓するというように治療方法を限定したために、反対側の肝嚢胞が大きい症例に関しては効果が薄かった可能性が示唆される。また、5 例目に関しては過去に金属コイルにて塞栓治療を受けた既往があり、肝動脈以外の副側血行路が嚢胞を栄養しているために効果がでなかった可能性も考えられる。今回効果があまり認められなかった 2 例に関しては、今後追加治療を行い、最初の塞栓後の血行がどうなっているかを確認するとともに反対側の肝動脈の塞栓もを行い、安全性と有効性を確認する予定である。

E. 結論

多発性肝嚢胞患者の肝嚢胞に対する球状塞栓物質を用いた肝動脈塞栓術治療は安全でかつ有効である

可能性が示唆される。今後他施設共同の医師主導治療を計画しており、今後 Embosphere® の適応追加を目指す予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Successful delivery in a patient with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis. Oshima M, Kitajima S, Toyama T, Hara A, Kitagawa K, Iwata Y, Shimizu M, Nishio S, Imura J, Yokoyama H, Furuichi K, Kaneko S, Wada T. **Intern Med.** 2013;52(14): 1605-9.

2. 学会発表

1. Daigo Nakazawa, Utano Tomaru, Satoshi Jodo, Saori Nishio, Tatsuya Atsumi, Akihiro Ishizu: Abundant neutrophil extracellular traps (NETs) in thrombus of patient with MPO-ANCA associated vasculitis (MPO-AAV). The Sixteenth International Vasculitis & ANCA Workshop. 2013 年 4 月 14-17 日 Paris, France
2. Daigo Nakazawa, Utano Tomaru, Masaharu Yoshida, Saori Nishio, Haruki Shida, Tatsuya Atsumi, Akihiro Ishizu. Enhanced formation and disordered regulation of neutrophils extracellular traps in patients with MPO-AAV. American Society of Nephrology, Kidney Week 2013. 2013 年 11 月 8 日 Atlanta, USA
3. Tasuku Nakagaki, Saori Nishio, Yasunobu Ishikawa, Sekiya Shibasaki, Akira Nishiyama, Stefan Somlo, Hiroyuki Kobori, Tatsuya Atsumi. Aliskiren Ameliorates Cyst Progression by Suppressing the Intrarenal Renin-Angiotensin System Activity in Autosomal Dominant Polycystic Kidney. American Society of Nephrology, Kidney Week 2013. 2013 年 11 月 8 日 Atlanta, USA
4. Yasunobu Ishikawa, Saori Nishio, Tomotsune