

活性化させ、血中遊離脂肪酸の上昇を図ることができる。遊離脂肪酸は糖尿病やインスリン抵抗性で上昇しており、これらは冠動脈疾患に合併することが多く、臨床的な意義も大きい。

コルヒチンは、非臨床試験及びコルヒチンを長期間使用した患者などで生殖機能に対する影響が報告されている^{7)~12)}。本臨床試験で計画するコルヒチンの用法・用量では健康成人の精巣に影響を及ぼす可能性は少ないと考えられるが、完全に否定することはできないことから妊娠する可能性のある女性パートナーを持つ避妊手術を受けていない男性の場合、試験薬服用開始時から試験薬最終投与 90 日間まで適切な避妊をすることとした。

3.2.2 コルヒチンの用量設定の根拠

痛風発作の予防で用いる用量は 1 日 0.5mg-1.0mg である。コルヒチンはこれまで痛風の予防に 200 年にわたって用いられ、安全性はほぼ確立している。オーストラリアの臨床試験で 1 日 0.5mg の投与で安定冠動脈疾患患者の心血管イベントが減少している⁴⁾ことから、本試験のコルヒチン投与量は 0.5mg とした。

4 被験者の選定

本試験では、以下の選択基準を満たし、除外基準に抵触しない日本人健康成人男性を対象とする。

4.1 選択基準

下記条件を満たす健康成人で試験担当医師が適格と判断した者を被験者とする。

- 1) 本試験への参加を志願する文書同意能力のある者
- 2) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 40 歳未満の男性
- 3) 体重が 50kg 以上 100kg 未満で且つ、BMI が 18kg/m^2 以上 27kg/m^2 未満の者
- 4) 診察、理学検査及び臨床検査等から試験担当医師が健康上問題ないと判断した者
- 5) 妊娠する可能性のある女性パートナーを持つ避妊手術を受けていない男性*の場合、試験薬服用開始時から試験薬最終投与 90 日間まで適切な避妊の実施に同意する方

*：避妊手術を受けた男性とは、精管切除後、少なくとも 1 年間経過し、かつ射精時に精子がないことを証明する書類がある男性とする。

【設定根拠】

- 1) 本試験の倫理性を保障するために設定した。
- 2、3) 年齢は倫理性を保障するために、未成人である 20 歳未満を除いた。年齢の上限は血圧、血糖、脂質の上昇等動脈硬化の発生、進展の影響を省くために設定した。体重の設定は臨床薬理試験／臨床第 I 相試験における被験者選択の標準的な条件として設定した。
- 4) 被験者の安全性を考慮し、設定した。
- 5) コルヒチンは、非臨床試験及びコルヒチンを長期間使用した患者などで生殖機能に対する影響が報告されており、健康成人の精巣に影響を及ぼす可能性が否定できないことか

ら設定した。

4.2 除外基準

下記の条件に抵触する被験者は除外する。特に記載のない限り、以下の記載はスクリーニング時点での基準を示す。

- 1) コルヒチン、ヘパリン、脂肪乳剤に対し過敏症の既往歴のある者
- 2) コルヒチン製剤、ヘパリン製剤、脂肪乳剤製剤で禁忌にされている疾患等を有する者
- 3) 治療を必要とする腎疾患又は肝疾患を有する者
- 4) コルヒチン、ヘパリン、脂肪乳剤の作用機序から投与が望ましくないと試験担当医師が判断した疾患等を有する者
- 5) 医薬品、またはセントジョーンズワートを含む健康食品を試験薬の投与前 7 日間以内に服用した者で、試験担当医師が本試験の対象として不適当と判断した者
- 6) グレープフルーツを含む飲食物を試験薬の投与前 7 日間以内に摂取した者
- 7) 過去 3 ヶ月以内に他の治験及び臨床試験に参加した者
- 8) 過去 1 ヶ月以内に 200 mL 以上、過去 3 ヶ月以内に 400 mL 以上の献血をした者
- 9) 梅毒血清反応、HIV 抗原・抗体、HBs 抗原、HCV 抗体が陽性である者
- 10) 薬物乱用者又は尿中薬物検査において陽性反応が認められた者、アルコール依存が疑われる者
- 11) その他、試験担当医師が本試験の対象として不適当と判断した者

【設定根拠】

- 1)～4) 被験者の安全性を考慮し、設定した。
- 5)～7) コルヒチンの薬物動態への影響を考慮して、設定した。
- 8) 「採血および供血あっせん業取締り法施行規則」（平成 11 年 2 月 22 日）を参考として設定した。
- 9) 試験関係者の安全性を確保するために被験者として適切でないと考えられるため、設定した。
- 10) 試験の遂行に支障を来たす可能性があるため、設定した。
- 11) 試験担当者が前述以外の全般的要因を勘案し、被験者の安全性確保を配慮して本試験の参加の可否を判断できる余地を残すため設定した。

5 試験薬の使用、併用療法・飲食物・喫煙等の制限

5.1 試験で用いる薬剤と使用方法

5.1.1 被験薬（コルヒチン）

コルヒチン

一般名	和名：コルヒチン 洋名：Colchicine
-----	---------------------------

試験実施計画書番号：

版数 2.0 版 (2015 年 3 月 26 日)

商品名	コルヒチン錠 0.5mg 「タカタ」
規格・含量	1 錠中コルヒチン 0.5mg
剤型	素錠
貯法・保存条件	遮光・室温保存 (光によって変化する。)
製剤の規制区分	劇薬、処方せん医薬品
製造販売元	高田製薬株式会社

(使用方法)

試験期 (Day1~Day7) にコルヒチン錠 0.5mg 「タカタ」を、1 日 1 回 1 錠、7 日間 朝に水約 150mL とともに服用する。

5.1.2 各種検査の評価のために使用する薬剤

1) 脂肪乳剤

一般名	和名：精製大豆油 洋名：Soybean Oil
商品名	イントラリピッド [®] 輸液 20%(フレゼニウス カービ ジャパン株式会社)
剤型	乳懸性注射薬
貯法・保存条件	室温保存 (凍結を避けて暗所に保存)
製剤の規制区分	処方せん医薬品

(使用方法)

試験期 Day1 (試験薬投与前)、Day7 試験薬投与直後、Day8 (24 時間後)、Day9 (48 時間後) に脂肪乳剤 (イントラリピッド[®]輸液 20%) を 90mL/時間で 2 時間点滴静注する。

2) ヘパリン

一般名	和名：ヘパリンナトリウム (JAN) 洋名：Heparin Sodium (JAN)、heparin sodium (INN)
商品名	ノボ・ヘパリン注 (持田製薬株式会社)
剤型	水性注射剤
貯法・保存条件	遮光、室温保存
製剤の規制区分	生物由来製品、処方せん医薬品

(使用方法)

試験期 Day1 (試験薬投与前)、Day7 試験薬投与直後、Day8 (24 時間後)、Day9 (48 時間後) にヘパリン (ノボ・ヘパリン注) を 0.3U/mL/kg で 2 時間点滴静注する。

5.2 併用療法、飲食物・喫煙等

5.2.1 併用禁止薬・併用禁止療法

安全性、薬物動態への影響を考慮し、試験薬投与 7 日間前から事後検査を終了するまでは市販薬、処方薬、漢方、全身作用のある貼付薬などの薬物の使用を禁止する。但し、試験担当医師が必要かつ薬物動態及び中枢作用への影響がないと認めた場合は薬剤の使用を可能とする。薬剤を使用した場合には、他剤使用の履歴を記録する。

【設定根拠】

コルヒチンは主として肝代謝酵素 CYP3A4 で代謝される。試験薬とその他の薬物との併用により試験薬の薬物動態、薬理作用への影響が否定されないために設定した。

5.2.2 飲食物・喫煙

白血球機能の評価を実施する 10 時間前から水、麦茶を除く飲食物の摂取は禁止とする。その他の飲食物の規定について、以下に示す。

- (1) グレープフルーツを含む飲食物（グレープフルーツジュースの含有成分である 6',7'-ジヒドロキシベルガモチン、フラノクマリン、バイオフラボノイドを含む）、セイヨウオトギリソウ含有食品
入院の 7 日間前から試験期終了（退院）まで禁止する。
- (2) アルコール含有飲料、カフェイン含有飲料（お茶類、コーヒー等）
入院から試験期終了（退院）まで禁止する。
- (3) タバコ（喫煙）
入院から試験期終了（退院）まで禁止する。

【設定根拠】

試験薬の薬物動態、薬理作用への影響が否定できないために設定した。

5.2.3 その他

1) 運動

血液検査への影響する可能性があるため、スクリーニング検査終了後から事後検査終了までの筋肉疲労、発汗を伴うような過度の運動を避けるものとする。

2) 生活

不規則な生活リズムが試験に影響する可能性があるため、入院 7 日間前から試験終了まで、規則正しい生活を送るものとし、概日リズムに影響する行動は避けるものとする。

3) 避妊

妊娠する可能性のある女性パートナーを持つ避妊手術を受けていない被験者は、試験薬開始時から試験薬最終投与 90 日後まで適切な避妊を行うよう被験者に指示をする。

試験実施計画書番号： 版数 2.0 版（2015 年 3 月 26 日）

試験薬投与開始から最終投与後 90 日以内に、被験者の女性パートナーが妊娠していることが判明した場合には、被験者のパートナーから承諾を得た上で試験担当医師または試験の相談窓口まで連絡をするよう指導する。被験者の女性パートナーの同意のもとに、出産まで追跡調査する。

6 試験の実施手順

6.1 試験のスケジュール

本試験の調査、観察及び検査などのスケジュールを表 6.1-1 に示した。調査・観察・検査及び評価は規定された時期に実施する。スクリーニング検査は、入院前 28 日以内実施する。

試験実施計画書番号： 版数 2.0 版 (2015 年 3 月 26 日)

表 6.1-1 試験のスケジュール

	SCR	Day-1	Day1						Day2	Day3	Day4	Day5	Day6						Day7						Day8						Day9						事後
		夕方	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**	**:**	**:**	**:**	**:**	夕方	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**						
試験薬最終投与(⑦)後経過時間	-	-	-						-	-	-	-	-						-						-						-						
標準時刻(目安の時間)		夕方	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**	**:**	**:**	**:**	**:**	夕方	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**	7:00	8:30	9:00	11:00	**:**	**:**						
同意取得	●																																				
来院状況等	通院	入院						退院	自宅	自宅	自宅	自宅	自宅	入院																	退院	通院					
病院給食		夕食					昼食						夕食					昼食	夕食					昼食	夕食					昼食							
試験薬投与						● ①		②~⑥ 処方	● ②	● ③	● ④	● ⑤	● ⑥				● ⑦																				
アンケート	●	●											●																		●						
身長	●																																				
体重	●	●	●											●	●					●						●					●						
診察	●	●	●											●	●					●						●					●						
12誘導心電図	●													●																	●						
血圧・脈拍数・体温	●		●											●	●					●						●					●						
臨床検査	血液学的検査 ^(*) (2mL/回)	●	●											●																	●						
	血液生化学検査 ^(*) (6mL/回)	●	●											●																	●						
	血糖検査 (2mL/回)	●	●											●																	●						
	尿定性検査 (10mL/回)	●	●											●																	●						
	免疫学的検査 (3mL/回)	●																																			
尿中乱用薬物検査	●																																				
留置		●												●						●						●											
安静(30分)			●												●					●						●											
静脈注射 (ヘパリン投与下、脂肪乳剤投与)					●	→									●	→										●	→										
血漿中コレステロール濃度 (7mL/回)				●											●											●											
白血球内コレステロール濃度 (20mL/回)				●											●											●											
白血球機能測定 (3mL/回)				●	●										●	●										●	●										
活性化した白血球から遊離されたリソソーム、ミエロペロキシダーゼ濃度 ^(*) (5mL)				●	●	(5mL)									●	●	(5mL)								●	●	(5mL)										
白血球炎症性シグナルのタンパク質発現解析 (15mL/回)				●	●										●	●									●	●											
白血球アンジオテンシンⅡ産生能測定 (15mL/回)				●	●										●	●																					
有害事象の観察			←																												→						

^(*)血漿中コレステロール濃度測定用検体と同じものを使用

6.2 スクリーニング検査

本試験実施前に表 6.2-1 の検査・観察項目についてスクリーニング（人口統計学的データ等の調査）を実施する。

評価項目被験者の選択基準・除外基準に基づき、試験担当医師は被験者の適格性を総合的に判断する。

表 6.2-1 スクリーニング項目の一覧

項目	内容	
背景情報 (人口統計学的データ等)	生年月日、性別、身長、体重、BMI、飲酒歴、喫煙歴、常用薬、現病歴、既往歴、家族歴、アレルギー体質の有無（薬物、食物等）、薬物依存、採血・献血歴、治験及び臨床試験参加歴等	
診察	問診、視診、聴診、触診	
バイタルサイン	座位血圧(収縮期血圧、拡張期血圧)、脈拍数、体温	
心電図	安静時 12 誘導心電図	
臨床検査	血液学的検査 (採血量 2mL/回)	赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、白血球分画
	血液生化学検査 (採血量 6mL/回)	総ビリルビン、直接ビリルビン、AST(GOT)、ALT(GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK、尿酸、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、トリグリセライド(中性脂肪)、Na、K、Cl
	血糖検査 (採血量 2mL/回)	グルコース
	尿検査 (採尿量 10mL/回)	蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ケトン体
免疫学的検査 (採血量 3mL/回)	HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗原・抗体、梅毒血清反応(TPLA、RPR)	
薬物スクリーニング検査 (採尿量 10mL/回)	フェンシクリジン類、ベンゾジアゼピン類、コカイン系麻薬、覚せい剤、大麻、モルヒネ系麻薬、バルビツール酸類、三環系抗うつ剤	

6.3 試験終了時又は中止時

事後検査を最終来院とし、以下の検査・観察・評価項目を実施する。予定より早期に中止した場合は、事後検査と同様の検査・観察・評価項目を実施する。

- 有害事象調査
- 併用薬
- 診察
- 体重

試験実施計画書番号： 版数 2.0 版（2015 年 3 月 26 日）

- 体温
- バイタルサイン（座位血圧、脈拍数）
- 12 誘導心電図検査
- 臨床検査

試験薬を投与されたすべての被験者に対して、試験の終了状態を症例報告書に記載する。

6.4 試験終了基準

最終観察にて健康上問題ないことが確認された時点を試験の終了とする。

6.5 中止基準

- 1) 被験者より試験参加の同意の撤回があった場合
- 2) 被験者の都合により試験が中断された場合
- 3) 偶発的な事故が発生した場合
- 4) 有害事象が発現し、試験の継続が困難となった場合
- 5) 試験中の診察や検査の結果、試験担当医師が試験の継続が被験者にとって問題があると判断した場合
- 6) 試験開始後に被験者が試験の対象とはならないことが判明した場合
- 7) 本試験実施計画書から重大な逸脱があり評価不能と判断される場合
- 8) その他、試験責任医師または試験分担医師が試験の継続を困難と判断し中止が妥当と判断した場合

【設定根拠】

- 1) 同意取得時の説明事項である。
- 2) 同意取得時の説明事項であり、また適切な評価ができなくなる可能性があるため設定した。
- 3)、4)、5)被験者の安全性を配慮して設定した。
- 6)、7)、8) データ取得対象として不適切症例となるため設定した。
- 8) 試験責任医師が前述以外の全般的要因を勘案し、被験者の安全確保を配慮して本試験の参加の可否を判断できる余地を残すため設定した。

7 調査・検査及び評価方法

7.1 脂肪乳剤／ヘパリン静注による遊離脂肪酸負荷(白血球活性化)の方法

試験期1日目の試験薬投与前および7日目の試験薬投与直後、24時間後、48時間後（7日目投与後2時間後、26時間後、50時間後の白血球機能評価の検査実施前）に、脂肪乳剤

(90mL/hr, 使用製剤：イントラリピッド*輸液20%) 及びヘパリン (0.3U/kg/min, 使用製剤：ノボ・ヘパリン注*) を2時間、静脈内に投与する⁶⁾

7.2 安全性の評価方法

表 7.2-1 に示す安全性評価項目を表 6.1-1 「試験のスケジュール」に従って実施する。

表 7.2-1 安全性評価項目の一覧

項目	内容	
診察	問診、視診、聴診、触診	
バイタルサイン	座位血圧(収縮期血圧、拡張期血圧)、脈拍数、体温	
心電図	安静時 12 誘導心電図	
臨床検査	血液学的検査 (採血量 2mL/回)	赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、白血球分画
	血液生化学検査 (採血量 6mL/回)	総ビリルビン、直接ビリルビン、AST (GOT)、ALT (GPT)、 γ -GTP、ALP、LDH、CK、尿酸、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、トリグリセライド (中性脂肪)、Na、K、Cl
	血糖検査 (採血量 2mL/回)	グルコース
	尿検査 (採尿量 10mL/回)	蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ケトン体

7.3 コルヒチンの薬物動態の検討

7.3.1 血漿中及び白血球 (単核球、多核球) 内コルヒチン濃度測定

1) 検体の採取方法及び前処理

静脈血 27mL を 21G 翼状針にて採取し、そのうち 7mL を EDTA-2Na 管に入れ 5~6 回転倒混和した後、4°C 3000 rpm で 15 分間遠心分離する。分取した血漿は、1mL ずつ 1.5mL 遮光チューブに分注する。これを血漿中コルヒチン濃度測定用検体とし、測定まで-20°C 以下で凍結保存する。

残りの 20mL の血液は、抗凝固剤としてクエン酸ナトリウム溶液を入れた 50mL 遠沈管に移し、3, 4 回転倒混和する。この後、4 本の Polymorphprep 5mL を入れた 15mL 遠沈管に 5mL ずつ静かに重層し、20°C 500 g で 30 分間遠心分離する。遠心後、単核球層と多核球層をパスツールピペットで採取し、それぞれを 50mL 遠沈管に集め、全量 30~40mL となるよう生理食塩水を加え 3, 4 回転倒混和し、20°C 500g で 5 分間遠心分離する。上清を取り除き細胞を回収後、細胞ペレットを全量 0.2mL となるよう生理食塩水で懸濁し、遮光チューブに移す。細胞数を計測するため懸濁液の一部を使用した後、これを白血球中 (単核球、多核球) コルヒチン濃度測定用検体とし、測定まで-20°C 以下で凍結保存す

試験実施計画書番号： 版数 2.0 版（2015 年 3 月 26 日）

る。

2) 検体の採取時期

試験期 1 日目の試験薬投与前、7 日目の試験薬投与直後、24 時間後、48 時間後に行う。

3) 測定方法

血中および白血球内コルヒチン濃度は、各検体からのコルヒチン抽出作業を琉球大学大学院臨床薬理学にて行った後、LC/MS-MS 法(LC :Agilent 1290 LC,MS:Agilent 6460 LC-MS, Agilent Technologies, Tokyo, Japan)にて琉球大学医学部附属病院薬剤部の機器を用いて測定する。

7.4 薬理作用の検討(白血球機能評価)

7.4.1 白血球機能（マイクロチャンネルフローアナライザーを用いての通過時の白血球の接着能、変形、通過時間）

1) 検体の採取方法

あらかじめ 5mL シリンジ内にヘパリンナトリウム注射液(1000 単位/mL) 0.15mL 入れておき、そのシリンジで 21G 翼状針にて静脈より 3mL 採血する。この血液を血液流動性測定器（BWA-MCFAN Ak-III）にかける試料とする。

2) 検体の採取時期

試験期 1 日目の試験薬投与前（脂肪乳剤・ヘパリン負荷前および終了時）、7 日目の試験薬投与直後（脂肪乳剤・ヘパリン負荷前）及び 7 日目の試験薬投与後 2 時間後（脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時）、24 時間後（脂肪乳剤・ヘパリン負荷前）、26 時間後（脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時）、48 時間後（脂肪乳剤・ヘパリン負荷前）、50 時間後（脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時）に行う。

3) 測定方法

採血後 30 分以内にマイクロチャンネルフローアナライザー(BWA-MCFAN Ak-III)を用いて全血通過時の白血球の接着、変形、通過時間により評価する。白血球通過時のイメージをコンピュータープログラムに取り込み、接着白血球のカウントを行う。

7.4.2 活性化した白血球から遊離されたサイトカイン、ミエロペロキシダーゼ濃度測定

1) 検体の採取方法

静脈血 5mL を EDTA-2Na 管にて採取し、5~6 回転倒混和した後、4°C 3000 rpm で 15 分間遠心分離する。採取後速やかに氷冷し、処理中も氷冷を維持する。得られた血漿検体は、測定まで-20°C以下で凍結保存する。

2) 検体の採取時期

試験期 1 日目の試験薬投与前 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前および終了時)、7 日目の試験薬投与直後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前) 及び 7 日目の試験薬投与後 2 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時)、24 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前)、26 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時)、48 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前)、50 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時) に行う。

3) 測定方法

ELISA 法で測定する。

7.4.3 白血球炎症性シグナルのタンパク質発現解析

1) 検体の採取方法及び前処理

(単核球)

10mL の血液を抗凝固剤としてクエン酸ナトリウム溶液を入れた 50mL 遠沈管に入れ、全量 30mL となるよう HBSS(-)を加える。2 本の 50 mL 遠沈管に 10 mL の Lymphoprep を入れ、HBSS(-)で希釈した血液を 15mL ずつ重層し、20°C 500 g で 30 分間遠心分離する。それぞれの遠沈管から単核球層をパスツールピペットで採取し 50 mL 遠沈管に集め、2% Dextran HBSS(-) sln.を同体積量添加し混ぜ合わせる。室温にて 30 分静置し、20°C 500 g で 5 分間遠心分離し、上清を取り除く。細胞ペレットを氷中下で 1mL の M199 で懸濁し、1.5mL チューブに 500 μ L ずつ分注する。各チューブに冷やした 50% TCA を 100 μ L 添加しボルテックスミキサーを用いて軽く攪拌した後、4°C 12000 rpm で 5 分間遠心分離する。上清を取り除き、得られた細胞ペレットに冷やした HBSS(-)を 600 μ L 入れ転倒混和し、4°C 12000 rpm で 1 分間遠心分離する。上清を取り除き、細胞ペレットを測定まで-20°C 以下で凍結保存する。

(多核球)

5mL の血液を抗凝固剤としてクエン酸ナトリウム溶液を入れた 50mL 遠沈管に移し、3, 4 回転倒混和する。この後、Polymorphprep 5mL を入れた 15mL 遠沈管に 5mL 静かに重層し、20°C 500 g で 30 分間遠心分離する。遠心後、多核球層をパスツールピペットで採取し、50mL 遠沈管に集め、生理食塩水を加え 30~40mL にして 3, 4 回転倒混和し、20°C 500g で 5 分間遠心分離する。上清を取り除き、細胞ペレットを回収後、細胞ペレットを氷中下で 1mL の M199 で懸濁し、1.5mL チューブに 500 μ L ずつ分注する。各チューブに冷やした 50% TCA を 100 μ L 添加しボルテックスミキサーを用いて軽く攪拌した後、4°C 12000 rpm で 5 分間遠心分離する。上清を取り除き、得られた細胞ペレットに冷やした HBSS(-)を 600 μ L 入れ転倒混和し、4°C 12000 rpm で 1 分間遠心分離する。上清を取り除き、細胞ペレットを測定まで-20°C 以下で凍結保存する。

2) 検体の採取時期

試験期 1 日目の試験薬投与前 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前および終了時)、7 日目の試験薬投与直後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前) 及び 7 日目の試験薬投与後 2 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時)、24 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前)、26 時間後 (脂肪

試験実施計画書番号： 版数 2.0 版 (2015 年 3 月 26 日)

乳剤・ヘパリン負荷終了時)、48 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前)、50 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時) に行う。

3) 測定方法

尿素溶液とサンプルバッファーにより、TCA 沈殿後の核血球を可溶化し、ウエスタンブロッティングを行う。抗体を用いて TNF- α や NF κ B などのシグナルの下流分子群の発現や活性を調べる。

7.4.4 白血球アンジオテンシン II 産生能

1) 検体の採取方法及び前処理

15mL の血液を抗凝固剤としてクエン酸ナトリウム溶液を入れた 50mL 遠沈管に移し、3, 4 回転倒混和する。この後、Polymorphprep 5mL を入れた 15mL 遠沈管 3 本に 5mL ずつ静かに重層し、20°C 500 g で 30 分間遠心する。遠心後、単核球層と多核球層をパスツールピペットで採取し、それぞれを 50mL 遠沈管に集め、生理食塩水を加え 30~40mL にして 3, 4 回転倒混和し、20°C 500g で 5 分間遠心分離する。細胞を回収後、細胞ペレットを全量 0.2mL となるよう生理食塩水で懸濁し、1.5mL チューブに移す。細胞数を計測するため懸濁液を一部使用した後、20°C 500g で 5 分間遠心し、上清を取り除き細胞ペレットを測定まで-20°C以下で凍結保存する。

2) 検体の採取時期

試験期 1 日目の試験薬投与前 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前および終了時)、7 日目の試験薬投与直後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷前)、7 日目の試験薬投与後 2 時間後 (脂肪乳剤・ヘパリン負荷終了時) に行う。

7.4.5 採血量及び採血回数

スクリーニング検査から事後検査まで、被験者 1 名当たり計 12 回の採血を実施し、採血量は 375 mL となる。

表 7.4.5-1 採血回数及び採血量

	1回当たりの採血量	検査回数									採血量	
		スクリーニング検査	試験期							事後検査		合計回数
			Day-1	Day 1	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9				
血液学的検査	2	1	1	-	1	-	-	-	1	4	8	
血液生化学検査	6	1	1	-	1	-	-	-	1	4	24	
血糖検査	2	1	1	-	1	-	-	-	1	4	8	
免疫学的検査	3	1	-	-	-	-	-	-	-	1	3	
血漿中コルヒチン濃度測定用	7	-	-	1	-	1	1	1	-	4	28	
白血球内コルヒチン濃度測定用	20	-	-	1	-	1	1	1	-	4	80	
白血球機能測定用	3	-	-	2	-	2	2	2	-	8	24	
活性化した白血球から遊離されたサイトカイン、ミエロペロキシダーゼ濃度測定用	※	-	-	1	-	1	1	1	-	4	—	
活性化した白血球から遊離されたサイトカイン、ミエロペロキシダーゼ濃度測定用 (Day 7 0hr)	5	-	-	1	-	1	1	1	-	4	20	
白血球炎症性シグナルのタンパク質発現解析用	15	-	-	2	-	2	2	2	-	8	120	
白血球アンジオテンシンII産生能測定用	15	-	-	2	-	2	-	-	-	4	60	
											375	

※ 血漿中コルヒチン濃度測定用検体と同じものを使用

8 有害事象の報告

試験担当医師は、試験期間中にみとめられた有害事象について、その内容、重篤区分（重篤、非重篤）、重症度、発現・増悪の日時及び確認日、消失日時、処置、転帰及び転帰確認日を全て記録する。

8.1 予想される有害事象

コルヒチン錠 0.5mg 「タカタ」

（添付文書 2014 年 2 月改訂（第 10 版）より抜粋）

(1) 重大な副作用（頻度不明）

- 1) 再生不良性貧血，顆粒球減少，白血球減少，血小板減少：これらの副作用があらわれることがあるので，観察を十分に行い，異常が認められた場合には投与を中止すること。
- 2) 横紋筋融解症，ミオパチー：筋肉痛，脱力感，CK（CPK）上昇，血中及び尿中ミオグロビン上昇等を特徴とする横紋筋融解症があらわれ，これに伴って急性腎不全等の重篤な腎障害があらわれることがあるので，このような場合には，直ちに投与を中止するなど適切な処置を行うこと。また，ミオパチーがあらわれることがあるので，筋肉痛，筋力低下，CK（CPK）上昇等があらわれた場合には，直ちに投与を中止するなど適切な処置を行うこと。
- 3) 末梢神経障害：末梢神経障害があらわれることがあるので，観察を十分に行い，このような症状があらわれた場合には投与を中止すること。

(2) その他の副作用

発現部位等	（頻度不明）
過敏症 ^{注1)}	全身のそう痒，発疹，発熱
消化器 ^{注2)}	下痢，悪心・嘔吐，腹痛，腹部疝痛
腎臓 ^{注1)}	BUN上昇，クレアチニン上昇，尿蛋白陽性，血尿，乏尿
肝臓	肝機能異常（AST（GOT）上昇，ALT（GPT）上昇， γ -GTP上昇），ALP上昇
その他 ^{注1)}	脱力感，脱毛

注1) このような症状があらわれた場合には，投与を中止すること。（太字）

注2) このような症状があらわれた場合には，減量又は休薬するなど適切な処置を行うこと。（太字）

(3) その他の注意

- 1) 父親が本剤を服用した場合、その配偶者より、ダウン症候群及びその他の先天異常児が出生する可能性があるとの報告がある。
- 2) ラットにおいて精巢毒性（精上皮細胞の脱落等）を引き起こすことが報告されている。

イントラリピッド[®]輸液 20%（静脈用脂肪乳剤）

（添付文書 2012 年 11 月改訂（第 4 版）より抜粋）

(1) 重大な副作用（頻度不明）

- 1) 静脈塞栓：静脈塞栓があらわれることがあるので、このような場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。
- 2) ショック，アナフィラキシー反応：ショック，アナフィラキシー反応があらわれることがあるので，呼吸困難，チアノーゼ等があらわれた場合には投与を中止し，適切な処置を行うこと。

(2) その他の副作用

発現部位等	頻度不明
血管・血液	静脈炎，血管痛，出血傾向
過敏症 ^{注 1)}	発疹，そう痒感
肝臓 ^{注 2)}	肝機能障害
循環器	血圧降下，頻脈，頻呼吸
呼吸器 ^{注 1)}	呼吸困難
消化器	嘔気・嘔吐，下痢，口渇
その他	発熱，悪寒，顔面潮紅，顔面浮腫，異臭感，胸部圧迫感

注 1) このような症状があらわれた場合には投与を中止すること。

注 2) このような場合には，減量等適切な処置を行うこと。

ノボ・ヘパリン注（日本薬局方 ヘパリンナトリウム注射液）

（添付文書 2013 年 1 月改訂（第 11 版）より抜粋）

(1) 重大な副作用（頻度不明）

- 1) ショック，アナフィラキシー様症状：ショック，アナフィラキシー様症状が起こることがあるので，観察を十分に行い，血圧低下，意識低下，呼吸困難，チアノーゼ，蕁麻疹等の異常が認められた場合には投与を中止し，適切な処置を行うこと。
- 2) 出血：脳出血，消化管出血，肺出血，硬膜外血腫，後腹膜血腫，腹腔内出血，術後出血，刺入部出血等重篤な出血があらわれることがあるので，観察を十分に行い，異常が認められた場合には本剤を減量又は中止し，適切な処置を行うこと。なお，血液凝固能が著しく低下し，抗凝血作用を急速に中和する必要がある場合には，プロタミン硫酸塩を投与する。
- 3) 血小板減少，HIT 等に伴う血小板減少・血栓症：本剤投与後に著明な血小板減少があらわれることがある。ヘパリン起因性血小板減少症（HIT）の場合は，著明な血小板減少と脳梗塞，肺塞栓症，深部静脈血栓症等の血栓症やシャント閉塞，回路内閉塞等を伴う。本剤投与後は血小板数を測定し，血小板数の著明な減少や血栓症を疑わせる異常が認められた場合には投与を中止し，適切な処置を行うこと。

(2) その他の副作用

発現部位等	頻度不明
過敏症	そう痒感，蕁麻疹，悪寒，発熱，鼻炎，気管支喘息，流涙等 ^{注)}
皮膚	脱毛，白斑，出血性壊死等
肝臓	AST (GOT)・ALT (GPT) の上昇等
長期投与	骨粗鬆症，低アルドステロン症
投与部位	局所の疼痛性血腫（皮下又は筋肉内注射時）

注) このような症状があらわれた場合には投与を中止すること。

8.2 有害事象

8.2.1 有害事象の定義

有害事象とは、医薬品（被験薬、対照薬を含む）が投与された患者又は被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごと。必ずしも当該医薬品（試験薬を含む）の投与との因果関係が明らかなもののみを示すものではない。

つまり有害事象とは、医薬品（被験薬、対照薬を含む）が投与された際に起こる、あらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候（臨床検査値の異常を含む）、症状又は病気のことであり、当該医薬品（被験薬、対照薬を含む）との因果関係の有無は問わない。

8.2.2 有害事象の収集期間

有害事象の収集は、被験者への試験薬投与開始時より開始し、事後検査まで継続して行う。

8.2.3 有害事象等の報告

試験担当医師は、被験者の自覚症状の発現の有無を確認する。「前回の診察以降どうでしたか」等の質問を行い、発現した有害事象等を被験者から聴取する。

試験担当医師は、試験薬との関連性にかかわらず、症状が消失するまで、臨床的に問題がある検査値の異常が前値に回復するまで、そうでない場合（永続的・不可逆的な有害事象等）は観察された変化について十分な説明がつくまで、有害事象等が発現したすべての被験者を追跡調査し、すべての有害事象等を症例報告書に記載する。有害事象等の名称、発現日時、消失日時、頻度、程度、試験薬との因果関係（関連なし、関連あり）、試験薬に関する処置、転帰及び治験の手順との因果関係（さらに因果関係が有の場合には原因と考えられる手順）について記載する。また、試験薬との因果関係が「関連なし」と判定された有害事象については、因果関係を否定した理由、あるいは転帰が不明の場合には、その理由を症例報告書のコメント欄に記載する。

有害事象の追跡期間は、有害事象等が回復するまで、あるいは試験担当医師がこれ以上の追跡は不要と判断するまでの期間とする。

8.3 重篤な有害事象

8.3.1 重篤な有害事象の定義

重篤な有害事象とは、医薬品が投与された（投与量にかかわらず）際に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごとのうち、以下のものをいう。

- 死に至るもの
- 生命を脅かすもの*
- 入院又は入院期間の延長が必要となるもの
- 永続的又は顕著な障害もしくは機能不全に陥るもの
- 先天異常をきたすもの
- その他の医学的に重大な状態 即座に生命を脅かしたり死や入院には至らなくとも、被験者を危険にさらしたり、上記 1～5 のような結果に至らぬように処置や治療を必要とするような重大な医学的事象。

*「生命を脅かす」とは、その事象が起こった際に被験者が死の危険にさらされていたという意味であり、その事象がもっと重症なものであったなら死に至っていたかもしれないという仮定的な意味ではない。

8.3.2 重篤な有害事象の収集及び報告

試験薬との因果関係の有無にかかわらず、重篤な有害事象が発現した場合は、試験担当医師は、安全確保を第一優先に迅速かつ適切な処置を講じた後、当該医療機関により定められた手順に従い、速やかに当該医療機関の長に報告する。

8.4 有害事象の評価

8.4.1 有害事象名の記載

(1) 診断名と徴候・症状

有害事象は診断名で記載する。随伴する徴候（臨床検査値の異常、心電図の異常所見を含む）及び症状は有害事象等としない。診断名がつかない有害事象等の場合は、徴候や症状を有害事象とする。

(2) 臨床検査値及び心電図所見

臨床検査値異常や心電図所見については、推移より臨床的に問題があると試験責任医師又は試験分担医師が判断した場合、有害事象とする（すなわち、何らかの処置又は診療行為を必要とする場合、又は、試験責任医師又は試験分担医師が、被験者の正常な生理的変動値域を超えた変化であると判断した場合）。ただし、臨床検査値異常や心電図所見が、有害事象としての診断名がつく疾患に随伴する場合（例：肝機能障害による総ビリルビン値上昇等）は、その診断名を有害事象等とする。

(3) 既存症状（同意取得前から存在する疾患、症状）

同意取得前から存在する疾患、症状については現病歴とし、有害事象としない。ただし、

現病歴が悪化した場合は、その悪化を有害事象等とし、治験責任医師又は治験分担医師はその有害事象等が現病歴の悪化であることを症例報告書に記載する（例：「～の悪化」等）。

8.4.2 有害事象の程度

有害事象の程度は次のとおり分類・定義する。

程度	内容
軽度	一過性で容易に耐えられるもの
中等度	通常の活動に支障をきたす程度のもの
高度	通常の活動を不可能にする程度のもの

8.4.3 有害事象の因果関係

有害事象の試験薬との因果関係については次のように分類・定義する。

因果関係	内容
関連あり (Yes)	当該被験薬、対照薬が関与したと疑われる場合 時間的に明白な相関関係（投与中止後の経過を含む）がある。又は、現病歴、併用薬、併用処置等の他要因も推定されるが、当該被験薬、対照薬による可能性も考えられる有害事象
関連なし (No)	当該被験薬、対照薬の関与が考えにくい場合 当該被験薬、対照薬との時間的に明白な相関関係がない。又は、現病歴、併用薬、併用処置等の他要因によると十分に考えられる有害事象

8.4.4 有害事象の転帰

有害事象等の転帰については次のように分類する。

転帰	内容
回復	<ul style="list-style-type: none"> ・ 症状、所見の消失あるいは回復 ・ 検査値の正常化あるいは前値への回復
軽快	<ul style="list-style-type: none"> ・ 程度が 1 段階以上軽減 ・ 症状、所見がほぼ消失 ・ 検査値の改善が認められたが、正常化あるいは前値に回復していない ・ 死亡例で、当該有害事象が直接の死因でない場合で、当該有害事象が軽快のまま死亡（この場合は死亡日の記載は不要）

未回復	<ul style="list-style-type: none"> ・ 症状、所見や検査値に変化がない ・ 観察できた期間の最後の日の症状、所見や検査値が発現時の程度より悪化 ・ 不可逆性の先天異常 ・ 死亡例で、当該有害事象が直接の死因でない場合で、当該有害事象が未回復のまま死亡（この場合は死亡日の記載は不要） 回復したが後遺症あり <ul style="list-style-type: none"> ・ 日常生活に支障をきたす程度の機能不全が起きた
死亡	<ul style="list-style-type: none"> ・ 死亡と当該有害事象との間に直接の関連性が認められた 「直接の関連性が認められた」とは、当該有害事象が死亡の原因になった、又は当該有害事象等が明らかに死亡に寄与したことをさす <ul style="list-style-type: none"> ・ 同一症例でみられた直接の死因ではないと判定（判断、推定）される有害事象の転帰については、死亡としない ・ 転帰が、死亡の場合は、死亡日を記載する
不明	<ul style="list-style-type: none"> ・ 発現日以降の経過が、転院、転居等により臨床試験実施計画書に記載されている追跡が不可能となった

9 統計解析

本試験では中間解析並びにデータモニタリング委員会は計画しない。統計解析方法の詳細は別途、定める解析計画書に示す。

9.1 被験者数の設定

8 例

【設定根拠】

試験薬の薬物動態及び薬理作用を評価をするために、8例が必要であると判断した。なお、本試験は探索的試験であるため統計的根拠による例数設定はしていない。

9.2 解析対象集団

- ・ 人口統計学的データ：試験薬剤の投与を受けた全ての被験者を解析対象とする。
- ・ 薬物動態：試験薬を 1 回以上投与された被験者（試験薬投与例）で、薬物動態が 1 回以上評価された被験者を薬物動態の評価対象とする。
- ・ 薬理作用：試験薬を 1 回以上投与された被験者（試験薬投与例）で、薬力学が 1 回以上評価された被験者を薬力学の評価対象とする。