

医師主導臨床治験に向けた非臨床試験および治験薬製造

研究分担者

富岡 英樹 アンジェスMG株式会社
渡辺 元 アンジェスMG株式会社
中神 啓徳 大阪大学大学院連合小児発達学研究所 寄附講座教授

【研究要旨】

新規ペプチド SR-0379 は血管新生促進作用等による創傷治癒効果と膜透過性変化による抗菌作用を併せ持ち、難治性皮膚潰瘍治療を目指した外用薬開発を目指す薬剤である。非臨床試験として、ラット全層欠損モデルでの創傷治癒促進作用、各種細菌に対する抗菌活性、CMC（原薬の分析・安定性）、薬物動態試験(LC/MS/MS)、ウサギ皮膚一次刺激性試験、ウサギ眼刺激性試験、遺伝毒性試験（非 GLP）、ラット 2 週間反復毒性試験（非 GLP）、毒性試験（ラット 4 週間反復毒性試験）、安全性薬理試験（中枢神経・呼吸）、刺激性・感作性試験（ウサギ皮膚累積刺激性試験、モルモット皮膚感作性試験）、サル 1 週間反復毒性試験（非 GLP）が終了しており、平成 26 年度はサルでの安全性薬理試験（循環系）を遂行し、翌年の試験での血中濃度測定のためのバリデーションを行った。CMC は治験薬 GMP での原薬・製剤の予備検討が終了しており、平成 26 年度は治験薬の原薬製造・製剤化を行った。SR-0379 の作用メカニズムの検討としてヒト繊維芽細胞を用いた細胞内情報伝達系の解析も行なった。

A. 研究目的

我々が同定した新規抗菌性ペプチド AG30 を用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発は、医師主導型治験あるいは将来的な企業への導出を念頭におき改変体を作成し、AG30/5C ペプチドが血清によって分解される代謝産物の機能解析から、20 残基のアミノ酸で一部 D 体にアミノ酸を置換した低コストで活性のあるペプチドの作成に成功した（SR ペプチド）。このペプチドを用いた同疾患への医師主導型治験を計画している。

臨床試験を遂行するために必要な非臨床試験および製剤化検討を行うことを目的とする。

B. 研究方法

SR-0379の非臨床試験としてサルを用いた安全性薬理試験（心血管系）を行った。治験薬GMPでの原薬合成および製剤化の予備検討を行った。

また、SR-0379の作用メカニズムの解析として、ヒト皮膚培養線維芽細胞を用いて細胞内情報伝達系を解析・検討した。

まずは1ヶ月間の保存安定性を確認し、その後も長期安定性を確認する。次相のヒトでの薬物血中濃度測定のためにヒト血清でのバリデーションを行う。

ンを行う。

（倫理面への配慮）

1) 本研究のすべての動物実験は下記の国のガイドライン・法律などを遵守し、実施した。

・「動物の愛護および管理に関する法律」（昭和 48 年法律第 105 号）

・「研究機関などにおける動物実験等の実施に関する基本指針」（平成 18 年度厚生労働省告示第 71 号）

また本研究の動物実験は、その動物実験プロトコルが大阪大学大学院医学系研究科で承認後に施行されている。

2) 臨床研究計画は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（厚生省令第 21 号、平成 9 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号 平成 20 年 6 月 13 日）、医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイドライン平成 10 年 11 月 13 日医薬審第 1019 号医薬安全局審査管理課長通知（改正平成 22 年 2 月 19 日 0219 号第 4 号）

を順守して進める。

C. 研究結果

安全性薬理試験では、雄 4 例のカニクイザルに生理食塩液に溶解した SR-0379 を 1、3 及び 10 mg/kg の投与量で皮下投与し、無麻酔、非拘束下で血圧（収縮期、拡張期及び平均血圧）、心拍数及び心電図をテレメトリー法で評価した。投与は、6 日間の休薬期間をおき、低用量から順次漸増投与した。血圧、心拍数及び心電図パラメータにおいて、全ての用量で SR-0379 投与の影響は認められなかった。行動観察ないし一般状態観察において、全ての用量で SR-0379 の影響は認められなかった。以上の結果から、SR-0379 は 10 mg/kg 以下の投与量で心血管系に対する影響はないと考えられた。

また、SR-0379 の細胞内情報伝達系の解析も並行して行い、ヒト線維芽細胞でインテグリンのノックダウンにより SR-0379 の細胞内情報伝達系活性化が阻害されることが分かり、SR-0379 の創修復作用のメカニズムが明らかとなった。

CMC に関しては、治験薬製造に向けた書類整備を進めた上で 4 月から American Peptide Company で治験薬 GMP でのペプチド合成を開始し、出荷試験を行った後に、9 月にナガセ医薬品で製剤化を行った。11 月の皮膚刺激性試験に用いるために、出荷試験・判定を行い信濃坂クリニックへ搬送した。並行して、上記の皮膚刺激性試験前には 1 ヶ月間の保存安定性を確認し、現在も安定性試験を継続中である。安定性試験に必要な標準品の合成、あるいは次相の薬物血中濃度測定のためにヒト血清でのバリデーションを行った。

D. 考察

SR-0379 は皮膚潰瘍治療薬として外用剤として開発を行っており、これまでの試験で薬効試験での有効性と薬物動態試験で局所治療薬としての特性を見出している。非臨床試験において、安全性薬理試験でも特に異常は認めず、ヒト皮膚潰瘍患者での初期評価試験を行うための非臨床試験は終了し、臨床試験へと進む上で大きな問題は認められなかった。

E. 結論

治験に向けた治療用ペプチドとして 20 個のアミノ酸からなる新規ペプチド、SR-0379 を合成し、難治性皮膚潰瘍治療の治験に向けた非臨床試験が概ね終了した。

F. 研究発表

Tomioka H, Nakagami H, Tenma A, Saito Y, Kaga T,

kanamori T, Tamura N, Tomono K, Kaneda Y, Morishita R. Novel Anti-Microbial peptide, SR-0379, Accelerates Wound Healing via the PI3 Kinase/Akt/mTOR Pathway. PLOS ONE 2014;9:e92597.

Tomioka H, Nakagami H, Sano T, Takafuji K, Takashima S, Kaneda Y, and Morishita R, Development of LC-MS/MS quantification of the novel antimicrobial peptide, SR-0379, and its pharmacokinetics in rats. *Immun, Endoc. & Metab. Agents in Med.* 2014;14:26-31

2. 学会発表

Hironori Nakagami 「A Novel Anti-microbial Peptide, SR-0379, Accelerated Wound Healing; Toward Clinical Application」The 18th International Vascular Biology Meeting、2014.4.14、京都 <シンポジウム>

中神 啓徳「新規抗菌性ペプチドの同定・改良による難治性皮膚潰瘍外用薬の開発」第 11 回 DIA 日本年会、2014.11.17、東京 <シンポジウム>

中神 啓徳「新規機能性ペプチドの発見から臨床開発に向けて」メディカルジャパン 2015 大阪、2015.2.4、大阪 <口演>

中神 啓徳「皮膚潰瘍治療薬の開発研究への道程」第 2 回ヤング・サイエンティスト・シンポジウム、2015.1.24、東京 <口演>

G. 知的財産権の出願・登録状況

1) 名称：血管新生誘導剤及びそれに用いられるポリペプチド

出願番号：特願 2007-29945

出願日：平成 19 年 2 月 9 日

PCT JP2008/052022

発明者：中神啓徳、西川智之、金田安史、森下竜一、前田明人、田村奈緒

2) 名称：新規ポリペプチドおよびそれを有効成分

として含有する抗菌剤

出願番号：特願 2007-29920

出願日：平成 19 年 2 月 9 日

PCT JP2008/052020

発明者：中神啓徳、西川智之、金田安史、朝野和典、前田明人、田村奈緒

出願人：大阪大学およびジェノメディア(株)

3) 名称：血管内皮細胞増殖促進遺伝子

出願番号：特願2004-081688
出願日：平成16年3月19日、
PCT/JP2005/004832

発明者：西川智之、中神啓徳、金田安史
出願日：2000年10月5日

健康人を対象とした皮膚刺激性試験及び次相の臨床試験の準備

研究分担者

楽木 宏実 大阪大学大学院医学系研究科・教授
横手 幸太郎 千葉大学大学院医学研究科・教授
三木 哲郎 京都大学大学院医学系研究科・特任教授
中神 啓徳 大阪大学大学院連合小児発達学研究科・寄附講座教授

【研究要旨】

新規ペプチド SR-0379 は血管新生促進作用等による創傷治癒効果と膜透過性変化による抗菌作用を併せ持ち、難治性皮膚潰瘍治療を目指した外用薬開発を目指す薬剤である。初期評価試験を行うために必要な非臨床試験、治験薬 GMP での製剤合成が終了したので、平成 26 年は日本人健康成人男性 20 例を対象とし、SR-0379 液(0%、0.02%、0.1%、0.25%、0.5%)の皮膚刺激性及び安全性をパッチテスト(48 時間 closed patch test)により検討した。塗布部位の軽度(±)な紅班が、0% (生理食塩水)の除去後 1 時間で 2 例、除去後 24 時間で 1 例、SR-0379 の 0.02% で各々 1 例、0 例、SR-0379 の 0.25% で各々 2 例、1 例、SR-0379 の 0.5% で各々 3 例、1 例に見られたが、いずれも問題なしと判定された。20 例中 1 例に 1 件「右肩痛、PT:筋骨格痛、SOC:筋骨格系及び結合組織障害」が見られたが、因果関係はなしと判定された。発現時期は貼付剥離時(塗布 48 時間後)で 5 日後には回復していた。本有害事象の重篤性は非重篤、程度は軽度、処置の有無は無であった。その他、SR-0379 液の 0.02~0.5%の塗布は、局所部位をはじめバイタルサイン、臨床検査値、心電図検査においても特段の問題となる所見は見られなかった。また、先行していた AG30/5C の皮膚潰瘍患者に対する臨床研究も 2 例に対して投与を行い、探索的な結果を得た。次相の皮膚潰瘍患者での臨床試験を計画し、PMDA 薬事戦略相談の事前面談および対面助言を実施して、実施計画書、患者説明文書、症例報告書などの書類作成を行っ

A . 研究目的

血管新生作用と抗菌活性を併せ持つ新規ペプチド SR-0379 を用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発に向けて、第 1 相臨床試験として皮膚刺激性試験(パッチテスト)を行う。

B . 研究方法

SR ペプチドを用いた臨床試験として、平成 26 年度に健康人を用いたパッチテスト(フェーズ I)を行った。先行して行っていた AG30/5C の臨床研究も 2 例の皮膚潰瘍患者に対して投与を行った。次年度に患者の皮膚潰瘍の試験を予定する。

(倫理面への配慮)

医師主導治験は、「医薬品の臨床試験の実施に関する基準 (Good Clinical Practice: GCP)」に準拠し、適切な説明に基づく被験者の同意の確保、及び被験者の人権保護に配慮することにより実施され

る。臨床試験は改正薬事法に従い施行する。また、実施医療機関の治験審査委員会の審査、承認を経て、自ら治験を実施しようとする者から厚生労働大臣宛てに治験計画届書が提出される。

C . 研究結果

日本人健康成人男性 20 例を対象とし、SR-0379 液(0% (生理食塩水)、0.02%、0.1%、0.25%、0.5%)の皮膚刺激性及び安全性をパッチテスト(48 時間 closed patch test)により検討した。塗布部位の軽度(±)な紅班が、0% (生理食塩水)の除去後 1 時間で 2 例、除去後 24 時間で 1 例、SR-0379 の 0.02% で各々 1 例、0 例、SR-0379 の 0.25% で各々 2 例、1 例、SR-0379 の 0.5% で各々 3 例、1 例に見られたが、いずれも問題なしと判定された。有害事象は「右肩痛」が 1 例で見られたのみであった。その他の項目に治験薬に関連する以上所見は見られなかった。20 例中 1 例に 1 件「右肩痛、PT:筋骨格痛、SOC:筋骨格系及び結合組織障害」が見られたが、因果関係はなしと判定された。発現時期は貼付剥

離時(塗布 48 時間後)で 5 日後には回復していた。本有害事象の重篤性は非重篤、程度は軽度、処置の有無は無であった。その他、SR-0379 液の 0.02 ~ 0.5% の塗布は、局所部位をはじめバイタルサイン、臨床検査値、心電図検査においても特段の問題となる所見は見られなかった。

先行して行っていた AG30/5C の臨床研究も 2 例の皮膚潰瘍患者に対して投与を行った。安全性評価としては特に因果関係のある有害事象は認めなかった。有効性については潰瘍面積の縮小効果、投与期間中の菌量の減少効果が認められた。しかし、臨床研究に組み込まれた症例数は 2 例と少なく、投与終了後の菌量抑制の持続効果がみられなかったことから、今後、より多くの患者数を対象とし、より適切な投与期間、投与方法等の検討を行うことが必要と考えられた。

次相の皮膚潰瘍患者での臨床試験を計画し、PMDA 薬事戦略相談の事前面談および対面助言を実施して以下のような試験計画を立案し、実施計画書、患者説明文書、症例報告書などの書類作成を行った。

1. 治験の目的
皮膚潰瘍を対象として SR-0379 液 0% (プラセボ) 0.1% 及び 0.5% の臨床的安全性、有効性及び薬物動態の検討を目的とする。
2. 対象疾患
 - 1) 糖尿病性潰瘍
 - 2) 下腿潰瘍 (虚血性・静脈性)
 - 3) 褥瘡
3. 被験者の選択、除外基準
治験薬投与開始時に以下の選択基準をすべて満たし、除外基準に抵触しない者
 - 3.1. 選択基準
 - 1) 20 歳以上 (同意取得時)
 - 2) 原則として当該治療及び処置を 2 週間以上継続しても投与対象肢の症状改善が見られない者
 - 3) 潰瘍の最大径が 6cm 以下 (30cm² 以内) の者
 - 4) 入院患者あるいは外来患者
 - 3.2. 除外基準
 - 1) 創部局所に感染を伴い抗生剤治療を必要とする者
 - 2) 骨組織まで達する深い潰瘍を有する者
 - 3) 悪性腫瘍に起因する潰瘍を有する者
 - 4) 悪性腫瘍を合併している者
 - 5) 重篤な心不全を有する者
 - 6) 重篤な肝疾患、腎疾患、血液疾患等を有する者
 - 7) 栄養状態が極度に低下している者 (血清アル

ブミン値が 2g/dL 以下)

- 8) 重篤な細菌感染により全身状態が極度に悪化している者
- 9) 妊娠している女性、授乳中の女性又は同意取得日から治療期終了日まで避妊することに同意が得られない妊娠可能な女性
- 10) 治験薬投与開始前 2 週間以内に皮膚潰瘍治療を目的とした薬効評価に影響を及ぼす薬剤 (PGE₁ 製剤、細胞増殖を促す製剤等) の新たな投与を受けた者
- 11) 治験薬投与開始前 2 週間以内に皮膚潰瘍治療を目的とした外科手術を受けた者
- 12) 治験薬投与開始前 12 週間以内に他の治験に参加した者、あるいは同意取得日から治療期終了日までに参加の予定がある者
- 13) その他、治験責任医師又は治験分担医師が、本治験の対象として不適当と判断した者

4. 治験デザイン 二重盲検比較試験

5. 治験薬
SR-0379 液: 1 スプレー (10mL) 中に SR-0379 として 0% (プラセボ)、0.1%、0.5% を含有するスプレー液

6. 治験期間 (投与期間)
投与期間: 原則として 4 週間とする。

7. 投与量及び投与方法
治験薬 1 スプレー (SR-0379 として 0 ~ 0.5%) を 1 日 1 回、原則 5 噴霧する。
[投与時の注意事項]
本剤を創部から約 5cm 離して創部全体に 5 噴霧する。

8. 評価項目
 - 8.1. 有効性評価項目
 - 8.1.1. 主要評価項目
 - 1) 潰瘍の大きさ (写真撮影による面積の推移)
 - 8.1.2. 副次的評価項目
 - 1) 潰瘍面積が 25% 以上縮小した「改善」度
 - 2) DESIGN-R スコア
 - 3) 創部培養検査による定性的評価
 - 4) 最終評価時の全般改善度
 - 8.2. 血中薬物濃度
血中薬物濃度の測定
 - 8.3. 安全性評価項目
 - 1) 有害事象及び副作用の発現状況
 - 2) バイタルサイン (血圧、脈拍数、体温)

- 3) 臨床検査値 (血液学的検査値、血液生化学的検査値、尿検査値)
- 4) 12 誘導心電図

9. 目標症例数

治験薬投与群として各投与量 3 例 (3 用量) 合計で 9 例とする。

9. 治験実施期間

2015 年 10 月 ~ 2016 年 9 月 (被験者の登録期限は 2016 年 3 月を目処とする)

次年度の患者での臨床試験の結果を踏まえて、ウエルナー症候群の難治性皮膚潰瘍治療の試験を予定している。その準備として、分担研究者の横手教授の厚労省班会議と連携し患者レジストリーを進めるとともに、ウエルナー症候群の患者会で本研究の取り組みを紹介し、患者への情報提供を積極的に行なった。

D. 考察

SR-0379 の非臨床試験において、全身毒性は認めず、刺激性試験も陰性であったが、感作性試験 (アジュバントと同時に投与したモルモットの感作性試験) でのみ陽性を認めた。健常人を対象とした皮膚刺激性試験では特記すべきことはなかった。

E. 結論

早老症に合併する難治性皮膚潰瘍の新規治療薬開発を目指して、臨床試験 (健常人に対するパッチテスト) を終了した。今後、皮膚潰瘍患者での評価へと進む予定である。

F. 研究発表

Tomioka H, Nakagami H, Tenma A, Saito Y, Kaga T, Kanamori T, Tamura N, Tomono K, Kaneda Y, Morishita R. Novel Anti-Microbial peptide, SR-0379, Accelerates Wound Healing via the PI3 Kinase/Akt/mTOR Pathway. PLOS ONE 2014;9:e92597.

Tomioka H, Nakagami H, Sano T, Takafuji K, Takashima S, Kaneda Y, and Morishita R, Development of LC-MS/MS quantification of the novel antimicrobial

peptide, SR-0379, and its pharmacokinetics in rats. *Immun, Endoc. & Metab. Agents in Med.* 2014;14:26-31

2. 学会発表

Hironori Nakagami 「A Novel Anti-microbial Peptide, SR-0379, Accelerated Wound Healing; Toward Clinical Application」The 18th International Vascular Biology Meeting、2014.4.14、京都 <シンポジウム>

中神 啓徳 「新規抗菌性ペプチドの同定・改良による難治性皮膚潰瘍外用薬の開発」第 11 回 DIA 日本年会、2014.11.17、東京 <シンポジウム>

中神 啓徳 「新規機能性ペプチドの発見から臨床開発に向けて」メディカルジャパン 2015 大阪、2015.2.4、大阪 <口演>

中神 啓徳 「皮膚潰瘍治療薬の開発研究への道程」第 2 回ヤング・サイエンティスト・シンポジウム、2015.1.24、東京 <口演>

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 名称：血管新生誘導剤及びそれに用いられるポリペプチド

出願番号：特願 2007-29945

出願日：平成 19 年 2 月 9 日

PCT JP2008/052022

発明者：中神啓徳、西川智之、金田安史、森下竜一、前田明人、田村奈緒

- 2) 名称：新規ポリペプチドおよびそれを有効成分

として含有する抗菌剤

出願番号：特願 2007-29920

出願日：平成 19 年 2 月 9 日

PCT JP2008/052020

発明者：中神啓徳、西川智之、金田安史、朝野和典、前田明人、田村奈緒

出願人：大阪大学およびジェノメディア(株)

- 3) 名称：血管内皮細胞増殖促進遺伝子

出願番号：特願2004-081688

出願日：平成 16 年 3 月 19 日、

PCT/JP2005/004832

発明者：西川智之、中神啓徳、金田安史

出願日：2000年10月5日