

## プリオン病治療薬開発合同会議（第6回）議事録

【日 時】：2014年8月26日（火）、14時～16時

【場 所】：岐阜大学連合創薬医療研究科会議室

### 【出席者】：

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科：桑田先生、福岡氏、松崎氏

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科：西田先生

千葉科学大学 危機管理学部 動物危機管理学科：小野先生

医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター：柴田先生

㈱LSI メディエンス（以下、LSI）：大西氏、牧之段氏、曾田氏

積水メディカル㈱：鈴木氏

POC クリニカルリサーチ㈱（以下、POC）：瀬川氏

東京化成㈱：小野氏

ノーベルファーマ㈱（以下、NPC）：塩村、西垣（文責）

【不参加】：東京医科歯科大学（三條先生、石村氏）、日本 GMP 支援センター（平野先生）、  
富士薬品㈱

### 【議題】

1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生）
2. カニクイザルプリオン病モデルサルの病態解析（小野先生）
3. RT-QuIC法を用いたプリオンの定量評価（西田先生）
4. ADME・安全性試験に関する現況報告（LSI／牧之段氏）
5. 原体製造の契約締結のスケジュール確認（積水メディカル/鈴木氏）
6. 自然歴調査の現況報告（事務局から報告）

《次回開催》 10月8日（水）、12時30分～14時30分（NPC）

《次々回開催》 11月4日（火）、14時～16時（岐阜大学）

### 【報告内容】

1. サル感染モデル試験の現況報告（岐阜大学/桑田先生、基盤研/柴田先生）  
未投与群の1頭に痙攣が発現した。
2. カニクイザルプリオン病モデルサルの病態解析（小野先生）
  - カニクイザル感染モデルでは従来から古典的 BSE（以下、cBSE） と L 型 BSE（以

下、 $\lambda$ BSE) の両者を用いている。

- cBSE モデルでは経口投与と脳内接種の 2 経路で行っている。  
経口投与では接種後 10 年経過し症状は発現していないが、脳脊髄や他の臓器に異常プリオン蛋白の蓄積を確認している。脳内接種系では安定したモデルが構築されている。 $\lambda$ BSE でも同様に行い cBSE に比べ神経症状が若干異なっているが、cBSE はヒトの vCJD、 $\lambda$ BSE はヒトの sCJD に近似したモデルとして確立しつつある。
- これまでの成績から、 $\lambda$ BSE モデルがヒト CJD の病態により近く短期間で発症する。
- これらのモデルに共通した症状として、振戦・ミオクローヌス・麻痺がみられ、cBSE では驚愕反応が、 $\lambda$ BSE では驚愕反応は弱いものの認知障害もみられている。
- 岐阜大学依頼の試験では接種後 1 年経過の段階で、No2、No3、No4 には特に異常はみられていない。No.6 は先述（柴田先生報告）の痙攣発現。

以下、スライドを示しながら研究内容を説明された。

- 本モデルの初期症状は四肢振戦であり、その症状の発現が本薬投与のタイミングと考えている。神経症状に加え認知機能の評価が重要と考え、その検査法として食物回収試験を用い、運動機能と認知機能の低下を併せて観察する。  
cBSE 初代モデルにおいて、指迷路試験を含め多くの検査を行い、発症初期までは高い正解率を示していたが、急激に正解率が低下した。また、運動機能障害が観察できるアップルテストでも動作時間の遅延が認められた。
- 今回行う検査ではアップルテストとともに、高次脳機能検査として食物回収試験を用い、短期記憶及び空間認知能を評価する。  
評価法は蓋をした 9 つの穴に入れたリンゴを取る過程でのエラー数を解析する。現在、解析中であるが、カニクイザルの場合、ニホンザルに比べて、行動実験に対するモチベーション維持が低い傾向があるため、途中経過時間（8 個のリンゴ獲得）と完結するまでのエラー数についても解析を行っている。  
以前の感染実験においては、cBSE は神経症状がみられているにも拘わらず本検査では良い成績を示しているが、 $\lambda$ BSE では顕著な神経症状が認められないにも拘らず検査に対する興味消失もしくは、作業手順の忘失が認められた。
- 先述した様に、本剤投薬のタイミングは、神経症状と認知機能を経時的に観察しつつ判断する。脳波は低振幅化するので指標となり得るが、今回は未実施。また、両モデル系とも安楽殺後の脳 MRI 画像解析とともに、脳内空胞変性、プリオン沈着およびグリア増生の病理所見について解析評価できる画像解析システムを検討していく。
- 臨床症状の進展を観察するためにも経時的な MRI 解析が有用であり、P2 レベルでは実施可能であるが、現時点 P3 では承認を得られていない。

Q (桑田先生) : 空胞の数は自動計測か。連続切片の測定は可能か。

A (小野先生) : 数と面積を自動計測するが、連続切片ではなく現時点十数枚の切片で行っている。

Q (西田先生) : 発症の基準は初発症状なのか。発症に個体差はあるのか。

A (小野先生) : 神経症状であるが、症状の発現には個体差がある。明らかな神経症状、例えばアップルテストを用いた場合、リンゴを採る際の指先の震えが観察できるが、震えがみられない場合、併行して実施する検査で精神行動異常や認知機能低下を観察し、後からみれば「あの時期に発症した」と設定できる。しかし、ヒトの場合はその判断が難しいと思う。認知機能が先行して低下すれば発症時期の推定は可能だが、発症時期を確定するためにも何らかの評価基準を決める必要があり、現在パーキンソン病の評価 (UPDRS) のサル版 SUPDRS のプリオン病版を作成中。

西田先生 : 薬剤の治療効果を検討するためにも、評価項目の重症度分類が不可欠で、その評価を用いれば発症前でも規定できるので評価が可能である。

小野先生 : パーキンソン病の評価をサル用に改変しスコア化する。

### 3. RT-QuIC 法を用いたプリオンの定量評価 (西田先生)

RT-QuIC (Real Time Quaking Induced Conversion) : 異常プリオン蛋白を 48 時間内に増幅し検出する方法

- プリオン病に対する重要な課題は早期診断であり治療効果の評価である。発症後に確定診断してから治療薬を投与して殆ど効果はない。バイオマーカーは治療効果の判定に意義がある。バイオマーカーの研究目的は、早期診断と治療効果の客観的評価である。
- 日本のサーベイランス委員会では年間 150 例程度のプリオン病患者を把握しており、殆どが登録できている。当教室では“probable”例を含め年間 500 例程度のプリオン検査を行っている。
- 当研究室でも 14-3-3 蛋白、タウ蛋白、NSE、S-100 蛋白をバイオマーカーとして測定しているが、このうち、14-3-3 蛋白では感度 91%、特異度 79%、タウ蛋白では感度 88%、特異度 85%であり、いずれも尤用度はよいが特異度が 90%に達していない。一方、NSE や S-100 蛋白では、感度がそれぞれ 72%、35%、特異度が 75%、80%である。これらの成績から、プリオン病のバイオマーカーとしては、髄液中 14-3-3 蛋白は有用と考えるが特異性に劣ることから、確定診断のためには異常プリオン蛋白を検出することが重要である。
- しかし、異常プリオン蛋白は ELISA 法、ウェスタンブロット法などの通常の方法では検出できないので、我々は異常プリオン蛋白を効率よく増幅する方法を開発し、髄液中の微量の異常プリオン蛋白が検出可能となった。ただ、分析精度を高めるためには、従来法である超音波を用いた異常プリオンの増加させる方法では不確実で

あるため、遺伝子組換え型“正常プリオン”を利用する定量法に成功している。

以下、スライドを示しながらアッセイ法の詳細を説明された。

- 当研究室の RT-QuIC 法でプリオン病と推察することは可能であり、感度では他のバイオマーカーには若干劣るが、特異度ではほぼ 100%の成績が得られている（検体数 300 例）。このうち偽陽性は 4 例のみ（神経梅毒 1 例、脳卒中後の高齢の癲癇症例 2 例、橋本脳症 1 例）で、陽性反応を示した原因は不明。
- 早期診断に関する研究は現在 8 例で進行中。その髄液の採取時期の前後で陽性反応はみられている。
- SD50(シード活性を示す濃度)を用いれば、RT-QuIC 法での定量評価はハムスターでは可能であるが、ヒト髄液では現在検討中であるものの可能性は高いので、併行してヒト臓器の検討も考えている（因みに、患者臓器の成績から大腸以外の消化管でプリオンの活性がみられている）。
- 先述したように本法は、これまでの検査法のなかでヒトプリオン病の診断法に対し特異度は一番高く定量的評価も可能であるので、①早期診断に利用できるか、②治療評価に利用できるか、③臓器や髄液ではなく血液試料から評価可能となるかが今後の課題である。
- 種別間の BSE ではいずれも問題なく反応するが、ハムスターとウシ間では反応せず。この原因解明することがプリオン病発症の鍵になるように思われる。
- 鼻粘膜からのプリオン蛋白の検査（嗅神経の直接ブラッシング）は 1 年程度前から海外で報告されており、体液からの検査よりは精度は高く確定診断には適しているが、早期診断に用いられるか未確定である。なお、唾液や涙液を用いた検討も行われている。

#### 4. ADME・安全性試験に関する現況報告（LSI）

[<sup>14</sup>C]P092 をサルに単回静注した時の組織分布の成績を報告した(n=3)。

- 放射能濃度はラットでは血液中濃度は血漿濃度より約 10 倍高値であったが、サルでは 2 倍程度の差であったので、サルの場合、薬物濃度は血漿を用いても問題はない。
- 投与後 168 時間の排泄量は尿中で 9%、糞中で 30%であり呼気中には排泄なし。主排泄経路は胆汁排泄である。
- 組織中濃度は、肺、腎臓、副腎、脾臓に多く分布している。対数表示では血液と脳が同程度分布している。しかし、血液や血漿では分布量が経時的に低下するのに対し、脳内組織では変化がみられない。
- 単回投与にも拘らず、本剤は長時間にわたって多臓器に分布しているが、これが未変化体か代謝物かは今後の検討を待つ。
- 今回の成績のように長く貯留する薬剤は LSI として経験がなく、強いて挙げれば再

生医療領域の化合物である。この成績から推察すれば血中の半減期は 1 週以上である。また、脳に限局すれば 168 時間経ても減少しておらず、他臓器からの移行の可能性も考えられる。

- 1 mg/kgの投与で脳内濃度は 100ng/mL 程度と計算されることから、サル感染モデル (10 mg/kg投与) では 1000ng/mL、IC<sub>50</sub> の倍以上が脳内移行していると想定される (桑田先生)。
- 基盤研で行っている試験では既に 3 週を経ており、LSI の成績からサルの脳内に多量に蓄積していることが想定されるが、症状には現れていない (小野先生)。

#### 5. 自然歴調査の現況報告 (事務局から代理で報告)

参加施設 : 58(±0)、手続済施設 : 24(+4)、参加研究者 128(+6)、登録症例数 : 8 例(+1)。

8 例のうち死亡 2 例、無動性無言 2 例。

#### 6. 原体製造のスケジュール

岐大との委受託契約、暫定規格設定や原体製造に係るスケジュールに変更はない。

以上

## プリオン病治療薬開発合同会議（第7回）議事録

【日 時】：2014年10月8日（水）、12時30分～14時

【場 所】：ノーベルファーマ株式会社 2A 会議室

### 【出席者】：

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科：桑田先生

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科：西田先生、佐藤先生、布施先生

㈱LSI メディエンス（以下、LSI）：大西氏、中井氏、大塚氏、曾田氏

積水メディカル㈱：東山氏、鈴木氏

POC クリニカルリサーチ㈱（以下、POC）：坂井氏

東京化成㈱：小野氏、玉之内氏

ノーベルファーマ㈱（以下、NPC）：塩村、越阪部、西垣（文責）

【不参加】：東京医科歯科大学（三條先生、石村氏）、日本 GMP 支援センター（平野先生）、  
富士薬品㈱

### 【議題】

1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生）
2. ADME・安全性試験に関する現況報告（LSI）
3. 関係各社の進捗状況報告
4. 自然歴調査の現況報告（事務局から報告）
5. RT-QuIC 法を用いた BSE 発症サルプリオンの脳組織、髄液の定量評価（布施先生）

《次回開催》 11月4日（火）、14時～16時（岐阜大学）

《次々回開催》 12月5日（金）、17時～18時（長崎大学熱帯医学研究所1階大会議室）  
（長崎大学で開催されるプリオンミーティングの1セッションとして開く）

### 【報告内容】

シンポジウム「革新的医療研究開発での挑む神経変性疾患—プリオン病治験体制の確立、  
（平成27年2月14日、名古屋国際会議場）について桑田先生より紹介。

1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生）
  - 1) 前回報告のあった症状やその後に足の痙攣、舌が出るなども見られたが、いずれの症状も単発であることから、疾患に因るものではないと判断している。

- 2) P092 静注開始後 4 か月経過し、静脈に硬化がみられ静注し難くなっており、薬液が血管から漏れることもあり、週 1 回投与から 2 週に 1 回投与に変更した。投与量も 10 mg/kg から 2 mg/kg に減量した。
- 3) BSE 接種後約 1 年 2 か月経過しているため、間もなく症状発現するものと期待する。

## 2. ADME・安全性試験に関する現況報告 (LSI)

- 1) ラット・サル予備試験は終了
- 2) 代謝物の内訳を検討する試験は岐阜大学と契約中。
- 3) サル 4 週毒性試験に向け、投与液量をどこまで上げられるか薬液濃度の検討中。
- 4) サル 9 カ月毒性試験のスケジュール案を検討する。

## 3. 関係各社の進捗状況報告

- 1) 積水メディカル：原薬製造に関する契約は 9 月末完了し、製造準備に入っている。11 月には non-GMP 製剤 300g 合成する。
- 2) 東京化成：原薬の 6 か月安定性試験では特に問題はなし。
- 3) POC：9 月 30 日に臨床試験計画書原案を岐阜大学に提出した。今後専門医の監修を受け、来年 3 月までに確定する。現在は三條先生が原案をチェックしている。臨床試験計画書の概略を次回会議に提示する (NPC が用意する)。
- 4) 来年度からの治験薬製造に向けて、富士薬品に会議参加を再依頼する。

## 4. 自然歴調査の現況報告 (事務局の代理報告)

参加施設：58(±0)、手続済施設：44(+20)、参加研究者 130(+2)であり、登録症例数は 8 例(±0)で、各患者の病状等の進展に大きな変化はない。

登録患者の重症度評価 (17 項目) を「電話調査」と「医師診療」で比較したが、両者が一致したものが 7 項目、不一致が 6 項目、不明が 4 項目であり、「電話調査」は現段階では正確性に欠け工夫が必要。

佐藤先生：自然歴調査は登録症例の病型を統一しないと成績として難しいのではないかと。すなわち、緩徐に進行する GSS102 が中心になると、個体差が大きい V180 では大きく成績は異なる。もし、GSS を集めるのであれば、九州地区が中心になるが、現在の自然歴調査では関東の施設が多いので、拠点を 2 か所にするとも考えられる。

以下、九州地区の代表と思われる施設 (医師) を挙げられた。

- ・福岡大学 (坪井義夫先生)
- ・国立大牟田病院
- ・柳川リハビリテーション病院 (重森稔先生)
- ・鹿児島大学 (高嶋博先生)

今後、P092 の治験実施にあたり、研究班、特に中心となる治験を熟知した医師の設定が重要である。

5. RT-QuIC 法を用いた BSE 発症サルプリオンの脳組織、髄液の定量評価（布施先生）

スライドを用いて研究成果の中間報告があった。

- 1) サル感染モデル試験から得られた髄液を用いた定量法、薬物濃度測定などの測定条件の設定を検討している。現段階では髄液（量、濃度）の条件を種々変更し検討しているが、特異的な反応系が観察されていない。
- 2) 今回の髄液での検討で明らかな反応が見えなかったのは、提供試料が BSE によることに起因することも考えられる。今後は血液サンプルについても検討する。
- 3) プリオン蛋白の検出は脳生検を用いた脳組織であれば検出可能性は高いが、臨床試験では難しいことが今後の課題。

以上



## プリオン病治療薬開発合同会議（第8回）議事録

【日 時】：2014年11月4日（火）、14時～15時30分

【場 所】：岐阜大学医学部本館1階 小会議室 AB

### 【出席者】：

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科：桑田先生、福岡氏

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科：新先生、布施先生

日本 GMP 支援センター：平野先生

㈱LSI メディエンス（以下、LSI）：大西氏、中井氏、曾田氏

積水メディカル㈱：小林氏、鈴木氏

POC クリニカルリサーチ㈱（以下、POC）：坂井氏、瀬川氏

東京化成㈱：小野氏

ノーベルファーマ㈱（以下、NPC）：塩村、西垣（文責）

【不参加】：東京医科歯科大学（三條先生、石村氏）、富士薬品㈱

### 【議題】

1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生、福岡氏）
2. ADME・安全性試験等の関係各社の進捗状況報告
3. 自然歴調査の現況報告（事務局から報告）
4. 第Ⅰ相/第Ⅱ相 医師主導型治験試験計画書素案の報告（事務局から報告）

《次回開催》 12月5日（金）、17時～18時（長崎大学熱帯医学研究所1階大会議室）

参加予定：三條先生、大塚氏・中井氏・曾田氏（LSI）、市東氏・鈴木氏（積水メディカル）、小野氏（東京化成）、瀬川氏（POC）、塩村・西垣（NPC）

《次々回開催》 2015年1月13日（火）13時～15時（ノーベルファーマ㈱ 2A会議室）

### 【報告内容】

1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生／福岡氏）

- 1) 対照群、P092 前期投与群（症状発現前）、P092 後期投与群（症状発現後）の各群 2頭中 1頭の計 3頭に、「舌が出る」、「手足の震え」、「落ち着きのなさ」など何らかの症状が見られている。
- 2) 上記のどの症状が疾病に起因するのか判断が難しく、その症状も一過性であるため、当試験責任者の小野先生の判定ではいずれも本疾患に因るものとは判定していない。

#### 《LSI コメント》

LSI では上記症状は経験的に観察していないので、本疾患由来ともいえるが P3 の飼

育環境によるストレスとも考えられる。

- 3) 今回の試験では、水澤先生がヒトプリオン病に利用している評価スコアを用い観察しているが、サルの場合は認知所見は評価不能であるため全体評価は難しい。
- 4) No4 のサル（症状発現前 P092 投与群）に、静注による影響のためか左手に軽度麻痺が観察されている。
- 5) 本剤投与開始 3 か月後、局所血管組織の硬化（駆血しても静脈が怒張せず）が観察されたので、週 1 回投与から 2 週に 1 回投与に、投与量も 10 mg/kg から 2 mg/kg に変更した。なお、薬液容量は変えず薬液濃度を変更している。これにより、硬化所見に改善が見られている。
- 6) 上述の様に発現症状や発現のタイミングなどが不確定であるので、P092 後期投与群（症状発現後）の具体的な投与方法は確定していない。

《長崎大布施先生コメント》

前回のサル感染モデル試験でも今回と同様の試験経過であったのか

⇒前回試験では発症は BSE 接種後 1 年 2 か月で、主な症状は「痙攣」であった。今回の試験では明確な症状発現が遅いと思われる（桑田先生）。

《桑田先生コメント》

霊長類研究センターの P3 施設では来年度は 20 頭のサル（本年度 6 頭分と併せて）の使用が可能となるので、14 頭を用いて行う薬理試験デザインを考える。

## 2. 関係各社からの現況報告

### 1) LSI（安全性試験・ADME 試験／中井氏）

サル単回投与での代謝物の検討や HPLC 分離条件を検討しているが、未変化体はほとんどない。次回成績を提示する。

### 2) 積水メディカル（原薬製造／小林氏）

#### ① 11/4 より non-GMP 原薬の製造開始。

12/8 に non-GMP 原薬全製造が完了、12/18 に諸検査終了後、LSI に 12/20 送付する予定。

#### ② 受入試験にエンドトキシンと残留溶媒を項目に追加した。

#### ③ 上記 1stLot の企業間送付方法・送付時期を検討するが、手続き方法を岐大調達担当官と確認する（岐大担当官が考える資料・試料の送付時期は契約通り nonGMP の 1Lot、GMP2Lot が完了した段階）。

### 3) 東京化成（原薬安定性）

本剤原薬に吸湿性が若干認められるので、原薬包材を検討し指図書を積水メディカルに提供する。

## 3. 自然歴調査の現況報告（事務局の代理報告）

参加施設：58(±0)、手続済施設：44(±0)、参加研究者 133(+3)であり、登録症例数は 8 例(±0)である。1 例が無動性無言となり、家族の意向により倫理審査未申請施設に転院したため調査中止となった。

《桑田先生コメント》

無動性無言になる症例の取り扱いは自然歴調査や治験でも難しい。無動性無言をエンドポイントとすることも検討課題である。



自然歴調査\_修正版.pdf

#### 4. 第 I 相/第 II 相 医師主導型治験試験計画書素案の報告（事務局から報告）

投与量・投与方法・投与期間は今後の安全性試験、ADME 試験、サル薬理試験の成績によって変更が生じることを前提に立案した。

- 1) 種々バイオマーカーと臨床評価スコアが設定されているが、どのバイオマーカーが利用可能なのか、そのマーカーのバリデーションの有無、バリデーションがない場合には実施期間の新たな設定が必要となってくる。
- 2) 検体採取の方法（鼻粘膜採取）についても検討する必要がある。

《桑田先生コメント》

滋賀医大遠山教授がアルツハイマー患者の鼻粘膜から Aβ を測定する臨床試験を行っているので、その採取方法を聴取する。

- 4) バイオマーカーや評価方法に加え、対象患者（特に病型）、選択基準や除外基準の設定がキーポイントであり、そのためには臨床医による KOL からの意見聴取、臨床研究班の構築が求められる。本試験開始までのスケジュールを設定する。
- 5) 本試験終了後に継続投与が可能にするために、長期投与試験についても今後検討する。

《長崎大学コメント》

バイオマーカーとして確実に測定できるのは 14-3-3 蛋白であり、鼻粘膜からの検体での測定は行っていないので今後の検討課題である。

長崎大で血液中の薬物濃度の測定は可能となった。



P092医師主導型治験実施計画書案\_修正.pdf

以上

## プリオン病治療薬開発合同会議（第9回）議事録案

【日 時】：2014年12月5日（金）、16時30分～17時45分

【場 所】：長崎大学熱帯医学研究所大会議室

### 【出席者】：

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科：桑田先生、福岡氏

東京医科歯科大学病院神経内科：三條先生

㈱LSI メディエンス（以下、LSI）：大塚氏、中井氏、曾田氏

積水メディカル㈱（以下、積水）：市東氏、渡邊氏、鈴木氏

POC クリニカルリサーチ㈱（以下、POC）：瀬川氏

東京化成㈱：小野氏

ノーベルファーマ㈱（以下、NPC）：塩村、西垣（文責）

【不参加】：日本 GMP 支援センター、富士薬品㈱

### 【議題】

1. P092 プロジェクトの関係者と役割説明（事務局）
2. 2014年12月24日開催のサイトビジットに向けて（桑田先生）
3. 自然歴調査の現況報告（三條先生）
4. 関係各社の進捗状況報告
  - 1) LSI：<sup>14</sup>CP092 マレイン酸塩の代謝物組成分析（予備試験）
  - 2) 東京化成：原薬の長期安定性試験（中間報告）
  - 3) 積水：nonGMP 及び GMP 原薬の製造スケジュール
  - 4) POC：試験成績報告書及び治験薬概要書の2014年度末までの作成スケジュール

《次回開催》 1月13日（火）、13時～15時（ノーベルファーマ㈱2A会議室）

参加予定：三條先生、大西氏・中井氏・曾田氏（LSI）、鈴木氏（積水メディカル）、  
小野氏（東京化成）、瀬川氏（POC）、塩村・西垣（NPC）

### 【報告内容】

1. P092 プロジェクトの関係者と役割説明（事務局）

関係者の P092 プロジェクトに係る担当業務を提示した。



P092研究開発関係  
者.pptx

## 2. 2014年12月24日開催のサイトビジットに向けて（桑田先生）

- 1) サイトビジットの報告内容及び各試験スケジュール案（一部）の紹介。
  - 本研究班は、主研究者が桑田教授、分担研究者が東京医科歯科大水澤教授（現、国立精神神経医療研究センター病院(以下、NCNP)病院長)、長崎大西田教授他、多くの研究者によって構成されている。
  - 対象疾患は **Probable** と診断される遺伝性プリオン病患者、効果判定項目は延命効果、**Prion disease rating scale**、**CFS** 検査、**MRI** などを用いる。希少疾病であることから優先審査制度を利用する予定。
  - 岐阜大学内で有機合成施設が立ち上がり合成開始。**GMP** 対応施設も設置する。
  - その他、非臨床試験（安全性試験、**ADME** 試験、薬効薬理試験等）の進捗状況を報告。なお、プリオン感染マウス試験（岐阜大内 **P3** レベル）を実施中である。
- 2) 物質特許の成立
  - **GN8** に係る標識化合物及び前駆体（含、**P092**）、プリオン蛋白の構造変換抑制作用
  - 抗プリオン化合物のマレイン酸塩及びその製造方法（**JST** による支援）付帯条件；非臨床の安全性試験を十分検討すること。
- 3) 2月14日（土）開催のシンポジウム（於、名古屋国際会議場）の案内  
『革新的医療研究開発で挑む神経変性疾患—プリオン病治療体制の確立に向けて—』

## 3. 自然歴調査の現況報告（三條先生）

- 1) 自然歴調査は、水澤先生を責任者とし東京医科歯科大学が事務局を担っていたが、水澤先生の NCNP への異動に伴い、事務局も NCNP に併設。調査自体は医科歯科大でも行う。
- 2) プリオン病の年間発症患者数は約 200 名であるが、登録状況は以前から大きく増えていない。登録施設も 60 施設程となりこの状況で治験の施設に移行する予定。但し、現時点関西地区の研究班登録がない(理由不明)。
- 3) 現在の登録症例でも見られるように、「Probable」の症例の登録では症状が進行しており自然歴調査の観察が十分にできない。症状の早い段階から登録をする手段を考えなければならない。
- 4) 登録施設に関する問題に対しては、
  - 参加施設や研究員の増加に努める。
  - 各施設の臨床研究倫理審査の申請支援を行えるセントラル ERC (Ethics Review Committee) が必要 (NCNP が中心に活動する予定)。
- 5) 一方で、「Probable」症例では自然歴調査が難しいので、遺伝性プリオン病（緩徐進行型の **MM2C**(皮質型)) の集積が望ましいと考える。
- 6) 現在の医療制度下では、当該患者の長期追跡調査が難しく、患者はいるが登録でき

ないという状況も考えられる。

(Q;佐藤先生) :

- ① MMC2C を治験の対象に組入れるには全体の情報が十分とは思えない。
- ② 当該患者は通常研究班の病院で診断した後、近医に患者を戻すことにしており、フォローができない。

(A;三條先生) :

- ① 現時点 MMC2C も対象の一病型として考えている段階であり検討中。
- ② 当該患者に対しては、登録された治験期間中だけでなく全経過観察が必要であるが、殆どの病院はこれができない。また、追跡データには剖検調査も必要であり、剖検まで可能な施設は極めて少ない。

(Q;小野先生) : 治験症例で登録での一番早いステージの重症度か

(A;三條先生) : 「Probable」の診断がついて初めて治験対象となるので、既に症状が進行している。個人的見解としては「Probable」でもコミュニケーションが図られる患者などを想定している（例えば MM2C 患者）。

なお、MM2C の診断基準は金沢大学が中心となって策定中であり、感度・特異度が満たされれば採択となると思う。

(Q;塩村) : 登録症例の少ないことに関し、患者自体がないのか／患者はいるのか

(A;三條先生) : 患者はいるが、当該疾患のような難病は研究班施設で診断し、近くの病院に帰す。この場合、近医施設で倫理委員会に申請しなければならない。構造的問題である。

(Q;佐藤先生) : 治験期間を 3～6 か月と決めれば診断した施設でフォローできるが、期間不定の継続投与となると、施設変更の問題は必ず起こるので、治験期間を決めた方が良い。但し、施設自体も入院期間が決まっている。

(A;桑田先生) : 治験病床で有れば入院期間は融通可能ではないか⇒確認

(A;三條先生／佐藤先生) : 自然歴調査では研究費の中から調査費として各研究者に補助している。一方で、研究者が登録するとその施設に患者が集中するため、施設側が拒否する背景も考慮する必要がある。

#### 4. 関係各社の進捗状況報告

##### 1) LSI :<sup>14</sup>CP092 マレイン酸塩の代謝物組成分析（予備試験）

- 分析条件の検討（カニクイザルに 1 mg/kg 静脈内投与による試料）
- 血中濃度は速やかに消失するが、組織には 168 時間経ても高値に残存。
- 放射能回収率は、胆汁で 100% (24 時間後) に対し、大脳皮質では約 50% (168 時間後)
- HPLC のクロマトグラムでは、標品と比べ、胆汁及び大脳皮質に異なったピーク（分解物）がみられたので、単一性を調べる。

- ピークが単一であれば、大脳皮質での濃度は 300nmol 換算となる。
  - 今後の実施予定：①ラット、サル単回投与 ADME 本試験、②サル反復投与 ADME 予備試験
- 2) 東京化成：原薬の長期安定性試験（6 か月での中間報告）
- 標準品は以前の化合物を使用したため、確認試験では不適合となっている。
  - 溶状では、暫定規格を「無色で微濁」したが僅かに着色あり⇒不適合。
  - 融点は、薬局方では試験不可なので、社内試験法「金属ブロック法」を用いた。
  - 本品は吸湿性が強く、経時的に水分含量の増加が観察されたが、分解物はない。
  - いずれの試験項目に不適合や暫定規格値からの外れ値はみられるが、大きな問題はないと考え、継続して9カ月の安定性試験を行う。
- 3) 積水：nonGMP 及び GMP 原薬の製造スケジュール
- 治験原薬規格案の設定（11 月末）、
  - nonGMP 原薬製造完了（12 月 8 日、300g×1 ロット）⇒治験原薬の規格設定に用いる。
  - 上記製造条件等を基に、治験原薬 GMP 製造のための SOP を作成し（12 月末）、治験原薬 GMP 製造に入る（300g×2 ロット）
- 4) POC：試験成績報告書及び治験薬概要書の 2014 年度末までの作成スケジュール
- サイトビジットに対応するため、現在非臨床試験の総括報告書案を作成中。
  - 2015 年 3 月までに、非臨床総括報告書の最終版作成とこれらをまとめ治験薬概要書を作成する。
  - 更に、研究班の先生方から当該領域の情報収集、聴き取り調査を進め、治験実施計画書案も作成する。

以上

## プリオン病治療薬開発合同会議（第10回）議事録（案）

【日 時】：2015年2月17日（火）、14時～16時30分

【場 所】：岐阜大学医学部本館1階大学院講義室

### 【出席者】：

岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科：教授 桑田先生、松崎様、福岡様、

東京医科歯科大学 JACOP 事務局：石村様

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科：布施先生

日本 GMP 支援センター：平野様

LSI メディエンス株式会社：中井様、大西様、曾田様

積水メディカル株式会社：鈴木様

東京化成株式会社：小野様、玉之内様

POC クリニカルリサーチ株式会社：瀬川様

ノーベルファーマ(株)：越阪部、西垣（文責）

[不参加]：富士薬品(株)

### 【議題】

1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生）
2. 自然歴調査の現況報告（石村様）
3. 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科の報告（布施先生）
4. 関係各社の進捗報告
  - 1) 安全性試験・ADME 試験に関する現況報告（LSI メディエンス）
  - 2) 原体製造の現況報告（積水メディカル）
  - 3) 原体安定性試験
  - 4) 治験薬概要書等の文書作成
5. 事前相談について（桑田先生）
6. APPS2016 国際学会について（桑田先生）

### 【配布資料】

1. 平成26年12月サイトビジット資料
2. 事前相談質問申込書
3. 対面助言（平成25年9月実施）に対する対応表

《次回開催》 3月17日（火）、14時～16時（ノーベルファーマ(株)2A 会議室）

参加予定：三條先生（医科歯科大）、大西氏・中井氏・曾田氏（LSI）、鈴木氏（積水）、



小野氏（東京化成）、瀬川氏（POC）、西垣（NPC）、他  
《次々回開催》4月15日(水)（予定）、14時～16時（岐阜大学）

## 【報告内容】

### 1. サル感染モデル試験の現況報告（桑田先生）

2014年12月開催のサイトビジット資料を用いて説明した(下記添付資料の10頁)。



サイトビジットプレゼン  
平成26-200short.pp

- 10頁の図は折れ線が上に行くほど症状が悪化していることを示しており、これをみれば本剤の発症前投与群の有効性は明らかである。
- いずれの群も試験継続中であるが、もう少し症状が進行した時点で全頭を安楽死したい。コントロール群がある程度動かなくなった時点で安楽死させ病理検査にかけたい。(NPC) 本試験は重要な位置付けであるので、霊長類研究所の柴田先生には報告書の作成(中間報告書でも構わない)を依頼している。

(桑田先生) 長崎大学には早期診断のための鼻腔内検査の確立のためサルを2頭確保している(布施先生担当)。霊長類研究所ではサル20頭を用い、サル感染モデル試験に1群6頭、3群の18頭、鼻腔内検査用として2頭を計画している。PMDAはサルの試験が重要であると言っている。

(NPC) 先日のシンポジウムでの福島先生の発言をどのように考えているのか。

(桑田先生) 薬効薬理試験のPOCとしてはこの試験で十分と考えているが、国内では法的には問題ないはずである。霊長類研の倫理委員会でも通っている。実際上の問題はありますか。

(LSI) 欧州ではかなり厳しいものでありサル試験は実施していない。いずれ日本に波及してくる可能性はあるが、具体的には有名な事件としては実施会社の副社長誘拐事件がある。そのため当社としてもミニブタへの代替試験を立ち上げている。

(NPC/LSI) SHACの紹介；日本にも同団体が入ってきたという話もあるが、具体的な被害は訊いていない。

(平野先生) 本剤の開発全体を先に進めるために必須の試験か否かを検討し、実施の妥当性を説明する責任があるが、20頭用いるというのは好ましくないと思う。

(布施先生) プリオン蛋白を鼻粘膜から採取する方法は欧州でも行われており、検出感度は高い。柴田先生から内視鏡を用いた鼻粘膜で確認できているのでサルでも期待できる(2014年8月長崎大送付の検体)。サル感染モデル試験の発症後投与では行動で判断し投与のタイミングをはかっているのが難しい。鼻粘膜検査を用いれば早期投与が可能となり、重要な検査となる。

(桑田先生) 神経変性疾患のモデル試験としてはマウスでなくサルで行うことが重要。有意差を示すには 20 頭は必要であり、発表しなければいけないのではないか。

## 2. 自然歴調査の現況報告 (石村様)

- 現段階の登録症例は 9 例(+1)、参加施設数は 59 施設(うち倫理委員会済 45 施設)、参加医師 135 名。
- 2 月 19 日の JACOP サーベイランス委員会において、自然歴調査の事務局が NCNP に移動することが報告される。これまで患者は大病院にて確定診断後、近医のクリニックに転医するためその時点で試験中止となったが、今後は NCNP が中央倫理委員会の役割を担い、クリニックでも試験継続できるようにする。
- UMIN 登録システムでは現場医師が直接登録できるようにシステム改善を図る。但し、このシステムは監査証跡が残らないので、現在の自然歴調査データが承認申請の際に使用できるかが問題となっている。
- 患者団体(ヤコブネット)とのリンケージ、患者自身の意思で登録できるシステムの構築も JACOP に諮る。

(桑田先生) JACOP のサーベイランス委員会でも予後因子を検討して欲しいが、統計専門家はいるか。例えば、プリオン病の予後因子をみていた TRI の中谷先生や松山先生のような方が入ってもらいたい。

(石村さん) 自治医大の中村好一先生が統計専門家として同委員会に参加する予定であるが、予後因子解析の専門家かは不明。また、東大の松山祐先生についても確認する。

## 3. 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科の報告 (布施先生)

- P092 の血中濃度測定の前準備状況、LCMS/MS システムと条件設定の説明。LCMS/MS とも Waters 製
- MCXカラムの最適化を検討し、リン酸化では MeOH 沈殿法により除蛋白は可能となった。
- 血漿中濃度は 0.07~20ng/mL の範囲内で高い直線性が得られた。
- マウス血漿中濃度 (1 mg/kg 単回 ip 投与、投与後 24 時間) で、5 匹中 3 匹で濃度ピークがみられた (1.37、1.29、0.08ng/mL) が、以前の成績に比べ 5 分の 1 低い。

(桑田先生) P092 は冷蔵保存でも分解するので注意して欲しい。

(布施先生) 長崎大学では用時調整しているが、1 週間程度の保存では変わらなかった。

(LSI) 1 か月の保存で 3 分の 1 になっていた。分離した後凍結した場合(血清のまま)でも濃度は減少すると報告している。ただ、P092 は血球移行するので、全血で測定できるよう検討中で、この計画書は桑田先生に送付済み。ラット・サルで濃度測定を実施したところ、げっ歯はかなり低下するが非げっ歯では変わらないので、血漿でも問題ないと思う。

(布施先生) 2/19 に柴田先生からサルの検体が届くので、BSE 感染サルの血漿中 P092 濃度

を測定する。

#### 4. 関係各社の進捗報告

##### 4-1) 安全性試験・ADME 試験に関する現況報告 (LSI メディエンス)

資料において予備試験か本試験かを明らかにすること (タイトル上の明記)。

##### <sup>14</sup>C 標識 P092 マレイン酸の代謝物組成分析 (予備試験)

- ▶ In vitro でラット、サル、ヒトの肝ミクロソームでの代謝プロファイルを検討
  - 代謝物は9種類で、ヒトでは代謝物 M-9 が特異的である。in vivo の場合グルクロン酸抱合体ができている可能性がある。
  - 1 時間後の残存率はラット 81.8%、サル 71.8%、ヒト 93.9%であり、代謝速度はヒトが一番遅く、代謝には種差がみられる。
  - 今後の課題として、代謝物 (特に M-9) の構造解析や肝細胞自体を用いた代謝解析が必要。

##### サル単回静脈内投与時の血中濃度、分布・排泄

- ▶ 主要排泄経路は糞中であるが、排出は緩やかであり 336hr 後でも 25%が残存。
- ▶ ピーク値は、小脳、脊髄、皮膚は 168hr 後だが 336hr でもほぼ同様の値である。大脳、延髄、眼球、顎下腺、腸間膜リンパ、精巣はピークが 336hr 後、168 時間後よりも高い。

(桑田先生) プリオンの分布に似ている。

- ▶ 脳脊髄液はいずれの測定時期でも「0」であり、組織に一旦固着したら排出しない。
- ▶ P092 が体内から排出される期間を見るためにも、この測定は投与 1 か月後 (3 か月後) も実施しておく必要がある。
- ▶ 代謝成績と併せて投与回数が異なってくるが、少なくとも本剤のように投与後長い時間排泄されないと、臨床試験で月 1 回投与といいという訳にはならない。
- ▶ サル 2 週間反復投与 (週 1 回投与) の ADME 試験 (予備試験) は実施中であるが、血中濃度や体内分布は今週にも結果が出る。また、マウス腹腔内投与の ADME 試験 (予備試験) も 2/16 から開始した。

##### サル 4 週間間歇静脈内投与試験 (本試験)

- ▶ 予備試験では、P092 に溶血性がみられるので反復投与可能な最高濃度を求めた。その結果、1.5mg/mL が溶血はみられても投与可能な濃度と判断した。
- ▶ 本試験では、週 1 回、4 週間投与 (4 肢用いる)、最終投与 1 週後に剖検した。投与量は 0、1、10、30mg/kg
- ▶ 投与部位では発赤、腫脹、溶血性貧血がみられ、4 週間以上の投与では 10、30 mg/kg の用量は選択できない。
- ▶ 剖検の結果、出血、血管内膜の増殖、血管周囲の炎症性細胞浸潤、血管壁やその

周辺組織の壊死、潰瘍、血栓がみられた。血栓は投与後みられるが投与の繰り返しで改善。一方、壊死は投与の繰り返しで発現程度が高くなる（初回投与の肢にみられなかったものが3~4回投与で発現してくる）。壊死や潰瘍は繰り返し投与による影響が考えられる。

- 回復期間は、炎症症状では1か月でもいいが、壊死や潰瘍では1か月では短い。
- これまでの成績から、サル長期投与試験の最高用量は1~10 mg/kgの間にあり、投与量は0、1、5 mg/kgと想定する。

#### ラット4週間間歇静脈内投与試験（本試験）

- 予備試験で尾体にかかなり激しいうっ血所見がみられているので、投与量は0.5、1、10 mg/kgとした。
- ラットでは10 mg/kgでも血管障害的变化以外問題となる所見はない。肝、脾臓での空胞化はみられているが特に問題はない（代謝物の影響か）
- 血中濃度は反復投与により増加する傾向がみられた。
- ラット長期投与試験の用量はサルと同様。

（桑田先生）1 mg/kgでは反復投与しても問題ないと解釈していいか

（LSI）反復投与した場合での蓄積をどのように読むかに拠って決まる。

（NPC）霊長類研究所では2 mg/kgなので、中・高用量はこの用量を挟んだ用量にしてほしい。

#### その他

- 遺伝毒性試験実施中。

#### 4-2) 原体製造の現況報告（積水メディカル）

- 製造完了は3月上旬、社内試験を経たのち3/20 岐大に納入予定。
- Non-GMP の製剤に比べると不純物などは出てきていないので、このまま推移するものとする。
- 安定性試験を実施する。加速試験6か月等の計画書案を桑田先生に提出する。

#### 4-3) 原体安定性試験（東京化成）

- 12 カ月安定性試験の結果、構造的には問題はないが吸湿性が高い（本年3月末報告書として提出予定）。
- 試薬瓶に入れて試験に供しているが、これが問題となれば保存方法を変更する必要がある。

#### 4-4) 治験薬概要書等の資料作成（POC クリニカルリサーチ）

- 治験薬概要書 Ver2 を作成中であり、サル感染モデル試験が中間の成績になるが加えたい。納品は3月末。
- 治験薬概要書の最終版としてはマレイン酸塩での GLP 試験を含める。薬効薬理試験は霊長類研究所の試験が信頼性保証のとれるものであれば加えたい。一方で、