

研究分担者 大阪大学大学院薬学研究科附属創薬センター 今西 悠基子  
大阪大学大学院医学系研究科 宮川 繁  
兵庫医科大学（統計担当） 大門 貴志

課題名： ONO-1301 反復経口投与におけるラット肝中期発がん性試験（伊東法）

### 研究要旨

ONO-1301 は血管新生効果を有するため、癌細胞に対してプロモーション作用を有することが危惧される。ONO-1301 反復経口投与における発がんに対するプロモーション作用、及びイニシエーション作用を確認するために、ラット肝中期発がん性試験（伊東法）を実施した結果、共に陰性であった。

### A．研究目的

心臓貼付投与は、重症心不全患者に対する侵襲が大きいため、軽症・中等症拡張型心筋症患者に対しては、早期治療介入として ONO-1301（原薬）を汎用性、経済性、安全性の高い反復経口投与を行うことにより、心臓移植や人工心臓の装着を遅らせたり、回避することを目的とした生命予後改善治療法の開発は重要である。

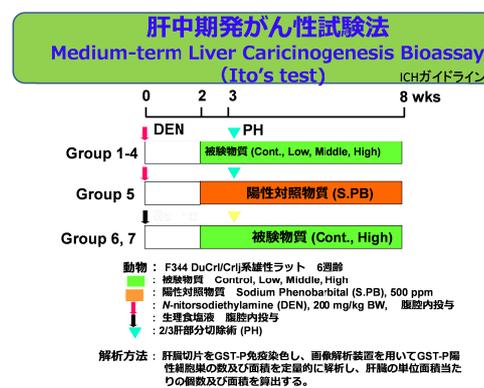
昨年度は、ONO-1301（原薬）を反復経口投与することにより、心臓移植や人工心臓の装着を遅らせたり、回避することを目的とした生命予後改善治療法の開発を目的として検討を行った。

本年度は ONO-1301 は HGF や VEGF を産生促進することにより血管新生促進作用を有するため、癌細胞に対してプロモーション作用を有することが危惧される。ONO-1301 反復経口投与における発がんに対するプロモーション作用、及びイニシエーション作用を確認するために、ラット肝中期発がん性試験（伊東法）を実施した。

定量的に解析した。

ONO-1301 の 10mg/kg 経口投与は、降圧作用を示す最大耐量であり、3 mg/kg は、ラット 6 ヶ月反復経口投与での無毒性量である。

また、陽性対照群として、Phenobarbital Sodium Salt (S.PB) の 500 ppm 混餌投与を行った。



### B．研究方法

F344/DuCrI/CrIj 雄性ラットに Diethylnitrosamine (DEN) を 200 mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与し、その 2 週間後より被験物質である ONO-1301 を 0 (溶媒)、3 及び 10 mg/kg/day の用量で 6 週間、1 日 1 回強制反復経口投与した (プロモーション試験)。また、DEN 無投与群では、ONO-1301 は 10mg/kg/day を反復経口投与した (イニシエーション試験)。

被験物質投与開始 1 週間には全動物に対し、2/3 肝部分切除術を実施した。実験開始 8 週後に全生存動物を屠殺剖検し、肝臓を免疫組織化学的にポリマー法にて胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P) 染色を実施し、画像解析装置を用いて肝臓の単位面積に対する GST-P 陽性細胞巢の発生個数及び面積を

### (倫理面への配慮)

前臨床・非臨床研究においては、各種法令・告示・通知に基づき研究を実施した。加えて、臨床試験の実施に際しては、研究計画書に関して倫理委員会での承認を受け、将来的には治験を行い、最終的には薬事申請を行う。

### C．研究結果

・ ONO-1301 のラット肝中期発がん性試験

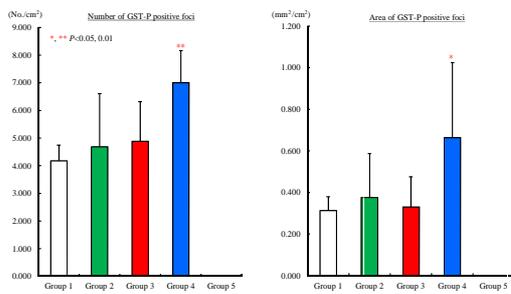
ONO-1301 は線維芽細胞等から HGF、VEGF、SDF-1、HMGB1 等を産生促進することにより、血管新生促進作用を有することが確認されている。よって、ラット肝中期発がん性試験を用いて、ONO-1301 反復経口投

与における癌に対するプロモーション作用及びイニシエーション作用の有無を検討した。

DEN 無処置の 10 mg/kg 群では、GST-P 陽性細胞巢の発生は認められなかった。

また、ONO-1301 の 10mg/kg、及び 3 mg/kg 投与群においても、GST-P 陽性細胞巢の数及び面積共に有意な増加は認められなかった。

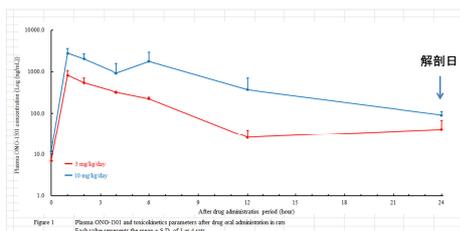
陽性対照群の S . PB 群では、肝臓重量の有意な高値及び GST-P 陽性細胞巢の単位面積当たりの個数及び面積の有意な高値がみられ、本試験の妥当性が示された。



RAT MEDIUM TERM LIVER CARCINOGENESIS BIOASSAY OF ONO-1301  
QUANTITATIVE DATA FOR GST-P POSITIVE FOCI

また、血中濃度測定結果から、ONO-1301 は用量相関的に経口吸収されていることが確認された。

ONO-1301経口投与における血中動態



最終投与日(解剖前日)に採血

#### D . 考察

ONO-1301 反復経口投与における発がんプロモーション作用及びイニシエーション作用について、ラット肝中期発がん性試験にて検討した結果、共に陰性を示した。

本試験で用いた被験物質である ONO-1301 はプロスタグランジン I<sub>2</sub> 受容体作動活性を持ち、さらに線維芽細胞等に作用して肝細胞増殖因子(HGF)、血管内皮細胞増殖因子(VEGF-A) 及びストローマ細胞由来因子(SDF-1)などを産生することが報告されている。類似のプロスタサイクリンを主成分とする、Epoprostenol Sodium (PGI<sub>2</sub>・Na 塩) は、本試験と同

様に肝中期発がん性試験において肝臓に対して発がん修飾作用がなく、また変異原性試験、毒性試験等においても発がん性を示唆する結果は得られていない。また、プロスタサイクリン(PGI<sub>2</sub>)誘導体である Beraprost sodium も同様にマウス癌原性試験、ラット癌原性試験、及び本試験と類似の中期発がん性試験においても、全て発がん性がないことが報告されている。

以上の結果から、ONO-1301 は最大耐量である 10 mg/kg 反復経口投与における本試験条件下において肝臓の前がん病変発生に対する明らかな修飾作用(プロモーション作用)は示さなかった。また、本試験で肝臓に対するイニシエーション作用は認められず、遺伝毒性試験の結果は陰性であること、また類似薬での発がん性の報告もないことから、ONO-1301 についても発がん性は示さないものと推察された。

#### E . 結論

ONO-1301 反復経口投与における発がんプロモーション作用及びイニシエーション作用をラット肝中期発がん性試験にて検討した結果、共に陰性を示した。

#### F . 健康危険情報

該当なし

#### G . 研究発表

##### 1 . 論文発表

1) 「A sustained-release drug-delivery system of synthetic prostacyclin agonist, ONO-1301SR: a new reagent to enhance cardiac tissue salvage and/or regeneration in the damaged heart」

Satsuki Fukushima · Shigeru Miyagawa · Yoshiki

Sakai · Yoshiki Sawa. Heart Fail Rev

DOI:10.1007/s10741-015-9477-8(2015)

##### 2 . 学会発表

該当無し

#### H . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1 . 特許取得 該当なし

2 . 実用新案登録 該当なし

3 . その他 該当なし