

金田 真理	大阪大学大学院医学系研究科 分子病態医学皮膚科学講座（皮膚科）	被験者の適格基準の確認
室田 浩之	大阪大学大学院医学系研究科 分子病態医学皮膚科学講座（皮膚科）	被験者の適格基準の確認
谷 守	大阪大学大学院医学系研究科 分子病態医学皮膚科学講座（皮膚科）	被験者の適格基準の確認

6.4. 研究協力者

氏 名	機関名、部署・所属、役職	臨床研究において果たす役割
細川 吉弥 (5～6 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 医員	プロジェクトマネジメント
森脇 崇 (1～4 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 医員	プロジェクトマネジメント
中村 歩	大阪大学医学部附属病院 薬剤部 製剤室	試験物の調製
佐野 夕子 (1～3 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター	コーディネート業務
浅井 睦 (1 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター	コーディネート業務
砂山 陽子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター	コーディネート業務
丸山 秩弘 (3～6 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター	コーディネート業務
島本 知美 (1～5 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター コーディネーター	コーディネート業務
渡邊 貴恵	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター	モニタリング業務
加藤 奈津弥 (4～6 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター	モニタリング業務
迫田 美香 (4～6 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター モニター	モニタリング業務

山地 学	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 上級オフィサー	プロトコール作成支援 総括報告書作成支援
花井 達広	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 特任技術職員	プロトコール作成支援
幡生あすか	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 特任技術職員	総括報告書作成支援
東田 典子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター 特任技術職員	総括報告書作成支援
大石 雅子	大阪大学医学部附属病院 薬剤部 副部長	試験物の調製

6.5. 臨床研究実施施設

施設名	部署・所属名、担当者、役職
大阪大学医学部附属病院	中神 啓徳 大阪大学大学院連合小児発達学研究所 健康発達医学寄附講座教授

6.6. データセンター

名称	所在地	
大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター	大阪府吹田市山田丘 2-2 大阪大学大学院医学系研究科附属最先端イノベーションセンター棟 4 階	
氏名	機関名、部署・所属、役職	臨床研究において果たす役割
西田 幸二 (5~6 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター センター長	データマネジメント責任者
山本 紘司	大阪大学大学院医学系研究科 臨床統計疫学寄附講座 寄附講座講師	統計解析責任者 症例登録責任者
上坂 浩之 (1~4 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター 上級オフィサー	データマネジメント責任者
浅井 睦 (2~4 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター データマネージャー	データマネジメント担当者
中村 加奈美 (2~3 版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター データマネージャー	データマネジメント 症例登録

棚原 憲子 (1版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター データマネージャー	データマネジメント 症例登録
岩尾 友秀 (5~6版)	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 データセンター データマネージャー	データマネジメント担当者

6.7. 事務局

名称	所在地
大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 未来医療センター	大阪府吹田市山田丘 2-15 06-6210-8289 irb-jimu@hp-mctr.med.osaka-u.ac.jp

7. 諸言

7.1. 難治性皮膚潰瘍の概念・定義・病因・病態

皮膚にできた創で感染、血管障害、知覚障害といった異常な要因があるために、治り難い潰瘍状態になったものを難治性皮膚潰瘍と総称する。標準治療を行っても1ヶ月以上治癒しない場合に難治性皮膚潰瘍と定義される。このような病態を引き起こす基礎疾患としては、糖尿病、閉塞性動脈硬化症、ピュルガー病などが挙げられる。さらに創が治るのに悪影響を与える因子としては低栄養、感染、ステロイドや免疫抑制剤の服用、機械的刺激などがある。

7.2. 疫学

難治性皮膚潰瘍の患者数について、3つの基礎疾患（糖尿病、閉塞性動脈硬化症、ピュルガー病）に分けて示す。

糖尿病を基礎疾患とする糖尿病性足壊疽の総患者数は2002年で3万6千人と推計される。

閉塞性動脈硬化症を基礎疾患とする難治性皮膚潰瘍の患者数を示す直接的なデータはない。しかし、実際に治療を受けている閉塞性動脈硬化症患者数は78,000人である、という調査結果がある。

ピュルガー病を基礎疾患に有する難治性皮膚潰瘍の患者数を示す直接的なデータはない。ピュルガー病の年間の全国推計患者数は約8,000人（95%信頼区間8,400~12,000人）であり、男女比は9.7対1と圧倒的に男性が多い。推定発症年齢は男女とも30代から40代が最も多いが、現在の患者の中心は45歳から55歳であり、患者の高齢化が示唆される。

7.3. 難治性皮膚潰瘍の標準治療と予後

創に対する標準的な治療法として、近年、湿潤環境を保ちながら傷を治すという概念が定着している。ただし、局所からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）のような毒性の比較的強い難治性の細菌が検出されたときには、局所感染のリスクを恐れて湿潤環境を保つような標準治療を行わずに局所の洗浄を行うことが多い。しかし、局所の洗浄・消毒により創傷治癒が遅延することが指摘

されている。したがって、局所の細菌増殖のコントロールと感染のリスク回避を行うだけでは創修復は遅延してしまうこととなる。

すなわち、現行医療では MRSA が付着している難治性潰瘍に対する有効な治療法は未だ確立されていない。

7.4. 対象疾患の設定根拠

難治性皮膚潰瘍の創部からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）が検出されるという病態は、創部での細菌の汚染（細菌数は増殖せず、臨床上問題ない）、あるいはコロニゼーション（細菌は増殖するが、創部組織には損傷ない）に相当する。この病態では抗生剤による治療を必要としないものの、局所感染の臨床症状である発赤・痛み・腫脹を観察することにより臨床的に的確な鑑別が求められる（クリティカルコロニゼーション）。また、MRSA は組織損傷をもたらす毒性が強い。さらに、基礎疾患として糖尿病、閉塞性動脈硬化症、ピュルガー病を有する患者では細菌防御能（宿主抵抗性）が一般に低下していることから、そのような基礎疾患を有する患者の皮膚潰瘍部は、従来の治療法では充分に対応できない難治性の病態であると考えられる。

以上より、難治性皮膚潰瘍の創部から MRSA が検出された、クリティカルコロニゼーションの病態を呈する患者に対して新規の治療法の開発が必要と考え、対象疾患に設定した。

7.5. 試験物の開発の経緯

新規血管新生ペプチドの分子の機能的スクリーニングから AG30 (Angiogenic peptide 30) が最初に同定された。さらに、抗菌活性や血管新生作用の増強を目指し改変され、AG30/5C が化学合成された。

AG30/5C の抗菌機序は細胞膜破壊であることから耐性菌が極めてできにくい特性を有し、創部の新しい局所治療薬として期待できる。また、血管新生作用と抗菌作用を合わせて持つため、AG30/5C の投与は湿潤療法との併用が可能になると考えられ、将来、医療現場で広く使用される可能性が期待できる。

本試験物 AG30/5C の抗菌活性を測定した結果、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、真菌（カンジダ）、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、各種耐性緑膿菌に対して抗菌活性を示した。また、マウスを用いた各種創傷モデルでの *in vitro* 試験では AG30/5C の添加により、局所血流の増加、血管新生作用、創部修復の促進効果が認められた。さらに、ヒト大動脈由来血管内皮培養細胞の遊走促進作用・管腔形成能促進作用の評価を行った結果、AG30/5C は細胞内へのカルシウム流入が誘導されミオシン軽鎖を活性化して細胞遊走を促進する機序に加えて、血管新生作用を有する Angiopoietin-2 や Interleukin-8 などの複数のサイトカインの発現上昇を誘導することが示された。

本試験物 AG30/5C の安全性について、ラット 2 週間反復経皮投与毒性試験では、全身性の変化に対する無毒性量は雌雄ともに 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ と考えられた。イヌ 2 週間反復皮下投与毒性試験では、全身性の変化に対する無毒性量は 200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ と考えられた。また、遺伝毒性試験、局所刺激性試験では毒性は認められなかった。

以上の非臨床試験の結果と、外用剤のため健常皮膚の上からの塗布では評価が難しいという理由から、皮膚潰瘍の患者での創部への局所投与での評価が妥当と

判断したことをふまえ、安全性を主要評価項目として、難治性皮膚潰瘍患者に対する AG30/5C 投与の臨床研究を実施することは可能と判断した。

8. 臨床研究の目的

本臨床研究の目的は、これまで治療法に苦慮していた MRSA あるいは MSSA を保菌している難治性皮膚潰瘍を対象に、新規抗菌性ペプチド (AG30/5C) を創部に局所投与したときの安全性および有効性 (創サイズ・抗菌活性) を探索的に検討することにより、first in human として臨床治験に進むための判断情報とすることである。

9. 研究の計画

9.1. 研究の全般的なデザイン及び計画

本臨床研究は、単施設、単一治療による無対照試験で実施した本臨床研究の流れ、主要評価項目、副次評価項目のシェーマを図 1 に示した。本臨床研究における治療法は臨床試験実施計画書の「8.5.試験治療計画」の項に示した。

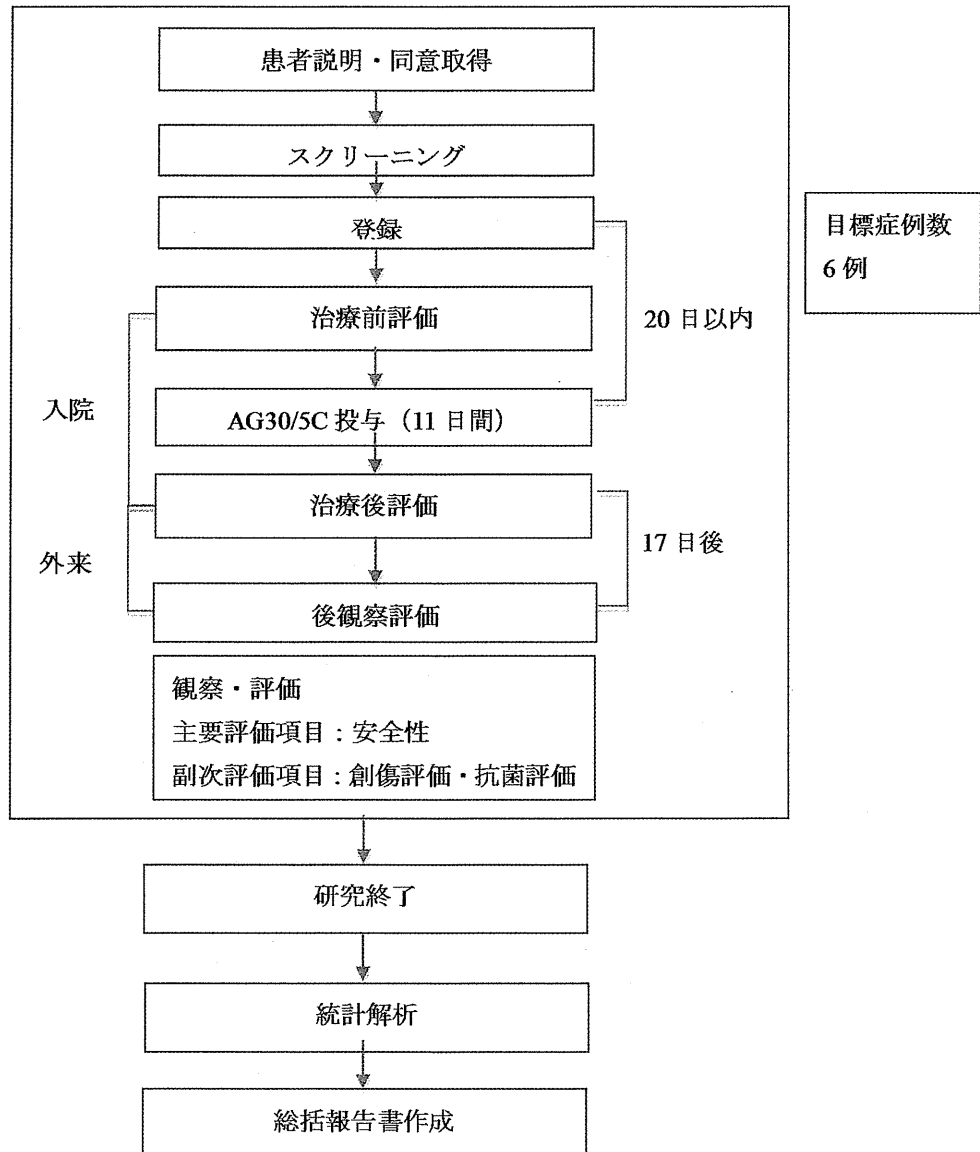


図 1 シェーマ

9.2. 研究デザインについての考察

本臨床研究は大阪大学医学部附属病院においてのみ行う。また、本試験物の人への投与は世界初の試みでありその主要評価項目は安全性の評価である。従ってランダム化、遮蔽化（盲検化）、対照試験などは行わない。

9.3. 対象母集団の選択

被験者登録時に以下の選択基準の全ての項目を満たし、除外基準のいずれの項目にも抵触しない被験者を適格とした。

9.3.1. 選択基準

- 1) 糖尿病、閉塞性動脈硬化症、ピュルガー病による末梢循環不全を伴う病態に起因した皮膚潰瘍患者
- 2) 発症後1ヶ月以上経過し、標準治療を行っても治癒が得られない潰瘍（対象病変）を有する患者
- 3) スクリーニング時に潰瘍面からMRSAあるいはMSSAが検出された患者
- 4) 対象病変に局所感染がない患者
- 5) 対象病変以外の潰瘍に局所感染がない患者
- 6) 全身性の感染のない患者
- 7) 同意取得時に20歳以上の患者
- 8) 患者本人の文書による同意が得られている患者

9.3.2. 選択基準の設定根拠

- 1) AG30/5Cは血流改善作用による創傷治癒促進が期待されるため、血流不全を来す基礎疾患を有する難治性潰瘍を対象とするよう設定した。
- 2) 1ヶ月以上治癒しない潰瘍患者を難治性潰瘍患者と定義した。
- 3) 創部のMRSAは保菌状態であるが、AG30/5CがMRSAあるいはMSSAに対する抗菌活性も有することを考慮して設定した。
- 4) 局所感染を伴う潰瘍には密封治療は不適であるため設定した。
- 5) 対象病変以外に局所感染があると感染に対する治療のため評価に影響を及ぼすと考えられるため。
- 6) 全身性感染には本臨床研究での併用制限薬である抗生剤を投与する必要があるため設定した。
- 7) より安全性を考慮することが必要である小児を対象から除いた。
- 8) 患者本人が本臨床研究の内容を十分理解し、自由意思に基づき本臨床研究への参加に同意することが必須であると考え設定した。

9.3.3. 除外基準

- 1) アルコール中毒症・薬物中毒の既往又は合併のある患者
- 2) 悪性腫瘍を有する患者（過去5年以内に既往がある患者を含む）
- 3) 創傷部位に明らかな腫瘍増殖病変がある患者。ただし、肉眼的に判断が困難な場合には病理学的な診断により判断する。
- 4) 感染症のある患者（HIV、HBV、HCV、HTLVのいずれかが陽性の患者）

- 5) 妊娠中もしくは妊娠している可能性がある患者又は授乳中の患者及び本臨床研究中に妊娠を希望する患者
- 6) 皮膚潰瘍による骨髄炎を合併している患者
- 7) その他、本臨床研究への参加を責任者又は分担者が不適当と判断した患者

9.3.4. 除外基準の設定根拠

- 1)~4)、6) 被験者の安全性確保のために設定した。
- 5) 非臨床試験で受胎能及び胚・胎児への影響は確認していないため設定した。
- 7) 本臨床研究の評価に影響を及ぼす可能性があるために設定した。

9.3.5. 患者の治療又は評価の打ち切り

被験者毎の中止基準は、臨床研究実施計画書の「12.1. 被験者毎の中止基準」の項で規定した。その基準を以下に示した。

[12.1 被験者毎の中止基準]

責任者又は分担者は、以下の場合には、当該被験者の研究を中止・中断する。

- 1) 実施計画書を遵守した試験治療が不可能となった場合当該被験者の研究を中止する。
- 2) 被験者より同意撤回の申し出があった場合、当該被験者の研究を中止する。
- 3) 試験物の投与中に局所感染（対象病変及び他病変）あるいは全身性感染が生じ、抗生剤の内服・点滴治療を必要となった場合、当該被験者の研究を中止する。
- 4) 有害事象の発現を認め、責任者が当該被験者についての研究の継続が困難と判断した場合、当該被験者の研究を中止する。
- 5) 登録後、被験者が適格基準を満たしていなかったことが判明した場合、当該被験者の研究を中止する。
- 6) 「14.2.1. 研究全体の中断・中止の基準」により本臨床研究全体が中止又は中断された場合、実施中の被験者の臨床研究は可能な時点で中止又は中断する。
- 7) その他、責任者又は分担者が、研究の中止を適切と判断した場合、当該被験者の研究を中止する。

9.4. 治療法

9.4.1. 治療法

本臨床研究の治療法は臨床研究実施計画書の「8.5. 試験治療計画」の項で規定した。以下にその手順を示した。

9.4.1.1. 試験治療の定義

本臨床研究における試験治療とは、試験物 AG30/5C（100 μ g/ml で 1 回あたり最大 1 mL）の創部への投与開始（1 日 2 回投与）から最終投与終了（11 日目）までとする。

9.4.1.2. 方法

- 1) 診療区分：入院（投与期間） 及び外来（後観察期間）

- 2) 試験物の作成：治療開始 7 日前以内に、大阪大学医学部附属病院薬剤部において「調製用 AG30/5C 溶液 1 mg/mL」のバイアルを開栓し、生理食塩液で 10mL シリンジ（テルモ：SS-10LZ）中で 10 倍（100 μ g/mL）に希釈する。100 μ g/mL の AG30/5C 溶液を 1 mL ずつ 5 mL の容器に分注する。
- 3) 大阪大学医学部附属病院老年・高血圧内科病室において、創部を生食で洗浄し、滅菌ガーゼで創部を軽くふき取った後で、容器のキャップを取り、創部全体に AG30/5C 溶液が行き届くように滴下する（1 回あたり最大 1 mL）。なお、他病変がある場合、これまでの抗潰瘍剤の治療を継続する。
- 4) 投与後、創部は透明フィルム（テガダーム）で密封する。
- 5) 投与は 1 日 2 回（6 時間以上間隔を空ける）。連日 11 日間施行する。
- 6) 投与後 12 日目に創部の評価を行い、その後の後観察期間（投与後 29 日目まで）は潰瘍に対する標準治療を行う。

9.4.1.3. 併用治療

本試験物は外用剤であり血中での半減期が極めて短時間と予想されるため、他薬剤との代謝相互作用などは考えにくい。従って、本試験物の薬効に影響を与える可能性のある薬剤に対して以下に記載する。

- 1) 併用禁止薬／治療

以下の治療法（又は薬剤）は、本臨床研究の有効性／安全性評価に影響を与えると考えられること、及び被験者の安全性確保のため、治療開始 1 週前より、併用を禁止する。

 - プロスタグランディン E1 注射薬（アルプロスタジルアルファデクス）
 - リポプロスタグランディン E1 注射薬（アルプロスタジル）
 - 抗トロンピン注射薬（ノバスタン）
- 2) 併用制限薬／治療

以下の治療法（又は薬剤）は、本臨床研究の有効性／安全性評価に影響を与えると考えられるため、（被験者の安全性確保のため）、以下の制限を加える。

 - ヒト FGF2 製剤（トラフェルミン）
対象病変となる潰瘍以外の他潰瘍部位への投与する場合のみ併用を認める。
 - 抗生剤（内服薬・注射薬）
試験物投与終了後の後観察評価期間で投与する場合のみ使用を認める。
 - 創傷治癒・抗菌作用を有する外用剤（アズノール、リフラップ、レフトーゼ、オルセノン、アクトシン、ソルコセルル、ユーパスタ、ソアナース、カデックス、デクラート、ヨードコート、プロスタンディン、亜鉛華軟膏、ポチシート）

対象病変への投与は、前観察期間及び試験物投与終了後の後観察評価期間で投与する場合のみ使用を認める。対象病変となる潰瘍以外の他潰瘍部位への投与は試験期間中も使用を認める。

3) 併用注意薬／治療

以下の治療法（又は薬剤）を併用する場合には、研究参加中に原則用法・用量の変更を行わないこととする。

(1) 経口末梢循環改善薬

- プロスタサイクリン誘導体（PGI₂）
- プロスタグランジン誘導体（PGE₁）

(2) 抗血小板薬

- PDE3（ホスホジエステラーゼ3）阻害薬
- セロトニン（5HT）2受容体拮抗薬
- 高純度 EPA 製剤

9.4.1.4. 支持治療

投与部位の刺激感・疼痛に対しては必要に応じて鎮痛薬の内服・外用薬投与、搔痒感に対しては必要に応じて抗ヒスタミン薬の内服投与を行う。

9.4.1.5. 後治療

試験治療終了後の治療については、「9.4.1.3. 併用治療」の内容を遵守する。

9.4.2. 試験物の同定

本臨床研究に用いられた試験物の名称及び規格を以下に示した。

・試験物名：AG30/5C

・有効成分の理化学的知見

AG30/5Cは、30個のアミノ酸からなるペプチドで、アルファヘリックス構造を呈し、陽性荷電したアミノ酸を多く配する特徴的な構造を有する。

・試験用 AG30/5C 液：AG30/5C 100 μ g/生理食塩水 1mL

9.4.3. 本試験物治療群への患者の割付け方法

該当しない。

（本試験物の人への投与は世界初の試みであり、その主要評価項目は安全性の評価であるため、対照試験は行わなかった。）

9.4.4. 試験治療計画の設定根拠

投与回数（1日2回）については、AG30/5Cの半減期が数分間と短いことが予想されることから、1日2回投与とした。非臨床試験では100 μ g/mL AG30/5C水溶液にて創修復効果が確認されており、またMRSAあるいはMSSAに対するMICが25-50 μ g/mLであることを考慮して濃度を設定した。初期投与量の妥当性に関しては、「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（改正平成22年2月19日0219号第4号）」の「7. 早期探索的臨床試験」の項目で推奨されている反復投与（アプローチ4）での無毒性量の50分の1（4 μ g/kg/日）からも体重50kg計算から200 μ g/日と設定した。反復投与期間は同じくアプローチ4で最大14日間までの投与を支持していることから11日間の連日投与を行うこととした。

9.4.5. 盲検化

本試験物の人への投与は世界初の試みでありその主要評価項目は安全性の評価であるため、盲検化は行っていない。

9.4.6. 前治療及び併用療法

本臨床研究では前治療は規定しない。併用療法については、9.4.1.3.項「併用治療」に記載した。

9.4.7. 治療方法の遵守

臨床研究実施計画書に記載された治療法を遵守して臨床研究が実施された。すなわち、臨床研究実施計画書で規定された用法用量、投与期間で AG30/5C が投与された。

9.5. 有効性及び安全性の項目

9.5.1. 有効性及び安全性の評価項目及び検査、観察項目

検査及び観察は、臨床研究実施計画書の「表 1：検査・観察スケジュール」に示されたスケジュールに従い実施した。また、観察及び検査の各項目は、臨床研究実施計画書「10.2. 観察・検査項目」の項で規定された項目について、観察、測定を実施した。以下にその内容を示した。

表 1：検査・観察スケジュール

期間		スクリーニング		前観察期間		試験治療期間（入院）						後観察期間（外来）			
時期（Day・日）		登録前 14日 以内		前観察 投与前 20日 以内	1		4		8		11		12	29±2	中止 時
					1回 目	2回 目	1回 目	2回 目	1回 目	2回 目	1回 目	2回 目	投与 終了 翌日	後観察	
同意取得		○													
被験者登録			○												
被験者背景	問診	○													
	身長、体重	○													
AG30/5C 投与					1日2回 11日間連続 投与										
臨床症状	バイタルサイン 体温、血圧、脈拍	○			投与前 ○	投与前 ○	投与前 ○		投与前 ○				○	○	○
	創部の診察	○			投与前 ○	投与前 ○	投与前 ○		投与前 ○				○	○	○
	ABI				投与前 ○										
臨床検査	血液学的検査	○			投与前 ○		投与前 ○						○	○	○
	HbA1c, 随時血糖				投与前 ○										
	感染症検査	○													
	尿検査				投与前 ○										○
一般検査	胸部単純 X 線	○		○*											
	心電図	○		○*											
創の評価	写真撮影	○		○*	投与前 ○								○	○	○
	サイズ計測				投与前 ○								○	○	○
抗菌評価	MRSA あるいは MSSA の同定**	○			投与前 ○								○	○	○
	菌量の定性				投与前 ○								○	○	○
有害事象 の観察					→										
併用治療					→										

*： 投与前20日以内であればスクリーニング検査時のデータで代用可能とする。

**： スクリーニング期間内（登録前14日以内）であれば2回まで実施可能とする。

ただし、1回目で陽性の場合には2回目は行わないこととする。

【観察・検査項目】

- 1) 被験者背景
観察時期：スクリーニング時
観察項目：生年月日、性別、身長、体重、現病歴（基礎疾患について）、現病歴（治療対象潰瘍について）、登録日より5年以内の既往歴（皮膚潰瘍）、登録日より5年間以内の既往歴（その他）、併存症、透析、喫煙歴、治療歴（血流改善薬使用の有無・外科的バイパス術手術の有無）、治療歴（プロトコール治療対象潰瘍に対する局所治療歴）
- 2) 臨床症状（全般）：バイタルサイン、創部局所症状
 - ① 観察時期：スクリーニング時、初回投与前、2回目投与前、4日目投与前、8日目投与前、12日目（投与終了翌日）、29日目（後観察）、中止する場合は中止時
観察項目：体温、血圧、脈拍数、投与部位局所の発赤・腫脹・熱感の有無、投与部位局所の感染に伴う症状の有無、投与部位局所アレルギーの有無
 - ② 観察時期：初回投与前
観察項目：ABI(ankle brachial index)
- 3) 臨床検査
 - ① 観察時期：スクリーニング時
観察項目：血液検査
血液測定項目：白血球数、CRP、HB抗原、HCV抗体、HIV抗体、PRP法定性、TPHA定性、HTLV-1抗体
 - ② 観察時期：初回投与前
観察項目：血液検査、尿検査
血液測定項目：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK (CPK)、総コレステロール、中性脂肪、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP、HbA1c、随時血糖
尿測定項目：蛋白（定性）、糖（定性）、潜血（定性）、pH
 - ③ 観察時期：4日目投与前、12日目（投与終了翌日）、29日目（後観察）
観察項目：血液検査
血液測定項目：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK (CPK)、総コレステロール、中性脂肪、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP
 - ④ 観察時期：中止時（中止する場合）
観察項目：血液検査、尿検査
血液測定項目：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩

基球、Na、K、Cl、Ca、P、BUN、尿酸、クレアチニン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK (CPK)、総コレステロール、中性脂肪、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、CRP

尿測定項目：蛋白（定性）、糖（定性）、潜血（定性）、pH

4) 一般検査

検査時期：スクリーニング時、前観察*

検査項目：胸部単純X線（正面1方向）、心電図

5) 創傷評価

① 観察時期：スクリーニング時、前観察*

観察項目：写真撮影

② 観察時期：初回投与前、12日目（投与終了翌日）、29日目（後観察）、中止する場合は中止時

観察項目：写真撮影、創部サイズ定量

*前観察の胸部単純X線、心電図、写真撮影は、投与前20日以内であればスクリーニング検査時のデータで代用することができる。

6) 抗菌評価

① 評価時期：スクリーニング時

評価項目：MRSA あるいは MSSA の同定**

② 評価時期：初回投与前、12日目（投与終了翌日）、29日目（後観察）、中止する場合は中止時

評価項目：MRSA あるいは MSSA の同定、菌量定性

**スクリーニング期間内（登録前14日以内）であれば2回まで実施可能とする。ただし、1回目で陽性の場合には2回目は行わないこととする。

7) 有害事象

登録以後に生じたあらゆる有害事象を観察し、症例報告書に記載する。

記録項目：有害事象名、発現日（年/月/日）、程度、重篤度、処置、因果関係、転帰/転帰確認日（年/月/日）、コメント

臨床研究の実施中に観察された有害事象の重症度は以下の定義に従って評価する。

軽度：通常、一過性で、被験者の日常生活を損なわず、治療を要しない程度（正常な活動が可能である）

中等度：被験者の日常生活に多少の支障をきたし、十分な不快感を与え、治療を要する程度（活動に不快感を伴う）

高度：被験者の日常生活の遂行に大きな支障があり、治療を要する程度（正常な活動が困難である）

8) 併用治療

登録後の全研究期間にわたって併用治療を症例報告書に記載する。

記録項目：(1) 抗生剤（内服薬・注射薬）の場合

薬剤名（販売名）、投与開始日、投与終了日、併用理由

(2) 対象病変に対する外用治療の場合

薬剤名（販売名）、投与開始日、投与終了日

(3) その他の併用治療の場合

治療名・薬剤名（販売名）、併用理由

9.5.2. 測定項目の適切性

9.5.3.1 主要評価項目の設定根拠

[主要評価項目]：安全性の検討

本研究は first in human の試験のため、安全性を主眼としたプロトコールを設定した。

9.5.3.2 副次評価項目の設定根拠

[副次評価項目]：創傷評価（創傷縮小効果）・抗菌評価

1) 創傷評価(創部縮小効果)

本試験物は血管新生作用を有するために、血流増加による創部の縮小効果が期待できる。

2) 抗菌評価

一般に創部に対して密封療法による湿潤環境を保つことは、創部感染のリスクは高いと想定される。本試験物は抗菌活性を有することから、湿潤環境による局所細菌の増殖を抑制できたか否かを調べるために、投与前と投与後の菌量を定量化する。

9.6. データの品質保証

9.6.1. モニタリング

モニターは、被験者の人権、安全性及び福祉が保護されていること、臨床研究が最新の実施計画書、及び「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して実施されていること、責任者又は分担者から報告されたデータなどが正確かつ完全であることを、原資料などの臨床研究関連記録に照らして確認するために「未来医療・ヒト幹細胞臨床研究モニタリング手順書」に従ってモニタリングを実施した。なお、モニタリングは、臨床研究開始前、実施中及び終了時に責任者、分担者、臨床研究実施部門、未来医療センター等を訪問して行った。

9.6.2. データ管理

データの品質管理は、「データマネジメントに関する標準業務手順書」に従って行った。

9.7. 臨床研究実施計画書で計画された統計手法及び症例数の決定

9.7.1. 統計及び解析計画

統計及び解析計画については、実施計画書「16.統計解析」の項に規定した。その内容を9.7.1.1.項、及び9.7.1.2.項に示す。

9.7.1.1 解析対象集団の定義

安全性解析対象集団：登録例のうち、以下の被験者を除いた集団とする。

- 未投与例
- 試験物投与後の安全性に関する情報が全くない被験者
ただし、除外した症例については除外理由とともに一覧で示す。

有効性解析対象集団：登録例のうち、以下の被験者を除いた集団とする。

- 未投与例

- 試験物投与後の創部縮小効果ならびに抗菌効果に関する観測値が全くない被験者

ただし、除外した症例については除外理由とともに一覧で示す。

9.7.1.2. 解析項目・方法

[被験者背景及びベースラインの特性]

被験者特性を一覧し、記述統計量を用いて要約する。連続変数については要約統計量を算出する。カテゴリ変数については、頻度を記述する。ベースラインとして用いるデータは試験物投与前のデータとする。

[主要評価項目]

有害事象の事象別および重症度別に発現例数、発現件数を集計する。これについては試験治療期間、後観察期間に分けた集計も行う。試験物との因果関係が否定できない有害事象についても同様な集計を行う。臨床検査値については、被験者別に一覧に示す。また、被験者別に各臨床検査値について、その経時変化を折れ線グラフを用いて示す。

[副次評価項目]

[有効性に関する主要評価項目]

抗菌効果について、有効例数を示し、被験者別に投与開始前、投与終了翌日、投与開始後 29 日目の各時点の菌量の定性 (-, +1, +2, +3) の経時変化を折れ線グラフを用いて示す。

[有効性に関する副次評価項目]

創部縮小効果について、被験者別に投与開始前、投与終了翌日、投与開始後 29 日目の各時点の潰瘍面積の値の経時変化を折れ線グラフを用いて示す。

9.7.2. 症例数の決定

本試験では、目標症例数は 6 例とした。

本試験は人に最初に投与する試験であるが、最大耐用量を推定することを目的とせず、十分安全と推定される用量範囲における有効性の評価に基づき、今後の開発の是非を判断することを目的としている。安全性については個々の事象について試験の継続可能性が判断される。臨床第 I 相試験では統計的基準によらず経験的に 1 用量につき 6 例程度の被験者が組み入れられることが多い。本試験における投与量は、非臨床の結果から安全と考えられる用量であり、かつ MIC において有効と期待される用量でもある。この投与用量で有効性が期待できないようであれば開発を中止せざるを得ないと考えられている。有効性に関する主要評価項目である抗菌作用について、投与終了翌日の菌量定性スコアが投与開始前との比較において低下または不変であることを有効と定める。この評価基準において母集団有効率が 0.50 以上であることが開発を進めるための目安となる。したがって、母集団有効率が 0.50 以上である可能性が否定されるならば開発中止と判断するとき、中止判断の誤りの確率を 0.10 以下とするために必要な最小被験者数を求める。この基準のもとでは、4 例となる。中止判断の誤り確率を 0.05 以下とする場合には 5 例である。

9.8. 臨床研究の実施又は計画された解析に関する変更

本臨床研究の対象疾患は当初、「糖尿病・閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病を基礎疾患に有し、創部に MRSA を保菌している難治性皮膚潰瘍」であったが、被験者のリクルートが困難であったため、創部に存在する菌種を拡大し、「糖尿病・閉塞性動脈硬化症・ビュルガー病を基礎疾患に有し、創部に MRSA あるいは MSSA を保菌している難治性皮膚潰瘍」と変更した。ただし、この変更が行われた 2014 年 8 月 12 日改訂の第 6 版実施計画書となって以降、新たに登録された被験者はおらず、結果として本臨床研究では MRSA の保菌者のみが被験者となった。

その他の臨床研究実施計画書の改訂については、改訂年月日、改訂内容及び改訂理由を以下の表 2 に示した。

表 2：臨床研究実施計画書の変更履歴

版数	改訂年月日	改訂内容	改訂理由
1	2013/2/4	制定	
2	2013/3/13	実施体制の変更	人事異動に伴う
3	2013/5/15	実施体制の変更 スケジュールの一部変更	人事異動に伴う 被験者への不利益を考慮
4	2014/1/28	実施体制の変更 スクリーニング検査の変更等	人事異動に伴う 研究実施を円滑にするため
5	2014/5/26	症例報告書の提出 実施体制の変更	実務とあわせるため 人事異動に伴う
6	2014/8/12	選択基準の変更 実施体制の変更*	対象とする菌を拡大するため 人事異動に伴う

*実施体制について、研究分担者のみ追加を行った。

10. 臨床研究対象患者

10.1. 患者の内訳

本臨床試験では、同意取得が得られた 4 症例に対してスクリーニングが実施され、そのうち 2 症例が登録に至った。

登録された 2 症例は、いずれも閉塞性動脈硬化症に基づく右下肢の難治性潰瘍であった。登録された 2 症例に対して、AG30/5C が投与され、治療後評価、後観察評価が行われた。患者背景を表 3 に示した。患者背景の記述統計量を用いた要約は「付録 16.2.1.個々の患者データ」の項に示した。

表 3：患者背景

被験者登録番号		1	2
性別		男	女
同意取得時年齢（歳）		52	81
身長（cm）		149.1	151.5
体重（kg）		47	62.9
現病歴(基礎疾患)	糖尿病の有無	有	有
	閉塞性動脈硬化症の有無	有	有
	ビュルガー病の有無	無	無

現病歴(治療対象潰瘍)[部位]		右下肢	右下肢
5年以内の既往歴	皮膚潰瘍の有無	有	無
	その他	白内障	—
併存症		ウェルナー症候群, 右足関節癒痕拘縮, 骨粗鬆症, 脂肪肝, 肝機能障害, 甲状腺機能低下症, 性腺機能低下症, 右アキレス腱部潰瘍, 左膝蓋腱炎, 貧血, 左足関節拘縮, 腰痛症	下肢静脈瘤, 高血圧症, 血小板増多症, 骨粗鬆症, 不眠症, 末梢循環障害, 便秘症, 足白癬, 神経障害性疼痛
透析の有無		無	無
喫煙歴		吸ったことがない	吸ったことがない
治療歴	血流改善薬使用の有無	有	有
	外科的バイパス手術の有無	無	無
	プロトコル治療対象潰瘍に対する局所治療歴	プロスタンディン軟膏	プロスタンディン軟膏, フィブラストスプレ-250ug, リンデロンV軟膏0.12%, ユーバスタ軟膏, プロメライン軟膏, アクトシン軟膏, ケーベンクリーム1%, マイザー軟膏0.05%

10.2. 臨床研究実施計画書の遵守

臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更については未来医療臨床研究実施計画書「13.臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更」の項で規定した。以下にその内容を示した。

【13.1 臨床研究実施計画書の遵守】

本臨床研究は、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない場合を除き、本実施計画書を遵守して実施する。

【13.2 実施計画書からの逸脱又は変更】

責任者又は分担者は、被験者の緊急の危険を回避するためのものである等医療上やむを得ない事情があれば、本実施計画書からの逸脱を行うことができる。その際には、責任者は、内容及び理由を、可能な限り早急に病院長を経て未来医療臨床研究審査・評価委員会に報告する。また、責任者又は分担者は、本実施計画書から逸脱した場合は理由のいかんによらずすべてこれを記録する。

また、本実施計画書の変更・改訂が適切な場合には、その案を、病院長を経て未来医療臨床研究審査・評価委員会に提出してその承認を得る。変更の際には変

更することの倫理的、科学的、及び医学的妥当性について十分検討する。逸脱・変更に際しての手続きは「未来医療臨床研究規程」第7条、第20条に従う。

10.3. 臨床研究実施計画書からの逸脱

実施計画書からの逸脱件数は1件であった。これは、実施計画書の併用注意薬に定めた併用規定を遵守できなかったことによる逸脱である。この逸脱は第83回未来医療臨床研究審査・評価委員会へ報告された。表4にこの逸脱の内容、理由、委員会への報告時に提出した対処等を示した。

表4：実施計画書逸脱事項

症例番号	逸脱内容 (報告日*1)	逸脱理由	対処等
1	実施計画書の併用注意薬に定めた併用規定の不遵守 (2013/12/4)	2013年3月11日研究参加の同意取得。3月25日から4月4日まで試験物の投与を行い、5月25日に後観察まで実施し、研究参加期間を終了していた。 同意取得前からドルナー錠（ベラトプラストナトリウム）による頭痛軽減のため一般的なドルナーの用法用量から変更し、ドルナー錠を80 μ g/日、1日2回に分けて服用しており、研究参加期間中は用法用量に変更はなかった。 10月30日のモニタリングでモニターより実施計画書で規定されている「ベラプロストナトリウムを併用する場合には1日120 μ gを3回に分けて食後に経口服用する。」から逸脱しているとの指摘があった。	本被験者に重篤な有害事象は認めておらず、併用規定不遵守に関係すると思われる有害事象も認めていない。 本臨床研究の評価にも影響しないと考えられたため、併用注意薬に該当する薬剤を試験前から投薬している場合は、研究参加中に原則投薬量を変更しないこととし、プロトコルの改訂を行った。

*1：未来医療臨床研究審査・評価委員会への報告日

11. 有効性の評価

11.1. 解析したデータセット

有効性の解析には、登録された2症例全例を対象にした。

11.2. 有効性に関する成績及び個別患者データ一覧表

1)潰瘍面積(cm²)、

2症例の潰瘍面積(cm²)の各測定時点の結果を表5及び図2に示した。
潰瘍面積は、2症例とも、経時的な縮小が認められた。

表5：被験者別各時点での潰瘍面積(cm²)の値一覧

被験者登録番号	初回投与前	12日目(投与終了翌日)	29日目(後観察)
1	0.65	0.36	0.17
2	13.49	12.11	11.61

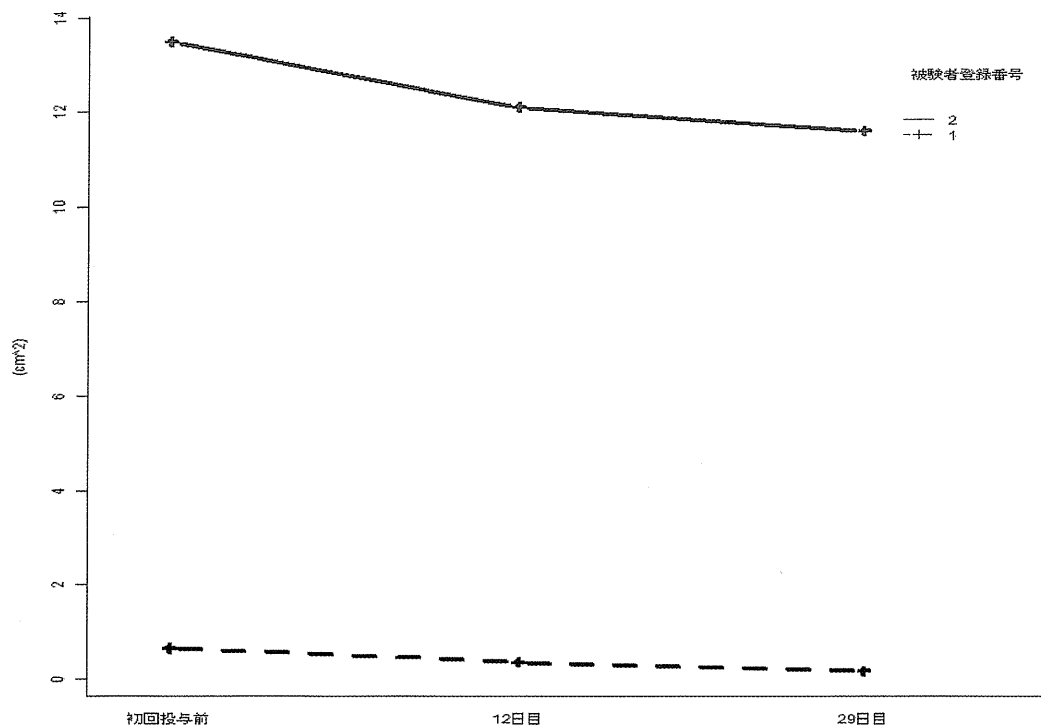


図 2：潰瘍面積(cm²) の経時変化

2)潰瘍面積の縮小率(%)

潰瘍面積の縮小率(%)を表 6 に示した。症例 1 の縮小率は、投与前に比較し投与開始 12 日目は 44.62%、29 日目は 73.85%の縮小率であった。同様に、症例 2 の縮小率は、投与前に比較し投与開始 12 日目は 10.23%、29 日目は 13.94%の縮小率であった。

表 6：症例別各時点での潰瘍面積の縮小率(%)

被験者登録番号	12 日目(投与終了翌日)	29 日目(後観察)
1	44.62	73.85
2	10.23	13.94

3)菌量

2 症例の各測定時点の菌量(定性)を表 7 に示した。また、菌量(定性)の経時変化を折れ線グラフで示した(図 3)。

11 日間の AG30/5C 投与終了翌日の判定(投与開始後 12 日目)で、2 症例とも菌量の低下が認められた。