

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業))
肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発
総括研究報告書

肝細胞増殖因子による筋萎縮性側索硬化症の新規治療法開発

研究代表者： 青木 正志 東北大学神経内科 教授

有効な治療法のない筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、運動ニューロン変性により全身の筋萎縮が進行し呼吸筋麻痺から死に至る難治性疾患の代表である。世界的に ALS の新規治療法開発が切望されて久しいが、国内外で認可された唯一の既存薬リルゾールは筋力改善効果がなく、生存期間延長効果も不十分である。研究代表者らは世界に先駆けて髄腔内投与が可能な ALS 動物モデル (ALS ラット) の開発に成功した。一方、肝細胞増殖因子 (HGF) は本邦発の強力な運動ニューロン保護因子である。ALS ラットに対するヒト組換え HGF 蛋白質の髄腔内持続投与は明確な治療効果をもつことが病理学的にも確認されており、ALS 発症期からの投与であっても約 63% の罹病期間延長効果と、ALS モデル動物に対する治療実験の中でも最も良い成績である。

本研究グループはヒト組換え HGF に関する特許や製造ノウハウを確保し、世界に先駆けて ALS 患者を対象とする HGF 第 I 相臨床試験を実施し、安全性と薬物動態試験を終了した (平成 24 ~ 26 年度) 。本研究は第 I 相臨床試験終了後、速やかに第 II 相臨床試験を開始できるよう、治験申請に必要な非臨床安全性試験 (慢性毒性試験等) 、HGF 蛋白質の原薬・治験薬製造、原薬の CMC 試験 (規格・分析試験等) を実施し、投与デバイス改良、プロトコル開発、そして医師主導治験実施体制整備を行うために計画された。本研究期間中に上記試験をすべて終了し、第 I 相臨床試験結果をふまえた第 II 相臨床試験プロトコルを策定、改良デバイスプロトタイプを完成し、第 II 相試験実施要件を整備できた。今後、ALS に対する HGF 髄腔内投与の有効性を確認し、我が国発の新規 ALS 治療法確立をめざす。

研究分担者

安達喜一 (クリングルファーマ株式会社・事業開発部)
浅田隆太 (名古屋医療センター臨床研究センター・臨床研究事業部研究開発推進室)

共同研究者

加藤昌昭 (東北大学神経内科)
割田 仁 (東北大学神経内科)
黒田 宙 (東北大学神経内科)
豎山真規 (東北大学神経内科)
阿部哲士、福田一弘、井上逸男 (クリングルファーマ株式会社)

A. 研究目的

本研究は、神経難病の象徴的疾患である ALS に対して、わが国発の HGF を用いた治療法開発を推進することを目的とする。本 ALS 治療研究は、1993 年に *SOD1* 遺伝子が家族性 ALS の原因遺伝子として北米で発見され、日本からも申請者の青木が中心となり新たな *SOD1* 遺伝子変異を報告した時に始まっている (Nature Genet, 1993) 。これまで ALS 病態に関する仮説が多く提唱されてきた中で、*SOD1* 異常は最も確実な病因の一つである。研究代表者らは変異 *SOD1* 導入 ALS ラットを世界に先駆けて完成し、薬剤が ALS 病変に効率良く到達できる髄腔内投与法を初めて ALS モデル動物で可能にした (J Neurosci, 2001) 。この ALS

ラットを用いHGF蛋白を髄腔内持続投与する治療法開発を行った結果、明瞭な治療効果を示した(J Neuropathol Exp Neurol, 2007)。発症期からの投与であっても約63%の罹病期間の延長効果があり、国内外で報告された中で最も良い成績である。このようにALSに対する有効性が期待でき、かつわが国で発見された強力な神経栄養因子HGFは、わが国での創薬が強く求められている。

本研究代表者らは、このHGF髄腔内持続投与によるALS治療法開発を念頭に、霊長類(サル)を用いて臨床用量の設定と安全性試験を実施、髄腔内投与に用いる医療器具と薬物動態の検査施設を選定、治験薬製造、そして第I相臨床試験のプロトコル作成と前臨床試験を着実に進めてきた。これらの研究成果をもってヒトにおける安全性と薬物動態を検証する第I相臨床試験(治験)が、平成23年東北大学病院で承認、開始された。

本研究では第I相臨床試験の結果をふまえ、ヒト組換えHGF蛋白の髄腔内投与によるALS治療法開発を第II相臨床試験へと進めるため、必須となる非臨床安全性試験、原薬・治験薬製造、原薬のCMC試験(規格・分析試験等)、投与デバイス改良、そして第II相臨床試験プロトコル開発と医師主導治験体制整備を行う。以上の研究を通して、第II相臨床試験(医師主導治験)実施に必要な要件を整備する。

B. 研究方法

第I相臨床試験より得られる臨床データをふまえつつ、以下の開発研究を実施する。すなわち、ALS患者における有効性を確認する第II相臨床試験開始に必須の、非臨床安全性試験、原薬・治験薬製造、原薬のCMC試験、投与デバイス改良、プロトコル作成を実施する。これらによりALSに対するHGFによる新規治療法開

発をさらに推進する。

非臨床安全性試験(担当:青木、安達) : 第II相臨床試験では、組換えHGF蛋白質を長期間髄腔内に投与することを予定している。そこで、カニクイザルを用いた最長6ヶ月の慢性毒性試験を行い、第II相臨床試験を開始する前に長期投与の安全性を十分に確認しておく。研究期間を通じて分析用試薬の調製、予備試験、GLP基準の本試験を行う。これには、組換えHGFに対する抗体産生を確認するために必要となるピオチン化HGFの調整や安定化試験を含む。

また、生殖能や次世代の発生に関する安全性を評価するための生殖毒性試験を実施する(ラットおよびウサギを用いた予備試験および本試験)。これにはラットおよびウサギの血漿中HGFおよび抗HGF抗体のELISA測定法、胎児試験(セグメント2)を含む。

さらに、ALSの唯一の既存薬であるリルゾールとの薬物相互作用試験を行う。また、第II相試験においてより安全な臨床用量を設定するために、カニクイザルを用いた血圧評価試験を追加で行う。

原薬・治験薬製造(担当:安達) : カニクイザルによる慢性毒性試験(予備試験およびGLP本試験)を実施する。

原薬・治験薬関連試験(担当:安達) : HGF原薬の規格、分析試験として、宿主由来蛋白試験(HGF蛋白質を発現させるCHO細胞由来の蛋白質を測定する試験)、逆相クロマト試験(逆相クロマトグラムを調べる試験)、CDスペクトル分析試験(HGF蛋白質の立体構造を調べる試験)、ペプチドマップ試験(ペプチドマップで検出される各ピークの帰属を調べる試験)をおこなう。また、第II相臨床試験の治験薬製造の前に、治験薬の効力(生物活性)測定のためのバイオアッセイに使用するウ

シ胎児血清を評価する。

投与デバイス改良(担当:青木、安達)
: 脊髄腔内投与用デバイス(留置カテーテルと皮下埋め込みポート)の承認申請を目的に改良研究を実施する。

第II相臨床試験プロトコル開発(担当:青木、浅田、安達): 第II相臨床試験のプロトコル開発に着手し、併せてモニタリング・監査・データマネジメントの体制整備を実施する。

(倫理面への配慮)

本研究において、動物を用いた実験はすべて研究委託施設である(株)新日本科学の動物実験倫理規定に基づいて施行し、また利用動物数を極力減らすように努め、動物愛護面に十分配慮した(新日本科学はAAALAC International(国際実験動物管理公認協会)の完全認証取得施設である)。また組換えDNA実験はすべて実施施設の組換えDNA実験安全管理規定に基づいて施行された。本研究で実施する慢性毒性試験は、「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」(H9.3.26 厚生省令第114号)(GLP省令)に従い行う。また、本研究でのHGF原薬製造は、「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令」(H16.12.24 厚生省令第179号)(GMP省令)に従い行う。

本研究で実施する治験は「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(H9.3.27 厚生省令第28号)(GCP省令)に従い行う。第II相試験は医師主導治験として実施する予定であり、第II相試験を実施する際には、東北大学病院の治験審査委員会(IRB)での審査を行い、承認を得る(平成27年度を予定)。その際、プロトコルの他に、治験薬概要書、被験者への同意説明文書案なども添付して審査を受ける。その承認後に薬事法第80条の2第2項及び第80条の3第4項に従い、治験計画届を

医薬品医療機器総合機構(PMDA)に提出する(平成27年度を予定)。治験中に、治験薬による副作用などが起こった場合には、薬事法第80条の2第6項に従い、副作用報告を同機構に提出する。

C. 研究結果

1) 研究班全体としての成果

神経難病の象徴的疾患であるALSに対する有効性が強く期待できるHGFを用いたALS治療法の開発を推進した。東北大学病院で実施していた第I相臨床試験は単回投与、反復投与を計画通り終了した。反復投与では、単回投与における中用量と高用量の2群において安全性試験と薬物動態試験を実施できた。この第I相臨床試験をふまえ、第II相臨床試験の対象基準、除外基準、用法用量、サンプルサイズ、主要・副次評価項目を設定した新規プロトコル案を策定できた。

2) 各分担項目の成果

非臨床安全性試験:

- ・ カニクイザルを用いた慢性毒性予備試験、試験実施に必要なサル髄腔内カテーテル長期留置の術式検討試験、投与ラインへの吸着性試験、GLP本試験を終了した。
- ・ カニクイザルを用いた血圧評価試験過剰量のHGFが血中に循環しても重篤な血圧低下を引き起こさないことを確認した。
- ・ ラットおよびウサギの血漿中HGFおよび抗HGF抗体ELISA測定法のバリデーションを実施、ラットおよびウサギによる胚胎児試験(セグメント2)予備試験、本試験を終了し明らかなHGF毒性を認めなかった。
- ・ リルゾールとの薬物相互作用試験は予備試験、本試験を終了し、明らかなHGF-リルゾール間の相互作用はな

いことが明らかになった。

原薬・治験薬製造：

- ・ 製品標準書に則り、異常逸脱なくGMP製造を終了した。
- ・ 治験薬の予備安定性試験 25ヶ月点および33ヶ月点の試験を実施した。

原薬・治験薬関連試験：

- ・ 宿主由来蛋白試験は継代培地への馴化とセルバンク作製まで終了した。
- ・ 逆相クロマト試験、CDスペクトル分析試験、ペプチドマップ試験を終了した。ウシ胎児血清ロットチェックも終了した。
- ・ HGF蛋白質の糖鎖構造解析、ジスルフィド結合解析、純度試験を終了し、第II相臨床試験の治験届に必要なデータを得た。

投与デバイス改良：

改良品のプロトタイプを作製し、第II相臨床試験の治験機器概要書案を作成した。

第II相臨床試験プロトコル開発：

東北大学病院で実施した第I相臨床試験データを集積・活用し、上記のように第II相臨床試験のプロトコル案を作成した。また、前年度に引き続き、第II相試験を専任で担当できる人材育成を行った。医薬品医療機器総合機構(PMDA)と相談準備が整備された。

また、医療従事者を追加で増員し患者からの問合せに迅速に対応しつつ、第II相試験を専任で担当できるように人材育成を行った。

D. 考察

第II相臨床試験で計画中の長期投与に関する安全性データを得ることができ、同試験に要する治験薬の原薬、品質保証データ、さらに、改良投与デバイスプロトタイプを確保できた。

本年度、軽症ALS罹患者を対象とした第

I相臨床試験が東北大学病院にて実施、治験薬との因果関係が「おそらくあり」とされるグレード2(中等度)以上の有害事象はなく、終了した。この第I相臨床試験から得られた安全性および薬物動態データをもって、第II相臨床試験のプロトコル案を策定できた。

以上より、研究期間(平成24~26年度)終了までに第II相臨床試験を実施するための要件整備が概ね終了した。HGFのALSに対するproof of concept(POC)を取得するため、第II相臨床試験(医師主導治験)は、ALS罹患者を対象とする多施設プラセボ対照二重盲検試験とし、有効性を確認する計画である。

さらに、国内約9,000人とされる希少性疾患ALSの臨床試験において円滑な対象者リクルートのため、別途、橋渡し研究加速ネットワークプログラム・ネットワーク構築事業の全国ネットワーク事務局を通してALS患者レジストリー構築研究も進行中である。

E. 結論

ALSを対象としたHGFの第II相臨床試験(医師主導治験)を開始するために必要な要件整備を概ね終了することができた。PMDAとの相談を経てプロトコルを確定し、早期の治験届提出をめざす。世界的にALS創薬が求められている中、本研究は本邦発の運動ニューロン保護因子HGFによる画期的な新規ALS治療薬として世界に発信できると期待される。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

「筋萎縮性側索硬化症治療剤」（ALSに関する用途特許）：平成 25 年度に日本、カナダで権利化することができた。

2. 実用新案登録

該当なし