

他覚所見、理学的検査、心電図検査、臨床検査（血液学的検査、生化学的検査、尿検査）で検討する。

表 1. 第 I 相試験の概要

項目	概要
対象	健康成人(男性)
治験薬	KOI2
投与方法	静脈内点滴投与
単回試験投与量	プラセボ、0.5 mg/kg、1.5 mg/kg、5 mg/kg
連投試験投与量	プラセボ、1.5 mg/kg
投与期間	連投試験:1日1回7日間
症例数	1群:プラセボ2例、実薬6例
総症例数	単回:24例、連投:8例(合計32例)
主要目的	安全性評価
実施医療機関	大阪大学医学部附属病院

## 7.2 第 II 相臨床試験の計画

第 II 相試験では VII 型コラーゲン完全欠損型を除く栄養障害型表皮水疱症を対象として、KOI2 を 1 回 1.5 mg/kg の投与量で週 2 回、4 週間投与を予定している。第 II 相試験計画の概要を表 2 に示した。

表 2. 第 II 相試験計画の概要

項目	概要
対象	栄養障害型表皮水疱症 (VII 型コラーゲン完全欠損型を除く)
治験薬	KOI2
投与量	プラセボ、1.5 mg/kg
投与方法	1 週間に 2 回静脈内点滴投与
投与期間	4 週間(合計 8 回投与)
症例数	18 例(プラセボ 6 例、実薬 12 例)
主要評価項目	潰瘍面積、水疱形成数
副次評価項目	疼痛および掻痒改善度

## 8. 相談事項

### 8.1 本薬の安全性試験成績について

これまでに実施した本薬に係る非臨床試験成績をもとに、医師主導治験を実施する予定である。第 I 相試験開始のために必要な非臨床試験成績は充足していると考えているが、本件について相談したい。

### 8.2 第 I 相医師主導治験のデザインについて

#### 8.2.1. 初回投与量の妥当性について

健康成人を対象とした第 I 相試験における初回投与量を 0.5 mg/kg とし、最高投与量として 5mg/kg の投与を予定している。本投与量の妥当性について相談したい。

#### 8.2.2 7日間連日投与とする投与方法の妥当性について

動物試験における有効性の成績を参照し、第 II 相試験では 1 日 1 回の投与で週 2 回、4 週間の投与（合計 8 回投与）を想定している。一方、第 I 相試験では 1 日 1 回の投与を 7 日間連続で投与することにより、安全性を確認する予定である。第 I 相試験で予定している投与方法の妥当性について相談したい。

### 8.3 第 I 相試験において PK 測定を実施しないことの妥当性について

サルで実施した予備的 PK 試験において静脈内へ 2mg/kg 投与した場合は投与 2 分後まで KOI2 が検出されたが、投与 5 分後には検出感度以下であった。また 6 あるいは 20 mg/kg 投与したところ、投与 5 分後までは KOI2 が検出されたが、15 分後には検出感度以下となった。ヒトにおける最高予定投与量が 5 mg/kg であること、また投与方法が点滴静注であることを考慮すると、第 I 相試験において血中 KOI2 を測定することは技術的に困難と考えられることから PK 測定を実施しない予定である。本件について相談したい。

以上

## VI. 薬事戦略相談 相談概要

KOI2

医薬品戦略相談対面助言

相談概要

(受付番号：戦 P156)

大阪大学医学部

2015年2月23日

## 1. 対面助言にいたる背景

本対面助言に先立ち、2014年9月18日独立行政法人医薬品医療機器総合機構(以下PMDA)関西支部に於いて事前面談を行い、対面助言時に提出するよう助言を受けた情報と相談者側の対応を以下に要約する。

### (1) 対面助言の相談内容

相談事項1：第I相試験開始のための非臨床試験の充足性について

相談事項2：医師主導治験(第I相試験)のデザインについて

### (2) PMDAの意見と相談者側の対応

相談事項1：第I相試験開始のための非臨床試験の充足性について

- ・安全性薬理試験を一般毒性試験に盛り込むことは問題ない
- ・効力を裏付ける試験について特に不足はない
- ・薬物動態について薬物濃度の分析方法などの詳細をデータとして提示すること

相談者側の対応

ご助言に従い治験薬概要書にまとめた。

- ・毒性試験における動物種の選択理由について盛り込むこと

相談者側の対応：

2種の動物一般的なラット及びヒトに近いとされるサルを毒性試験に選択した。

理由：KOI2は、そのアミノ酸組成がヒトと、一般的に毒性試験に用いられる動物種(ラット、サル、イヌ等)と同一であり、種差は認めないため、げっ歯類としては一般的なラットを、非げっ歯類としてはサルを選択した。また、毒性試験を実施した施設ではサルの毒性試験の実施例が多く、その毒性試験のバックグラウンドデータが多いことから非げっ歯類としてサルを選択した。

- ・ヒトへの推定用量を盛り込むこと

相談者側の対応：

ヒトへの推定用量を以下のように考察した。

KOI2は骨髄内間葉系幹細胞を末梢血中に動員し(文献1)、損傷組織特異的集積を促進して組織再生誘導効果を発揮する(文献2、3)。皮膚移植モデル、VII型コラーゲン低形成マ

ウスを用いた非臨床薬効薬理試験では、KOI2 投与により損傷部皮膚に集積した骨髄由来間葉系幹細胞は TSG-6 や IL-10 などの抗炎症分子を放出して炎症を抑制的に制御しつつ(文献 3)、皮膚基底膜部に VII 型コラーゲンを供給して表皮剥離を抑制し、潰瘍の上皮化を促進する(文献 1、2、4)。

脳梗塞や心筋梗塞などの急性期病変に対する治療と異なり、表皮水疱症患者皮膚の慢性皮膚潰瘍治療にはより長期の KOI2 投与による持続的間葉系幹細胞動員が有効であると予想される。一方で、表皮水疱症患者皮膚は生直後から続く連日の水疱、潰瘍、瘢痕形成により皮膚血管の狭小化が生じ、血管確保が容易ではない症例も少なくないため、連日の KOI2 血管内投与は患者の肉体的、精神的負担が大きい。そこで、表皮水疱症患者に対する KOI2 投与は、患者の負担を軽減しつつ可能な限り持続的な間葉系幹細胞動員による治療効果を得るため、週 2 回、4 週間の投与を設定した。マウスを用いた非臨床薬効薬理試験で、KOI2 週 2 回、4 週間投与 (1.5mg/kg) 後ではコントロール群 (生理食塩液投与群) と比較して約 20% の骨髄内間葉系幹細胞減少が認められたことから (未公表データ)、より長期間の KOI2 投与は骨髄内間葉系幹細胞の更なる減少を誘導する可能性があるため、1 クールの投与期間は 4 週間に限定した。

- ・本薬剤において hERG 導入細胞を用いた *in vitro* IKr 電流に及ぼす影響を検討する必要があるのか再度検討すること。

相談者側の対応：

ペプチドは分子量が大きく移行性が低いと考えられるため実施をしないこととした。

- ・遺伝毒性試験で染色体異常試験及びマウスリンフォーマ試験を選択した理由を盛り込むこと

相談者側の対応：

KOI2 のエイムス試験の結果は陽性であったが、エイムス試験では生育に必要な His を要求する 2 種のサルモネラ菌を使用する事、また KOI2 には His が 2 残基含まれることを考慮すると、陽性の結果は復帰突然変異が原因でなく、KOI2 由来の His が試験系に供給されたことが原因であると推察した。そこで、突然変異評価で通常実施されるエイムス試験では KOI2 の偽陽性が予想される為、代わりに哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験、およびマウスリンフォーマ TK 試験を選択し、KOI2 の評価を行った。

## 相談事項 2：医師主導治験（第 I 相試験）のデザインについて

- ・用法・用量の設定根拠、ステップアップの判断基準を盛り込むこと

相談者側の対応：

サルを用いた 4 週間静脈内反復投与毒性試験の結果から NOAEL を 12mg/kg と判断した。その結果を踏まえ NOAEL の 1/80 の投与量である 1.5mg/kg をヒトでの初回投与量とした。用法用量の設定根拠は治験実施計画書 1.5 に記載している。

また、ステップアップの基準については治験実施計画書 3. 治験のデザインに記載した。

・ PDGFR $\alpha$  の動態作用をヒトでみるとのことであるが、薬物による動員作用の試験項目ならびに設定根拠を示すこと。

相談者側の対応：

PDGFR 対の測定方法が確立していないため今回の治験では測定を行わず、臨床研究用の試料を採取することとした。

・ 非臨床試験について計画している試験で充足していると考えられる理由、及び不要だと思われる試験についてはその理由を示すこと

相談者側の対応：

ヒトでの第 I 相試験を実施する前に必要な非臨床試験として、ラット及びサルでの単回及び反復（4 週間）投与試験と遺伝毒性試験を実施した。また安全性薬理試験として中枢、循環器、呼吸器に対する影響を検討した。その結果をふまえ、第 I 相試験の実施に際してさらに追加すべき検討項目はないと判断した。各試験については相談事項 1 の相談者の考えで示した。

- ・ 表皮水疱症の患者数、病型分類、それぞれの病型における患者割合、治療目標、予後等、疾患の背景情報を盛り込むこと
- ・ 臨床現場において本薬剤を表皮水疱症の患者にどのように使いたいか示すこと
- ・ 本治験の治療対象の病型について盛り込むこと
- ・ 治療上のメリットについて盛り込むこと

相談者側の対応：

12 月 1 日付けの対面助言申込書別紙 1 に記載し、関連文献を添付した。

文献

1. Tamai K, Yamazaki T, Chino T, Ishii M, Otsuru S, Kikuchi Y, Inuma S, Saga K, Nimura K, Shimbo T, Umegaki N, Katayama I, Miyazaki J, Takeda J, McGrath JA, Uitto J, Kaneda Y. PDGFR $\alpha$ -positive cells in bone marrow are mobilized by HMGB1 to regenerate injured epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:6609-6614, 2011.
2. Inuma S, Aikawa E, Tamai K, Fujita R, Kikuchi Y, Chino T, Kikuta J, McGrath J, Ishii M, Iizuka H, Kaneda Y. Transplanted bone marrow-derived circulating PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> cells restore type VII collagen in recessive dystrophic epidermolysis bullosa mouse skin graft. *J Immunol*, in press 2014
3. Aikawa E, Fujita R, Yasushi K, Yasufumi K, Tamai K, Systemic high mobility group box 1 administration suppresses skin inflammation by inducing accumulation of mesenchymal stromal from bone marrow. Submitted revised manuscript.
4. Chino, T., Tamai K, Yamazaki T, Otsuru S, Kikuchi Y, Nimura K, Endo M, Nagai M, Uitto J, Kitajima Y, and Kaneda Y. Bone marrow cell transfer into fetal circulation can ameliorate genetic skin diseases by providing fibroblasts to the skin and inducing immune tolerance. *Am J Pathol* 173: 803-814, 2008.
5. Tamai.K. Regenerative medicine for epidermolysis bullosa. *J.Natl.Inst.Public Health*,60(2):2011



## 2. 対面助言相談事項一覧

医薬品戦略相談対面助言において相談したい事項を以下に示した。

相談事項 1：第 I 相試験開始のための非臨床試験の充足性について

相談事項 2：医師主導治験（第 I 相試験）のデザインについて

相談事項 2-1：第 I 相試験の投与量の妥当性について

相談事項 2-2：連続投与時の投与期間を 4 日間とすることの妥当性について

相談事項 3：第 I 相試験において PK 測定を実施しないことについて

### 相談事項 1：第 I 相試験開始のための非臨床試験の充足性について

KOI2 について薬効薬理試験、一般毒性試験等非臨床試験を実施した。実施した毒性試験で示された KOI2 の毒性プロファイルを総合的に考慮した結果、安全性に十分な配慮を行いながら医師主導治験（第 I 相試験）を実施することは可能であると考えた。

本件についてご助言をいただきたい。

#### 【相談者の考え】

##### 1. 非臨床試験

ICH ガイドライン（ICH M3(R2)、ICH S6）を参照し、KOI2 のヒトでの第 I 相試験の前に必要な試験として、実施した非臨床安全性試験のまとめの一覧を示す。

#### 【非臨床安全性試験一覧】

試験名	実施状況
カニクイザル単回静脈内投与試験	終了
ラット単回静脈内投与試験	終了
ラット 4 週間静脈内投与試験及び 4 週間回復性試験	終了
カニクイザル 4 週間静脈内投与試験及び 4 週間回復性試験	速報
カニクイザルの呼吸器系及び循環器系への影響	終了
サル持続静脈内投与の循環器系に及ぼす影響	速報
細菌を用いた復帰変異原性予備試験（FAT）	終了
マウスリンフォーマ TK 試験	終了
染色体異常試験	終了

#### 【一般毒性】

第 I 相試験は 4 日間を計画しているが、今後の第 II 相試験では 4 週間の試験を考えており、ICH M3(R2)で臨床試験を実施するのに推奨されている 4 週間（げっ歯、非げっ歯）で反復毒性試験を行った。

一般毒性	カニクイザル単回静脈内投与試験(非 GLP)
	ラット単回静脈内投与試験（非 GLP）
	ラット 4 週間静脈内投与試験及び 4 週間回復性試験
	カニクイザル 4 週間静脈内投与試験及び 4 週間回復性試験

#### 【安全性薬理】

ICH S6 には独立した試験若しくは毒性試験に組み込むことが可能とあるが、今回は独立した試験として行った。

安全性 薬理	カニクイザルの呼吸器系及び循環器系への影響
	サル持続静脈内投与の循環器系に及ぼす影響
	ラット 4 週間静脈内投与試験及び 4 週間回復性試験で評価

#### 【薬物動態・TK】

KOI2 が生理活性タンパクの部分ペプチドであり投与後血中で速やかに消失することが予測された。ラットおよびカニクイザルの単回静脈投与試験で予備 TK 評価を行い、予測された結果であったため TK を測定する意義は低いと考えられ、以後の TK 試験の実施は行っていない（相談事項 3 参照）。

薬物動 態・TK	ラット単回静脈内投与試験（非 GLP）で TK を検討
	カニクイザル単回静脈内投与試験（非 GLP）で TK を検討

#### 【遺伝毒性試験】

低分子化合物では臨床試験前に遺伝毒性が実施されるが、ICH S6 を参照するとペプチドの場合に必要ではない。今回、エイムス試験でも陽性所見が出て、擬陽性が疑われたため、追加評価を行った。

遺伝毒性 試験	細菌を用いた復帰変異原性予備試験（FAT）
	マウスリンフォーマ TK 試験
	染色体異常試験

下に実施しなかった非臨床安全性試験のまとめを示す。

#### 【免疫毒性試験】

KOI2 は、そのアミノ酸組成がヒトと、一般的に毒性試験に用いられる動物種（ラット、サル、イヌ等）と同一であり、種差は認めない。そのことより一般抗体医薬と違い、理論的には免疫原性を示す可能性は低いと考える。また、今回実施した一般毒性（単回、反復）試験や安全性薬理試験においても抗体が産生されて起こるような毒性所見はみられなかった。血圧の低下などの所見に関しては機序的にヒスタミンによるものであり、また、サルでの注射部位における所見も頻回の注射針の穿刺による物理的刺激に起因するものと思われる。抗体産生の関与は示唆されていない。これらより独立試験を行う必要はないと考えた。

#### 【がん原性試験】

ICH S6 ガイドラインよりバイオ医薬品では一般的に必要でなく、我々が実施した遺伝毒性の試験結果より、今後がん原性試験は不要と考える。

### 【局所刺激性試験】

ICH S6 ガイドラインより独立した試験は実施せず、静脈反復投与毒性試験にて評価した。注射部位に関してはラットでは所見は認めなかった。サルにおいて刺激所見が見られたが、連日の留置針挿入に伴う機械的刺激による血管内皮の損傷による変化と考えられた（考察は後述）。現時点では独立した試験は必要と考えていない。

## 2.実施した主な非臨床試験項目と得られた所見についての考察

マウス及びラットの薬効試験から KOI2 の骨髄間葉系細胞の運動能活性化作用ならびに血中動員活性、末梢循環不全性難治性皮膚潰瘍ラットモデル及び表皮水疱症モデルマウスに対する KOI2 の治療効果を確認した（相談事項 2-1、治験薬概要書に記載）。

一方、主な安全性試験としてラット及びサルにおける単回静脈内投与試験、ラット及びサルにおける 4 週間静脈内反復投与毒性試験を行った。さらにサルの呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響に関する試験、ラットの中枢系に及ぼす影響に関する試験、遺伝毒性試験、および吸収・分布・代謝・排泄として雄性ラットへの単回投与による予備的 TK 試験及びカニクイザルへの単回投与による予備的 TK 試験を行った。

いずれの試験においても死亡動物は認められなかったが、サルを用いた試験にて循環器への影響と反復投与による投与部位への刺激に関する所見が得られた。

### ①循環器系への影響

サルの単回静脈内投与試験にて 20 mg/kg 投与動物において投与直後に顔面紅潮が認められたが、数分後には回復した。20 mg/kg 投与した雄性サルにおいて体温の低下が認められた。

サルの呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響(探索的試験)にて KOI2 は 6 および 20mg/kg の急速静注により、血圧の低下と心拍数の増加をきたした。一方、20 分かけて薬剤を投与した場合には 25mg/kg で血圧の低下と心拍数の増加がサル 6 匹中 1 匹に認められたが、12 mg/kg では血圧に影響は認められず、急速静注に比べて緩徐に投与すると循環器系に及ぼす影響の程度が穏やかであった。

循環器に対する所見については以下のように考察しております。

サルの呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響（探索的試験）において 6 および 20mg/kg の KOI2 の急速静脈内投与により観察された血圧低下は血中ヒスタミン濃度の上昇を伴っており、血圧低下の要因は KOI2 刺激による肥満細胞からのヒスタミン遊離に伴う末梢血管拡張であると考えられる。KOI2 は生体内蛋白 HMGB1 の部分ペプチドであることから KOI2 反応性 IgE の存在は考えにくく、KOI2 投与によるヒスタミン遊離機序としてアレルギー性アナフィラキシー反応は否定的である。一方、KOI2 の一次

配列中に塩基性アミノ酸が比較的多く含まれることから、KOI2による肥満細胞からのヒスタミン遊離はACTH等で知られる塩基性アミノ酸残基による肥満細胞からの非特異的ヒスタミン遊離反応であると予想される（文献1）。同様の肥満細胞からの非特異的ヒスタミン遊離は抗生剤 vancomycin 投与時にも生じ得ることが知られ、血圧低下や蕁麻疹様皮疹の他に顔面及び頸部の紅潮を特徴とすることから red man (red neck) syndrome と呼ばれている（文献2）。Red man syndrome はアレルギー性アナフィラキシー反応と異なり、時間をかけて緩徐に薬剤を投与して血中濃度の急激な上昇を避けることにより予防可能であり、また抗ヒスタミン薬の投与により治療が可能である（文献2）。実際、KOI2 (12mg/kg) の急速静脈内投与で認められた血圧低下反応は、同用量の緩徐な静脈内投与では観察されず、血中ヒスタミン濃度の上昇も見られなかったことから、第I相試験で予定している KOI2 投与プロトコール（最高用量 5mg/kg を 30 分かけて点滴投与する単回投与試験および治療用量 1.5mg/kg の 4 日間連続点滴投与試験）では血圧低下は生じないと予想される。しかし、KOI2 投与時には血圧モニターを装着し、医師の注意深い観察下で投与するとともに、万一血圧低下反応が観察された際には直ちに投与を中止し、血圧が正常復帰するまで輸液を維持して血圧管理を持続する。

## ②連続投与部位への刺激

サルを用いた 4 週間静脈内反復投与毒性試験（回復試験を含む速報）

雌雄カニクイザル (n=3) に KOI2 の 5、12 および 25 mg/kg を毎日 1 回静脈内に 4 週間投与したときの毒性変化を調べるとともに、4 週間の休薬期間を設け、その回復性についても検討した。

投与及び休薬期間中、いずれの群にも死亡例はみられなかった。

一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び器官重量において、被験物質に起因すると考えられる毒性変化はみられなかった。

病理組織学的検査において、12 mg/kg/日以上群の雌雄で投与部位に血栓、その二次的変化である器質化及び再疎通がみられた。これら血栓性変化は、肺を含むその他の全身諸臓器、組織にはみられず、血液凝固系にも異常はみられなかったことから、投与部位に限局した変化であると考えられた。

また 25 mg/kg/日群には、これら血栓性変化のみられない投与部位もみられた。対照群を含む雌雄全群で投与操作に伴う刺激性変化がみられたことから、これら血栓性変化は被験物質単独ではなく、投与操作に伴う機械的刺激を背景に生じる局所変化であると考えられた。

これら血栓性の変化は、休薬期間終了時剖検例では消失あるいは再生像がみられていることから、4 週間の休薬期間を経て回復傾向があると判断した。

以上に示したように、本試験条件下では、K0I2 は 25 mg/kg/日においても全身性には毒性変化を誘発しなかった。投与局所では 12 mg/kg/日以上で血栓性の変化が認められたが、これらは投与操作による機械的刺激に K0I2 の作用が加わったことに起因すると考えられた。

第 I 相試験実施時には 5mg/kg が最高用量であり、この用量での投与ではサルに組織学的血管閉塞像は認められていない。しかし、安全性を確保するために、刺入部位に高濃度 K0I2 が貯留することの無いように投与法に留意することは妥当である。尚、治験薬の pH (30mg/mL) が 2.8 であることも十分に留意して試験を行う。

### 3.まとめ

K0I2 について実施した安全性試験の結果、サルにおける血中ヒスタミンの上昇、血圧の低下と心拍数の増加並びに投与局所における炎症性反応が認められたが、それ以外に危惧すべき毒性所見は認められなかった。K0I2 の毒性プロファイルを総合的に考慮した結果、投与方法を Bolus 投与ではなく点滴投与とし、投与中は血圧のモニターを行う、投与液が漏れないように三方活栓を使用して慎重に投与を行うなど安全性に十分の配慮を行いながら医師主導治験（第 I 相試験）を実施することは可能であると考えた。

### 文献

1. Jasani B, Kreil G, Mackler BF, Stanworth DR. Further studies on the structural requirements for polypeptide-mediated histamine release from rat mast cells. *Biochem J* 181: 623-632, 1979.
2. Sivagnanam S and Deleu D. Red man syndrome. *Critical Care* 7:119-120, 2003

## 相談事項 2：医師主導治験（第 I 相試験）のデザインについて

### 相談事項 2-1：第 I 相試験の投与量の妥当性について

KOI2 の安全性試験の結果からサルでの NOAEL（無毒性量）が 12mg/kg と判断された。第 I 相試験にてヒトでの初回投与量として 0.15mg/kg の投与量を予定しており、この投与量は NOAEL の約 1/80 となり動物試験の安全性試験結果を考慮した投与量として設定を行った。また 0.15mg/kg の安全性が確認された場合は、引き続き 0.5mg/kg、1.5mg/kg そして 5.0mg/kg と用量を漸増し単回投与における安全性を確認したのち、推定臨床有効用量と考えられる 1.5mg/kg にて 4 日間の連続投与を実施する計画である。本投与量設定の妥当性についてご助言いただきたい。

#### 【相談者の考え】

##### 1. KOI2 の無毒性量について

###### ①ラットを用いた 4 週間静脈内反復投与毒性試験（回復試験を含む）

Cr1: CD (SD) 系雌雄ラット (n=10) に KOI2 の 5、12 および 25 mg/kg を毎日 1 回 4 週間静脈内に投与したときの毒性変化を調べた。その結果、本試験条件下において、いずれの用量でも変化はみられなかったことから、KOI2 の無毒性量は雌雄ともに 25 mg/kg/日であると判断した。

###### ②サルを用いた 4 週間静脈内反復投与毒性試験（回復試験を含む）

雌雄カニクイザル (n=3) に KOI2 の 5、12 および 25 mg/kg を毎日 1 回、4 週間、静脈内に 20 分かけて投与したときの毒性変化を調べた。その結果、いずれの用量においても全身性には変化を認めなかった。しかしながら、12 および 25mg/kg/日の投与群において投与局所の病理組織学的検査において血栓形成および器質化が認められた。本試験条件下における KOI2 の無毒性量は雌雄ともに局所的には 5mg/kg/日、全身性には 25mg/kg/日であると判断した（中間報告）。

###### ③サルの呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響（探索的試験）

3 匹のカニクイザルに KOI2 を 2、6 及び 20mg/kg で静脈内投与（急速静注、1 分投与）した。KOI2 の投与は 6 および 20mg/kg で投与直後に血圧の低下と心拍数の増加をきたした。また、6 匹のサルに KOI2 の 12 および 25 mg/kg を 20 分かけて静脈内投与を行った。その結果、25mg/kg で血圧の低下と心拍数の増加が認められたが、12 mg/kg では明らかな変化は認められず、急速静注に比べて緩徐に投与すると循環器系に及ぼす影響が緩和されることが判明した。また、KOI2 の循環器系に及ぼす作用から、緩徐に投与した場合の全身性の無毒性量は 12mg/kg であると判断された。

##### 2. KOI2 の薬効発現量について

表皮水疱症モデルマウスに対する KOI2 の治療効果

KOI2を1.5 mg/kgの用量で表皮水疱症モデルマウス(VII型コラーゲン低形成マウス)(n=8)の尾静脈から週2回、4週間(計8回)投与し、皮膚でのVII型コラーゲン発現量、体重増加率および生存率の経時的変化について生理食塩投与群(n=8)と比較した。

KOI2投与群は明らかにVII型コラーゲン発現量および生存率のいずれも生理食塩液投与群と比較して明らかな改善効果を示した(図1)。また治療群は有意に高い体重増加率を示した。これらの治療効果発現メカニズムとしては、血中動員された骨髄間葉系幹細胞が口腔内および食道粘膜の剥離部位に集積してVII型コラーゲンを供給し、皮膚および粘膜の再生を誘導し、飲水および摂食行動を改善したためと考えられる。

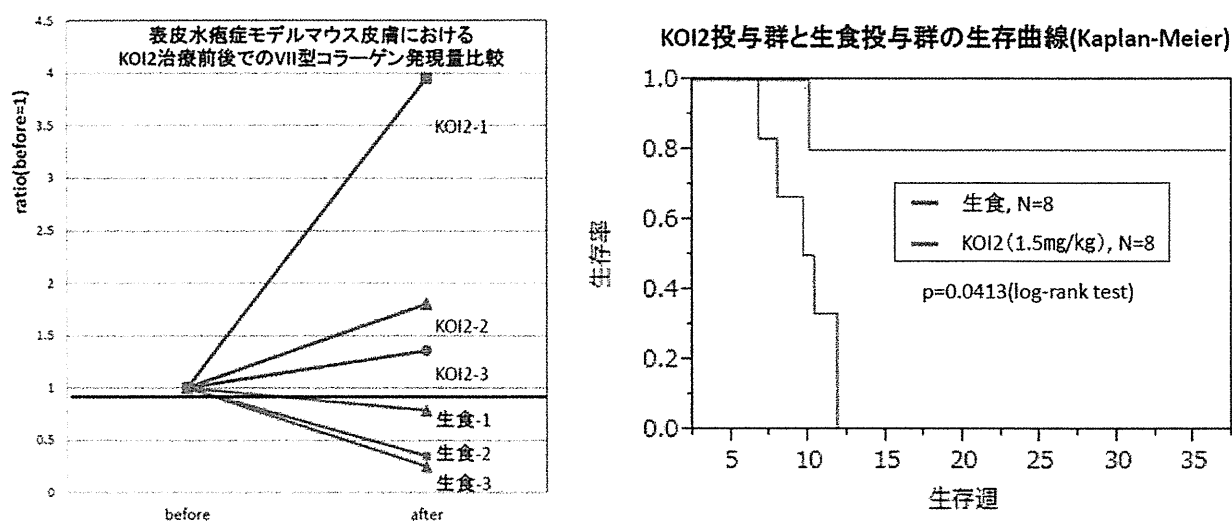


図1. KOI2投与による表皮水疱症モデルマウス治療効果

### 3. まとめ

KOI2の安全性試験の結果から無毒性量(NOEL)が12mg/kgと判断された。第I相試験にてヒトでの初回投与量として0.15mg/kgの投与量を予定しており、この投与量はNOELの約1/80となり動物試験の安全性試験結果を考慮した投与量として設定を行った。また、モデル動物を用いた試験においてKOI2は1.5mg/kgの投与にて再現性良く薬効を発現している。計画しているヒトでの初回投与量は動物試験での薬効発現量の1/10であり、この点からも0.15mg/kgの初回投与量は妥当であると考えた。また0.15mg/kgの安全性が確認された場合は、引き続き0.5、1.5そして5.0mg/kgと用量を漸増し単回投与試験における安全性を確認したのち、推定臨床有効用量と考えられる1.5mg/kgにて4日間の連続投与を実施する計画である。



## 相談事項 2-2：連続投与時の投与期間を4日間とすることの妥当性について

動物試験における有効性の成績を参照し、第Ⅱ相試験では1日1回の投与で週2日、4週間の投与（合計8回投与）を想定している。一方、第Ⅰ相試験では1日1回の投与を4日間連続で投与することにより、安全性を確認する予定である。

第Ⅰ相試験で予定している連続投与時の投与期間を4日間とすることの妥当性について、ご助言いただきたい。

### 【相談者側の考え】

#### 1. 薬理試験結果から

KOI2の効力を裏付ける薬理試験として行ったKOI2静脈投与によるマウス骨髄MSCの運動活性化作用の検討試験（治験薬概要書4.1.2項）では、投与後12時間で末梢血中のPDGFR $\alpha$ 陽性細胞の割合の増加が認められており、KOI2投与後MSCが動員されるまでに一定の時間が必要と思われる。動員された細胞が病巣に集積する時間や処理・吸収される時間、組織の再生回復の時間などを考慮すると、患者においては数日の間隔をあけての投与でも毎日の投与と同様の薬効が期待できると考えている。

一方、表皮水疱症の患者の血管は脆弱であり、頻回の静脈注射の穿刺は困難であることや外来への通院の負担を考え、現時点では週2回の投与間隔を計画した。

また実際に、表皮水疱症モデルマウスに対するKOI2の治療効果として評価した結果より、週2回4週間の投与でも効果が認められた（治験薬概要書4.1.4）。

#### 2. 動物試験におけるKOI2の投与方法・投与期間

表皮水疱症モデルマウスであるVII型コラーゲン低形成マウスにKOI2を1.5 mg/kg/日で週2回、4週間（計8回）尾静脈内投与し、体重増加率および生存率の経時的変化について生理食塩液投与群と比較した。その結果、KOI2はマウスの体重増加率および生存率に対していずれも明らかな改善効果を示した（図1）。

#### 3. 第Ⅱ相試験計画案の概要

第Ⅱ相試験ではVII型コラーゲン完全欠損型を除く栄養障害型表皮水疱症を対象として、KOI2を1回1.5mg/kgの投与量で週2回、4週間投与を予定している。第Ⅱ相試験計画の概要を表1に示した。

表 1. 第Ⅱ相試験計画案の概要

項目	概要
対象	栄養障害型表皮水疱症 (VII型コラーゲン完全欠損型を除く)
治験薬	KOI2
投与量	プラセボ、1.5mg/kg
投与方法	1週間に2回静脈内点滴投与
投与期間	4週間(合計8回投与)
症例数	24例(プラセボ8例、実薬16例)
主要評価項目	潰瘍面積、水疱形成数
副次評価項目	疼痛および掻痒改善度
実施医療機関	他施設共同治験(実施施設は未定)

#### 4. 医師主導治験(第Ⅰ相試験)の概略

医師主導治験(第Ⅰ相試験)の概略を表2に示した。

表 2. 第Ⅰ相試験計画の概略

項目	概要
対象	健康成人(男性)
治験薬	KOI2
投与方法	静脈内点滴投与
単回試験投与量	プラセボ、0.15mg/kg、0.5mg/kg、1.5mg/kg、5mg/kg
連投試験投与量	プラセボ、1.5mg/kg
投与期間	連投試験:1日1回4日間
症例数	1群:プラセボ2例、実薬6例
総症例数	単回:32例、連投:8例(合計40例)
主要目的	安全性評価
実施医療機関	大阪大学医学部附属病院

#### 5. まとめ

動物試験における有効性の成績を参照し、第Ⅱ相試験では1日1回の投与で週2日、4週間の投与(合計8回投与)を想定している。一方、健康被験者を対象とした第Ⅰ相試験では

1日1回の投与を4日間連続で投与（合計4回投与）することにより安全性を検討する予定であり、薬剤投与の間隔が広くなることによる影響などを考慮すると第Ⅱ相試験開始のための安全性確認の試験としては妥当であると考えた。

### 相談事項 3：第 I 相試験において PK 測定を実施しないことについて

サルで実施した予備的 TK 試験において静脈内へ 6mg/kg あるいは 20mg/kg 投与したところ、投与 5 分後までは検出されたが、15 分後には検出感度以下となった。第 I 相試験における最高予定投与量が 5mg/Kg であること、第 I 相試験において血中 KOI2 を測定することは技術的に困難と考えられることから PK 測定を実施しない予定である。

本件についてご助言いただきたい。

#### 【相談者側の考え】

##### 1.動物における試験成績（吸収・分布・代謝・排泄試験）について

###### (1) 雄性ラット（各群 3 匹）への単回投与による予備的 TK 試験

CrI: CD (SD) 系雄性ラットにおける単回静脈内投与試験において、経時的に末梢血を採血して血漿中の残存 KOI2 を定量した。その結果、2 mg/kg で投与した KOI2 は、投与 2 分後で既に血中での検出感度以下であった。一方、20 mg/kg で投与した場合は、投与 5 分後までは検出されたものの、15 分後には検出感度以下であった。

###### (2) カニクイザル（各群 1 匹）への単回投与による予備的 TK 試験

カニクイザルにおける単回静脈内投与試験において、経時的に末梢血を採血して血漿中の残存 KOI2 を定量した。その結果、2 mg/kg を投与した場合には投与 2 分後まで検出されたものの、投与 5 分後で既に血中での検出感度以下であった。一方、6 および 20 mg/kg を投与した場合は、投与 5 分後までは検出されたものの、15 分後には検出感度以下であった。

以上の結果及び KOI2 が生理活性タンパクの部分ペプチドであることと合わせ考えると、反復投与毒性試験において TK 試験を行う意義が低いと考え、以後の TK 試験は実施していない。同様にヒトにおいても PK 測定を行う意義は低く、血中濃度を測定することは技術的に困難なことから PK 測定を実施しないこととしている。

##### 2.骨髄間葉系幹細胞の血中動員程度の検討（探索的研究）について

本治験薬の薬動学的検討として血中への骨髄間葉系幹細胞の動員程度を検討する予定である。しかしながら、人において KOI2 投与時における骨髄間葉系幹細胞の動員程度はこれまでに測定した経験が少なく、血中変動の推移予測や血中における安定性など測定の信頼性を裏付けるデータが不足していることから治験中の測定項目として設定することが困難であると判断した。

このため、KOI2 投与時における骨髄間葉系幹細胞の動員程度の検討については探索的な研究対象として別プロトコールにて実施することにし、治験では被験者の同意を得たうえで研究目的の採血のみ実施することにした。