

201409049A

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業
(早期探索的・国際水準臨床研究事業)

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
平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 澤 芳 樹

平成27(2015)年 5月

I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業
(早期探索的・国際水準臨床研究事業)

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
平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 澤 芳 樹

平成27(2015)年 5月

目 次

I. 総括研究報告

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

澤 芳樹・・ 1

II. 分担研究報告

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
玉井 克人・・ 8
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
中神 啓徳・・ 11
(資料) UMIN CTR 臨床試験登録情報
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
澤 芳樹 ・ 吉岡 大輔・・ 14
(資料) UMIN CTR 臨床試験登録情報
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
南野 哲男 ・ 松崎 高志・・ 16
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
澤 芳樹 ・ 宮川 繁・・ 19
(資料) ①大阪大学プレスリリース (研究成果：重症心不全患者対象の医師主導治験を
2015年6月に開始 ～ 新たな心血管・心筋再生療法として期待 ～)
②新聞記事切抜 (2015/01/30 日本経済新聞夕刊、産経新聞夕刊、
01/31朝日新聞、読売新聞、毎日新聞朝刊)
6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発
澤 芳樹・宮川 繁・・ 23
(資料) UMIN CTR 臨床試験登録情報
7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発
齋藤 洋一・・ 26
8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する
骨格筋筋芽細胞シート移植治療
澤 芳樹・宮川 繁・平 将生・・ 29
(資料) UMIN CTR 臨床試験登録情報 (成人)

III. 研究成果の刊行物・別刷

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]

大阪大学では、早期・探索的臨床試験拠点整備事業において、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 8 件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エ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
7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発
8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療

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向けた一層の加速並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・ 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・ 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
宮川 繁	大阪大学大学院医学系研究科・ 特任准教授（常勤）
南野 哲男	大阪大学大学院医学系研究科・ 准教授
平田 雅之	大阪大学大学院医学系研究科・ 特任准教授（常勤）
前田 和久	大阪大学大学院医学系研究科・ 寄附講座准教授
大藪 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
齋藤 洋一	大阪大学大学院医学系研究科・ 特任教授（常勤）
森下 竜一	大阪大学大学院医学系研究科・ 寄附講座教授

齋藤 充弘	大阪大学大学院医学系研究科・ 特任准教授（常勤）
Yao Xiang Jing	大阪大学医学部附属病院・特任教授 （常勤）
彦惣 俊吾	大阪大学大学院医学系研究科・ 寄附講座准教授

A. 研究目的

大阪大学では早期・探索的臨床試験拠点整備事業において、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8件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。我々は、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

重症虚血性心筋症 (ICM) の5年生存率は60%であり、重症拡張型心筋症 (DCM) の1年死亡率は75%である。これらの根本治療は心臓移植であるが、我が国におけるドナーの絶対的不足状態は変わらない。また心臓移植適応患者には、待機的治療として補助人工心臓 (LVAD) が施行されるが、合併症 (脳梗塞、感染症等) の危険性も高い。生命予後改善、心臓移植及びLVAD装着の回避・遅延、及びLVAD離脱を目指した心臓再生医療の開発は喫緊の課題である。

我々は、LVAD施行、心臓移植、および細胞療法に代わって治療効果が高く、細胞培養を不要とする再生創薬により汎用性、経済性および緊急使用可能な心血管・心筋再生療法剤を開発し、医師主導治験を行う。最終的には薬事承認を受け、新しい心不全治療剤として臨床の現場で汎用され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病態の進行を抑制およびQOLの向上を図る。

7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発

難治性神経障害性疼痛に対し、非侵襲で除痛効果が得られる在宅治療用反復経頭蓋磁気刺激 (rTMS) 装置の実用化、及び実用化の前段階として、当該治療法の有効性及び安全性を検証するための医師主導治験を実施する

8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療

難治性の拡張型心筋症の治療において、補助人工心臓から心臓移植への橋渡しのみでは限界がある。この限界を克服するために、自己由来筋芽細胞シート移植術の臨床応用の研究を継続し、医師主導治験を実施する。最終的には薬事承認の後、保険医療化することを目的とする。

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

HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞遊走活性ドメインペプチドの非臨床安全性試験を実施し、ラットおよびサルにおいて HMGB1 ペプチドの安全性を確認した。また、医師主導治験に用いる GMP ペプチド製造が可能であること、医師主導治験用輸入手続きの確認を進めた。HMGB1 ペプチドの安全性、忍容性を確認する目的の医師主導治験第 I 相試験を実施するために必要な第 I 相試験実施計画書、治験薬概要書、同意説明文書を作成し、PMDA 対面助言を実施した。

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

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。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) を順次進めた。また、治験薬 GMP での原薬合成・製剤化を進め、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/IIa 試験を計画している。

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レーシス治療の確立

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、症例が増えつつある LVAD 装着者のみに対象をしぼ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

我々は重症心筋症患者 (ICM 及び DCM) に対して、自己筋芽細胞シート移植を行ってきたが、本作用は

細胞分泌される多様な体内再生因子が血管新生効果等を増強していることを確認している。ONO-1301MS は、線維芽細胞等に作用して多様な体内再生因子を持続的に分泌し、細胞療法と同じ役割を果たす点 (特許)、及び徐放性製剤の開発 (特許) において独創的である。

ONO-1301MS 剤を生体分解性シートに吸収させ、心臓に貼付投与することにより、マウス、イヌ、ミニブタ虚血性心筋症モデルに有効であることを確認している。同様の投与法にて、自然発症拡張型心筋症 (J2N-k) ハムスター、及びイヌ高速ペーシング (拡張型心筋症) モデルでの有効性も確認している。

また、PMDA との医薬戦略相談により、FIH 医師主導治験開始に必要な非臨床試験項目と内容を確認し、GLP 追加試験を実施した。

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実施する。

7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発

患者もしくは介助者が簡便に磁気刺激用コイルを装着可能であり、治療部位である一次運動野を刺激できるシステムを開発する。開発した機器を用いて、医師主導治験として rTMS を 5 日連続施行し、視覚的評価スケール (VAS) 低下量〔(介入後 VAS 平均値) - (介入前 VAS 値)〕による有効性評価と有害事象の有無を確認する。

8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療

これまで実施してきた臨床試験に引き続き、拡張型心筋症、虚血性心筋症に対する筋芽細胞シートの臨床研究 (prospective matched controlled study) を立案、実施した。小児拡張型心筋症患者 1 例に対して、本治療法を実施し、安全性を確認した。成人、小児ともに、保険適応化をめざし、医師主導治験の為の準備を行い、PMDA との対面助言、治験文書の作成、CRO との治験業務契約締結を行っている。成人は、

IRBでの承認の後、治験届を提出した。小児患者に対する医師主導治験は、追加の非臨床安全性試験を実施し、平成27年度のIRB申請並びに治験の実施を計画している。小児患者に対する筋芽細胞シート移植の有効性を、幼若動物を用いた非臨床試験を実施し証明した。

(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26年度は、HMGB1ペプチドを用いた医師主導治験 phase I 開始に必要な非臨床試験を実施し、ラットおよびサルでの安全性試験を実施した。その結果、血液、生化学、病理学的に、安全性が確認された。但しサルおよびラットに対して高濃度 HMGB1 ペプチド (12mg/kg 以上の濃度) を急速静注した場合、一過性に血中ヒスタミン濃度が上昇し、血圧低下をきたす可能性が示された。しかし、12mg/kg であっても点滴静注 (30分かけて緩徐に静注) ではヒスタミン上昇、血圧低下は全く生じないことも併せて確認され、医師主導治験の投与条件 (0.15~5.0 mg/kg、30分かけた点滴静注) ではこの点でも安全であることが確認された。これらの情報を受けて、平成27年2月23日にPMDAの対面助言を受け、医師主導治験第I相試験実施に必要な実施計画書、治験薬概要書、患者動員説明文書の改訂を行った。

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の安全性薬理試験 (心血管系) では行動観察ないし一般状態観察において、全ての用量でSR-0379の影響は認められなかった。治験薬製造に関しては、治験薬 GMP でのペプチド合成を行い、製剤化を行った。日本人健康成人男性20例を対象とし、SR-0379液 (0% (生理食塩水)、0.02%、0.1%、0.25%、

0.5%) の皮膚刺激性及び安全性をパッチテスト (48時間 closed patch test) により検討したが、特に異常を認めなかった。

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レーシス治療の確立

平成25年度に学内の「治験外臨床研究医学系研究科医学倫理委員会」にて承認され、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症例にアフエレーシスを実施し、平成26年度に臨床研究を終了した。医療機器と因果関係がある重篤な有害事象は認めず、安全にアフエレーシス治療を施行できた。

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

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。PMDA 事前面談相談を反映し、GMP リポソーム製剤の品質管理を行い、非臨床試験を終了した。さらに、臨床試験に関するPMDA相談も終了し、平成27年度、ファースト・イン・ヒューマン試験を開始予定である。

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

実施した各種モデル動物での有効性薬理試験結果、及び追加非臨床毒性試験結果等を用いて、治験概要書、治験実施計画書、患者同意説明文書を作成し、PMDA医薬戦略相談を実施した。また、治験実施に必要なGMP治験薬の製造を行い、各種特性試験 (安定性等) を実施している。

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1

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。助言に従い書類の準備と治験実施体制の整備を進め、平成25年度にIRBの承認を受けて治験届を提出し、医師主導治験を開始した。

7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発

①臨床開発

治験プロトコール確定に向け、平成26年6月4日にPMDA 対面助言を行った。この際得られたPMDAの助言内容を踏まえ、プロトコールの見直しを実施し、平成26年7月8日及び9月16日に行ったフォローアップ面談にて、見直したプロトコールに対して、概ねPMDAの合意を得た。

②機器開発

これまでに策定した治験機器仕様に従い、試作器の設計、及び検証を実施中である。原理試作器の検証に於いて、安全性規格対応、及び耐久性確保に向けた課題が確認されたこと、及びPMDA 対面助言により、盲検性を確保するために、realistic sham化する追加仕様が生じたため、設計変更による追加試作が必要となり、当初計画に対し約1年の遅延を生じたが、その後、各対策を完了した。コイル及び電源の耐久性については、本年度開発目標を達成することを確認済みである。

③要素研究

磁気刺激時の脳内誘導電流強度をシミュレーションする技術を開発中。被験者のMRI画像を用いることにより、被験者固有の脳内誘導電流強度を計算し治療効果との関係を探る。SPFD法によるシミュレーションソフトウェアを開発し、被験者毎の磁気刺激時脳内誘導電流強度値、及び分布を評価可能とした。2014年6月の日本生体医工学学会にて報告した。

④その他

- ・H-Coilによる下肢痛治療の有効性検討は18例終了し、論文を作成中である。
- ・化学療法による末梢性神経障害性疼痛治療の可能性については、倫理委員会承認を受けて患者エントリーを開始した。

8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療

臨床試験においては、平成26年度において、拡張型心筋症6例、虚血性心筋症患者3例、小児拡張型心筋症患者1例に対して、筋芽細胞シート移植術を実施した。すべての移植手術は安全に完遂し、フォローアップ期間中、治療に関連した有害事象は認めない。一部の患者においては、左室のreverse remodelingが認められており、症状や運動耐容能の改善を認められている。筋芽細胞シート移植後の患

者の生命予後は、同一疾患の予測生命予後よりも改善する可能性があることが分かった。シート移植後の心不全入院率の低下などQOLの向上に寄与していることが明らかになった。

幼若動物に対する筋芽細胞シート移植では、成獣動物と比べ、心不全改善効果が認められることが分かった。幼若動物から作成された筋芽細胞シートからは、成獣のものとは比べ、サイトカイン分泌が多く、アポトーシス抑制遺伝子の発現も高率であることが明らかになった。

成人に対する医師主導治験は、平成26年9月IRBでの承認、同年11月に治験届を提出した。小児に対する医師主導治験はPMDAとの対面助言は終了し、平成27年度の治験実施を目指す。

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向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

今回の非臨床安全性試験により、医師主導治験第I相試験で実施するプロトコールの安全性が確認された。治験での投与と比較して高濃度のペプチドを急速静注した場合はヒスタミンを遊離する可能性も示されたため、この結果を踏まえて、実際の投与では血圧をモニターしつつ、十分注意して点滴による緩徐な投与を行うこととした。

今年度の研究により、医師主導治験を開始するために必要な安全性、有効性に関する情報収集を終了したため、次年度(平成28年度)5月に治験届を提出し、承認されれば夏～秋に医師主導治験第I相試験を開始する予定である。

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

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。非臨床試験および製剤化を終了し、健康人でのパッチテストを行ったが特に問題は認めず、今後は患者での試験で有効性の検討を行う。

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レーシス治療の確立

LVADを装着した拡張型心筋症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）」によるアフエレーシス治療の臨床研究を安全に施行することができた。本研究での心筋自己抗体価は殆どが測定感度以下であったため、今後さらにデータの蓄積が必要と考えられた。

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。リポソーム製剤について、安全性試験・毒性試験を実施した。これらの結果を踏まえて、平成27年度にFIH試験を実施予定である。

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

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、再生創薬として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。

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。治験に必要な各種手順書、治験実施計画書、試験薬概要書、患者説明文書等を作成し、IRB承認後治験届を提出し、医師主導治験を開始した。

7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発

臨床開発は、PMDA 対面助言およびフォローアップ面談により、治験プロトコールは概ね PMDA の合意を得た。対象疾患に対して、有効性・安全性を示すことができる治験デザインとすることができたと考えている。次年度に計画している追加対面助言に向けての準備を推進する。

機器開発は、原理試作器で発生した課題により、

当初計画に対して遅延を生じたが、各対策および修正計画は適切であった。見直し計画通り順調に開発を進捗中である。

8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療

本臨床研究の結果と、虚血性心筋症に対する筋芽細胞シート移植に対する企業治験のデータをもとに、平成26年11月に薬事承認申請を行った。拡張型心筋症と、小児拡張型心筋症に対する医師主導治験を実施することで、今後、本治療法の適応拡大が可能になると考えられる。

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ペプチドの非臨床安全性試験を終了し、医師主導治験第1相試験の治験届に必要な書類整備を終了した。

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

非臨床試験および治験薬製造を終了し、健常人を対象とした皮膚刺激性試験を終了している。今後は患者を対象とした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

LVADを装着した拡張型心筋症において選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1（製品名：イムソーバTR）」によるアフエレーシス治療は安全に施行できた。

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

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。安全性試験・毒性試験が終了し、27年度に、医師主導治験の開始予定である。

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

PMDA医薬戦略相談（虚血性心筋症；戦P132、拡張型心筋症；戦P150）にて、治験概要書、治験実施計画書、及び患者同意説明文書の検証を受け、これら

の結果を用いて、治験審査委員会（IRB）を経て、現在虚血性心筋症を対象としたFIH医師主導治験実施の治験届をPMDAに提出（受付番号26-5489）している。平成27年6月から「冠動脈バイパス手術を施行する虚血性心筋症患者に心臓貼付投与し、安全性・忍容性を確認し、引き続き心機能改善効果を検証する並行群間用量漸増試験（P-I/IIa）」を開始予定である。

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年度に医師主導治験を開始し、現在治験を継続中である。

7. 脳卒中後難治性疼痛に対する経頭蓋磁気刺激装置の開発

平成26年度は、①治験プロトコール検討、及び治験実施体制の構築、②治験機器開発、及び安全性検証を行った。治験プロトコール確定に向けては、PMDA対面助言を実施し、助言内容に従ってプロトコール見直しを行った結果、概ね合意を得ている。機器開発に関しては、安全規格対応、及び耐久性に関する課題が抽出されたこと、またPMDA対面助言を踏まえ、盲検性確保を目的として、realistic sham化する追加仕様が生じたことで、当初計画に対し略1年の開発遅延が生じたが、その後は、見直し開発計画に対し順調に進捗している。

8. 重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療、小児重症心筋症に対する骨格筋筋芽細胞シート移植治療

本治療法の薬事承認ならびに保険適応化を目指した開発戦略が、実施計画通りに進行しており、医師主導治験の実施ならびに準備が完了した。

F. 健康危険情報

特になし

Ⅱ. 分担研究報告

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

研究分担者 玉井 克人 大阪大学大学院医学系研究科 寄附講座教授

【研究要旨】

損傷組織が放出する high mobility group box 1 (HMGB1) が、末梢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、我々が見いだ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末梢循環不全性皮膚潰瘍治療薬開発を進めている。平成 26 年度は、平成 25 年度に最適化した HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性ドメインペプチドを用いて非臨床安全性試験を実施し、その成果を基にして医師主導治験第 I 相試験の治験届に必要な書類を整備した。

A. 研究目的

我々は、生体内損傷組織から放出される HMGB1 が骨髄間葉系幹細胞を刺激して血中動員し、損傷部位に集積させて組織再生を誘導していることを世界で初めて明らかにした。この活性を利用して HMGB1 を創薬化することにより、損傷組織に間葉系幹細胞を集積させて、局所の炎症・瘢痕形成を抑制し、さらに間葉系幹細胞の持つ再生誘導効果により機能的組織再生を誘導することが可能になると期待される。

昨年度までに我々は HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性ドメインを同定し、その骨髄間葉系幹細胞血中動員活性をもつ最終候補化合物を決定した。平成 26 年度は、HMGB1 ペプチド医薬最終候補化合物を用いた非臨床安全性試験を実施し、医師主導治験第 I 相試験届提出を可能にするための整備を目的として作業を進めた。

B. 研究方法

HMGB1 ペプチド医薬の最適化作業により選定された候補化合物について、非臨床安全性試験および薬効薬理試験を実施した。具体的には、一般毒性試験、安全性薬理試験、薬物動態・TK 試験、遺伝性毒性試験をサル及びラット（遺伝毒性試験はマウスおよび細菌）を用いて実施した。また、薬効薬理試験としては、栄養障害型表皮水疱症モデルマウス（VII 型コラーゲン低形成モデルマウス）を用いて HMGB1 ペプチド静脈内投与による皮膚基底膜における VII 型コラーゲン発現程度、生存率改善程度をコントロール（生理食塩水投与）と比較検討した。これらの研究成果を基にして、医師主導治験第 I 相試験実施に

必要な書類整備を進め、PMDA 対面助言を実施した。

（倫理面への配慮）

施行した動物実験は、大阪大学の動物実験に関する倫理委員会より承認を得て、その倫理規定に基づいて施行した。

C. 研究結果

1) 非臨床安全性試験：ラットおよびサルを用いて HMGB1 ペプチドの非臨床安全性試験を実施した。一般毒性試験、遺伝性毒性試験において、HMGB1 ペプチドの安全性は確認された。また薬物動態・TK 試験により、HMGB1 ペプチドは投与終了後速やかに血中より消失することが明らかとなった。一方、安全性薬理試験において、高濃度 HMGB1（12mg/kg 以上の用量）を急速静注した場合、一過性の血中ヒスタミン上昇と血圧低下が観察された。しかし、同じ用量であっても緩徐投与（点滴 30 分投与）ではヒスタミン上昇、血圧低下いずれも観察されず、また医師主導治験で予定している低用量（0.15～5mg/kg）では急速静注でもこれらの異常は生じなかった。

2) 非臨床薬効薬理試験：栄養障害型表皮水疱症モデルマウス（VII 型コラーゲン低形成マウス）に対する HMGB1 ペプチド静脈内投与の治療効果を検証した。その結果、HMGB1 ペプチド投与群では、生理食塩水投与群と比較して有意に皮膚基底膜における VII 型コラーゲンの発現量が増加し、生存率の著明改善効果が得られることが明らかとなった。生理食塩水投与群では生後 15 週以内に殆どのマウスが死亡したが、HMGB1 ペプチドでは観察期間である 40 週まで生存率の

延長効果が確認できた。

3) 医師主導治験第 I 相試験申請に必要な書類整備：上記の非臨床安全性試験、非臨床薬効薬理試験結果を基にして、医師主導治験第 I 相試験実施申請に必要な実施計画書、治験薬概要書、被験者同意説明文書を作成し、平成27年2月23日にPMDA対面助言を受けた。平成27年度に第 I 相試験を開始する予定である。

D. 考察

平成26年度の研究により、HMGB1ペプチドの非臨床安全性試験が終了し、医師主導治験第 I 相試験における健常人を対象とした投与用量の安全性に関する妥当性が示された。今回の安全性試験において、サルおよびラットに対する高濃度HMGB1ペプチド (12mg/kg以上の濃度) 急速静注で一過性の血中ヒスタミン上昇と血圧低下が観察されている。これは、バンコマイシンやACTHなどの既存医薬でも認められる現象で、塩基性アミノ酸による肥満細胞の非特異的活性化に基づく現象であり、緩徐な投与 (点滴静注) をすることにより回避されることが明らかとなっている。TK試験において、HMGB1ペプチドは静脈内投与後数分で急速に血中から消失することが示され、ヒスタミン上昇、血圧低下が一過性であることを説明すると思われる。医師主導治験第 I 相試験における投与法は、単回投与試験を1群8名で用量0.15mg/kgから開始し、血圧をモニターしながら点滴投与により緩徐に投与する。最大用量5.0mg/kg用量まで漸増し (0.15、0.5、1.5、5.0 mg/kgの4群)、問題が無ければ治療用量 (1.5~3.0mg/kgを推定) で連続投与試験を実施し、安全性および忍容性を評価する予定である。既に医師主導臨床試験第 I 相試験実施計画書、治験薬概要書、被験者同意説明文書の作成を終了し、PMDA対面助言を受けて、平成27年5月のIRB申請、治験届提出を予定しており、平成27年度内に第 I 相試験を開始する予定である。

E. 結論

骨髓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ール内容を確定した。

F 研究発表

論文発表

1. Inuma S, Aikawa E, Tamai K, Fujita R, Kikuchi Y, Chino T, Kikuta J, McGrath J, Ishii M, Iizuka H, Kaneda Y. Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR α ⁺ cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft. *J Immunol*, 194(4):1996-2003, 2015
2. Fujita R, Tamai K, Aikawa E, Kikuchi Y, Kaneda Y. Endogenous mesenchymal stromal cells in bone marrow are required to preserve muscle function in mdx mice. *Stem Cells*, 33(3):962-75, 2015

学会発表

1. Katsuto Tamai Update on EB Clinical Trial: (Mini-Symposium) on Epidermolysis Bullosa, Sponsored by DEBRA America, Albuquerque Convention Center, May 7th, 2014, Albuquerque, USA
2. 玉井克人 表皮水疱症の患者さんから学んだ皮膚ところこの再生メカニズム：皮膚は地球を救う。日本創傷・オストミー・失禁管理学会、2014年5月16日、大宮
3. 玉井克人 表皮水疱症 update:基礎と臨床、教育講演 1：皮膚難病への挑戦～厚労省皮膚難病研究班からの報告を含めて、第113回日本皮膚科学会総会・学術大会 2014年5月30日、京都
4. 玉井克人 骨髓間葉系幹細胞を利用した表皮水疱症治療 第14回日本再生医療学会総会 2015年3月21日、横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許出願 無し

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
Iinuma S, Aikawa E, <u>Tamai K</u> , Fujita R, Kikuchi Y, Chino T, Kikuta J, McGrath J, Ishii M, Iizuka H, Kaneda Y.	Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR α ⁺ cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft.	J Immunol	194(4)	1996-2003	2015
Fujita R, <u>Tamai K</u> , Aikawa E, Kikuchi Y, Kaneda Y	Endogenous mesenchymal stromal cells in bone marrow are required to preserve muscle function in mdx mice.	Stem Cells	33(3)	962-75	2015

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。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）、サルでの安全性薬理試験（心血管系）を行った。治験薬 GMP での製剤化を行い、健常人を対象とした皮膚刺激性試験（フェーズ I）を行ったが、特に異常は認めなかった。

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

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。

B. 研究方法

SR-0379 の非臨床試験としてサルを用いた安全性薬理試験（心血管系）を行った。治験薬 GMP での原薬合成および製剤化を行った。同時に 3 ヶ月間、6 ヶ月の保存安定性試験を行った。臨床試験に向けた書類整備（手順書・治験薬概要書・実施計画書・症例報告書・患者説明文書）を進め、治験審査評価委員での承認、PMDA への治験届提出後に健常人 20 名に対するパッチテストを行った。

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。

（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

C. 研究結果

安全性薬理試験では、雄 4 例のカニクイザルに生理食塩液に溶解した SR-0379 を 1、3 及び 10 mg/kg の投与量で皮下投与し、無麻酔、非拘束下で血圧（収縮期、拡張期及び平均血圧）、心拍数及び心電図をテレメトリー法で評価した。血圧、心拍数及び心電図パラメータにおいて、全ての用量で SR-0379 投与の影響は認められなかった。行動観察ないし一般状態観察において、全ての用量で SR-0379 の影響は認められなかった。以上の結果か

ら、SR-0379 は 10 mg/kg 以下の投与量で心血管系に対する影響はないと考えられた。

CMC に関しては、治験薬製造に向けた書類整備を進めた上で American Peptide Company で治験薬 GMP でのペプチド合成を開始し、出荷試験を行った後にナガセ医薬品(株)で製剤化を行った。皮膚刺激性試験に用いるために、出荷試験・判定を行い信濃坂クリニックへ搬送した。並行して、治験薬の 5 度および室温での 3 ヶ月および 6 ヶ月間の保存安定性を確認した。

日本人健康成人男性 20 例を対象とし、SR-0379 液(0% (生理食塩水)、0.02%、0.1%、0.25%、0.5%)の皮膚刺激性及び安全性をパッチテスト (48 時間 closed patch test) により検討したが、特に異常を認めなかった。

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。非臨床試験および製剤化を終了し、健康人でのパッチテストを行ったが特に問題は認めておらず、今後は患者での試験で有効性の検討を行う。

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

Tomioka H, Nakagami H, Sano T, Takafuji K, Takashima S, Kaneda Y, and Morishita R, Development of LC-MS/MS quantification of the novel antimicrobial peptide, SR-0379, and its pharmacokinetics in rats. *Immun, Endoc. & Metab. Agents in Med.* 2014;14:26-31

2. 学会発表

Hironori Nakagami 「A Novel Anti-microbial Peptide, SR-0379, Accelerated Wound Healing; Toward Clinical Application」 The 18th International Vascular Biology Meeting, 2014.4.14, 京都

<シンポジウム>

中神啓徳「新規抗菌性ペプチドの同定・改良による難治性皮膚潰瘍外用薬の開発」第11回DIA日本年会、2014.11.17、東京<シンポジウム>

中神啓徳「新規機能性ペプチドの発見から臨床開発に向けて」メディカルジャパン 2015 大阪、2015.2.4、大阪<口演>

中神啓徳「皮膚潰瘍治療薬の開発研究への道程」第2回ヤング・サイエンティスト・シンポジウム、2015.1.24、東京<口演>

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メディア (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> Sano T, Takafuji K, Takashima S, Kaneda Y, and Morishita R,	Development of LC-MS/MS quantification of the novel antimicrobial peptide, SR-0379, and its pharmacokinetics in rats.	<i>Immun, Endoc. & Metab. Agents i n Med.</i>	14 No.1	26-31	2014

UMIN UMIN CTR 臨床試験登録情報の閲覧

BACK TOP UMIN-CTRホーム 用語の説明(簡易版) 用語の説明(詳細版)--準備中 FAQ

試験進捗状況 : 試験終了/Completed
 UMIN試験ID : UMIN000015391
 試験名 : SR-0379液の皮膚刺激性試験(第I相臨床試験) —パッチテストによる皮膚安全性の検討—
 登録日(=情報公開日) : 2014/10/21
 最終データ内容更新日時 : 2015/01/26 08:15:06

※ 本ページ掲載の情報は、臨床試験に関する情報公開を目的として、UMINが開設しているUMIN臨床試験登録システムに提供された臨床試験情報です。
 ※ 特定の医薬品や治療法等については、医療関係者や一般の方に向けて広告することは目的としていません。

基本情報(Basic information)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
試験名 (Official scientific title of the study)	SR-0379液の皮膚刺激性試験(第I相臨床試験) —パッチテストによる皮膚安全性の検討—	Skin irritation study using SR-0379 (Patch test)
試験簡略名 (Title of the study (Brief title))	SR-0379液のパッチテスト	Patch test using SR-0379
試験実施地域 (Region)	日本/Japan	

対象疾患(Condition)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
対象疾患名 (Condition)	健康成人男性	Healthy men
疾患区分1 (Classification by specialty)	老年内科学/Geriatrics 皮膚科学/Dermatology	
疾患区分2 (Classification by malignancy)	悪性腫瘍以外/Others	
ゲノム情報の取扱い (Genomic information)	いいえ/NO	

目的(Objectives)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
目的1 (Narrative objectives1)	日本人健康成人男性を対象とし、SR-0379液(0%(生理食塩水)、0.02、0.1、0.25、0.5%)の皮膚刺激性及び安全性を、パッチテスト(48時間閉鎖パッチテスト)により検討する。	Patch test (skin irritation test) is planning to examine the safety of SR-0379 (0, 0.02, 0.1, 0.25, 0.5%) in healthy men.
目的2 (Basic objectives2)	安全性/Safety	
目的2-その他詳細 (Basic objectives -Others)		
試験の性質1 (Trial characteristics 1)		
試験の性質2 (Trial characteristics 2)		
試験のフェーズ (Developmental phase)		

評価 (Assessment)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
主要アウトカム評価項目 (Primary outcomes)	皮膚刺激性の評価皮膚刺激指数 試験薬塗布開始前(塗布前判定)並びに48時間塗布した後に試験薬を除去し、試験薬除去後1時間(48時間判定)及び試験薬除去後24時間(72時間判定)について、本邦基準に従い、各被験者の皮膚反応の評点を求める。	Evaluation by skin irritation score at pre-treatment, 1 or 24 hours after treatment (48 hour closed patch test)
副次アウトカム評価項目 (Key secondary outcomes)		

基本事項 (Base)		
-------------	--	--

項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
<u>試験の種類</u> (Study type)	介入/Interventional	

試験デザイン (Study design)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
<u>基本デザイン</u> (Basic design)	単群/Single arm	
<u>ランダム化</u> (Randomization)	非ランダム化/Non-randomized	
<u>ランダム化の単位</u> (Randomization unit)		
<u>ブラインド化</u> (Blinding)	介入実施者・測定者がブラインド化されている単盲検/Single blind -investigator(s) and assessor(s) are blinded	
<u>コントロール</u> (Control)	用量対照/Dose comparison	
<u>層別化</u> (Stratification)		
<u>動的割付</u> (Dynamic allocation)		
<u>試験実施施設の考慮</u> (Institution consideration)		
<u>ブロック化</u> (Blocking)		
<u>割付コードを知る方法</u> (Concealment)		

介入 (Intervention)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
<u>群数</u> (No. of arms)	1	
<u>介入の目的</u> (Purpose of intervention)	治療・ケア/Treatment	
<u>介入の種類</u> (Type of intervention)	医薬品/Medicine	
<u>介入1</u> (Interventions/Control 1)	Finn chamber on Scanpor付属の濾紙を白色ワセリンでchamber上に固定し、その上にSR-0379液(0%(生理食塩水)、0.02、0.1、0.25、0.5%)それぞれを15μLずつ滴下し、これを背部傍脊椎の左の外見上正常な場所にScanpor tapeを用いて48時間塗布する。また、Scanpor tape塗布後、テストユニットを絆創膏で補強する。塗布後48時間に除去、軽く清拭する(皮膚所見判定医師以外が行う)。治験薬塗布開始前、治験薬除去後1時間、24時間にはパッチテスト判定をする。	Fifteen microL of SR-0379 (0, 0.02, 0.1, 0.25, 0.5%) is used for 48 hours closed patch test.
<u>介入2</u> (Interventions/Control 2)		
<u>介入3</u> (Interventions/Control 3)		
<u>介入4</u> (Interventions/Control 4)		
<u>介入5</u> (Interventions/Control 5)		
<u>介入6</u> (Interventions/Control 6)		
<u>介入7</u> (Interventions/Control 7)		
<u>介入8</u> (Interventions/Control 8)		
<u>介入9</u> (Interventions/Control 9)		
<u>介入10</u> (Interventions/Control 10)		

適格性 (Eligibility)		
項目(Item)	日本語(Japanese)	英語(English)
<u>年齢(下限)</u> (Age-lower limit)	20歳/years-old 以上/<=	
<u>年齢(上限)</u> (Age-upper limit)	40歳/years-old 以下/>=	
<u>性別</u> (Gender)	男/Male	