

201415013A(1/3)

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬の開発

平成26年度 総括・分担研究報告書

(1/3)

研究代表者 桑田 一夫

平成27(2015)年3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬の開発

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

( 1 / 3 冊 )

研究代表者 桑田 一夫

平成 27 (2015) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬の開発

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

( 1 / 3 冊)

2014 Annual Report of the Research Committee of  
Development of Medical Chaperone for Prion Diseases,  
Research on Intractable Diseases etc.

Health and Labour Sciences Research Grants,  
The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan

平成 27(2015)年 3 月

March, 2015

研究代表者 桑田 一夫

Chairman: Kazuo Kuwata, M.D., Ph.D.

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

United Graduate School of Drug Discovery and  
Medical Information Sciences, Gifu University

# 目 次

(1 / 3 冊)

## [I] 総括研究報告書

桑田 一夫 — 岐阜大学 大学院連合創薬医療情報研究科 .....	1
資料 1 治験薬概要書 .....	11
資料 2 開発候補物の製造・製品の規格、製造工程（GMP）記録一式、GMP 準拠製造施設及び安定性試験	
1. 規格 .....	109
2. 製造工程 .....	119
3. non-GMP 合成 .....	149
4. GMP 合成 .....	151
5. GMP 準拠注射剤製造装置 .....	327
6. GMP 準拠注射剤製造施設 SOP .....	361
7. GMP 事前監査報告書 .....	393
8. 安定性試験 .....	405
資料 3 薬事承認までのロードマップ .....	421
資料 4 非臨床試験	
1. 非臨床試験総括報告書 .....	423
2. P092 のラット血中濃度測定法検討 .....	469
3. P092 マレイン酸塩の分析法バリデーション .....	485

4. P092 マレイン酸塩の特性試験及び保存安定性試験 .....	503
5. Re-purification of [ <sup>14</sup> C]P092 maecate .....	525
6. P092 マレイン酸塩の投与液濃度確認のための分析法バリデーション .....	537
7. Bioanalytical Method Validation for Determination of P092 in Rat and Monkey Blood .....	539
8. P092 マレイン酸塩のラットにおける 4 週間間歇静脈内投与毒性試験 .....	597

**( 2 / 3 冊 )**

9. P092 マレイン酸塩のラットにおける 4 週間間歇静脈内投与毒性試験—病理組織学的検査— .....	831
10. P092 マレイン酸塩のサルにおける投与用量設定試験及び 4 週間間歇静脈内投与毒性試験 .....	857
11. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩のラットにおける単回投与後の薬物動態予備試験 .....	1207
12. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩のカニクイザルにおける単回投与後の薬物動態予備試験 .....	1253
13. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩の In Vitro 代謝予備試験 .....	1295
14. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験 .....	1321
15. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩をラットに単回静脈内投与したときの放射能の血中濃度、排泄及び分布 .....	1363
16. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩をカニクイザルに単回静脈内投与したときの放射能の血中濃度、排泄及び分布 .....	1421
17. [ <sup>14</sup> C]P092 マレイン酸塩のカニクイザルにおける反復投与時の薬物動態予備試験 .....	1503

**( 3 / 3 冊 )**

18. [ <sup>14</sup> C]P092 のマウス腹腔内投与時の薬物動態予備試験 .....	1547
------------------------------------------------------	------

19. P092 マレイン酸塩のラットを用いる小核試験	1573
20. P092 マレイン酸塩の細菌を用いる復帰突然変異試験	1613
21. P092 マレイン酸塩の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	1643
資料 5 薬理・薬効試験 P092 塩によるプリオン感染カニクイザル治療実験	1679
資料 6 医師主導治験実施計画及び自然歴調査	
1. 医師主導治験プロトコール	1689
2. 自然歴調査	1785
資料 7 開発候補物に関わる特許の出願・取得状況を示す資料	1819
資料 8 医薬品医療機器総合機構（PMDA）が実施する相談事業（薬事戦略相談）の結果や経過を示す書類	
1. 事前面談（5月）	1885
2. 事前面談（3月）	1913
資料 9 企業との協力	1971

## [ II ] 分担研究報告

プリオン病の自然歴調査と低分子シャペロン化合物による治験	2029
水澤 英洋 — 国立精神・神経医療研究センター病院	
BSE 感染カニクイザルにおける早期診断法の開発および血中 P092 濃度測定法の確立	2036
西田 教行 — 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科	

プリオン病の自然歴調査と低分子シャペロン化合物による治験 .....	2038
三條 伸夫 — 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科神経病態学	
プリオン感染サルの症状解析、及び脳病理診断.....	2046
小野 文子 — 千葉科学大学危機管理学部動物危機管理学科	
P3 施設におけるプリオン感染サルへの治験薬静脈内投与・採血及び脳脊髄採取 .....	2054
柴田 宏昭 — 独立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研センター	

[ III ] 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	2059
------------------------------	------

[ IV ] 研究成果の刊行物・別刷 .....	2063
--------------------------	------

# [I] 総括研究報告書

## プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬の開発

研究代表者：桑田一夫 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授

**研究要旨** 低分子シャペロン化合物の医薬品としての実用化を目的とし、First in Human 試験に入るために必要な項目を実施した。まず、国内で、P092 に関する物質特許が成立した。さらに医薬品としての P092 マレイン酸塩の物質特許に関する PCT 出願を行った。

治験薬製造では、P092 マレイン酸塩の GMP 有機合成（委託）を終了し、合成規格を決定した。次年度に注射剤としての製剤化を実施する計画である。自施設製造では、GMP 準拠製剤施設（注射剤）を整備し、薬理薬効試験などに随時使用できる体制を整えた。

非臨床試験では、長期毒試験と安全性薬理試験を除いて、First in Human に必要な毒性試験を完了した。10mg/Kg の用量においても、重大な副作用は認められていない。

薬物動態試験では、2mg/Kg の用量で週一回（もしくは、隔週、或いは月一回）静脈内投与を行うことにより、脳組織内に IC<sub>50</sub> (300±100 nM) の周辺で、薬剤濃度が維持されることが判明した。従って、安全性の範囲で、用量設定が十分可能である。代謝は、主に胆汁排泄であり、大脳皮質ではあまり代謝されず、2ヶ月ぐらゐの半減期で滞在する。

GSS 由来の福岡株を脳内接種したプリオン感染マウスに対する P092 の薬理薬効試験において、P092 投与により有意な延命効果が観察された。さらに C-BSE 株を脳内接種したプリオン感染サルに対する P092 による治療実験（薬理薬効試験）において、P092 マレイン酸塩を 2mg/Kg で週 1 回間歇投与した場合、発症前投与群では非投与群に比して、発症がほぼ抑制されていることが確認された。また、発症後投与群においても、非投与群に比して、明らかな発症の抑制が見られた。BSE の発症抑制は世界で始めて得られた結果であり、プリオン病治療開発において決定的な成果である。また本剤が、動物の種によらず、またプリオンの株によらず有効であることが、強く示唆された。以上より、本年度で非臨床 POC は確保できた、と考えられる。

これらの結果を受け、医師主導型治験実施計画書（案）を策定した。PMDA の対面助言に従い、まず First in Human 第 I 相（安全性評価）では、緩徐発症型（遺伝性プリオン病）の GSS 3 例を対象とし、P092 の安全性を確認する。この前提としてサルおよびげっ歯類で長期毒性試験を終了しておく。また、第 I 相で安全性が確認されれば、孤発型クロイツフェルト病のような急性の病態を含む症例に対し、第 II/III 相臨床試験を実施することとした。

また、プリオン病は現在治療法のない感染症であるため、probable と診断された場合、薬物動態（PK）試験は、P3 安全施設で行う必要がある。これが可能な施設（LC-MS）を長崎大学に設置した。

2013 年に JACOP を設立し、自然歴調査を開始した。参加施設は現時点で、全国 130 ヶ所以上に上っており、今後、オールジャパンでの治験体制を担う母体となりうる。現時点で 12 例が登録済みである。

GSS 症例に対する First in Human 第 1 相の安全性評価は、福岡大学医学部神経内科学教室（坪井義夫 教授）が担当する計画であり、現在、治験ベッドの整備を検討中である。

P092 塩は、プリオンに対してユニバーサルに効果が認められるため、抗プリオン薬開発の突破口となる。また、プリオン病に対する医師主導治験の体制が整備されつつある。

研究分担者：水澤英洋 国立精神・神経医療研究センター病院 病院長

研究分担者：西田教行 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究分担者：三條伸夫 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科神経病態学講師

研究分担者：小野文子 千葉科学大学危機管理学部動物危機管理学科准教授

研究分担者：柴田宏昭 独立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研センタープロジェクト研究員

本研究は、新規抗プリオン化合物（P092 マレイン酸塩）に対し、GMP 有機合成、注射剤としての製剤、薬物動態試験、薬理薬効試験、非臨床安全性試験（GLP）を行い、医師主導治験を実施するとともに、薬事法に基づく承認申請を行い、プリオン病治療薬を実用化することを目的とする。

プリオンは、UCSF のスタンリー・B・プルシナー教授（1997 年ノーベル賞）により発見されたプリオン病を伝達する蛋白性感染粒子すなわち病原性タンパク質である。治療候補物質探索が行われているが、現時点においてプリオン病の確立され

### A. 研究目的

た治療法はない。

我々が開発したGN8 (Kuwata et al., PNAS 2007) およびその類縁体は、脳内にも確実に移行することがPET イメージングにより確認された(特許第5618042号)。また、プリオンに感染したマウスにP092を末梢投与(腹腔内)すると、有意な寿命の延長効果があることが見出された。さらに、マウス、ラット、イヌ、カニクイザルを用いた非臨床試験(非GLP)において、特段の副作用が認められないことが判明した(Hosokawa-Muto et al., Drug Chem Toxicol. 2011)。その後、医薬基盤研究所基礎研究推進事業により、我々はリード化合物であるGN8の化学構造を最適化することが出来、P092と命名した。最終的に得られたP092の抗プリオン効果は現時点において世界で最も強い(I C50~400nM) (特許第5665089号)。

本研究の独創性は、プリオンの立体構造を直接制御することにより、従来の酵素阻害剤よりも遥かに副作用の少ない低分子化合物(低分子シャペロン)であるP092をプリオン病治療薬として実用化するため、非臨床安全性試験(GLP)を本格的に行い、医師主導治験を実施するための基盤を築くところにある。

平成24年度は主に被験物質P092の有機合成(治験GMP施設)、安定性試験、及び非臨床安全性試験(GLP)の一部を実施し、医師主導治験に向けたオールジャパンの臨床研究のためのコンソーシアム(Japanese Consortium of Prion Diseases, JACOP)を構築した。

平成25年度は、サルを用いたADME試験、非臨床安全性試験(GLP、サル4週間反復経口投与等)、及びプリオン病研究コンソーシアムによる患者登録と自然歴調査を開始した。

平成26年度は、P092マレイン酸塩のGMP合成、非臨床安全性試験(ラット4週間歇静脈内投与試験、サル4週間歇静脈内投与試験など)、放射性同位体ラベルしたP092を用いる薬物動態試験、及び遺伝毒性試験を行った。また、カニクイザルを用いた治療実験を実施した。さらに、医師主導治験に向けたプロトコル作成を行い、実際にFirst in Human試験を行うために必要な施設(PK解析等)を具体的に整備し、治験ベッドの準備も進めた。

P092塩によるプリオン感染サルの治療実験・毒性試験を、医薬基盤研究所霊長類医学科学研究センターにおいて実施中である。サルのプリオン病モデルにおいては、発症初期にうつ状態、食欲減退、驚愕反応などの精神症状、中期にミオクローヌス、けいれんなどの神経症状、末期には無動・無言状態があり、ヒトのヤコブ病とよく似た経過を辿る。この霊長類プリオン感染モデルを用い、P092の治療効果、及び

毒性に関して調べた。

これら一連の非臨床試験により、安全な臨床用量を設定し、医師主導治験プロトコルを作成した。オールジャパン体制で治験を実施するため、JACOPを中心に自然歴調査を行った。First in Human試験においては、3名程度のGSSの患者さんに対し、最小用量で、週一回或いは隔週の点滴静注を行い、安全性を確認する予定である。

現在治療法がなく発症すれば数ヶ月で無動無言状態に至るクロイツフェルト・ヤコブ病に対し、ユニバーサルな専用薬の治験体制を確立することが出来た。

## B. 研究方法

プリオン異常化反応を抑制する低分子化合物P092の製造(注射剤)、サルモデルによる薬理薬効試験、薬物動態試験、非臨床安全性試験(GLP)を実施し、医師主導治験のプロトコルを作成した。ヒト初回投与試験の安全性を確保し(薬食審査発0402第1号)、第1相臨床試験の安全を確保するために必要な項目を実施した。希少疾患であることから、オールジャパン体制で治験体制を整えた。

当該研究は、アカデミックにおいて、First in Humanの医師主導治験を行う、貴重な試金石である。このため、GMPに準拠した有機合成、GLPに準拠した非臨床試験、GCPに準拠した医師主導治験に精通した、次代の創薬を担える若手研究者を育成している。非臨床試験、及びオールジャパンの治験体制を整える中で、若手研究者を結集し、レギュラトリーサイエンスのノウハウを集積できる組織作りを行った。

**A:P092マレイン酸塩のGMP合成、及び注射剤製造設備の設置**: 治験に用いる被験物(P092マレイン酸塩)を委託合成(GMP合成)した。注射剤としての製剤は、次年度以降実施する計画である。またプリオン感染細胞や感染動物(マウス・サル)を用いた治療実験、及び毒性試験を行う目的で、岐阜大学医学部棟内にGMPに準拠した注射剤製剤設備を整備し、規格を満たすP092マレイン酸塩を必要に応じ随時合成できる体制を整備した。

## **B:P092マレイン酸塩の薬物動態試験、及び非臨床安全性試験**

薬物動態試験、及び非臨床安全性試験を、委託により実施した。試験内容に関しては、PMDAによる事前面談を実施した。

## **本年度実施した非臨床試験一覧**

試験名	試験番号
-----	------

[ <sup>14</sup> C] P092・マレイン酸塩のラットにおける単回投与後の薬物動態予備試験	B140398
[ <sup>14</sup> C] P092・マレイン酸塩のカニクイザルにおける単回投与後の薬物動態予備試験	B130897
[ <sup>14</sup> C] P092・マレイン酸塩のIn Vitro代謝予備試験	B141137
[ <sup>14</sup> C] P092・マレイン酸塩をラットに単回静脈内投与したときの放射能の血中濃度、排泄及び分布	B130898
[ <sup>14</sup> C] P092・マレイン酸塩をカニクイザルに単回静脈内投与したときの放射能の血中濃度、排泄及び分布	B130899
Bioanalytical Method Validation for Determination of P092 in Rat and Monkey Blood	B141089
投与液分析法バリデーション試験	B141088
P092・マレイン酸塩のサルにおける投与用量設定試験及び4週間間歇静脈内投与毒性試験	B130235
P092・マレイン酸塩のラットにおける4週間間歇静脈内投与毒性試験	B140965
P092・マレイン酸塩のラットにおける4週間間歇静脈内投与毒性試験－病理組織学的検査－（2013年度実施・B131138試験の病理）	B140667
P092・マレイン酸塩のラットを用いる小核試験	B130236
P092・マレイン酸塩の細菌を用いる復帰突然変異試験	B141051
P092・マレイン酸塩のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	B141052

### C:医師主導治験プロトコールの作成

オールジャパン体制で治験の母体となるプリオン病の臨床研究のためのコンソーシアムJapanese Consortium of Prion Disease (JACOP)において、患者登録、治験時の評価項目に関わる自然歴調査を実施した。

また、治験薬概要書、非臨床試験総括報告書、医師主導治験プロトコールをそれぞれ、現時点における知見に基づいて作成した。

#### (倫理面への配慮)

組み換えDNA 実験は岐阜大学の組み換え実験指針に従い、組換え実験委員会の承認の下に行う（平成24年3月27日承認）。動物実験は岐阜大学の動物実験指針に従い、動物実験委員会の審査を受けて行う（平成22年3月18日承認）。

本研究における細胞感染実験、動物感染実験は、岐阜大学生命科学棟一階細胞実験施設（P3）、同

三階動物実験施設内感染実験室（P3）で行う。感染性プリオン（福岡1株）の取り扱いも同様にP3室で行う。実験動物は苦痛軽減に配慮し、エーテル麻酔科にて安楽死させる（平成22年3月18日承認、必要に応じ申請予定）。医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターにおいて実施予定のプリオン感染サルを用いた実験に関しては、同センターの規則に従ってこれを行う（平成25年4月承認）。

また、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針に基づいて、実験を推進した。

自然歴調査は、関連機関における倫理委員会の審査を受けて実施しているところである。

被験者の人権、安全及び福祉の保護及び治験の科学的な質と信頼性を確保するため、医師主導治験においては、厳密にICH-GCP に準拠してプロトコールを作成したところである。

### C. 研究成果

本年度は、P092マレイン酸を用いる医師主導治験の実施に関し、決定的な進展があった。

まず、国内で、P092に関する物質特許が成立した(特許第5665089号)。さらに医薬品としてのP092マレイン酸塩の物質特許に関するPCT出願を行った(PCT/JP2015/52982)（資料7参照）。

治験薬製造では、P092マレイン酸塩のGMP有機合成(委託)を終了し、合成規格を決定した(資料2-1参照)。次年度に注射剤としての製剤化を実施する計画である。

自施設製造では、GMP準拠合成施設、GMP準拠製剤施設を整備し、薬理薬効試験などに随時使用できる体制にある(資料2-5参照)。

非臨床試験では、長期毒試験と安全性薬理試験を除いて、First in Humanに必要な毒性試験を完了した(資料4参照)。10mg/Kgの用量においても、重大な副作用は認められていない。一方、当該用量では、投与局所血管における刺激作用が認められている(図1参照)。また、0.2mg/ml以上の濃度では、溶血作用が認められる(図2参照)。

薬物動態試験では、2mg/Kgの用量で週一回(もしくは、隔週、或いは月一回)静脈内投与を行うことにより、脳組織内にIC<sub>50</sub>(300±100nM)の周辺で、薬剤濃度が維持されることが判明した(図3、図4参照)。従って、安全性の範囲で、用量設定十分可能である。代謝は、主に胆汁排泄であり、脳内ではあまり代謝されずに2ヶ月ぐらいの半減期で滞在する(資料4-15, 16, 17参照)。

GSS由来の福岡株を脳内接種したプリオン感染

マウスに対する P092 の薬理薬効試験において、P092 投与により、有意な延命効果が観察されている。さらに C-BSE 株を脳内接種したプリオン感染サルに対する P092 による治療実験(薬理薬効試験)において、P092 マレイン酸塩を 2mg/Kg で週 1 回間歇投与した場合、発症前投与群では非投与群に比して、発症がほぼ抑制されていることが確認された。また、発症後投与群においても、非投与群に比して、明らかな発症の抑制が見られた(図 5、及び資料 5 参照)。コントロール群の 2 頭及び発症後投与群の 1 頭は、BSE 接種後 80 週で、摂食困難となったため、安楽死させた。一方、発症前投与群 2 頭と発症後投与群 1 頭の発症は、継続的に抑えられている。82 週以後、これらも緩徐に症状が出ているように見えるが、BSE では見られない嘔吐が見られるようになってきており、長期投与に伴う P092 の蓄積による可能性があり、現在、投与間隔を週 1 回から隔週に切り替え、経過を観察しているところである。いずれにしても、BSE の発症抑制は世界で始めて得られた結果であり、プリオン病治療開発において決定的な成果である。また本剤が、動物の種によらず、またプリオンの株によらず有効であることが、強く示唆された。これにより非臨床 POC は確保できた、と考えている。

これらの結果を受け、医師主導型治験実施計画書(案)を策定した(図 6、図 7、及び資料 6 参照)。PMDA の対面助言に従い、まず First in Human 第 1 相(安全性評価)では、緩徐発症型(遺伝性プリオン病)の GSS 3 例を対象とし、P092 の安全性を確認する。また、安全性が確認されれば、孤発型クロイツフェルト病のような急性の病態を含む症例に対し、第 2/3 相臨床試験を実施することとした。

また、プリオン病は現在治療法のない感染症であるため、薬物動態(PK)試験を P3 施設で行う必要がある。これが可能な施設(LC-MS)を長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内 P3 施設に設置した。

2013 年に JACOP を設立し、自然歴調査を開始したが、現在では参加施設は全国 130 ヶ所以上上っており、今後オールジャパンでの治験体制を担う母体となる。GSS 症例に対する First in Human 第 1 相の安全性評価は、福岡大学医学部神経内科学教室(坪井義夫 教授)が担当する計画であり、現在治験ベッドの整備などを計画している。

P092 塩は、プリオンに対してユニバーサルに効果が認められるため、抗プリオン薬開発の突破口となる。また、プリオン病に対する医師主導治験の体制が整備されつつある。

#### D. 考察

プリオン病は、100万人に1人の希少疾患ではあるが、感染症であり、国民の誰もが感染する可能性がある。感染して一旦、神経症状が出ると、典型的には4ヶ月程度で無動無言状態に至

る。現在、症状の進行を抑える薬は皆無である。プリオン病に効果のある薬剤が臨床現場で使用できるようになれば、その意義は極めて大きい。本治験計画においては、第Ⅱ/Ⅲ相において、プリオン病のおよそ7割を占める、孤発型クロイツフェルト・ヤコブ病を対象とする。

英国では、牛海綿状脳症(BSE)からの感染と考えられる変異型ヤコブ病により、150人以上が死亡している。当該研究において用いられている P092 マレイン酸塩は、BSE に感染したカニクイサルにも有効であることが、本研究により証明された。特に発症後投与例においても有効であることが分かった。GSS 由来の福岡 1 株に感染したマウスにおいても有効であったことと考え合わせると、P092 マレイン酸塩が、種や株によらず、ユニバーサルにプリオン病に有効であることが示唆される。P092 に代表される低分子シャペロンは、正常プリオンの立体構造を安定化する。正常プリオンの立体構造はほとんどの種において共通であり、また株(異常型プリオン)とも無関係であることを考えれば、このことは、予想された結果である。

本薬剤が実用化されれば、変異型ヤコブ病に対しても有効である可能性が高い。我が国では全頭検査が施行され、牛肉の輸入に関しても規制が多く、国際的な摩擦の一因となっている。プリオン病が治療可能になれば、もちろん感染しないに越したことはないが、このような摩擦も部分的に緩和される、と考えられる。世界では、毎年約7000人がプリオン病で亡くなっていると推定されるため、プリオン病治療薬が開発されれば、その国際的・社会的意義は極めて高い。

アルツハイマー病治療薬としてアミロイドβオリゴマー形成を阻害する物質が米国で多数開発されたが、フェイズ3でほぼ全て失敗した。すなわち、神経変性を阻害する物質の開発は未だに成功していない。これに対し、P092 は、プリオン病に感染したマウスの寿命を延長するとともに、BSE に感染したサルの症状をしっかりと抑える。このことは P092 が、正常型立体構造を安定化し、異常型への構造変換を抑制するため、種や株に依存しない、ユニバーサルな抗プリオン物質であることを示している。異常型構造及び立体構造変換反応の詳細を理解し、P092 の作用の詳細を理解することは、今後、他の神経変性疾患においても、神経変性を抑制する化合物の開発に資するところと大きいと考えられる。アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患においても、細胞表面のプリオンが関与しているとの報告もあり、今後の研究の進展

が大きく期待される場所である。

しかし、プリオンの立体構造変換を効率的に抑制できたとしても、変性した神経細胞を再生しなければ、正常な脳の生理機能を復活させることは難しい。従って、幹細胞等を用いた神経再生の研究を推進する必要がある。

さらに、再生治療における他家細胞の移植には、やはり、プリオン感染の可能性を完全には除外できないため、この意味においても抗プリオン薬を実用化しておく必要があるだろう。

いずれにしても、抗プリオン化合物の実用化に成功すれば、今後の神経変性疾患研究の発展に大きなインパクトを与える、と考えられる。

さらに、当該研究において実用化しようとしているP092は、論理的創薬法により開発されたものである。標的蛋白質の構造生物学的情報が詳細に理解されていれば、量子化学的手法を駆使して、新規薬剤を理論的に創製し、かつ実用化することが可能であることが証明された。当該手法は、今後、癌、神経変性疾患、糖尿病、自己免疫疾患等、重要な難治性疾患の治療薬開発に適用可能である。

P092に関する医師主導治験プロトコルを平成28年度内に作り上げ、治験相談を実施する。治験が開始されれば、本プロトコルに沿って、プリオン病の治療に向けた臨床現場でのP092塩の活用が事実上開始されることになる。

JACOPの構築により、自然歴調査による患者登録を開始することができた。今後、治験開始準備と平行して、登録患者を増やし、定期的な追跡調査を行ってゆく予定である。以上より、平成29年より、迅速かつスムーズにファースト・イン・ヒューマンの治験を開始することが可能である。

## E. 結論

P092塩は、プリオン病に対して病型を問わず、ユニバーサルに効果が認められるため、抗プリオン薬開発の突破口となる。本研究を通じ、非臨床POCが取得できた。さらに、P092塩を用いたプリオン病に対する医師主導治験の体制が整備されつつある。

### A:特許の取得

1. P092に関する物質特許を取得した。
2. P092塩の製法、及び医薬品としての物質特許に関してPCT出願した。

### B:P092マレイン酸塩の製造（注射剤）

1. 積水メディカルに委託し、P092塩のGMP合成（600g）を実施した。次年度、注射剤としての製剤を委託実施する計画である。
2. アカデミアでは全国で初めて、岐阜大学大学院医学研究科（8S31）に、GMP準拠注射剤製剤施設を設置し、運用を開始した。

### C:非臨床試験

1. 非臨床試験は、安全性薬理試験、及び長期毒性試験を除いて、ほぼ終了した。
2. 非臨床POCを取得した。
3. 薬物動態試験により、2mg/Kgの用量で週1回、或いは隔週静脈内投与することにより、大脳皮質内にIC<sub>50</sub>相当の組織内濃度が維持できることが分かった。

### D:医師主導治験プロトコルの作成

1. オールジャパン体制で治験の母体となるプリオン病の臨床研究のためのコンソーシアム Japanese Consortium of Prion Disease (JACOP)を通じ、患者登録、治験時の評価項目に関わる自然歴調査の体制を構築し、登録を進めた（現時点で12例登録済み）。

詳細は資料1-9参照。

また今後重点的に取り組むべき課題として、以下の項目が考えられる。

1. First in Humanのために必要となる、残りの非臨床安全性試験（安全性薬理試験、ラット3ヶ月間歇静脈内投与毒性試験、サル3ヶ月間歇静脈内投与毒性試験）を着実に、すべて実施する。
2. JACOPによりプリオン病患者の登録と自然歴調査を増やし、治験のための体制を整えるとともに、治験プロトコルを完成し、PMDAに治験届を提出する。

今後の見通しとしては、PMDAと連携しつつ非臨床試験を完了させる体制が出来ており（資料8参照）、目標の達成は十分可能である。

またJACOPでは、患者さんとその家族の協力を得て、十分症例数を増やすことが可能である。これらの進捗状況を総合的に考えると、平成29年より、第I相に入ることが可能である。

また、企業との連携体制もできており（資料9参照）、その後の第II/III相試験、及び承認申請も計画通り進むものと考えている。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Honda RP, Kei-ichi Yamaguchi, Kuwata K. Acid-induced Molten Globule State of a Prion Protein: Crucial Role of Strand 1-Helix 1-Strand 2 Segment. *The Journal of biological chemistry*. pii: jbc.M114.559450 J

2. 学会発表

1. 桑田一夫、山口圭一：CXDIによるアミロイド線維の一分子構造解析 第14回日本蛋白質科学会年会 6月27日 ワークピア横浜/横浜産貿ホール
2. 鎌足雄司、桑田一夫：Sup35天然変性領域のアミロイド構造多形形成機構の解明 第14回日本蛋白質科学会年会 6月27日 ワークピア横浜/横浜産貿ホール
3. 本田諒、山口圭一、桑田一夫：プリオン蛋白質のモンテグロビュール状態の発見とオリゴマー形成との関連 第14回日本蛋白質科学会年会 6月27日 ワークピア横浜/横浜産貿ホール
4. 桑田一夫、山口圭一：キネティックNMRによるタンパク質の‘かたち’の進化の観測 第53回NMR討論会 11月4日 大阪大学コンベンションセンター
5. 小栗 弘成、遠藤 智史、宮城 菜未希、胡 大イ、荒井 裕貴、松永 俊之、五十里 彰、桑田 一夫、原 明、合田 浩明、豊岡 尚樹：カルボニル還元酵素（CBR1）阻害活性を有する8-Hydroxy-2-imino-2H-chromene-3-carboxamide 誘導体の創製 第32回メディシナルシンポジウム 11月26日～28日 神戸国際会議場
6. 真崎悠、小林周、関口優希、笠口友隆、中迫雅由、山口圭一、桑田一夫、亀田啓、福井直也、河田康志、高山裕貴、山本雅貴：XFEL低温コヒーレントX線回折イメージングによるアミロイド繊維凝集体の構造研究 第28回日本放射光学会年会・放射光化学合同シンポジウム 2015年1月12日
7. 桑田一夫：プリオン病治験体制の整備 革新的医療研究開発で挑む神経変性疾患—プリオン病治験体制の確立に向けて— 2015年2月14日 名古屋国際会議場
8. 桑田一夫、本田諒：プリオン蛋白質のミスフォールディング過程におけるモンテグロビュール状態 第四回岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会シンポジウム 2015年3月5日 岐阜薬科大学

標識化合物前駆体

発明者：桑田一夫、木村力、武藤淳二、古山浩子、鈴木正昭、渡辺恭良、土居久志、佐古健生

特願 2009-218247

出願日 2009年9月21日

特許第 5618042号 2014年9月26日登録

・プリオンタンパク質構造変換抑制剤及びその利用

発明者：桑田一夫、木村力、武藤淳二

特願 2011-513378

出願日 2010年5月13日

特許第 5665089号 2015年12月19日登録

・抗プリオン化合物のマレイン酸塩及びその製造方法、並びにその医薬組成物

発明者：桑田一夫

PCT出願：PCT/JP2015/52982

出願日 2015年2月3日

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

・アイソトープ標識化合物及びアイソトープ

図1 サルにおける10mg/Kg 用量での静脈内投与に伴う血管症状 (#003, 及び#004)

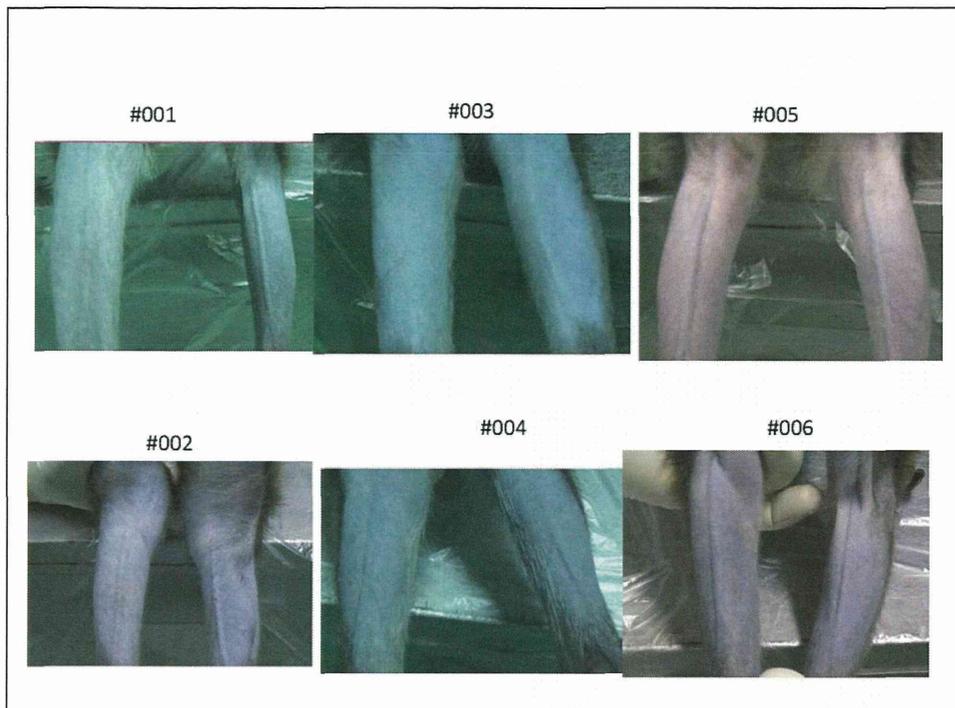


図2 溶血性試験

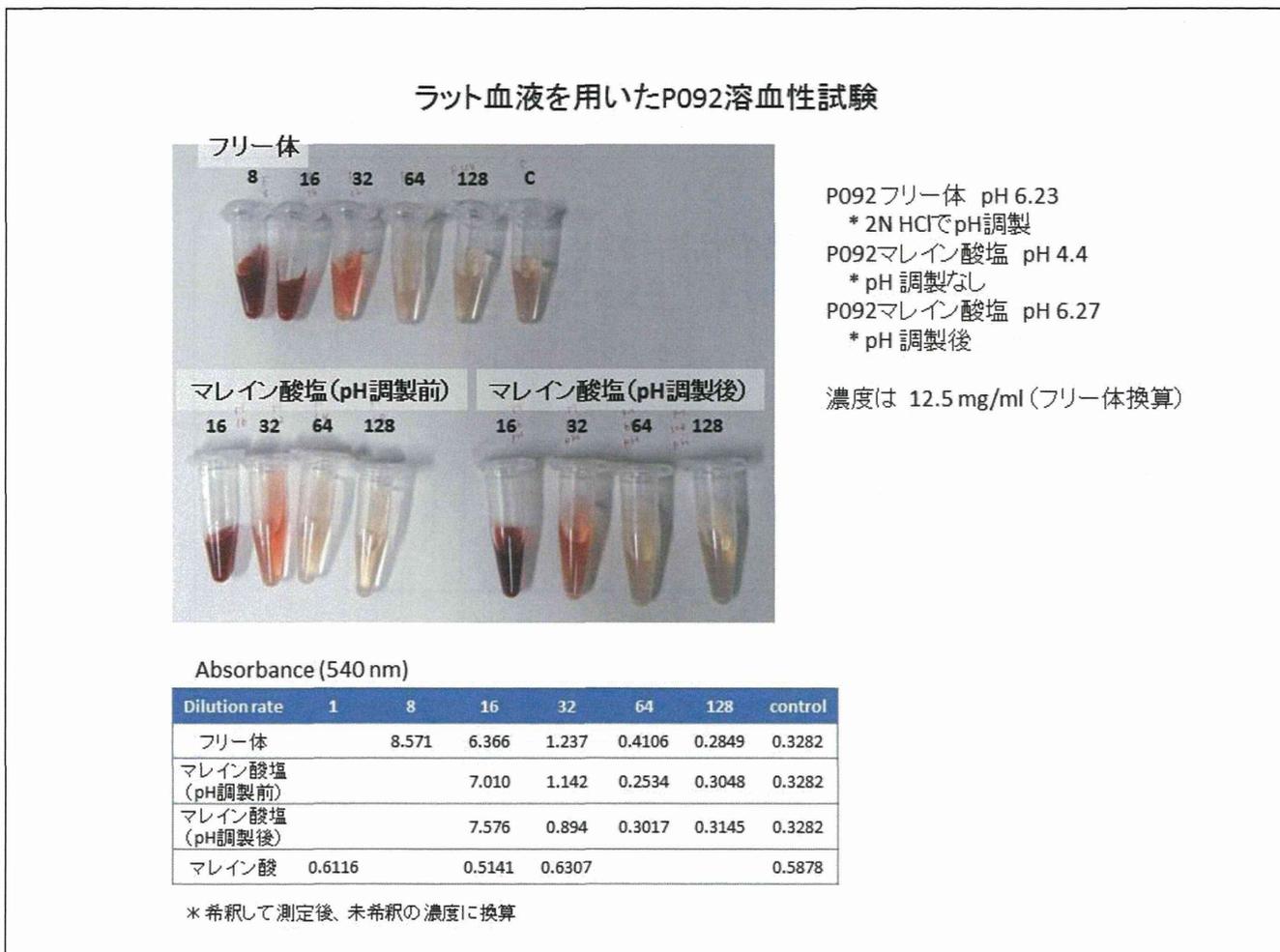


図3  $[^{14}\text{C}]$ ラベルP092マレイン酸：1 mg/Kg静脈内投与後のサル組織中放射能濃度分布

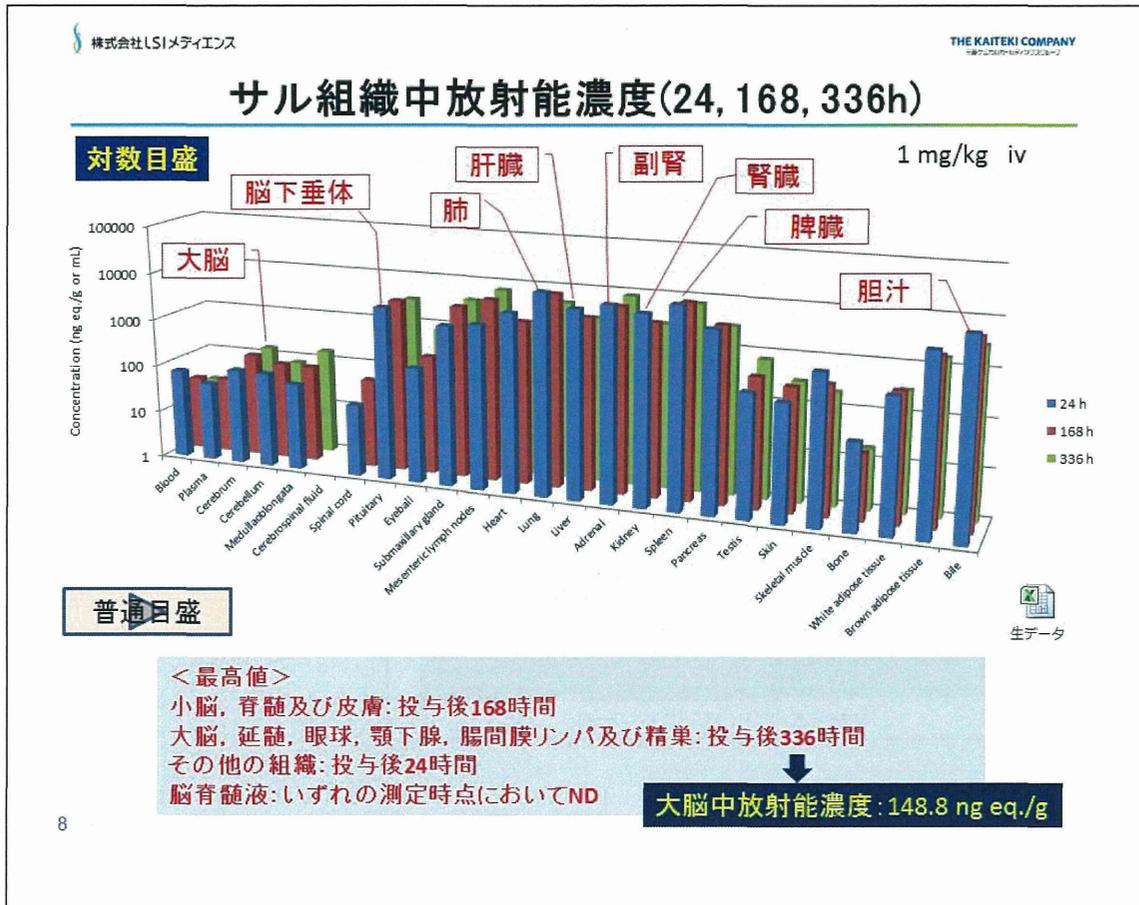


図4  $[^{14}\text{C}]$ ラベルP092マレイン酸：1 mg/Kg静脈内投与後の各組織における代謝物組成分析

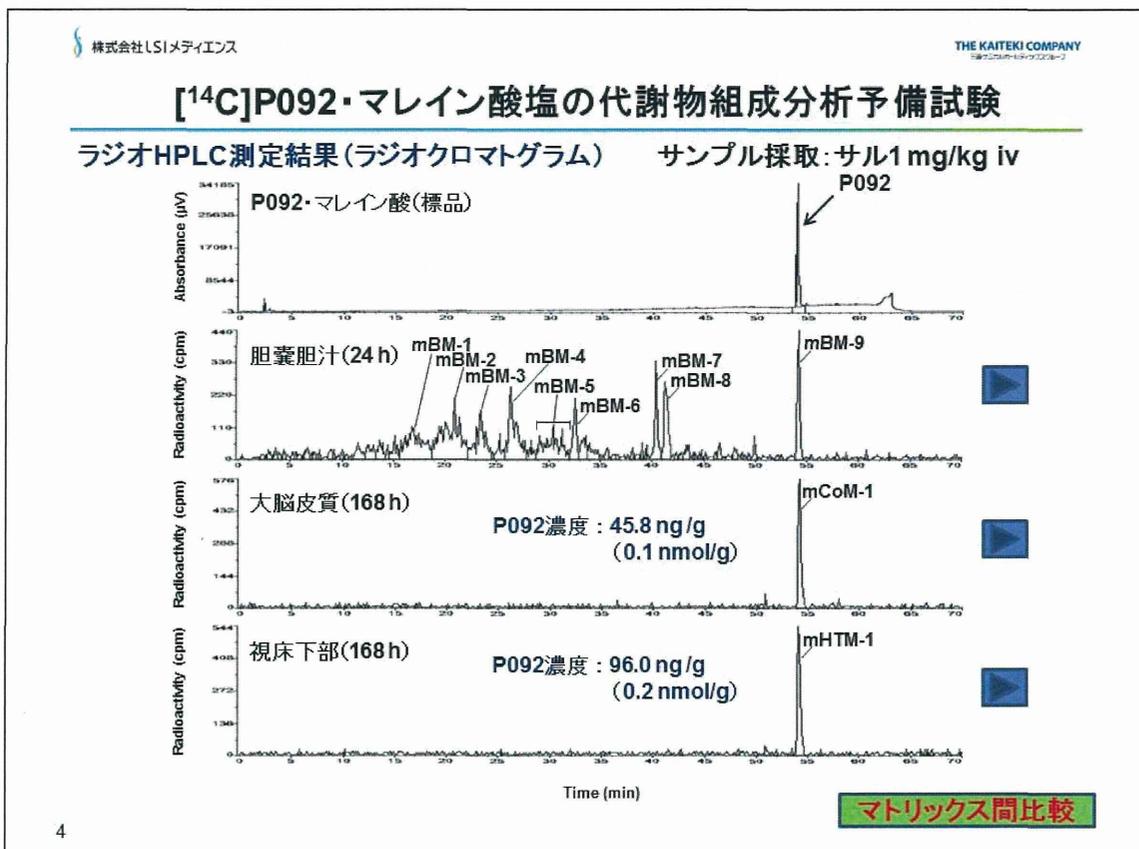


図5 P092投与後のBSE感染サルにおける症状の推移（緑：発症前投与、黄：発症後投与、青：対照）

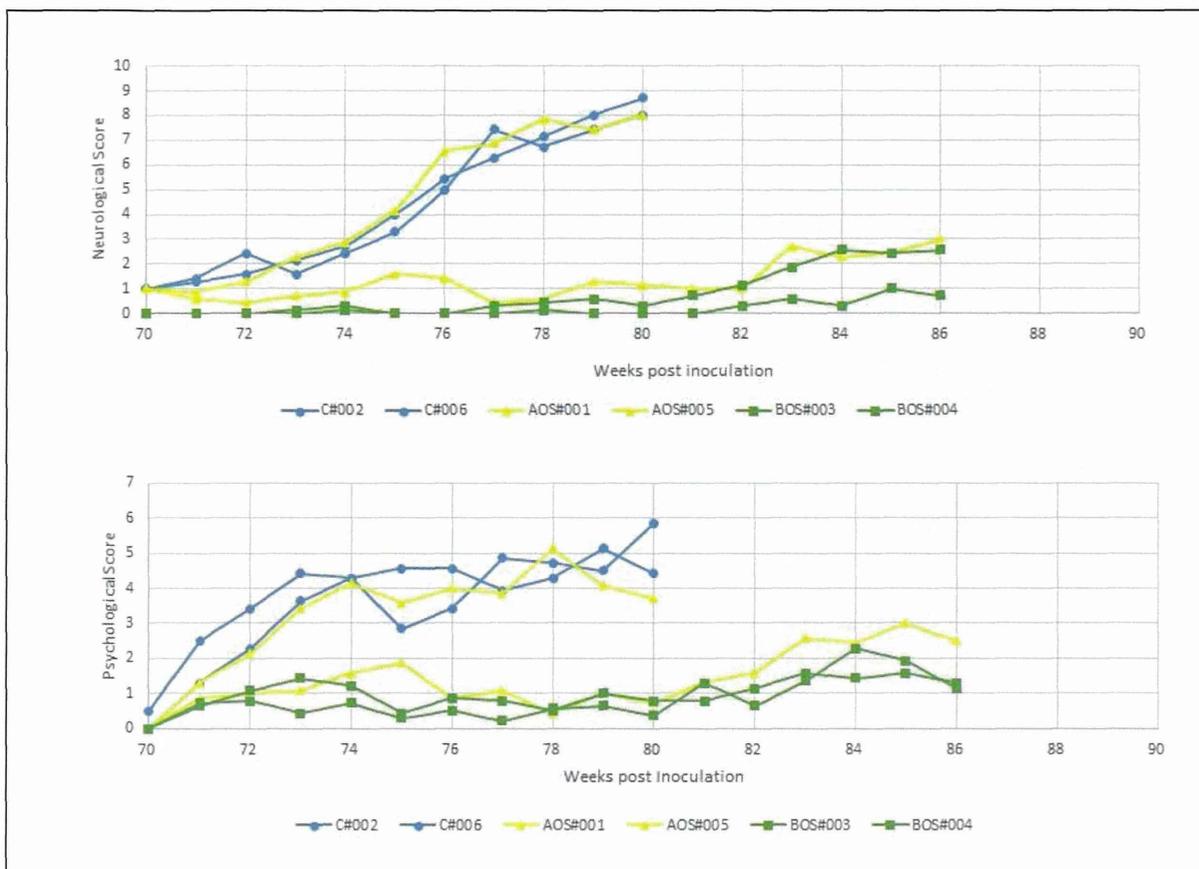


図6 臨床試験計画 1

### 臨床試験の概要：P092/医師主導型治験実施計画書(案)

項目	内容
試験の相	第 I / II 相
試験課題名	プリオン病患者を対象としたP092静脈内投与による安全性、忍容性及び予備的な有効性を検討する試験
目的	安全性、忍容性の検討による最大耐用量及び次相のための推奨用量ならびに投与量による制限毒性の決定
対象患者	プリオン病患者：(probableと診断された患者) まず、遺伝性プリオン病患者(GSS)で安全性を確認する。 その後、孤発性及び獲得性プリオン病と診断された患者も対象とする
選択基準	≪検討中≫
除外基準	≪検討中≫ 昏睡状態、終末期を含め担当医が不適当と認めた患者
治験のデザイン	オープンラベルの多施設共同試験
治験方法	<b>P092を週1回、4週間投与し、その後4週間の休薬を設け、これを1サイクルとする、3サイクル行う(全投薬期間:24週間)</b>
投与量	<b>5mg、15mg、50mg/ヒト (1例目:0.1mg/kg ⇒2例目:0.3mg/kg ⇒3例目:1.0mg/kg 各用量漸増投与する)</b>
投与方法	<b>P092凍結乾燥製剤に注射用生理食塩水を添加、溶解し、これを500mL輸液バックに加え、約1時間かけ点滴静注する</b>

図7 臨床試験計画 2

## P092/医師主導型治験実施計画書(案)

項目	内容
試験期間	1. 前観察期: 登録症例の適格性の確認 2. 投薬期 : 1クール8週間(投薬4週、休薬4週)、3カールの計24週間 3. 後観察期: 投与終了(中止)後4週間
主要評価項目	安全性、忍容性 各用量における有害事象の有無、種類、重症度、発現期間等を集計、し評価する
副次的評価項目	1. <b>延命効果の検討:</b> <b>(発現症状の推移、下記臨床スコアの変化率など検討中)</b> 2. 脳脊髄液の検討: 総タウ蛋白、14-3-3蛋白、神経細胞特異的エノラーゼ(NSE)、異常プリオン蛋白(PrP <sup>Sc</sup> )
主な観察項目	1. Prion Disease Rating Scale <sup>1)</sup> 2. ECOGのPerformance Status <sup>2)</sup> 3. プリオン蛋白遺伝子検査 4. 脳脊髄液及び尿中のプリオン関連蛋白 5. MRI, 脳波 6. その他の安全性評価(問診、バイタルサイン、心電図、一般臨床検査等)
目標症例	安全性評価に関し、3用量とも3例とする。
治験実施期間	2017年1月(平成29年1月)～2018年6月(平成30年6月)

1) Andrew G.B. Thompson Brain, 2013; 136: 1116(2013)

2) Common Toxicity Criteria, Ver.2.0, 1999

# 資料 1

## 治験薬概要書

## 治験薬概要書

P092 マレイン酸塩のプロファイル

プリオン病に対する低分子シャペロン治療薬の開発

岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

桑田 一夫

版番号 : Ver.2

発行日 : 2015 年 3 月 31 日