

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

(3 / 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

(3 / 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 [¹⁴C]P092 maleate 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. [¹⁴C]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. [¹⁴C]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. [¹⁴C]P092 マレイン酸塩の In Vitro 代謝予備試験 1295
14. [¹⁴C]P092 マレイン酸塩の代謝物組成分析予備試験 1321
15. [¹⁴C]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. [¹⁴C]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. [¹⁴C]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. [¹⁴C]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特徴解析、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

18. $[^{14}\text{C}]$ P092 のマウス腹腔内投与時
の薬物動態予備試験

B150047

本写しは原本と相違ありません
株式会社 L S I メディエンス 鹿島研究所
2015年 3月18日
試験責任者 中井弘司印

最終報告書

[¹⁴C]P092 のマウス腹腔内投与時の薬物動態予備試験

(試験番号 : B150047)

株式会社 L S I メディエンス

1. 陳述書

表題： [¹⁴C]P092 のマウス腹腔内投与時の薬物動態予備試験

試験番号：B150047

本最終報告書は試験結果を正しく反映したものである。

試験責任者：

2015 年 3 月 18 日

中井 弘司

中井 弘司

株式会社LSIメディエンス

創薬支援事業本部 試験研究センター

分析代謝研究部

2. 目次

1. 陳述書.....	2
2. 目次.....	3
3. 試験実施概要.....	6
3.1 表題.....	6
3.2 試験番号.....	6
3.3 試験目的.....	6
3.4 適用ガイドライン.....	6
3.5 適用 GLP.....	6
3.6 試験委託者.....	6
3.7 試験受託者.....	6
3.8 試験施設.....	6
3.9 試験責任者.....	6
3.10 主な試験従事者.....	7
3.11 保存.....	7
3.12 保存する資料.....	7
3.13 その他.....	7
4. 試験責任者署名.....	8
5. 要約.....	9
6. 材料及び方法.....	10
6.1 被験物質.....	10
6.1.1 標識化合物.....	10
6.1.2 非標識化合物.....	11
6.2 媒体.....	12
6.2.1 名称.....	12
6.3 主な試薬.....	12
6.4 投与液.....	12
6.4.1 調製濃度.....	12
6.4.2 調製方法及び頻度.....	12
6.4.3 放射能濃度の測定.....	12
6.5 試験動物.....	13
6.5.1 動物種.....	13
6.5.2 動物種選択の理由.....	13
6.5.3 系統.....	13
6.5.4 微生物レベル.....	13
6.5.5 購入先.....	13
6.5.6 購入時週齢.....	13
6.5.7 購入動物数.....	13

6.5.8	検疫・馴化.....	13
6.5.9	投与時週齢.....	13
6.5.10	検疫終了時体重.....	13
6.5.11	群分け.....	13
6.5.12	動物の個体識別.....	14
6.5.13	余剰動物及び瀕死動物の措置.....	14
6.6	動物飼育.....	14
6.6.1	飼育室.....	14
6.6.2	飼育環境.....	14
6.6.3	飼育器材.....	15
6.6.4	床敷.....	15
6.6.5	飼料.....	15
6.6.6	飲用水.....	16
6.7	投与.....	16
6.7.1	投与経路.....	16
6.7.2	投与経路の選択理由.....	16
6.7.3	投与方法.....	16
6.7.4	投与方法の選択理由.....	16
6.7.5	投与回数.....	16
6.7.6	投与用量及びその設定理由.....	16
6.7.7	投与液量.....	17
6.8	試験項目及び試料採取.....	17
6.8.1	血液、血漿及び脳中放射能濃度.....	17
6.9	放射能の測定.....	17
6.9.1	投与液.....	18
6.9.2	血液.....	18
6.9.3	血漿.....	18
6.9.4	脳.....	18
6.10	残余試料の取扱い.....	18
6.11	コンピュータシステムの使用.....	18
6.12	試験結果の算出及び表示.....	19
7.	結果及び考察.....	20
7.1	投与液の放射能濃度及び均一性.....	20
7.2	血液、血漿及び脳中放射能濃度.....	20
8.	特記事項.....	21
8.1	予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態.....	21

Table	
Table 1	Radioactivity concentrations in blood, plasma, and brain after intraperitoneal administration of [¹⁴ C]P092 maleate to male mice at 10 mg/kg as free base.....22
Appendices	
Appendix 1	Radioactivity concentration of [¹⁴ C]P092 maleate in dosing formulation23
Appendix 2	Radioactivity concentrations in blood, plasma, and brain 1 h after intraperitoneal administration of [¹⁴ C]P092 maleate to male mice at 10 mg/kg as free base24
Appendix 3	Radioactivity concentrations in blood, plasma, and brain 24 h after intraperitoneal administration of [¹⁴ C]P092 maleate to male mice at 10 mg/kg as free base24
Appendix 4	Radioactivity concentrations in blood, plasma, and brain 168 h after intraperitoneal administration of [¹⁴ C]P092 maleate to male mice at 10 mg/kg as free base25
Appendix 5	Radioactivity concentrations in blood, plasma, and brain 336 h after intraperitoneal administration of [¹⁴ C]P092 maleate to male mice at 10 mg/kg as free base25

最終ページ : 25

3. 試験実施概要

3.1 表題

[¹⁴C]P092 のマウス腹腔内投与時の薬物動態予備試験

3.2 試験番号

B150047

3.3 試験目的

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩を雄性マウスに単回腹腔内投与して、放射能の血液、血漿及び脳中濃度について予備的に検討する。

3.4 適用ガイドライン

なし

3.5 適用 GLP

なし

3.6 試験委託者

国立大学法人岐阜大学
〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1
委託責任者：桑田 一夫
TEL：058-230-6143, FAX：058-230-6144

3.7 試験受託者

株式会社 L S I メディエンス
〒101-8517 東京都千代田区内神田一丁目 13 番 4 号

3.8 試験施設

株式会社 L S I メディエンス 鹿島研究所
〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14 番地 1

3.9 試験責任者

中井 弘司
株式会社 L S I メディエンス
創薬支援事業本部 試験研究センター 分析代謝研究部
TEL：0479-46-5392, FAX：0479-46-3173
E-mail：Nakai.Hiroshi@ma.medience.co.jp

3.10 主な試験従事者

動物入荷，検疫及び飼育管理：

佐藤 智洋，三十尾 知奈，大塚 康之，上田 智哉，
有田 孝幸

投与液調製及び分析： 佐藤 智洋

投与： 大塚 康之，有田 孝幸

試料採取及び放射能測定：大塚 康之

3.11 保存

次項に示す試験関係資料を試験施設の資料保存室に保存する。保存期間は試験終了後 10 年間とし、以後の保存は試験委託者と協議の上、決定する。

3.12 保存する資料

- (1) 試験計画書
- (2) 被験物質に関する資料
- (3) 使用動物に関する資料
- (4) 試験操作に関する資料
- (5) 試験結果に関する資料
- (6) 通信文書等の記録文書
- (7) 最終報告書

3.13 その他

本試験の実施に際し、「動物実験に関する指針（試験研究センター指針）」に基づき、動物実験委員会審査及び試験研究センター長の承認（承認番号：2015-0058）を得た。

4. 試験責任者署名

表題： [^{14}C]P092 のマウス腹腔内投与時の薬物動態予備試験

試験番号：B150047

試験責任者：

2015 年 3 月 18 日

中井 弘司

中井 弘司

株式会社LSIメディエンス

創薬支援事業本部 試験研究センター

分析代謝研究部

5. 要約

[¹⁴C]P092・マレイン酸塩を雄性マウスに 10 mg/kg (フリー体換算) の用量で単回腹腔内投与したときの放射能の血液、血漿及び脳中濃度について予備的に検討した。

血液、血漿及び脳中放射能濃度は投与後 1 時間に最高値を示し、その後、経時的に減少した。投与後 1, 24, 168 及び 336 時間において、血漿中放射能濃度はそれぞれ 1558.0, 570.6, 56.3 及び 15.5 ng eq./mL であり、脳中放射能濃度はそれぞれ 230.6, 181.2, 75.2 及び 53.8 ng eq./g であった。脳中放射能濃度は血漿中放射能濃度に比べて緩徐に減少し、投与後 1, 24, 168 及び 336 時間における K_p 値はそれぞれ 0.15, 0.32, 1.34 及び 3.47 であった。また、血液中放射能濃度も血漿中放射能濃度に比べて緩徐に減少した。

6. 材料及び方法

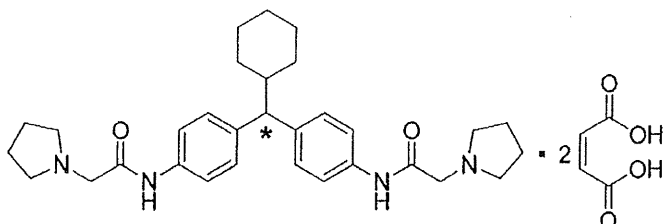
6.1 被験物質

6.1.1 標識化合物

6.1.1.1 名称

[¹⁴C]P092 maleate ([¹⁴C]P092・マレイン酸塩)

6.1.1.2 構造式及び標識位置



* : ¹⁴C 標識位置

6.1.1.3 分子量

736.70 (at this specific activity)

6.1.1.4 ロット番号

K0348-02

6.1.1.5 化学的純度

99.5% (HPLC 法, 2014 年 12 月 26 日測定, Certificate of Analysis, Curachem)

6.1.1.6 比放射能

58.4 mCi/mmol (2.933 MBq/mg, フリー体として 4.288 MBq/mg)

6.1.1.7 放射化学的純度

98.9% (HPLC 法, 2014 年 12 月 26 日測定, Certificate of Analysis, Curachem)

6.1.1.8 性状

エタノール溶液

6.1.1.9 放射能濃度

5 MBq/mL (被験物質濃度 : 1.705 mg/mL, フリー体として 1.166 mg/mL)

6.1.1.10 フリー体換算係数

1.4618 (非標識体での分子量比 フリー体 : マレイン酸塩 = 1 : 1.4618)

6.1.1.11 合成先

Curachem

6.1.1.12 保存条件

冷凍（-80°C，許容範囲：-60°C以下，実測値：-82.1~-74.8°C），遮光，気密容器

6.1.1.13 保管場所

被験物質保管場所（74）

6.1.1.14 取扱上の注意

保護メガネ，マスク，ゴム手袋を着用した。

6.1.1.15 残余被験物質の処理

残余の被験物質は，関連する薬物動態試験（株式会社L S Iメディエンス 鹿島研究所）で使用することとした。

6.1.2 非標識化合物**6.1.2.1 名称**

P092・マレイン酸塩

6.1.2.2 ロット番号

CMTPG-RQ

6.1.2.3 フリー体換算係数

1.4618

6.1.2.4 性状

白色の粉末

6.1.2.5 提供者

国立大学法人岐阜大学

6.1.2.6 保存条件

冷蔵（許容範囲：1~10°C，実測値：2.0~6.5°C），遮光，密封（窒素封入）

6.1.2.7 保管場所

被験物質保管場所（42），（59）及び（29）

6.1.2.8 取扱上の注意

保護メガネ、マスク、ゴム手袋を着用した。

6.1.2.9 残余被験物質の処理

残余の被験物質は、関連する薬物動態試験（株式会社L S Iメディエンス 鹿島研究所）で使用することとした。

6.2 媒体

6.2.1 名称

生理食塩液（日本薬局方、大塚製薬工場、Lot No. K4G99）

6.3 主な試薬

水は、超純水製造システム（Elix-UV 10, Milli-Q Advantage, メルク）で精製したものを精製水として用いた。試薬は、用途に応じて市販の一級品、試薬特級又は同等以上のものを使用した。

6.4 投与液

6.4.1 調製濃度

1 mg/0.8576 MBq/mL（フリー体として）

6.4.2 調製方法及び頻度

投与液は、以下の手順で投与当日に調製した。

調製は紫外線をカットした蛍光灯下で行い、可能な限り滅菌あるいは消毒済みの器材を使用した。

- (1) [¹⁴C]P092・マレイン酸塩を 2.573 mL（フリー体として 3.0 mg）分取し、窒素気流下で乾固させた。
- (2) P092・マレイン酸塩を正確に秤量した（17.5 mg, フリー体として 12.0 mg）
- (3) 媒体を 15 mL 加え、スターラーで攪拌しつつ溶解させた。
- (4) 0.22 μm フィルター（MILLEX[®]-GV, メルク）でろ過した。
- (5) 投与液の一部（2 mL）を分取し、pH を測定して記録した（実測値：pH 4.282）。
- (6) 使用後の投与液は冷蔵（許容範囲：1～10°C）条件下で保存し、試験終了時まで廃棄した。

6.4.3 放射能濃度の測定

投与前及び投与終了後に 6.9 項において放射能濃度を測定した。放射能濃度の平均値が設定濃度の 90.0～110.0%の範囲内であること並びに測定時の変動係数（CV）が 5.0%以下であることを確認した。

6.5 試験動物

6.5.1 動物種

マウス

6.5.2 動物種選択の理由

P092・マレイン酸塩の感染動物治療実験に使用されている動物種である。

6.5.3 系統

Crl:CD1(ICR)

6.5.4 微生物レベル

SPF

6.5.5 購入先

日本チャールス・リバー

6.5.6 購入時週齢

9 週齢

6.5.7 購入動物数

雄 30 匹

6.5.8 検疫・馴化

入荷後、動物仮番号を付与し、5 匹ずつケージに収容した。

動物個体毎に一般状態を 6 日間毎日観察して健康状態が良好であることを確認した。

動物入荷日及び検疫終了日に体重測定を実施して、検疫終了時の体重が入荷時より増加し、順調に発育していることを確認した。

検疫終了後も投与日（投与直前）まで毎日一般状態を観察し、馴化を継続した。

6.5.9 投与時週齢

10 週齢

6.5.10 検疫終了時体重

検疫終了時の動物の体重範囲は平均体重 $\pm 20\%$ 以内であった。

6.5.11 群分け

投与日に群分けした。検疫、馴化期間中の一般状態並びに入荷及び検疫終了時の体重測定の結果より、健康な動物を選択した。

動物仮番号順（動物入荷時に付与した番号）に動物番号を付与した。