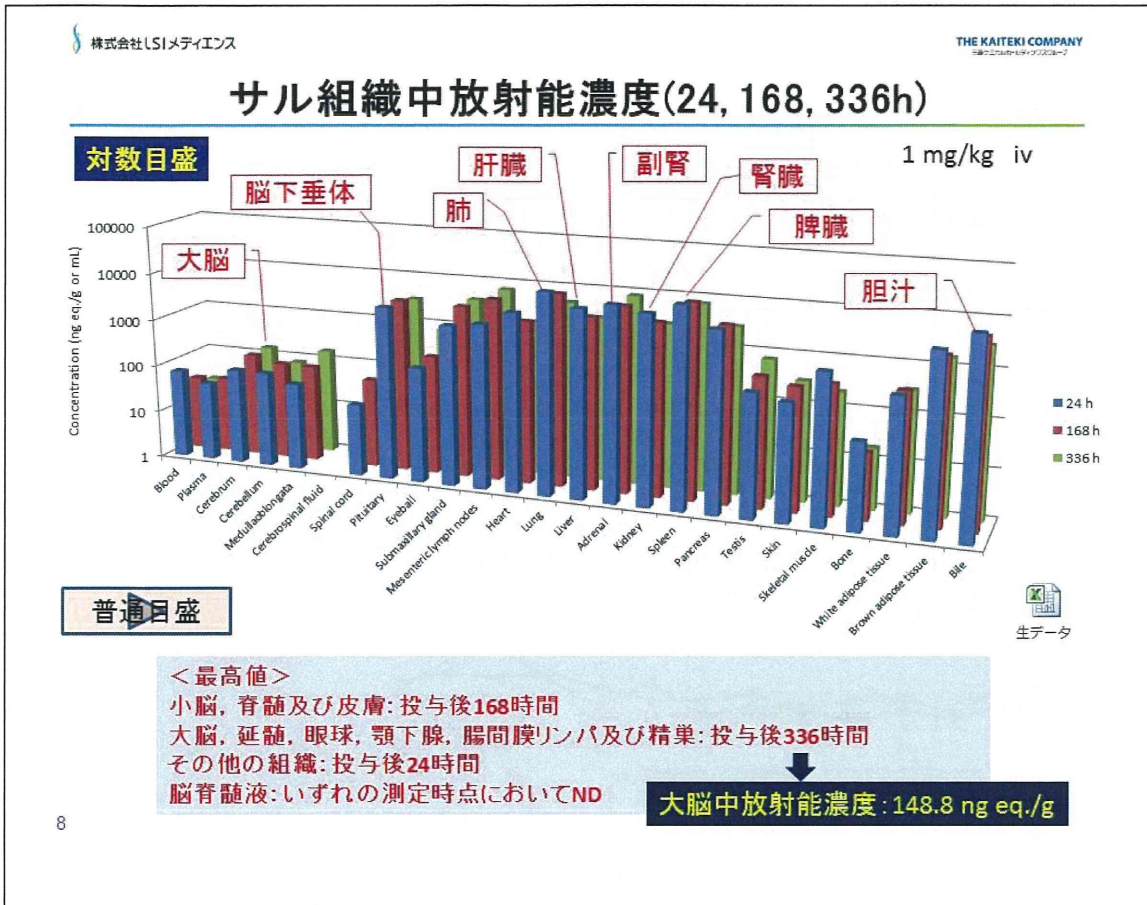
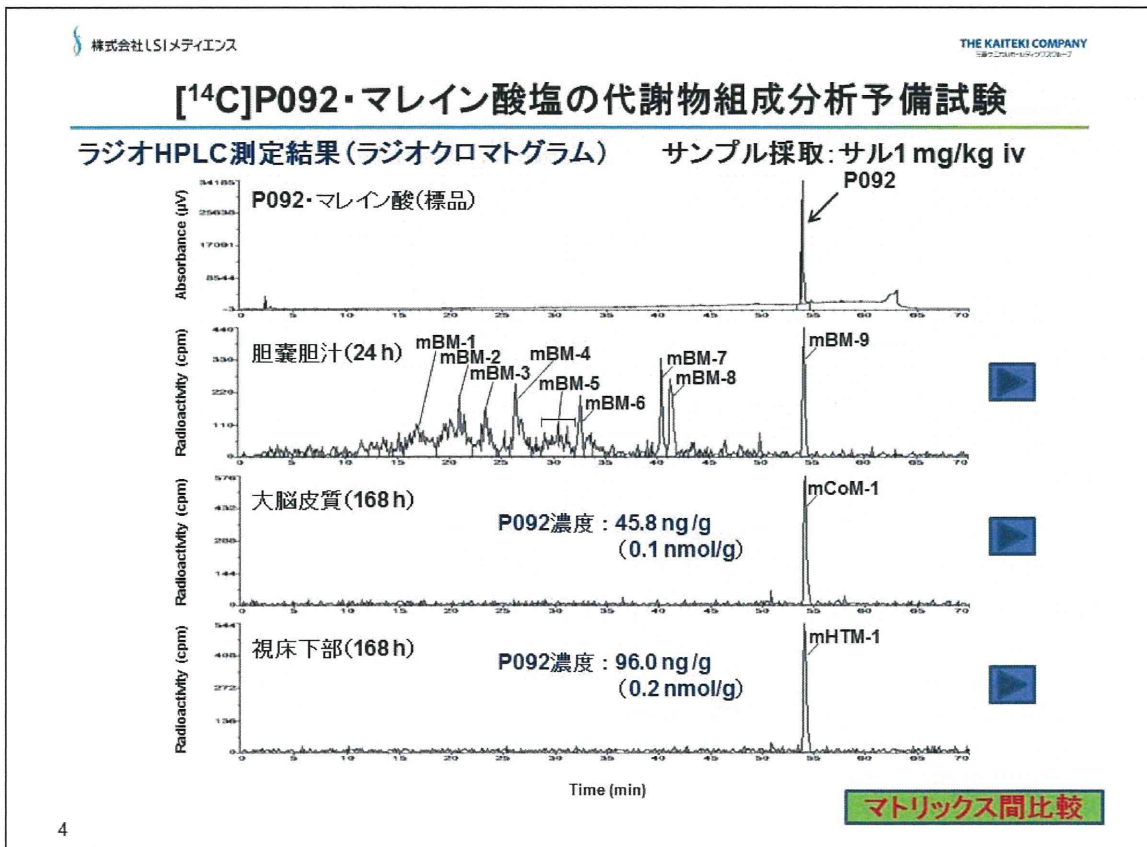


図 1 $[^{14}\text{C}]$ ラベルP092マレイン酸：1 mg/Kg静脈内投与後のサル組織中放射能濃度分布



8

図 2 $[^{14}\text{C}]$ 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



4

図3 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）

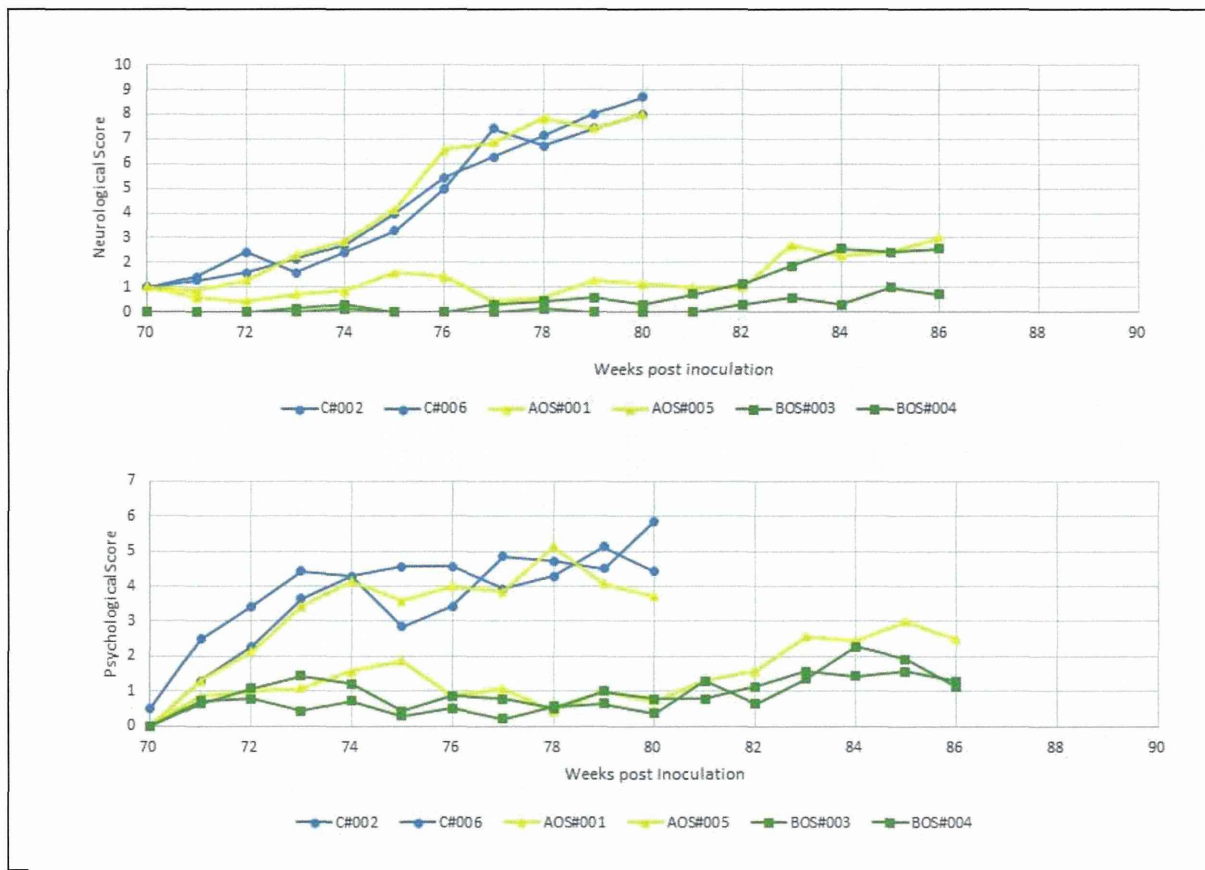


図4 臨床試験計画 1

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	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)
投与量	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)
投与方法	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

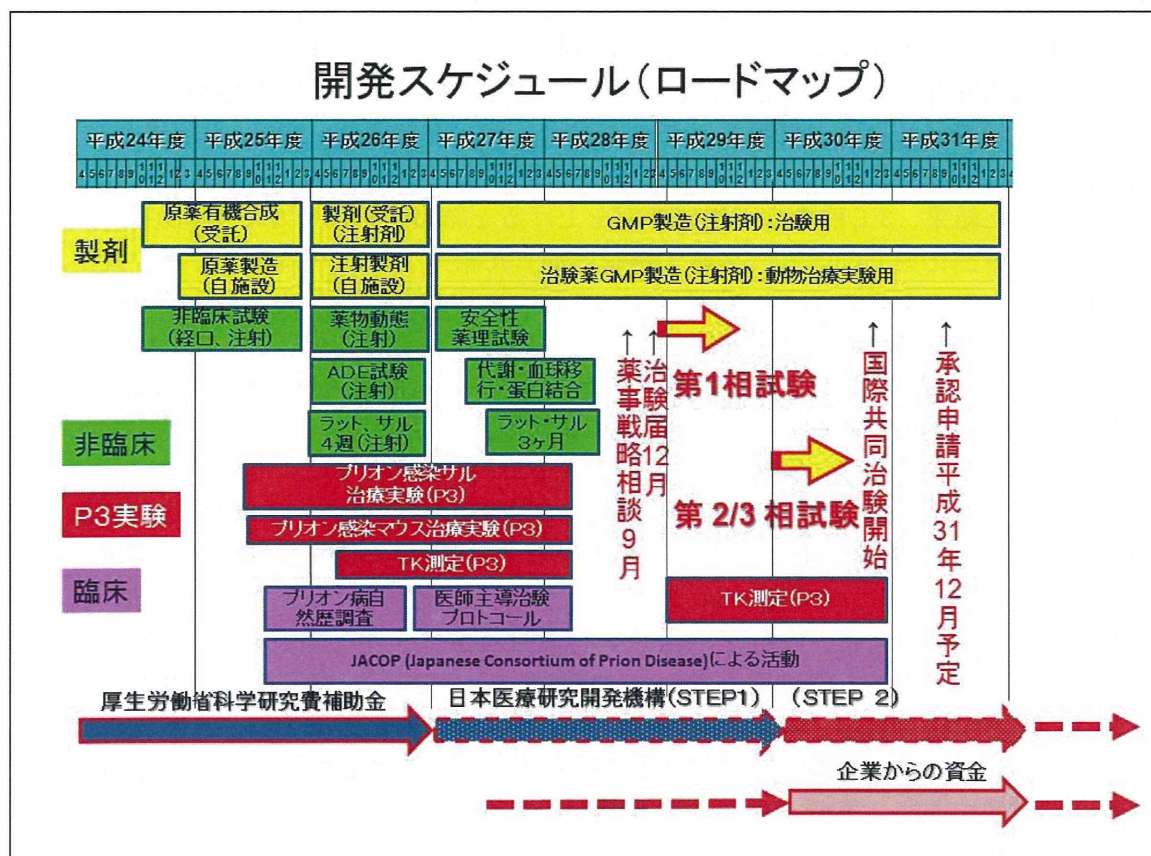
図5 臨床試験計画 2

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クールの計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. 延命効果の検討: (発現症状の推移、下記臨床スコアの変化率など検討中) 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 ^{Sc})
主な観察項目	1. Prion Disease Rating Scale ¹⁾ 2. ECOGのPerformance Status ²⁾ 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

図6 ロードマップ



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 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	岐阜大学人獣感染防御研究センタープリオン研究部門
研究分担者：水澤英洋	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：山田正仁	金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学(神経内科学)
研究協力者：堂浦克美	東北大学大学院医学系研究科プリオン蛋白分子解析分野
研究協力者：坪井義夫	福岡大学神経内科
研究協力者：岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所
研究協力者：佐藤克也	長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子
研究協力者：浜口 毅	金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学(神経内科学)
研究協力者：三條伸夫	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)

研究要旨 プリオン病は、我が国において、非典型例も含め、増加しつつある可能性があり、確立された治療法がないことは、社会にとって大きな脅威である。本研究はプリオン病に対する低分子シャペロンをプリオン病治療薬として実用化するものであり、達成されれば国民の安心安全の確保、及び医療費の抑制につながり、厚生労働行政にも貢献できる。このため平成24年度は、医師主導治験への移行を目的とし、申請者らが最適化した抗プリオン物質である被験物質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）の一部を実施した。またオールジャパンで医師主導治験を実施するための組織を整備し、海外においても臨床研究を行える国際環境を整えた。実施した研究の概要は、以下の様である。

- (1) 医薬基盤研究所「基礎研究開発事業（18～22年度）」などにより、主として岐阜大学において開発されたケミカルシャペロンとしての新規抗プリオン物質GN8類縁体「P092」を、有機合成（治験GMP施設）（委託）した。P092フリー体の有機合成は3工程からなり、規格に適合する純度99%以上で精製することに成功した。本年度は、1000gを合成した。
- (2) 合成したP092における結晶性の分析、及び安定性試験を実施した。合成経路を3回以上変更・最適化した結果、3工程では一般に純度を上げると結晶性が弱くなる傾向が認められた。そのため結晶化を目的とした第四工程を追加した結果、フリー体としては、純度及び結晶性の高いものを得ることに成功した。また一ヶ月の安定性試験でも問題のない安定性を確保することができた（資料1—5）。
- (3) ラット、カニクイザルを用いた非臨床安全性試験（GLP）（被験物質の安定性試験等、TK試験、一般毒性試験、特殊毒性試験（生殖試験、変異原生試験）、安全性薬理試験等）の一部を実施（委託）した（資料2）。P092を完全には溶解していない白濁状態の中性懸濁液としてカニクイザルに経口投与した場合、P092塩酸塩として完全に溶解した状態（pH5.4）でカニクイザルに経口投与した場合に比べ、2週間反復経口投与では、かなり吸収が低いことが判明した（図1～図4）。一方、たとえ懸濁液の場合でも、一部のカニクイザルの脳脊髄液内には、P092が、ex vivoにおける抗プリオン効果のIC50（～200 nM）に近い濃度で移行することが判明している（資料2-12 35頁）。従って、P092を反復経口投与し、脳内での確実な治療効果を得るためには、P092の塩形成を行い、完全に溶解した状態で経口投与するのが、吸収の観点からも有利であることがわかった。現在、結晶性及び安定性も含め、塩形成の最適化を推進している。現時点ではマレイン酸塩が有望である（資料1-6）。

- (4) 医師主導治験 (GCP) を本格的に実施するためのプロトコール作成のための準備として、患者登録及び自然歴調査を含む臨床研究体制として日本プリオン病コンソーシアム (JACOP) を構築した。

A. 研究目的

本研究は、最適化を行った新規抗プリオン化合物 (P092) に対し、有機合成 (治験薬GMP施設)、及び非臨床安全性試験 (GLP) を実施すると共に、医師主導治験プロトコールを作成することにより、薬事法に基づく承認申請を目指すものである。(P092に関する特許出願: 2011-513378,PCT/JP2010/058129, 2009-118076)

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そのものである。治療候補物質探索が行われているが、既発表の化合物の効果は低く、脳内に移行しにくい、という共通の問題点があり、現時点においてプリオン病の確立された治療法はない。

一方、我々が開発したGN8 (Kuwata et al., PNAS 2007) 類縁体の構造最適化を進めた結果 (Kimura et al., Bioorganic Med. Chem. Lett. 2011)、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く (IC₅₀~20 nM)、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(特願2009-218247)。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 (書類2、及び Hosokawa-Muto et al., Drug Chem Toxicol. 2011)。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 (治験薬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を構築する。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、平成26年度は、非臨床安全性試験 (GLP、ラット6ヶ月反復投与、及びサル9ヶ月反復投与)、及び医師主導治験に向けたプロトコール作成を行う。

研究班全体としては、First in Human に入るのに必要な非臨床試験項目を全て実施することにより、医師主導治験プロトコールを作成し、最終年度に治験相談を実施する予定である。

非臨床試験各項目の実実施計画及び結果は、医師主導治験プロトコール内容に大きく影響するため、岐阜大学と東京医科歯科大学間での密な連携のもとにこれを行う。一方、クロイツフェルトヤコブ病は100万人に1人の希少疾患であり、医師主導治験においては、病型の選択やエンドポイントの設定、投与時期などを慎重に考慮する必要がある。これに関しては、P092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科学研究センターにおいて、並行して行う。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、中期にミオクロームス、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の投与時期、エンドポイント設定の根拠のひとつとする。また、プリオン病においては脳血液関門 (BBB) が一部破壊されている可能性があるため、正常のサルのみでなく、プリオン病感染サルを用いた毒性試験が必須となる。

具体的には、年間、高品質のP092を2 kg程度安定的に製造できる体制を確立するとともに、上記一連の非臨床試験により、安全な臨床用量を設定する。これらの情報に基づき、医師主導

治験プロトコルを決定する。希少疾患であるため、オールジャパン体制で治験を実施する必要がある。そのため、本年、東京医科歯科大学を中心にコンソーシアム(JACOP)を設立した。海外の医療機関とも連携する。現時点においては、年間10名程度の患者さんに対し、治験を実施する予定である。

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、人類で初めて用意周到な治療体制を確立することを目的とする。

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の有機合成(治験GMP施設内)、薬物動態試験(TK)、非臨床安全性試験(GLP)、ADME試験を実施し、医師主導治験のプロトコルを作成する。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相臨床試験の安全性を確保するために必要な項目を実施する。

これらの非臨床試験結果を踏まえ、医師主導治験プロトコルを作成する。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とともに、海外の医療機関とも連携する。

また当該研究は、アカデミックにおいてFirst in Humanにおいて医師主導治験を行う、貴重な試金石となり得る。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することが重要である。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う。

A:P092の有機合成(岐阜大学)

治験GMP施設における合成:非臨床安全性試験(GLP)を行うための試験物(P092)を委託製造(治験GMP施設内)する。治験GMP施設内において合成し、製造記録、及び製品の分析を行う。またプリオン感染細胞や感染動物を用いた毒性試験を行う目的で、学内にGMPに準拠した

有機合成設備を整備し、上記委託化合物の規格を満たすP092を必要に応じ随時合成できる体制を整備する。

B:P092の薬物動態試験、及び非臨床安全性試験(GLP)(岐阜大学)

薬物動態試験(TK)、及び非臨床安全性試験(GLP)を、委託により実施する。試験内容に関しては、PMDAによる事前面談を実施し、その指導に従う。

- ① 特性試験、及び保存安定性試験 (資料2-1)
- ② P092の分析法バリデーション (資料2-2)
- ③ 投与液濃度確認のための分析法バリデーション (資料2-3)
- ④ ラット血漿中P092濃度測定法バリデーション (資料2-4)
- ⑤ 「ラットを用いる単回経口投与毒性試験」のための予備試験 (資料2-5)
- ⑥ ラット単回経口投与毒性試験 (資料2-6)
- ⑦ ラットを用いる2週間反復経口投与毒性試験 (資料2-7)
- ⑧ ラットを用いる4週間反復経口投与毒性試験 (資料2-8)
- ⑨ サル血漿中P092濃度測定法バリデーション (資料2-9)
- ⑩ 「カニクイザルを用いる単回経口投与毒性試験」のための予備試験 (資料2-10)
- ⑪ カニクイザルを用いる単回投与毒性試験 (資料2-11)
- ⑫ カニクイザルを用いる2週間反復経口投与毒性試験 (資料2-12)
- ⑬ 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料2-13)
- ⑭ 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 (資料2-14)

C:医師主導治験プロトコルの作成(東京医科歯科大学)

厚生労働省難治疾患克服研究事業「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班(代表者):水澤英洋 教授」ならびに「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班(代表者:山田正仁 教授)」の関係者を中心に協議を進め、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)を立ち上げ、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、登録準備を進める。

(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、必要に応じ申請予定)。

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月承認予定)。

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。被験者の人権、安全及び福祉の保護のために、治験の科学的な質と信頼性を確保する。このため医師主導治験においては、厳密にGCPに準拠してプロトコールを作成する。

C. 研究結果

研究方法に関する変更はなかったが、まず、平成24年11月13日のサイトビジットにおいて、指摘された点を、大きく改善した。

- ① プロジェクトマネジメント体制として、本研究費で雇用しているポストドク(福岡万佑子)をプロジェクトマネージャーとして指名し、ガントチャート作成や進捗状況の管理にあたらせた。
- ② 下記に述べるP092の新規結晶型(塩も含める)に関して特許申請を行う準備を進めている。これに関しては、PCT出願も行う。

これにより、P092の物質特許が確保できる見通しである。

- ③ GMP対応有機合成施設に関しては、P3におけるプリオン感染サルの毒性試験に用いるP092を有機合成する目的で設置・使用し、岐阜大学病院薬剤部と共同で運用することとした。
- ④ P092の試薬としての商品化に関し、東京化成工業がこれを行うこととした。
- ⑤ ノーベルファーマとの間で、P092の権利譲渡に関し、これを行うこととした。
- ⑥ P092のin vitro他家幹細胞プリオン汚染防止剤としての特許出願を進めているところである。

PMDAとのやり取りの中で、非臨床試験スケジュールの一部に変更があった。平成24年12月5日、PMDAにおける薬事戦略相談(事前面談)を行った結果、本年12月までに東京化成に3回の有機合成を委託したが、その各ロットにおいて不純物プロフィールと結晶性の差異を検証し、同等とみなしてよいかどうかを確認する必要があるため、その時点で未実施の非臨床試験の実施を一時的に停止した(資料1-1, PMDA事前面談1回目)。

その間、合成1回目(7J7XB)、合成2回目(E5Z6K、65E3H、QV48N)、合成3回目(J2FNO)それぞれに関して、1. DSC、2. IR、3. HPLC、4. XDR、の各測定を行った(資料1-1: PMDA事前面談2回目)。

平成24年12月27日の事前面談において、7J7XBに関しては、他と結晶型が異なるが、それ以外のロットはほぼ同等と考えられた。しかし、7J7XB以外のロットにおいては、多結晶性が認められるため、安定性試験(加速試験)を行う必要のあるとの指摘があった。このため、東京化成において、25年1月より、加速試験(1ヶ月、及び3ヶ月)を追加で実施するとともに、再結晶の条件を探索することとした(資料1-4)。この結果により、PMDAの対面助言を次年度に行い、非臨床試験のパッケージを確定する計画である。

一方、非臨床試験に関しては、P092において純度(99%以上)が確保されているため、溶解したP092を用いたin vitroの非臨床試験

(Ames試験)、及びサル経口投与における脳内移行を確認するため、サル単回投与、及びサル2週間反復投与を本年度中に実施することとなった。このとき、血中濃度のみでなく、脳脊髄液内濃度、及び脳組織内濃度を測定するため、当該試験の実施計画書を一部変更した(資料2-12)。

しかし、非臨床試験の一部(安全薬理試験、カニクイザル4週反復投与、及び小核試験)の実施は、次年度に延期された。特に、安全性薬理試験に関しては、もう少し臨床用量に関連する知見が得られてから行う方が良く、とのPMDAの意見があり、これに従うこととした。これらの試験はいずれも次年度において実施予定である。

プリオン感染マウスを用いた治療実験では、9 mg/Kgの腹腔内投与で、延命効果が得られているが、医師主導治験プロトコール作成のためには、臨床用量やエンドポイントをより詳細に設定する必要がある。そのため、プリオン感染サルを用いた治療実験(P3)、及び非臨床試験(非GLP、P3)を次年度から実施する計画である。プリオンに感染した場合、脳血液関門が破壊されるため、プリオン感染サルを用いた非臨床安全性試験(P3施設)も同時に行う必要がある。これは、非GLPではあるが、長期にわたる試験(潜伏期1年半以上、治療期間半年以上)となり、P092を随時合成できる体制が必要となるため、岐阜大学内に防爆GMP準拠有機合成クリーンルーム施設をアカデミアでは全国で初めて設置し、その中で治験薬GMPに準ずる有機合成を、プリオン感染サルに用いる目的で行う体制を整備した。

更に、ラット4週間、サル2週間経口投与試験においてP092を懸濁して投与した場合、P092を完全に溶解させて投与した場合に比べて、吸収が低く、血中濃度も低いことが分かった(図1～図4)。一方、たとえ懸濁液の場合でも、2週間反復経口投与では、一部のカニクイザルの脳脊髄液内には、P092が、*ex vivo*における抗プリオン効果のIC50(～200 nM)に近い濃度で移行することが判明している(資料2-12 35頁)。従って、実際にヒトに投与する場合、適切に塩形成を行った方が安全であると考え

られた。しかし、P092の塩酸塩は結晶化しないことが分かったため、最適な有機酸塩を探索している。現状では、マレイン酸塩が比較的安定した結晶を作ることが確認されている(資料1-6)。

以上、非臨床試験に関しては、一部、計画通りに実施できなかった項目があったものの、PMDAの意見を取り入れた結果、より信頼性の高い実施が可能となり、2年後の治験相談に向けて着実にスタートをすることが出来たと考えている。

アウトリーチ活動としては、平成25年3月2日、岐阜大学駅前サテライトにおいて、市民に公開されたシンポジウム「心臓外科と神経内科における難治性疾患の克服に向けて」を開催し、当該研究内容に関わる治療薬開発の現況などに関して、国民に対する情報公開を行った。

東京医科歯科大学では、プリオン病の自然歴調査のため、患者リンパ球、血清、及び髄液の保存を行う計画である。

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、感染性があり、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、その意義は大きい。

英国では、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は、BSEにも有効であることが、*ex vivo*実験で証明されている(Kuwata et al., PNAS, 1997)。従って、本薬剤が実用化されれば、変異型ヤコブ病に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。このように、プリオン病治療薬の開発は、国際的・社会的意義が極めて高い。

プリオン病の実態は未だに謎に包まれている。病原体とされるプリオンは、主にプリオンタンパク質からなり、正常のプリオンタンパク質とは立体構造が大きく異なり、多くは凝集してオリゴマーなどを形成している。このオリゴマーの多くはプロテアーゼKに耐性があるが、プロテアーゼK感受性株も存在する。P092は、効率よくこのオリゴマー生成を抑制する。しかし、これだけでは十分ではない。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で全て失敗している。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。このことは、P092が単にオリゴマー形成を抑制するのみでなく、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もの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が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、今後の研究の進展に期待される場所である。

また、プリオンの立体構造変換を効率的に抑制できても、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予防的に投与する必要がある。

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、今後の研究の発展に大きなインパクトを与える、と考えられる。

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。P092は、その第

一号である。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研究期間内に作り上げ、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の活用が事実上開始されることになる。

JACOPでは、治験を前提としてそのための患者登録と自然歴調査を開始する予定であり、そのことのみでも十分にプリオン病の臨床病態の解明と診療向上に貢献する、と期待される。

国内外において、プリオン病の罹患率は人口100万人あたり年間1人であることが明らかになっているが、国内外を問わず、これまでにプリオン病における正確な自然歴を調査された報告はない。今回の課題の治験薬の臨床試験のためにはもちろん、プリオン病の発症機序の理解のためにも、正確な自然歴調査は必要不可欠で有り、JACOP構築の意義はきわめて大きい。

JACOPの構築により、治験に応用可能な自然歴調査のプロトコルの作成ができ、さらに調査体制、試料保存体制も整備でき、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、P092のヒトへの投与が可能となったときに、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できると期待される。

E. 結論

現時点において、計画に挙げた目標・目的は順調に達成できている。

A: P092の有機合成

1. 東京化成に委託し、製剤の確保はできている。治験薬GMPにて99%以上の高純度での合成に成功し、本年度は1000gの大量合成を行った。
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準拠防爆クリーンルームを設置することとし、今年度内の設置に向けた準備を行った。

B: 非臨床試験

1. GLP非臨床試験は、基本的に予定通り進んでいる。PMDAの事前面談を受け、有機合成手法の確認、化合物の各種検査、及び非臨床試験（GMP、及び非GMP）の整理を行った。
2. 資料2にあるように、各種項目を行った。本薬剤開発の特殊性に合わせて、一部試験計画書の変更（サル脳脊髄液内濃度測定の追加）、及び一部の実施を延期した。
3. 平成25年度にPMDAの対面助言を計画しており、非臨床試験パッケージを確定する計画である。

C: 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)を立ち上げた。
2. 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、登録準備を進めている。

詳細は資料1, 2, 3参照。

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. P092の新規結晶型に関する国際的知財権を確実に獲得する。
2. 安定性及び吸収性の高いP092結晶型（塩形成を含む）の作成、及び同等性を確保した品質の高いP092塩の治験薬GMP施設における有機合成を委託により行う。
3. PMDAと頻繁に意見交換を行い、First in Humanのために必要な非臨床安全性試験を着実に、すべて実施する。
4. Bioavailability、AUC/PK、ADME等データを基に、投与量、及びtarget血中濃度を決定する。
5. プリオン感染サルを用いた毒性試験により、臨床用量及びエンドポイントを推定する。
6. JACOPによりプリオン病患者の登録と自然歴調査を開始して、治験のための体制を整えるとともに、治験プロトコルを作成する。

7. これらを背景として、治験薬概要書、治験実施計画書、添付文書を作成し、医師主導治験プロトコルを開発する。その際、Primary End Pointは安全性に置く。
8. EDC (Electronic Data Management System)を使用する。

今後の見通しとしては、PMDAと連携しつつ、非臨床試験を行う体制が出来ており、目標の達成は十分可能である。

また、JACOPには「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班」及び「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」が全面的に協力しており、患者さんとその家族の協力さえ得られれば十分、目標である治験体制の構築は達成できる。

[参考文献]

なし

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表（2012/4/1～2013/3/31 発表）

1. 論文発表

[雑誌]

1. Le Chang, Takeshi Ishikawa, Kazuo Kuwata, Shoji Takada. Protein-specific force derived from the fragment molecular orbital method can improve protein-ligand binding interactions. *Journal of Computational Chemistry* 34(14), 1251-1257, 2013
2. T. Ishikawa, R. R. Burri, Yuji O. Kamatari, S. Sakuraba, N. Matubayasi, A. Kitao, K. Kuwata. A theoretical study of the two binding modes between lysozyme and tri-NAG with an explicit solvent model based on the fragment molecular orbital method. *Physical chemistry chemical physics* 15, 3646-3654, 2013
3. K. Takemura, R. R. Burri, T. Ishikawa, T. Ishikura, S. Sakuraba, N. Matubayasi, K. Kuwata, A. Kitao. Free-energy analysis of lysozyme-triNAG binding modes with all-atom molecular dynamics simulation combined with the solution theory in the energy representation. *Chemical physics letters* 559, 94-98, 2013
4. Mashima Tsukasa, Nishikawa Fumiko, Kamatari Yuji, Fujiwara Hiromichi, Saimura Masayuki, Nagata Takashi, Kodaki Tsutomu, Nishiwaka Satoshi, Kuwata Kazuo, Katahira

- Masato. Anti-prion activity of an RNA aptamer and its structural basis. *Nucleic Acids Research*. 41, 1355-1362, 2013
5. Takuya Okamoto, Takeshi Ishikawa, Yoshiyuki Koyano, Norifumi Yamamoto, Kazuo Kuwata, Masataka Nagaoka: A minimal implementation of the AMBER-PAICS interface for Ab into FMO-QM/MM-MD simulation. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 86(2), 210-222, 2013
 6. Yuji Kamatari, Yosuke Hayano, Kei-ichi Yamaguchi, Junji Hosokawa-Muto, Kazuo Kuwata: Characterization of anti-prion compounds according to the binding properties to the prion protein. *Protein Science*. 22(1), 22-34, 2013
 7. Ishikawa Takeshi, Kuwata Kazuo. RI-MP2 Gradient Calculation of Large Molecules Using the Fragment Molecular Orbital Method. *Journal of Physical Chemistry Letters* 3(3) 375-379 2012
 8. Kazunori Yamada, Hiroko Koyama, Kyoji Hagiwara, Atsushi Ueda, Yutaka Sasaki, Shin-nosuke Kaneshashi, Ryuki Ueno, Hironori K. Nakamura, Kazuo Kuwata, Kazufumi Shimizu, Masaaki Suzuki, Yoko Aida. Identification of a novel compound with antiviral activity against influenza A virus depending on PA subunit of viral RNA polymerase *Microbes and Infection* 14(9) 740-747 2012
 9. 桑田一夫 : 量子創薬—論理的形態制御学の原理—(Non-commutative Geometrical Drug Discovery —The Principle of Geometrical Regulation—) YAKUGAKU ZASSHI 132(8) 873-879 2012
 10. Fujita K, Harada M, Sasaki M, Yuasa T, Sakai K, Hamaguchi T, Sanjo N, Shiga Y, Satoh K, Atarashi R, Shirabe S, Nagata K, Maeda T, Murayama S, Izumi Y, Kaji R, Yamada M, Mizusawa H. Multicentre, multiobserver study of diffusion-weighted and fluid-attenuated inversion recovery MRI for the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a reliability and agreement study. *BMJ Open* 2(1): e000649, 2012
 11. Yoshikawa Y, Horiuchi M, Ishigura N, Kadohira M, Kai S, Mizusawa H, Nagata C, Onodera T, Sata T, Tsutsui T, Yamada M, Yamamoto S. Alternative BSE risk assessment methodology for beef and beef offal imported into Japan. *J Vet Med Sci* 74(8): 959-968, 2012
 12. Takumi Hori, Nobuo Sanjo, Makoto Tomita, Hidehiro Mizusawa. Visual Reproduction on the Wechsler Memory Scale-Revised as a predictor of Alzheimer's disease in Japanese patients with mild cognitive impairments. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 35(3-4): 165-76, 2013
 13. Maya Higuma, Nobuo Sanjo, Katsuya Satoh, Yusei Shiga, Kenji Sakai, Ichiro Nozaki, Tsuyoshi Hamaguchi, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Susumu Shirabe, Shigeo Murayama, Masahito Yamada, Jun Tateishi, Hidehiro Mizusawa. Relationships between Clinicopathological Features and Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Japanese Patients with Genetic Prion Diseases. *PLoS One* 8(3): e60003, 2013
 14. Sano K, Satoh K, Atarashi R, Takashima H, Iwasaki Y, Yoshida M, Sanjo N, Murai H, Mizusawa H, Schmitz M, Zerr I, Kim YS, Nishida N. Early Detection of Abnormal Prion Protein in Genetic Human Prion Diseases Now Possible Using Real-Time QUIC Assay. *PLoS One* 8(1): e54915, 2013
2. 学会発表
1. Hiromi Kuwata, Hiroyoshi Soga, Maki Shirasaka, Yukiko Komai, Kazuo Kuwata : HOME CARE OF CHILDREN WITH FOP (FIBRODYSPLASIA OSSIFICANS PROGRESSIVA) The 4th Congress of the European Academy of Paediatric Societies (EAPS) 2012年10月6日—9日 Istanbul, Turkey
 2. Tomoaki Takemura, Tomohiko Urushisaki, Yoko Araki, Kenji Ichihara, Kuwata Kazuo : Basic study on the anti-influenza effects of Brazilian green propolis extracts APIMONDIA APIMEDICA-APIQUALITY INTERNATIONAL FORUM 2012年10月22日—25日 Zhenjiang, China
 3. Yuji O. Kamatari, Yosuke Hayano, Keiichi

- Yamaguchi, Junji Hosokawa-Muto, Kazuo Kuwata : Characterization of anti-prion compounds according to the binding properties to the prion protein. The 26th Annual Symposium 8月5日-8日 San Diego, USA
4. 木村力、武藤淳二、浅見賢司、村井利昭、桑田一夫：抗プリオン化合物 GJP14 の類縁体合成と活性評価 日本薬学会第 132 年会 2012 年 3 月 28 日-31 日 北海道大学
 5. 桑田一夫：蛋白研セミナー『『蛋白質と過飽和』~Impacts of Supersaturation on Protein Science~』（オーガナイザー） 6 月 18 日-19 日 大阪大学蛋白質研究所
 6. 桑田一夫：X線回折・NMR 融合アミロイド線維イメージング X-FEL 第 1 回会合 9 月 18 日-19 日 理化学研究所 播磨研究所 放射光科学総合研究センター
 7. 桑田一夫：Relaxation Matrix and Prion 蛋白研セミナー「International Workshop on Pharmaceutical NMR-Nucleic Acids and Prion Protein-」 10 月 30 日 大阪大学蛋白質研究所
 8. 山口圭一、桑田一夫：プリオン蛋白質のアミロイド線維形成を促進する超音波パワーの評価 第 5 回タンパク質の異常凝集とその防御・修復機構に関する研究会 11 月 1 日 京都大学原子炉実験所
 9. 桑田一夫：メディカルシャペロンと抗プリオン物質の分類 「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」、「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班」合同研究報告会 1 月 21 日-22 日 アルカディア市ヶ谷
 10. 桑田一夫：治療薬開発の最前線 再生医療と創薬の最前線 第 1 回シンポジウム「心臓外科と神経内科における難治性疾患の克服に向けて」 3 月 2 日 岐阜大学サテライトキャンパス
 11. 桑田一夫：論理的創薬法の確立と抗プリオン化合物の創製 シーズ創製のための戦略的組織-人獣感染防御研究センター- 臨床研究情報センター講演 2012 年 4 月 11 日 臨床研究情報センター
 12. 桑田一夫：自己複製する蛋白質‘プリオン’の制御 日本胎盤臨床研究会招待講演 2012 年 5 月 20 日 東京ステーションコンファレンス
 13. 桑田一夫：特殊及び一般形態形成理論-非可換外科学入門- 慶應義塾大学講演 2012 年 5 月 26 日 慶應義塾大学
 14. 桑田一夫：プリオン蛋白質のコンフォメーションスイッチと核依存性複製機構 東京医科歯科大学特別講義 2012 年 6 月 19 日 東京医科歯科大学
 15. 桑田一夫：プリオン病新規治療薬 P092 の開発について プリオン病研修会 2013 年 2 月 27 日 ノーベルファーマ株式会社
 16. 桑田一夫：論理的創薬から治験薬 GMP へ 岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会 & 岐阜超高磁場 NMR 利用研究会 2013 年 3 月 21 日 岐阜大学医学部
 17. Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Hamaguchi T, Moriwaka F, Aoki M, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Takeda M, Inuzuka T, Abe K, Mrai H, Murayama S, Satoh K, Harada M, Saito N, Takumi I, Mizusawa H. Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. Asian Pacific Prion Symposium 2012, Yokohama, July 29-30, 2012.
 18. Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Sato T, Takumi I, Sannjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Prion protein propagation in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2012, Yokohama, July 29-30, 2012.
 19. Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Sato T, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Prion protein propagation in dura mater graft-associated Creutzfeldt-jakob disease. Prion2012, Amsterdam, May 10-12, 2012.
 20. Sanjo N, Ohara M, Satoh K, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H. Clinical features of genetic prion disease and cerebrospinal fluid findings in Japanese patients. Prion2012, Amsterdam, May 10-12, 2012.
 21. Mizusawa H. PrionDiseases in Japan. The 13th

Ilsong International Symposium CJD
Surveillance in Asia.,Ilsong,Feb.13,2012

22. Mizusawa H. PrionDiseases in Japan. National
for Viral Disease Control and Prevention.
Beijin.Nov.5.2011

報道

1. 岐阜大 創薬へ新施設―異常プリオン難
病治療法を試験 2013年1月18日中日新
聞朝刊
2. 「ヤコブ病」新薬開発へ―岐阜大に研究施
設開設 2013年1月24日岐阜新聞朝刊
3. 最新の研究成果紹介 難治性疾患克服

岐阜大でシンポ 2013年3月4日岐阜新
聞朝刊

4. 再生医療の最前線伝える講演会 2013年
3月3日NHK岐阜放送局

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

P092 の治療薬としての出願予定 (米国)

P092 の結晶塩に関する出願予定 (PCT)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1

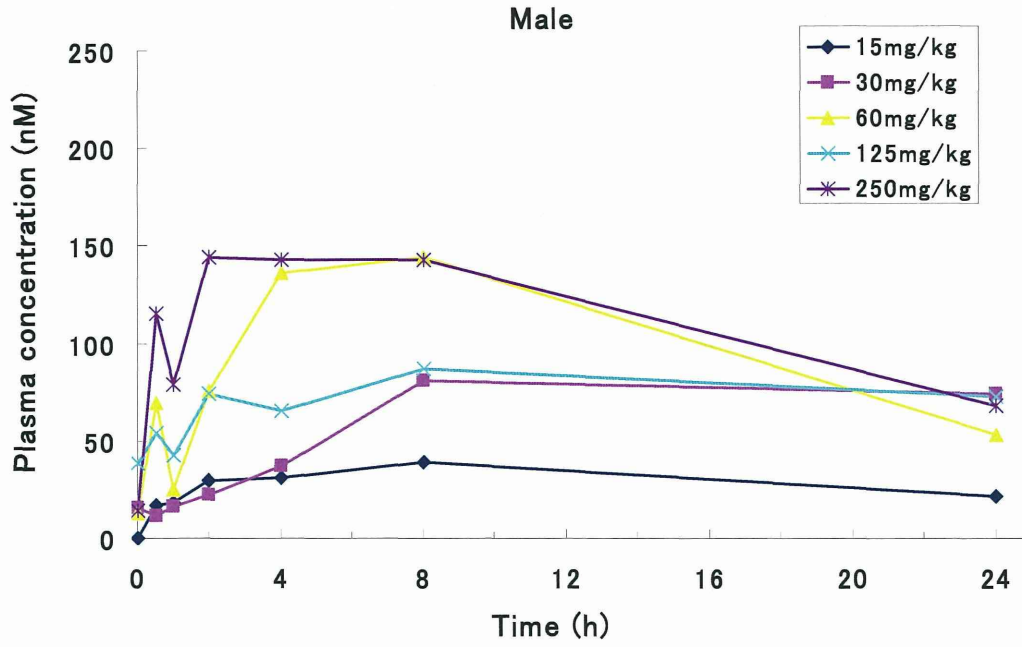
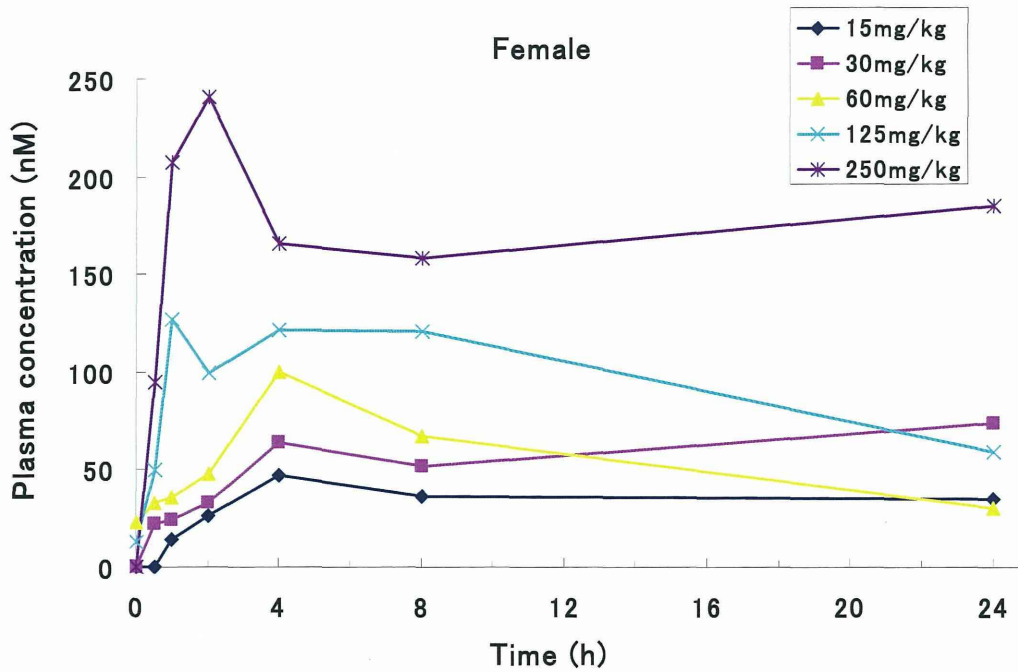


図 2



P092(塩酸塩)を完全に溶解させて経口投与した場合

図 3

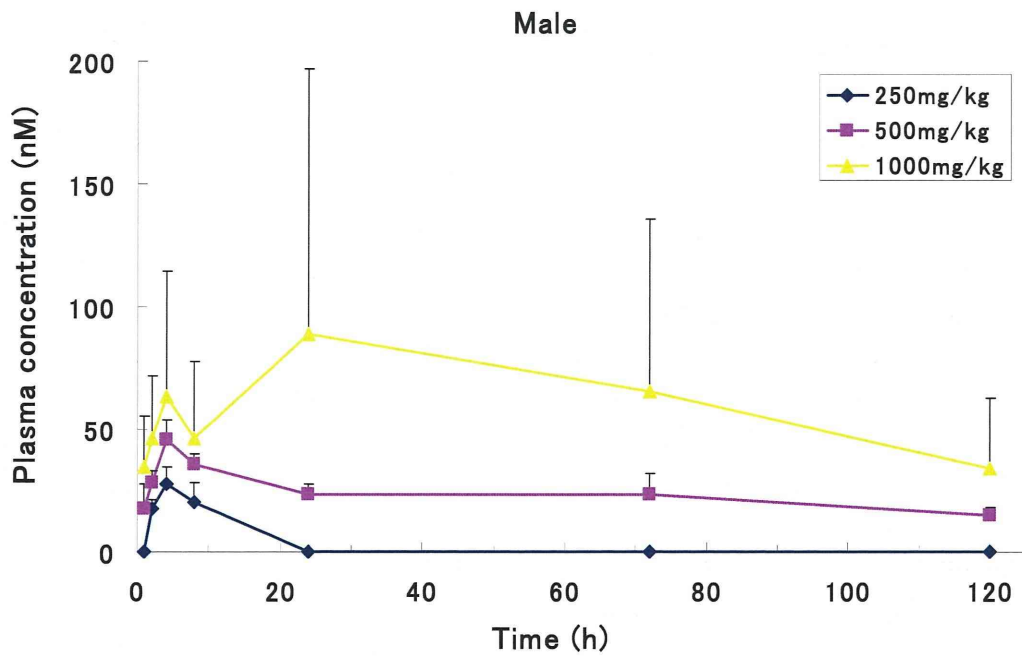
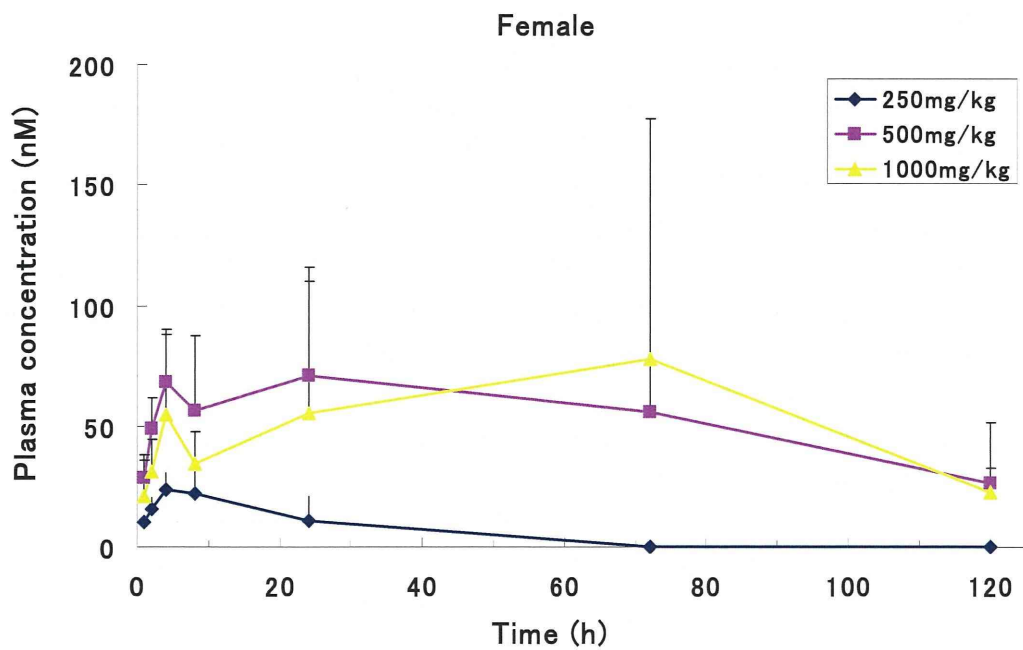


図 4



P092(フリー体)懸濁液を経口投与した場合

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 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 プリオン病は、我が国において、非典型例も含め、増加しつつある可能性もあり、確立された治療法がないことは、社会にとって大きな脅威である。本研究はプリオン病に対する低分子シャペロンをプリオン病治療薬として実用化するものであり、達成されれば国民の安心安全の確保、及び医療費の抑制につながり、厚生労働行政にも貢献できる。平成25年度は、平成24年度に引き続き、医師主導治験への移行を目的とし、被験物質P092の有機合成、プリオン感染動物の治療実験、及び非臨床安全性試験（GLP）の一部を実施した。またオールジャパンで医師主導治験を実施するための組織（JACOP）を整備し、自然歴調査を開始した。実施した研究の概要は、以下の様である。

- (1) 治験薬概要書（案）を作成した。（資料1参照）
- (2) P092の塩系結晶化試験を行い、P092に最適な塩を決定した。（資料2参照）
- (3) P092原薬の6ヶ月加速試験、P092原薬及び塩に対する過酷試験を行い、原薬の安定性を確認した。また、P092塩に対する長期の安定性試験を開始した。（資料2参照）
- (4) P092塩製造のためのGMP有機合成施設を設置し、バリデーションを行った。（資料2参照）
- (5) P092塩GMP製造のためのSOP作成を開始した。（資料2参照）
- (6) 複数の塩で、カニクイサルに経口投与、及び静脈内投与を行い、血漿中、及び脳脊髄液内濃度を測定した。（資料3参照）
- (7) 薬理薬効試験において、プリオンに感染したげっ歯類の寿命が優位に延長した条件において、P092の血漿中、及び脳脊髄液内濃度を測定した。（マウス血漿中P092濃度測定試験、ラット血漿中及び脳脊髄液中P092濃度測定試験）（資料3参照）
- (8) P092経口投与に伴うサル血漿中及び脳脊髄液中のP092濃度測定試験、P092のカニクイザルを用いた単回経口投与PK試験、P092塩経口投与に伴うサル血漿中及び脳脊髄液中のP092濃度測定試験、P092塩静脈内投与に伴うサル血漿中及び脳脊髄液中のP092濃度測定試験、P092塩のヒト血球に対する溶血性試験、P092塩のラットにおける4週間間歇静脈内投与毒性試験を行った。また、吸収・分布（ADE）試験を行う目的で、¹⁴CラベルP092塩の合成を行った。（資料3参照）
- (9) P092の投与経路として、静脈内投与とすることを確定し、治験（FIH）までに必要な非臨床試験計画を確定し、開発へのロードマップを策定した。（資料4参照）
- (10) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターP3感染実験施設において、カニクイサルを用いた薬理薬効試験を開始した。カニクイサル6頭に対し、8月21日、及び22日にBSE株を脳内接種した。（資料5参照）
- (11) 岐阜大学生命科学総合研究支援センターP3感染動物実験室において、マウスを用いた薬理薬効試験を開始した。マウス20匹に対し、2月26日に福岡株を脳内接種した。（資料5参照）
- (12) 医師主導治験（GCP）を本格的に実施するためのプロトコール作成のための準備として、患者登録及び自然歴調査を含む臨床研究体制として日本プリオン病コンソーシアム（JACOP）を中心として、自然歴調査を開始した。また、医師主導治験プロトコールの作成を開始した。（資料6参照）

- (13) P092塩の発明に対する出願を行った。(資料7参照)
- (14) PMDAにおける対面助言を実施し、原薬の塩決定、薬理試験プロトコール、非臨床安全性検査項目の妥当性、投与経路の妥当性などに関する機構の見解を得た。(資料8参照)
- (15) 最も重要な事実として、治験が開始された場合において、患者様の血液中の薬物動態を解析する手段が、これまで整備されてこなかった、ということが分かった。患者様の血中薬物動態は、基本的にP3検査室で行う必要があるが、これを行える企業は、わが国に存在しない。大学においても、P3室内にLC/MS/MSシステムを備える教室はないことが分かった。そこで、次年度以降、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科のP3実験室内(西田教授)に、LC/MS/MSシステムを整備し、治験時の薬物動態解析を行える体制を具体的に整備することとした。

以上、本研究事業が開始されてから、短期間ではあるが、プリオン病の治療を目指した薬事法及びICHに基づく治験体制が本格的に整備されることとなった。

研究分担者：水澤英洋 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学 教授
 研究協力者：三條伸夫 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学 講師
 研究協力者：山田正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学 教授
 研究協力者：浜口 毅 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学 助教
 研究協力者：岩崎 靖 愛知医科大学加齢医学研究所 講師
 研究協力者：佐藤克也 長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子 講師
 研究協力者：坪井義夫 福岡大学神経内科 教授
 研究協力者：岸田日帯 横浜市立大学付属市民総合医療センター 講師
 研究協力者：佐藤恒太 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科神経内科学
 研究協力者：犬塚 貴 岐阜大学大学院神経内科・老年学分野 教授
 研究協力者：林 祐一 岐阜大学大学院神経内科・老年学分野 講師
 研究協力者：堂浦克美 東北大学大学院医学系研究科プリオン蛋白分子解析分野 教授
 研究協力者：青木正志 東北大学大学院神経内科 教授
 研究協力者：雪竹基弘 佐賀大学神経内

科 講師

研究協力者：藤田浩司 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部臨床神経科学分野 助教

研究協力者：田中章影 横浜市立大学大学院医学研究科 神経内科学・脳卒中医学 教授

A.研究目的

本研究は、最適化を行った新規抗プリオン化合物(P092)に対し、有機合成(治験薬GMP施設)、及び非臨床安全性試験(GLP)を実施すると共に、医師主導治験プロトコールを作成することにより、薬事法に基づく承認申請を目指すものである。(P092に関する特許出願：2011-513378,PCT/JP2010/058129, 2009-118076、2014-23838)

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そのものである。治療候補物質探索が行われているが、既発表の化合物の効果は低く、脳内に移行しにくい、という共通の問題点があり、現時点においてプリオン病の確立された治療法はない。

一方、我々が開発したGN8(Kuwata et al., PNAS 2007)類縁体の構造最適化を進めた結果(Kimura et al., Bioorganic Med. Chem.

Lett. 2011)、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く(IC₅₀~200nM)、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(特願2009-218247、Kimura et al., ChemMedChem, 8, 1035-1039, 2013)。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ている(厚生労働科学研究費補助金 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24年度総括・分担研究報告書 資料2、Hosokawa-Muto et al., Drug Chem Toxicol. 2011)。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を構築した。平成25年度は、塩の決定、有機合成(治験GMP施設)、吸収試験、非臨床安全性試験、投与経路の決定、用量設定、マウスとサルを用いた薬理・薬効試験の開始、及びJACOPによる自然歴調査を開始した。平成26年度は、P092塩のGMP製造、製剤、非臨床安全性試験、薬理・薬効試験、及び医師主導治験に向けたプロトコール作成を行う。承認申請に向けたロードマップは、資料4を参照されたい。

研究班全体としては、First in Human に入るのに必要な非臨床試験項目を全て実施することにより、医師主導治験プロトコールを作成し、平成28年度に治験を開始する予定である。

非臨床試験(資料3)の実実施計画及び結果は、医師主導治験プロトコール内容に大きく影響するため、岐阜大学と東京医科歯科大学間での密な連携のもとにこれを行う。一方、クロイツフ

ェルトヤコブ病は100万人に1人の希少疾患であり、医師主導治験においては、病型の選択やエンドポイントの設定、投与時期などを慎重に考慮する必要がある。これに関しては、P092塩によるプリオン感染サルを用いた薬理・薬効試験を、医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターにおいて行っている(資料5参照)。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の投与時期、エンドポイント設定の根拠のひとつとする。また、プリオン病においては脳血液関門(BBB)が一部破壊されている可能性があるため、正常のサルのみでなく、プリオン病感染サルを用いた毒性試験が必須となる。さらに、げっ歯類を用いた薬理・薬効試験として、岐阜大学生命科学総合研究支援センター内感染動物実験室(P3)において、プリオン感染マウスを用いた治療実験を行っている。

P092塩の生産体制としては、これまで、治験薬GMP施設における高品質のP092を2kg程度安定的に製造できる体制を確立してきたが、本年度は、防爆対応GMP準拠有機合成施設を、アカデミアとして初めて設置した。今後の非臨床試験、及びやサルやげっ歯類を用いた薬理・薬効試験には、同施設を使用することが可能となった(資料4:ロードマップ参照)。一方、治験に用いるP092塩としては、次年度よりGMP製造(有機合成、及び製剤)を行う計画である。

これまでの非臨床試験、及び薬理・薬効試験から、投与経路、及び安全な臨床用量が、おおまかに分かってきた。これらの情報に基づき、医師主導治験プロトコールを決定する。希少疾患であるため、オールジャパン体制で治験を実施する必要がある。本年は、東京医科歯科大学を中心にコンソーシアム(JACOP)において、自然歴調査を開始した。海外の医療機関とも連携し、平成28年度より、年間10名程度の患者さんに対し、治験を実施する予定である。

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、人類で初めて用意周到な治療体制を確立することを目的とする。

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塩の有機合成（委託：治験GMP施設内合成）、非臨床安全性試験（GLP）を実施し、医師主導治験のプロトコール（GCP）を作成する。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相臨床試験の安全性を確保するために必要な項目を実施する。

これらの非臨床試験結果を踏まえ、医師主導治験プロトコールを作成する。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とともに、海外の医療機関とも連携する。

また当該研究は、アカデミックにおいてFirst in Humanにおいて医師主導治験を行う、貴重な試金石となり得る。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することが重要である。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う。

A:P092 の有機合成（岐阜大学）

治験GMP施設における合成:非臨床安全性試験（GLP）を行うための試験物(P092)を委託製造（治験GMP施設内）する。治験GMP施設内において合成し、製造記録、及び製品の分析を行う。またプリオン感染細胞や感染動物を用いた毒性試験を行う目的で、学内にGMPに準拠した有機合成設備を整備し、上記委託化合物の規格を満たすP092を必要に応じ随時合成できる体制を整備する。

B:P092 の薬物動態試験、及び非臨床安全性試験（GLP）（岐阜大学）

薬物動態試験（TK）、及び非臨床安全性試験（GLP）を、委託により実施する。試験内容に関しては、PMDAによる事前面談を実施し、その指導に従う。

- ① P092経口投与に伴うサル血漿中及び脳脊髄液中のP092濃度測定試験
- ② P092のカニクイザルを用いた単回経口投与PK試験
- ③ P092塩経口投与に伴うサル血漿中及び脳脊髄液中のP092濃度測定試験
- ④ P092塩静脈内投与に伴うサル血漿中及び脳脊髄液中のP092濃度測定試験
- ⑤ P092塩のヒト血球に対する溶血性試験、P092塩のラットにおける4週間間歇静脈内投与毒性試験
- ⑥ 14CラベルP092塩の合成

C:医師主導治験プロトコールの作成（東京医科歯科大学）

厚生労働省難治疾患克服研究事業「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班(代表者):水澤英洋 教授」の関係者を中心に協議を進め、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)を立ち上げ、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開始し、登録準備を進める。

（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、必要に応じ申請予定）。

本研究における細胞感染実験、動物感染実験は、岐大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）（資料5参照）。

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。被験者の人権、安全及び福祉の保護のために、治験の科学的な質と信頼性を確保する。このため医師主導治験においては、厳密にGCPに準拠してプロトコールを作成する。

C. 研究結果

- ①まず、P092における塩の種類を決定した。約20種類の塩を検討した結果(資料7参照)、最終的に、マレイン酸が適当であることが判明した。マレイン酸塩の過酷試験等も行い、安定であることが分かった(資料2参照)。
- ②P092マレイン酸塩の合成ルート(4ステップからなる)を確立し、規格(案)を作成した(資料2参照)。
- ③GMP準拠防爆有機合成施設を設置し、バリデーションを行った。次年度より、PQを開始する予定である。
- ④P092のGMP合成のためのSOPの作成を開始した(資料2参照)。
- ⑤カニクイサルに経口投与、静脈投与試験を行い、血中濃度を調べた(資料3参照)。P092マレイン酸塩の経口投与(250 mg/Kg)では、 $C_{max}=10.7 \text{ ng/mL}$ 、 $AUC=86.2 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ であった。一方、10 mg/Kgの静脈内投与では、 $AUC=434 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ であった(表1)。
- ⑥ プリオン感染マウスに対して延命効果が認められた用量(腹腔内投与10mg/Kg/Day, 28 days)と等しい条件における血漿内濃度、及び脳脊髄液内濃度を調べた結果、おおよそ10 ng/mLであると考えられた(表2)。
- ⑦ ヒト血球に対する溶血性試験を行った結果、0.1 mg/mL以下では溶血しないが、0.2 mg/mL以上では、溶血性があることが分かった(資料3参照)。
- ⑧ これらの結果を総合的に勘案した結果、治験においても静脈内投与を行うことで、研究者間で合意をした。経口投与等は、静脈内投与の有効性を確認した後に取り組む。
- ⑨ 投与経路、及び動物実験での有効用量が確認されたことから、治験までに必要な非臨床試験を確定し、開発へのロードマップ

を策定した(資料4)。

- ⑩ 医薬基盤研究所霊長類医学研究センターP3感染実験施設において、カニクイサル6頭を用いた薬理薬効試験を開始した。昨年8月21日、および22日にBSE株を脳内接種したが、本年3月の時点においても、症状はなく、順調に成長しているところである。これまでの動物実験結果から、潜伏期として約1年半が見込まれるので、発症は26年末か、27年に入ってからと予想される(資料5参照)。
- ⑪ 岐阜大学生命科学総合研究支援センターP3感染動物実験室において、マウスを用いた薬理薬効試験を開始した。マウス20匹に対し、2月26日に福岡株を脳内接種した。現在まで、感染による症状は見られない(資料5参照)。
- ⑫ 医師主導治験を本格的に実施するためのプロトコール作成のための準備として、JACOPを中心として、自然暦調査を開始した(分担研究報告書(水澤英洋)参照)。また、医師主導治験プロトコールの作成を開始した(資料6)。
- ⑬ P092塩の発明に対する特許出願を行った(資料7参照)。
- ⑭ PMDAに対する対面助言を実施し、機構の見解を得た(資料8)。

PMDAの見解の要旨

I 第一相試験の対象は亜急性または、緩徐進行性とする。

本剤の第I相試験においては、急速進行型の患者を対象とする場合、本薬投与に起因する有害事象が病態によりマスクされる可能性について十分に考慮する必要がある。

II この場合、サルでの9ヶ月の長期毒性試験が必要。

本剤の臨床試験の対象が、急速進行性のプリオン病患者(孤発性CJDなど)である場合は、抗悪性腫瘍の非臨床評価に関するガイドライン(ICH S9)の進行がん患者を対象とする規定に準じて、3ヶ月間の毒性試験が必要である。また、亜急性または緩徐進行性のプリオン病患者(遺伝性CJDなど)を含める場合は、サル