

目 次

<b>1</b>	<b>背景情報</b>	<b>13</b>
1.1	開発の経緯	13
1.2	非臨床試験データ	14
1.3	臨床試験	17
1.4	予想される危険性及び利益	17
1.5	用量設定の根拠	17
<b>2</b>	<b>治験の目的</b>	<b>19</b>
2.1	治験の目的	19
2.2	評価項目	19
2.3	評価項目の設定根拠	19
<b>3</b>	<b>治験のデザイン</b>	<b>20</b>
3.1	治験デザインの概略	20
3.2	治験薬の投与方法	20
3.3	被験者数	21
3.4	用量漸増及び中止基準	22
<b>4</b>	<b>被験者の選択</b>	<b>23</b>
4.1	対象	23
4.2	選択基準	23
4.3	除外基準	23
4.4	被験者の中止基準	25
4.5	制限事項	26
<b>5</b>	<b>治験薬</b>	<b>28</b>
5.1	治験薬の説明	28
5.2	治験薬の取り扱い	29
5.3	被験者の登録	29
<b>6</b>	<b>治験の実施手順</b>	<b>31</b>
6.1	観察・検査項目	31
6.2	採血量	36
6.3	検査・採血時間の許容範囲	37
<b>7</b>	<b>評価</b>	<b>38</b>
7.1	安全性評価	38

<b>8</b>	<b>有害事象の報告</b> .....	<b>41</b>
8.1	有害事象の定義 .....	41
8.2	重篤な有害事象 .....	41
8.3	有害事象の報告及び報告期間 .....	41
8.4	有害事象の処置 .....	41
8.5	有害事象の評価 .....	42
<b>9</b>	<b>統計解析</b> .....	<b>43</b>
9.1	被験者数の設定根拠 .....	43
9.2	解析対象集団 .....	43
9.3	データの取り扱い .....	43
9.4	統計解析計画 .....	43
<b>10</b>	<b>データの取り扱い及び直接閲覧</b> .....	<b>45</b>
10.1	CRF の構成 .....	45
10.2	入力期限、提出期限 .....	45
10.3	作成方法、記入方法 .....	45
10.4	EDC 入力上の注意 .....	45
10.5	内容の確認と問い合わせ .....	45
10.6	原資料の特定及び直接閲覧 .....	45
<b>11</b>	<b>品質管理及び品質保証</b> .....	<b>47</b>
11.1	品質管理 .....	47
11.2	品質保証 .....	47
<b>12</b>	<b>治験実施計画書の遵守、逸脱または変更並びに改訂</b> .....	<b>48</b>
12.1	治験実施計画書の遵守 .....	48
12.2	治験実施計画書からの逸脱または変更 .....	48
12.3	治験実施計画書の改訂 .....	48
<b>13</b>	<b>治験の中止、中断または終了</b> .....	<b>49</b>
13.1	治験の中止、中断 .....	49
13.2	治験の終了 .....	49
<b>14</b>	<b>倫理</b> .....	<b>50</b>
14.1	法的及び倫理的遵守事項 .....	50
14.2	治験実施の審査 .....	50
14.3	被験者への説明事項と同意取得 .....	50
14.4	被験者のプライバシー保護について .....	51

<b>15</b>	<b>記録の保存</b> .....	<b>53</b>
15.1	治験審査委員会 .....	53
15.2	実施医療機関.....	53
15.3	自ら治験を実施する者.....	53
<b>16</b>	<b>金銭の支払い及び保険</b> .....	<b>54</b>
16.1	資金源及び利益相反 .....	54
16.2	金銭の支払い.....	54
16.3	健康被害に対する補償.....	54
16.4	医療の提供体制の整備.....	54
16.5	保険への加入.....	54
16.6	補償ルール .....	55
16.7	補償内容.....	55
16.8	補償の対象外・制限 .....	55
<b>17</b>	<b>治験組織</b> .....	<b>56</b>
17.1	自ら治験を実施する者 (治験責任医師) .....	56
17.2	治験実施医療機関.....	56
17.3	モニタリング.....	56
17.4	データセンター .....	56
17.5	統計解析.....	56
17.6	監査.....	57
17.7	外注検査受託施設.....	57
17.8	外注検査測定機関.....	57
17.9	効果安全性評価委員会.....	57
17.10	治験薬提供者 .....	57
<b>18</b>	<b>公表に関する取り決め</b> .....	<b>57</b>
<b>19</b>	<b>治験実施期間</b> .....	<b>57</b>
<b>20</b>	<b>治験総括報告書</b> .....	<b>57</b>
<b>21</b>	<b>参考文献</b> .....	<b>58</b>

表目次

表 3-1	各投与群の用量 .....	20
表 5-1	治験薬 .....	28
表 6-1	検査項目と採血量 .....	36
表 7-1	臨床検査項目 .....	39

## 略語一覧

略語	詳細	和訳
A/G	albumin/globulin	アルブミンとグロブリンの比率
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	L-alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ANCOVA	analysis of covariance	共分散分析
AST	L-aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BMI	body mass index	肥満度指数
CK	creatine kinase	クレアチンキナーゼ
FBS	fetal bovine serum	ウシ胎児血清
GMP	good manufacturing practice	製造品質管理基準
GVHD	graft versus host disease	移植片対宿主病
HBs	hepatitis B surface	B型肝炎ウイルス表面
HCV	hepatitis C virus	C型肝炎ウイルス
HIV	human immunodeficiency virus	ヒト免疫不全ウイルス
HMGB1	high mobility group box 1	核内の遺伝子発現調節タンパク
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LPS	lipopolysaccharide	リポ多糖 (グラム陰性菌細胞外膜構成成分)
MSC	mesenchymal stem cells	間葉系幹細胞
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
OTC	over-the-counter drug	一般用医薬品
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝液
PDGFR $\alpha$	platelet-derived growth factor receptor alpha	血小板由来増殖因子 $\alpha$ 受容体
QRS	QRS complex	QRS 群
QTc	corrected QT interval	補正した QT 間隔
QOL	quality of life	生活の質
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TLR	Toll-like receptor	トル様受容体

## 治験実施計画書の要約

自ら治験を行う者	玉井 克人 大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座教授
治験薬名	KOI2
治験課題名	間葉系幹細胞動員医薬 KOI2 の安全性および忍容性の検討 (第 I 相臨床試験)
治験実施計画書番号	KOI2-001
開発のフェーズ	臨床薬理試験 (第 I 相試験)
治験実施期間	未定
目的	<p>主要目的</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>日本人健康成人男性を対象に、KOI2 を用量漸増単回静脈内投与および 4 日間連続反復投与した時の安全性及び忍容性を評価する。</li> </ul>
治験実施医療機関	大阪大学医学部附属病院
治験責任医師	大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座教授 玉井 克人
治験デザイン	無作為化、被験者単盲検、プラセボ対照、単回および反復、静脈内投与、用量漸増試験
治験対象	日本人の健康成人男性
被験者数	40 名 (1 コホート 8 名の計 5 コホート : 内 4 日間連続反復投与は 1 コホート)
組み入れ基準	<p>選択基準</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>本治験の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、被験者本人から文書による同意が得られた者</li> <li>同意取得時に年齢が 20 歳以上、45 歳以下の健康な日本人成人男性</li> <li>スクリーニング検査及び治験薬投与前日検査で BMI (<math>\text{kg}/\text{m}^2</math>) が 18.5 以上、25.0 未満の範囲にある者  <math display="block">\text{BMI} = \text{体重} [\text{kg}] / (\text{身長} [\text{m}])^2</math> </li> <li>1 年以上喫煙していない者で治験薬投与前日から事後検診まで禁煙できる者</li> <li>入院 24 時間前から事後検診終了までアルコールの摂取を禁止できる者</li> <li>少なくとも治験薬投与前日から事後検診終了後 28 日まで性行為を控えること、あるいは殺精子剤入りのコンドームを使用することに合意する者</li> </ol>

	<p>除外基準</p> <p>(1) 肝、腎、消化器、呼吸器、心筋及び血液機能等に障害があるか、またはそれらの既往歴が治験参加に支障があると治験責任(分担)医師が判断した者</p> <p>(2) 薬物依存症の既往を有する者</p> <p>(3) 静脈内投与が困難と思われる者(迷走神経反射の既往等)</p> <p>(4) 临床上重要な薬物アレルギー症状/ワクチンアレルギー(アナフィラキシーショック、重症の食物アレルギー、蕁麻疹、再発性皮膚炎、薬物過敏症、タンパク製剤アレルギー、血管性浮腫等、花粉症)の既往を有する者</p> <p>(5) スクリーニング検査時の肝機能検査で臨床的に重要な異常(ALT、AST、総ビリルビンの施設基準値上限の1.5倍以上)が認められた者(ただし、スクリーニング検査時の肝機能検査においては再検査の実施を1回に限り可能とする)</p> <p>(6) スクリーニング検査でHIV抗原・抗体、HBs抗原、HCV抗体及び梅毒血清反応が陽性の者</p> <p>(7) スクリーニング検査時の血液検査にて貧血と診断される者</p> <p>(8) スクリーニング検査時及び治験薬投与前の検査の12誘導心電図でQTc値が450 msecを超える、あるいはQRS間隔が120 msecを超える者</p> <p>(9) スクリーニング検査時及び治験薬投与前の検査の血圧が5分間の安静後も140/90 mmHgのいずれかを超える者もしくは100/50 mmHgのいずれかより下回る者、心拍数が50-100の範囲を超える者</p> <p>(10) 治験薬投与前4ヵ月以内に新有効成分含有医薬品の治験または3ヵ月以内にその他の治験に参加し、治験薬(プラセボを含む)の投与を受けた者</p> <p>(11) 治験薬投与前14日以内に何らかの医療用医薬品を使用した者、または治験薬投与前7日以内に一般用医薬品(OTC)を使用した者</p> <p>(12) 治験薬投与前12週間以内に400 mL以上の採血(献血等)、4週間以内に200 mL以上の採血(献血等)または本治験での予定採血量を合わせて年間採血量が1200 mLを超える者</p> <p>(13) 治験責任医師等の医学的判断に基づき、本治験の組み入れに不適格と判断された者</p>
--	--

<p>治験薬及び投与計画</p>	<p>治験薬 被験薬 : KOI2 対照薬 : プラセボ</p> <p>投与計画 日本人健康被験者を対象に、KOI2 あるいはプラセボを 30 分間の点滴による単回静脈内投与を 1 から 4 コホートの被験者に対して行う。5 コホートの被験者には KOI2 あるいはプラセボを 30 分間の点滴による 4 日間連続反復静脈内投与を行う。各コホート同様に、8 名 (6 名に KOI2、2 名にプラセボ) に治験薬を投与する。</p> <table border="1" data-bbox="490 757 1398 1137"> <thead> <tr> <th>コホート</th> <th>投与量</th> <th>例数</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>KOI2 0.15 mg/kg またはプラセボ</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>KOI2 0.5 mg/kg またはプラセボ</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>KOI2 5.0 mg/kg またはプラセボ</td> <td>8</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ (連続投与)</td> <td>8</td> </tr> </tbody> </table> <p>治験責任医師は、各コホートの全被験者における治験薬投与後 24 時間までの安全性、忍容性を検討し、次コホートへの移行の可否を決定する。</p>	コホート	投与量	例数	1	KOI2 0.15 mg/kg またはプラセボ	8	2	KOI2 0.5 mg/kg またはプラセボ	8	3	KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ	8	4	KOI2 5.0 mg/kg またはプラセボ	8	5	KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ (連続投与)	8
コホート	投与量	例数																	
1	KOI2 0.15 mg/kg またはプラセボ	8																	
2	KOI2 0.5 mg/kg またはプラセボ	8																	
3	KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ	8																	
4	KOI2 5.0 mg/kg またはプラセボ	8																	
5	KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ (連続投与)	8																	
<p>被験者の治験参加期間</p>	<p>本治験における各被験者の予定治験参加期間はスクリーニングのための来院を除き単回投与試験で 9 日間、4 日間連続反復投与試験で 12 日間である。尚、いずれの投与試験でも入所の 1 日前から 28 日までの間で最短 1 日のスクリーニングのための来院が必要である。</p> <p>スクリーニングのための来院を除いた治験参加期間には、単回投与試験の場合は 2 泊 3 日間の入院期間及び治験薬投与後 7 日目の事後検診が含まれる。4 日間反復連続投与試験の場合は 5 泊 6 日間の入院期間及び 4 日間連続反復による治験薬投与終了後 7 日目の事後検診が含まれる。</p>																		
<p>評価項目</p>	<p>安全性 有害事象、12 誘導心電図、バイタルサイン (体温、血圧、脈拍数、呼吸数)、臨床検査 (末梢血球検査、血清生化学的検査、尿検査)</p>																		
<p>統計解析</p>	<p>本治験は主として探索的であるため、統計解析により得られる仮説検定の P 値、及び信頼区間は、意味のある変動を把握し、推定することを意図するものである。</p>																		



	<p>(1) 被験者の内訳 被験者の内訳をフローチャートで示す（同意取得例、適格例、不適格例、割付例、予備投与対象例、治験薬投与例、治験薬未投与例、中止例、補充例等で示す）。</p> <p>(2) 安全性 安全性評価項目（12誘導心電図、バイタルサイン（体温、血圧、脈拍数、呼吸数）、臨床検査（血液学的検査、血清生化学的検査、尿検査））は、必要に応じて投与群ごとに記述統計量を要約する。ベースラインからの変化について評価するため、可能な場合には、治験薬投与前値を共変量とし、用量を要因とした共分散分析（ANCOVA）を用いて解析する。有害事象は、少なくとも一度有害事象が発生した症例について、その例数や割合を MedDRA/J の器官分類と基本語を用いて集計を行う。バイタルサイン、12誘導心電図、及び臨床検査については、事前に設定された基準を用いて評価する。</p>
--	--



4日間連続反復投与群スケジュール

実施日程	スクリーニング	入院期間(5泊6日)																				D11 (木)					
	D-28 ~-1	D0 (日)	D1(月)			D2(火)					D3(水)					D4(木)					D5 (金)						
治験薬投与後経過時間		入所	治験薬投与前	31min	1hr	8hr	治験薬投与前	31min	1hr	2hr	4hr	8hr	治験薬投与前	31min	1hr	2hr	4hr	8hr	治験薬投与前	31min	1hr	2hr	4hr	8hr	24hr	11日目	
同意取得	◎																										
来所/入所	◎																										
食事		昼夜																								昼	
身体計測(身長)	◎																									◎	
身体計測(体重)	◎		◎				◎						◎							◎						◎	◎
被験者背景	◎																										
診察(自覚症状/他覚所見)	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
バイタルサイン(体温、血圧、脈拍数、呼吸数)	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎	◎		◎	◎	◎	◎	◎		◎	◎	◎	◎	
12誘導心電図	◎																									◎	
心電図モニター装着			←→			←→					←→					←→											
連続血圧測定(2分30秒間隔)			←→			←→					←→					←→											
血清免疫学的検査	◎																										
血中ヒスタミン濃度測定			◎	◎		◎	◎						◎	◎					◎	◎							
血液学的検査	◎		◎		◎	◎						◎	◎					◎	◎					◎	◎		
血清生化学的検査	◎		◎		◎	◎						◎	◎					◎	◎					◎	◎		
尿検査	◎		◎			◎						◎							◎						◎		
有害事象の確認			←→																								
併用薬剤の調査		←→																									
選択除外基準の確認	◎		◎			◎							◎						◎								
研究目的採血			◎		◎	◎						◎	◎						◎	◎					◎	◎	

中止時には可能な限り中止時点、最終投与の24時間後及び7日後の事後検診時の評価を実施する

## 1 背景情報

### 1.1 開発の経緯

生体内に存在する幹細胞を利用した医療としてすでに確立している造血幹細胞移植（骨髄移植等）に加えて、新しい先進医療として間葉系幹細胞（mesenchymal stem cells; MSC）移植治療の開発が進められつつある。骨髄 MSC を生体内損傷組織に移植する基礎研究から、骨髄 MSC は中胚葉由来組織である骨、軟骨、脂肪に加えて、外胚葉由来組織である神経や表皮にも分化できる多能性幹細胞としての性質を持つ可能性が示され、さらに種々の抗炎症分子、血管新生因子を放出して炎症を抑制的に制御しつつ組織再生を誘導することが明らかにされている。これらの基礎研究成果を基にして、心筋梗塞、脳梗塞、脊髄損傷や移植片対宿主反応（GVHD）に罹患した患者に対する自家または他家骨髄由来培養 MSC の移植臨床研究が進められており、その有効性が示されつつある。

しかしながら、骨髄 MSC 移植を実施するためには GMP レベルでの細胞培養を保証する特殊な培養設備が必要であり、限られた医療機関でのみ実施可能な医療である。また、骨髄血採取は侵襲を伴う医療行為であり、特に他家移植の場合はドナーを得ることも容易ではない。また、十分量の MSC を得るためには数週間におよぶ細胞培養期間が必要であり、脳梗塞や心筋梗塞の急性期に対する迅速な移植は不可能である。これらの問題点を解決し、かつ骨髄 MSC の持つ多くの長所を生かした治療を可能にする新たな方法論の開発が必要である。

我々は、核内の遺伝子発現調節タンパクである high mobility group box 1（HMGB1）が、重度の生体組織損傷時に血中に大量放出され、骨髄内 MSC を刺激して血中へ動員し、さらに損傷組織特異的に骨髄 MSC を集積させて、MSC の持つ抗炎症、血管新生能、多分化能により、損傷組織の再生を誘導するという、これまで全く知られていなかった「HMGB1 による骨髄 MSC の血中動員」という新しい再生誘導機構を発見した<sup>1)</sup>。

しかしながら、HMGB1 は分子内にエンドトキシンの 1 つである lipopolysaccharide（LPS）との結合ドメインを有すること、LPS と結合した HMGB1 は Toll-like receptor（TLR）を活性化して強い炎症反応を喚起することが知られている<sup>2)</sup>。このことは、HMGB1 タンパクを医薬品として開発する過程で求められる安全性保証にとり、大いに懸念材料となることが容易に予想される。そこで、HMGB1 の骨髄内 PDGFR $\alpha$  陽性細胞活性化ドメインを探索し、TLR を刺激せずに PDGFR $\alpha$  陽性細胞を血中に動員する HMGB1 ペプチド医薬の探索を進めた。

その結果、我々は PDGFR $\alpha$  陽性細胞動員活性を有するペプチド断片の同定に成功し、その中から本開発候補物（開発コード KOI2）を選択した。当初の期待通り、KOI2 のアミノ酸配列は LPS 結合ドメインを含まず、より安全な医薬品の開発が可能になる。また、全長が約 200 アミノ酸からなる HMGB1 タンパク質に対し、KOI2 は分子量が 5 分の 1 程度のペプチ

ドであり、化学的合成による製造が可能であるため、医薬品として製造する場面において、精製純度の向上、安定生産、コスト削減が期待されるようになった。

## 1.2 非臨床試験データ

KOI2 の非臨床試験として、薬効薬理試験としては KOI2 の骨髄間葉系幹細胞の運動能活性化作用、骨髄間葉系幹細胞血中動員活性、末梢循環不全性難治性皮膚潰瘍ラットモデルに対する KOI2 の治療効果及び表皮水疱症モデルマウスに対する KOI2 の治療効果を検討した。また、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。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。

### 1.2.1 効力薬理

#### (1) KOI2 の骨髄 MSC の運動能活性化作用

大阪大学にて樹立したマウス PDGFR $\alpha$  陽性骨髄 MSC 株、MSC-1 細胞に対する運動能活性化作用を phosphate buffered saline (PBS) を陰性対照として、HMGB1 タンパクおよび KOI2 について比較検討を行った。

その結果、等モルあたりでは HMGB1 に対して化学合成した KOI2 は 0.57 倍の活性であったが、等質量あたりでは 2.86 倍の高い活性を示した。

#### (2) KOI2 の骨髄 MSC 血中動員活性

KOI2 を 0.5 mg/kg 静脈投与した際のマウス骨髄内 PDGFR $\alpha$  陽性 MSC の末梢血動員活性を PBS を陰性対照として測定した。

KOI2 投与群では陰性対照群と比較して、有意差 (P=0.016) を持って末梢血中の PDGFR $\alpha$  陽性細胞の割合が増加した。

#### (3) 末梢循環不全性難治性皮膚潰瘍ラットモデルに対する KOI2 の治療効果

HMGB1 タンパクおよび KOI2 について、皮膚の阻血性壊死組織に対する治療効果を測定した。即ち、SD 系雄性ラット (8 週齢) に手術後 6 時間を初回として以後 24 時間ごとに HMGB1 タンパク (1 mg/kg/day)、KOI2 (0.5 mg/kg/day) を計 5 回尾静脈から投与した。陰性対照には PBS を投与した。

手術 1 週後に陰性対照群では 5 匹中 4 匹に皮膚壊死が発生した。HMGB1 投与群では 5 匹中 3 匹で皮膚壊死が発生した。KOI2 投与群では 5 匹中 1 匹で皮膚壊死が発生した。手術 7 週間後には陰性対照群では 5 匹中 4 匹において皮膚の強い拘縮が起きているのに対し、全長 HMGB1 投与群では 5 匹中 3 匹で、KOI2 投与群では 5 匹中 2 匹で拘縮が認められた。

HMGB1 投与群および KOI2 投与群では、陰性対照群と比較して 1 週間後の壊死組織の縮小効果を認め、KOI2 投与群ではより顕著な縮小効果が認められた。1 週間後、2 週間後、3 週間後では創傷面積がいずれも陰性対照群の半分の面積に縮小していた。3 週間後以降は KOI2 投与群が他の 2 群に比較してさらに創傷面積が縮小していた。7 週間の治癒過程においても、KOI2 投与群の方がより創傷面積が小さい傾向にあった。7 週間後の創傷部分の拘縮においても KOI2 投与群がもっとも拘縮が軽度であった。

骨髄MSCは低酸素状態における皮膚細胞の増殖を促進することが知られており、HMGB1や KOI2によって動員された骨髄MSCが皮弁作製によって生じた低栄養、低酸素による皮膚壊死の拡大を抑制し、創傷治癒を促進したと予想された。

この結果から、臨床では皮膚の疎血、外傷、手術による損傷の拡大などを抑制する KOI2 の薬理効果が期待される。

#### （4）表皮水疱症モデルマウスに対する KOI2 の治療効果

KOI2 1.5 mg/kg を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=4）の尾静脈から週 2 回、4 週間（計 8 回）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単独投与群（n=4）と比較した。

KOI2 投与群は体重増加率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。

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 MSC が口腔内および食道粘膜の剥離部位に集積して再生を誘導し、飲水および摂食行動が改善したためと考えられる。

### 1.2.2 主な安全性試験

#### （1）予備的一般毒性試験

##### ①ラットにおける単回静脈内投与試験

CrI:CD（SD）系雄性ラット（1 群 n=3）に KOI2 の 2 または 20 mg/kg を静脈内投与した。

死亡動物はなく、薬剤投与に起因する変化を認めなかった。

##### ②サルにおける単回静脈内投与試験

カニクイザル（1 群雌雄各 1 匹）に KOI2 の 2、6 および 20 mg/kg を静脈内投与した。

死亡動物は認めなかった。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 を投与した雄性サルにおいて体温の低下が認められた。血中ヒスタミンの上昇が用量依存的に認められており、顔面紅潮と体温低下は血中ヒスタミンの上昇によるものと考えられた。

#### （2）反復投与試験

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)

CrI: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。

結果として、投与および休薬期間中、いずれの群にも死亡はみられなかった。また、一般状態観察、一般症状及び神経行動学的機能観察、体重、摂餌量、眼科的検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査のいずれの検査においても、KOI2 投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

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。

結果として、投与および休薬期間中、いずれの群にも死亡はみられなかった。KOI2 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/日以上で血栓性的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 KOI2 の作用が加わったことに起因すると考えられた。

なお、下記項目についても一般毒性試験の中に組み込んで実施している。

- 安全性薬理試験：サルにおける in vivo 心・血管系、および呼吸器系に及ぼす影響の検討。ラットにおける中枢神経系に及ぼす影響の検討。  
サルにおいて 6 および 12 mg/kg の KOI2 の急速静脈内投与により血圧低下が認められたが、血圧低下に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た。
- 生殖発生毒性試験：サルとラットを用いた反復投与毒性試験の中で、雄生殖器の評価を行った。その結果、異常は認められなかった。
- 免疫毒性試験：サルとラットを用いた反復投与毒性試験の検討項目の中で、免疫毒性の可能性を示す変化（兆候；血液学的変化、免疫系器官の重量変化および病理組織学的変化、血清グロブリン濃度の変化等）について評価を行い異常は認められなかった。

### 1.2.3 吸収・分布・代謝・排泄

#### (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 KOI2 を定量した。その結果、2 mg/kg で投与した場合には投与 2 分後まで KOI2 が検出されたものの、投与 5 分後では検出感度以下であった。一方、6 および 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。

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、実施していない。

### 1.3 臨床試験

これまでに KOI2 のヒトへの臨床試験は実施されていない。

### 1.4 予想される危険性及び利益

KOI2 のアミノ酸配列は LPS 結合ドメインを含まず TLR の活性化を介した炎症反応の喚起がおこらないように設計されたペプチドである。これまでに実施した動物（ラット及びサル）での毒性試験の結果から、サルを用いた試験にて血圧の低下、心拍数の増加、体温下降、顔面紅潮とヒスタミンの血中濃度増加及び投与部位（繰り返し静脈内注射を行った部位）での局所刺激性反応が見られたが、その他重い副作用は検出されていない。また KOI2 は生体構成成分でもあるため投与による危険性は低いものと予測する。また、投与中は血圧をモニターし、安全性を確認しながら投与を行う。

本治験は健常人を対象としているため、治験薬の投与による直接の健康上の利益はない。この治験に登録された被験者への間接の健康上の利益は、スクリーニング及び治験中に実施される医学的検査を無料で受けることができることである。

本治験実施計画書で規定される安全性モニタリング、すなわち、身体検査、バイタルサイン、12 誘導心電図、血液学的検査、血清生化学的検査、尿検査、そして有害事象への問診は被験者の安全性を保護するのに適切であり、治験薬の投与によって発現すると予想される有害事象を可能な限り検知するものである。これらは「6.1. 観察・検査項目」に記載の各種検査によって行う。

表 6-1 を通じて計画された各被験者の採血量の概算量は、被験者を過度の危険にさらすものではない。

### 1.5 用量設定の根拠

KOI2 の安全性試験の結果から NOAEL（無毒性量）が 12 mg/kg と判断された。本治験にてヒトでの初回投与量として 0.15 mg/kg の投与量を予定しているが NOAEL の約 1/80 となり



治験実施計画書番号 : KOI2-001

治験実施計画書案 : Ver.00 (作成日2015年1月19日)

---

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、表皮水疱症モデルマウスにおいて KOI2 は 1.5 mg/kg の投与にて再現性良く薬効が認められる。計画しているヒトでの初回投与量は、動物試験での推定最低薬理作用量 (MABEL) の 1/3 以下であり、この点からも 0.15 mg/kg の初回投与量は妥当であると考えた。

## 2 治験の目的

### 2.1 治験の目的

本治験の目的を以下に示す。

主要目的 :

- 日本人健康成人男性を対象に、KOI2 を用量漸増単回静脈内投与および4日間連続反復投与した時の安全性及び忍容性を評価する。

### 2.2 評価項目

- 安全性 : 有害事象、12誘導心電図、バイタルサイン (体温、血圧、脈拍数、呼吸数)、臨床検査 (末梢血球検査、血清生化学的検査、尿検査)

### 2.3 評価項目の設定根拠

安全性 : KOI2 を用量漸増単回静脈内投与および4日間連続反復静脈内投与した時の安全性及び忍容性を評価するため設定した。

### 3 治験のデザイン

#### 3.1 治験デザインの概略

本治験は、日本人健康成人男性を対象に KOI2 を単回静脈内投与および 4 日間連続反復静脈内投与した時の安全性及び忍容性を評価する、第 I 相、無作為化、単盲検（被験者盲検）、プラセボ対照、用量漸増試験である。

表 3-1 に示すように、本治験は 5 つのコホートで構成され、各コホートに 8 名の被験者（6 名に KOI2、2 名にプラセボを投与）を組み入れる。各被験者は 1 コホートのみに参加することとし、治験薬の投与回数はそれぞれ単回投与群では 1 回、4 日間連続反復投与群では 4 回である。

表 3-1 各投与群の用量

コホート	投与量	例数
1	KOI2 0.15 mg/kg またはプラセボ	8
2	KOI2 0.5 mg/kg またはプラセボ	8
3	KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ	8
4	KOI2 5.0 mg/kg またはプラセボ	8
5	KOI2 1.5 mg/kg またはプラセボ (4 日間連続反復投与)	8

#### 【設定根拠】

安全性及び忍容性に関する信頼性のある科学的根拠を得るため、プラセボ対照試験とする。

さらに、本剤の作用による評価へのバイアスを避けるため、プラセボ対照被験者単盲検試験とする。また、臨床開発の初期段階では、KOI2 に関する情報が限られているため、ヒトで安全に用いられる最大耐用量の決定、若しくはヒトでの予想有効用量の安全域確立のために逐次用量漸増デザインとする。

用量設定については、「1.5 用量設定の根拠」に記載の通り、安全性試験の結果および薬効試験の薬効発現量から設定した。

#### 3.2 治験薬の投与方法

本試験は FIH (First In Human) 試験であることから、第 1 例目の投与の観察が終了してから 2 例目の投与を行うこととする。したがって 1 コホート目については先ず 1 例のみの投与を実施し、投与後 24 時間目の安全性を確認した後、3 例（内プラセボ 1 例）と 4 例（内プラセボ 1 例）に分けて 1 コホートの投与と観察を実施する。

2 コホート目以降は被験者を2 グループに分け、4 人ずつに分けて投与観察を行う。すべてのコホートについて治験薬投与当日に1 人目の投与を開始し、2 人目、3 人目及び4 人目までの被験者の投与は、それぞれ前の投与開始から1 時間以上後とする。すべてのコホートについて、同様にそれぞれ前の投与開始から1 時間以上後の投与開始とする。

また、次の被験者に投与を行う際は、診察及びバイタルサインの結果を確認して実施する。診察及びバイタルサインに何らかの異常が認められ、その異常が臨床学的に顕著であった場合は次ぎの患者への投与を一時中断する。

治験薬の投与方法は30 分間かけて投与を行うこととし、特に最初の5 分間はより緩徐に投与を行う(最初の5 分間でおおよそ5 mL の投与を行い、残りの25 分間で95 mL を投与する)。

投与中の血圧の変動は投与前10 分間の安静臥床後に連続3 回の血圧測定を行いその平均値を前値とする。前値から25 %以上の血圧変動が認められた場合もしくは血圧低下による症状が出現した場合はその被験者の投与を中止する。

中止後の再開については別途手順を定める。

### 3.3 被験者数

#### 3.3.1 被験者数

40 名 (1 コホート 8 名の計 5 コホート)

本治験の主要目的は、健康成人を対象とした初期の安全性の評価であるため、1 コホートあたりの KOI2 の投与例を6 名に限定した。1 コホート6 例で実施すると、25 %の頻度で発現する有害事象であれば、そのコホートにおいて82 %の確率で1 例以上に有害事象が検出できる精度である。同様に、有害事象発現率を20 %、15 %、10 %と仮定した場合に、有害事象の発現が1 例以上に観察される可能性は、それぞれ74 %、62 %、47 %となる。

さらに、1 コホート2 名のプラセボ投与被験者のデータを統合することで、対照群として適切な症例数を確保できると考えられる。

#### 3.3.2 予備被験者の取り扱い

予備被験者は、各コホートにつき6 名とし、治験薬投与前日に来所する。治験薬投与前の検査の結果、治験薬を投与しないことが決定した予備被験者は、各コホートの被験者への治験薬投与前に退院する。