

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業

(早期・探索的臨床試験分野)

脳／心血管領域における

アンメットニーズに対応する創薬研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 澤 芳 樹

平成26(2014)年 5月

目 次

I . 総括研究報告

脳 / 心血管領域におけるアンメットニーズに対応する創薬研究

澤 芳樹 1

. 分担研究報告

1 . 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発
玉井 克人 7

2 . 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用
中神 啓徳 11
(資料) 大阪大学プレスリリース (研究成果: 難治性皮膚潰瘍資料薬開発を目指した
新規ペプチドの最適化 - 早期探索臨床拠点事業での医師主導治験に向けた
取組 -
新聞記事切抜 (3/28日本経済新聞夕刊、3/29毎日新聞朝刊)

3 . 左室補助人工心臓 (LVAD) を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明と
アフエレーシス治療の確立
澤 芳樹 ・ 吉岡 大輔 15
(資料) UMIN CTR 臨床試験登録情報

4 . ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発
南野 哲男 ・ 松崎 高志 17

5 . オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア (ONO-1301MS) 製剤の重症心不全への適応
宮川 繁 21

6 . 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発
澤 芳樹・宮川 繁・森下 竜一 25

. 研究成果の刊行に関する一覧表 29

. 研究成果の刊行物・別刷

脳/心血管領域におけるアンメットニーズに対応する創薬研究

研究代表者 澤 芳樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授

[研究要旨]

大阪大学は、早期・探索的臨床試験拠点整備事業においては世界的にも急務とされる脳・心血管領域におけるアンメットニーズに対応するため、総合大学として薬学系/工学系等の研究科はもとより、(独)医薬基盤研究所や北里大学等他大学、製薬メーカー各社との連携により、シーズ探索から臨床応用への共同開発や橋渡し研究を行う創薬基盤を形成することを目的としている。本研究事業は、拠点整備事業の基盤を元に下記6つの重点シーズについて早期の臨床試験実施を目指す。

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発
2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用
3. 左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフレーシス治療の確立
4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発
5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応
6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

本研究事業のシーズは、いずれもアカデミア発のシーズをアカデミア主導で臨床試験まで目指すものであり、基礎的研究成果の社会還元にもけた一層の加速ならびに国際競争力の強化に資するものである。

[研究分担者]

松村 泰志	大阪大学大学院医学系研究科・教授
名井 陽	大阪大学医学部附属病院・准教授
玉井 克人	大阪大学大学院医学系研究科・ 寄附講座教授
中神 啓徳	大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・ 浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学 研究科・寄附講座教授
宮川 繁	大阪大学大学院医学系研究科・講師
南野 哲男	大阪大学大学院医学系研究科・講師
平田 雅之	大阪大学大学院医学系研究科・ 特任准教授(常勤)
前田 和久	大阪大学大学院医学系研究科・ 寄附講座准教授
大園 恵一	大阪大学大学院医学系研究科・教授
高倉 伸幸	大阪大学微生物病研究所・教授
山下 俊英	大阪大学大学院医学系研究科・教授
齋藤 洋一	大阪大学産学連携本部・特任教授 (常勤)
齋藤充弘	大阪大学医学部附属病院・講師
赤澤 宏	大阪大学大学院医学系研究科・ 特任准教授(常勤)

森下 竜一	大阪大学大学院医学系研究科・寄附講座 教授
Yao Xiang Jing	大阪大学医学部附属病院・特任教授 (常勤)

A. 研究目的

大阪大学は、早期・探索的臨床試験拠点整備事業においては世界的にも急務とされる脳・心血管領域におけるアンメットニーズに対応するため、総合大学として薬学系/工学系等の研究科はもとより、(独)医薬基盤研究所や北里大学等他大学、製薬メーカー各社との連携により、シーズ探索から臨床応用への共同開発や橋渡し研究を行う創薬基盤を形成することを目的としている。本研究事業は、拠点整備事業の基盤を元に下記6つの重点シーズについて早期の臨床試験実施を目指す。

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍

生体内損傷組織が放出する high mobility group box1(HMGB1)が、抹消循環を介して骨髄間葉系幹細胞を損傷組織に集積させて組織再生を誘導しているという我々が発見した新たな生体内組織再生誘導メカニズムを基盤として、HMGB1の骨髄間葉系幹細胞遊走活性ドメインペプチドを用いた抹消循環不全性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。

2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

大阪大学で同定した新規ペプチドAG30から、血管新生作用と抗菌活性を併せ持つ新規ペプチド(SR-0379)を作成した。このSR-0379を用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。

3. 左室補助人工心臓(LVAD)を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

LVAD(Left Ventricular Assist Device/左室補助人工心臓)を装着した患者を対象に重症心不全治療の新たな選択肢としてトリプトファンをリガンドとするアフエーシス治療を行い、心移植までの待機期間のリスク軽減、患者のQOL(Quality of Life/生活の質)の向上を図ることを目的とする。

4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

心筋梗塞は過去20年間で発症数が2倍にも増加しており梗塞後の心不全の進展を抑制する治療法開発が強く望まれている。我々が世界に先駆けて見出した、ナノサイズリポソームが障害心筋へ特異的に集積しリポソームに封入された保護薬の薬効増強と副作用軽減する技術を用い、リポソーム製剤の新規心筋梗塞治療薬を開発することを目的とする。

5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア(ONO-1301MS)製剤の重症心不全への適応

重症心不全患者に対して従来的人工心臓、心臓移植療法や長期培養を必要とする自己細胞移植療法にかかって治療効果が高く、細胞培養が不要な低分子合成化合物(ONO-1301MS)を製剤化し心臓に直接投与することにより汎用性が高く、緊急使用も可能な心血管・心筋再生療法剤を開発することを目的とする。

6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

国内で発見されたHGF(肝細胞増殖因子/hepatocyte growth factor)プラスミドは、各種の心不全モデル動物に対して抗線維化作用、心筋細胞に対する抗アポトーシス作用、血管新生作用による心機能改善

効果が認められている。年々増加する慢性心不全を対象に、開胸下HGFプラスミドを心筋に直接注入投与するHGF補充療法を確立し重症心不全患者の救命およびQOLの向上を図る。

B. 研究方法

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

同定した HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞遊走活性ドメイン構造を基に、シュシュのペプチドをデザインし、骨髄間葉系幹細胞の血中動員活性を評価し、最終開発候補ペプチドの選定を行うとともに、医師主導治験 Phase 開始に必要な非臨床試験内容について検討する。

2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

血管新生作用と抗菌活性を併せ持つ新規ペプチドを用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。大阪大学で同定された新規抗菌ペプチド(AG30)から、治験に向けた改良ペプチド(SR-0379)の作成、薬効薬理試験、薬物動態試験、非臨床試験(GLP)を順次進める。また、治験薬GMPでの原薬合成・製剤化の準備を進め、今後健康人での皮膚刺激性試験(パッチテスト)、皮膚潰瘍患者でのフェーズI試験などを計画している。

3. 左室補助人工心臓(LVAD)を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

試験機器である選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1(製品名:イムソーバTR、旭化成クラレメディカル(株))」を用いて、我々は症例が増えつつあるLVAD装着者のみに対象をしばって臨床研究を行い、データを測定・集積する。

4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

ナノサイズリポソームが障害心筋へ特異的に集積し、リポソームに封入された心保護薬の薬効増強と副作用軽減することを世界に先駆けて見出した。本技術を用い、ラット心筋梗塞モデルにおいて、低用量リポソーム製剤による心筋梗塞サイズ縮小増強効果を確認した。そこで本研究では、リポソーム製剤を新規心筋梗塞治療薬として開発する。

5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア(ONO-1301MS)製剤の重症心不全への適応

ONO-1301MS剤心臓局所投与における各種重症心

不全モデルで薬効薬理試験を実施し、有効性を確認している。

1) マウス左冠動脈結紮心筋梗塞モデルに対し、梗塞心筋周囲にONO-1301MS (4週間徐放剤) を直接筋注射し、その効果を検討した。

2) アメロイドコンストラクターをブタ心臓左回旋枝(LCx)の根部に埋め込み、4週間後にONO-1301MS剤(4週間徐放剤) およびONO-1301を含まないMS剤を虚血周辺部の心筋内に投与し、2群間比較を行った。

3) ONO-1301MS (3週間徐放剤) を用いて、イヌ高速ペーシング(拡張型心筋症)モデルで誘発された拡張型心筋症モデルに対する心機能改善効果の検討を行った。

4) 心筋梗塞マウスへのONO-1301MS (4週間徐放剤) 心臓貼付の治療効果に関して、骨髄由来細胞の影響について検討した。

5) -筋グリカン欠損自然発症拡張型心筋症モデルであるJ2N-K/ハムスターに、ONO-1301MS (4週間徐放剤) をアテロコラーゲン膜に浸透させたシートを心臓に直接貼付投与群、ONO-1301を含まないMS剤群、および正常群にて比較を行った。

6) ミニブタ陳旧性心筋梗塞(OMI)モデルを用いて、ONO-1301MS (4週間徐放剤) 心臓貼付投与での心機能改善効果を示す最小有効投与量を検討した。

6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

国内で発見された HGF (肝細胞増殖因子/hepatocyte growth factor:HGF) は、プラスミドDNAの導入により各種の心不全モデル動物に対して、抗線維化作用、心筋細胞に対する抗アポトーシス作用、血管新生作用による心機能改善効果が認められている。我々は、開胸下で HGF プラスミドを心筋へ直接注入投与する医師主導治験を計画する。

(倫理面への配慮)

基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミドDNAあるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施した。

動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行った。

C. 研究結果

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

平成25年度は、HMGB1の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性ドメインペプチドのアミノ酸配列を基にして種々の候補ペプチドを化学合成し、骨髄間葉系幹細胞血中動員活性を指標にして候補ペプチドの絞り込みを進め、最終開発候補ペプチドの選定を終了した。また平成26年度における医師主導治験 phase I 開始に必要な非臨床試験項目の内容を検討し、非臨床安全性試験の実施項目を決定した。さらに、非臨床安全性試験および Phase I 試験開始に用いるペプチド大量合成を依頼する CRO の選定を進め、パイロット合成を進めた。

2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

SR-0379の測定系を確立し、薬物動態試験を行った。血中半減期は4.8分であり、血中および皮下投与下での薬物動態を調べた。PMDAに薬事相談および対面助言を行って、非臨床試験の充足性を確認し、必要な非臨床試験として、ラット4週反復毒性試験、ウサギでの眼刺激性試験、皮膚刺激性試験、モルモットでの感作性試験、ラットでの安全性薬理試験(呼吸系・中枢系)を行った。CMCとして原薬合成の予備検討(規格値の決定など)、製剤化の予備検討(安定性試験、容器の決定など)を行った。

3. 左室補助人工心臓(LVAD)を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

平成25年度は学内の「治験外臨床研究医学系研究科医学倫理委員会」にての承認を得て、3例の集積を目標に平成25年8月より臨床研究を開始した。3症例にアフエーシスを実施し、現在まで医療機器と因果関係がある重篤な有害事象は認めていない。現在最後の症例のアフエーシス後のフォローアップ期間中である。

4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

製剤では心筋梗塞サイズ縮小効果はないが、リポソーム製剤で著明な心筋梗塞サイズ縮小効果を認めた。GMPリポソーム製剤の組成・製造については、PMDA相談を反映し、市販リポソーム製剤ドキシルと同様の組成で、ロット間の均一性を担保しつつ製造

している。

5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

低分子合成化合物であるオキシム誘導体の徐放性製剤（ONO-1301MS）を、心臓に直接投与（心筋内投与および心臓表面に貼付）することにより、各種内因性修復因子（HGF、VEGF、SDF-1、HMGB1等）が産生促進される。その結果、骨髄細胞から梗塞部へ修復細胞が誘導されることにより、心機能の改善等に有効性があることを、各種重症心不全（虚血性心筋症および拡張型心筋症）モデルにおいて確認した。また、臨床予定投与ルート（ゼラチンシートにONO-1301MSを吸収させ心臓梗塞部に貼付）での、ブタ虚血心筋症（OMI）モデルにおける最小有効投与量性を確認した後、PMDA 対面助言にて追加非臨床試験項目・内容を決定した。現在追加非臨床試験を実施しており、平成 26 年 3 Q に PMDA 対面助言にて医師主導治験プロトコルを決定し、平成 26 年度内に First in human 試験を開始する予定である。

6. 慢性心不全治療薬としての HGF プラスミドの開発

PMDA 薬事戦略相談対面助言を実施して、遺伝子治療の確認申請制度廃止後の「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成 25 年 7 月 | 日薬食審査発 0701 第 4 号別添）の指針に規定された品質及び安全性に係る基本的な技術要件を満たす事を確認した。また実施計画書の内容に関しても PMDA からの助言を受け、虚血性心筋症を基礎疾患とする慢性心不全を対象として HGF プラスミドの臨床での安全性の確認を目標に医師主導治験の準備を進めることとした。各種書類の準備を進め、臨床試験デザインの詳細について検討をしながら、本事業期間中の平成 26 年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備中である。

D . 考察

本研究事業のシーズは、いずれもアカデミア発のシーズをアカデミア主導で臨床試験まで目指すものであり、基礎的研究成果の社会還元にもけた一層の加速ならびに国際競争力の強化に資するものである。

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

現在開発を進めている最終開発候補化合物は化学合成HMGB1断片ペプチドであり、HMGB1タンパクと比較して血中での安定性は極めて低く、現在進めつつある探索的安定性試験ではラット静脈内投与数分後に検出感度以下まで消失する。また、これまで実施した非臨床薬効薬理試験では推定投与用量の50倍量を投与しても毒性は得られていない。

以上の事実から、HMGB1ペプチドの安全性は極めて高いと予想される。

2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

医師主導治験として、自ら開発した化合物を原薬・製剤化から取り組んでおり、治験薬 GMP の体制作り・ドキュメント整理などから実施してきたが、今年度ではほぼ予備検討を終了することができた。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ため、今後の臨床試験で注意して進める必要性がある。

3. 左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエーシス治療の確立

心抑制性心筋自己抗体を測定し、陽性を示す症例の中で同意の得られた3症例に、選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1（製品名：イムソーバTR）」によるアフエーシス治療の臨床研究を安全に施行することができた。

4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

基礎的検討では、リポソーム製剤の用量設定、濃度測定の実験系構築、薬理薬効試験、薬物動態試験をおこなった。また、リポソーム製剤のGMP院内製造に向け、1) GMP基準受け入れ態勢の構築と手順書の作成、2) 阪大病院薬剤部にGMP基準対応リポソーム製造機を設置した。

5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

本製剤（ONO-1301MS）は細胞から多種の体内再生因子を持続的に誘導するため、細胞治療の持つ有意性と薬物治療の利便性を同時に併せ持つ、理想的な心不全治療薬剤となる。本製剤は、心移植に代わり重症心不全患者を救済することが可能となり、医療経済へも貢献し、わが国発の基礎的研究成果の社会還元にもけた一層の加速ならびに国際競争力の強化に資するものである。

臨床投与予定ルート（ゼラチンシートに ONO-1301MS を吸収させ心臓梗塞部に貼付）におけるブタ虚血性心筋症モデルでの有効性薬理試験は、現在実施中である。

6. 慢性心不全治療薬としての HGF プラスミドの開発

平成25年度は、遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保の体制の整備を終了した。また、臨床試験デザインを検討し実施計画書を作成した。医師主導治験に必要な各種手順書、試験薬概要書、患者説明文書等を作成し、IRB申請に必要な準備を開始した。

E . 結論

1. 骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

骨髄間葉系幹細胞血中動員活性医薬開発のための HMGB1 ペプチド最終候補化合物選定を終え、非臨床薬効薬理試験により得られた推定ヒト投与量を基にした非臨床安全性試験プロトコル内容を確定した。

2. 血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

非臨床試験を概ね終了した。SRペプチド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を進め、今後は治験薬製造と臨床試験を実施予定である。

3. 左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する液性免疫異常の解明とアフエレーシス治療の確立

DCM患者に対しFIHを実施し、心抑制性心筋抗体との関連も検討する予定である。

4. ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

リポソーム製剤の基礎的検討と、阪大病院薬剤部無菌製剤室に設置するGMP基準対応無菌リポソーム製造装置インフラ整備を中心に行った。27年度に、医師主導治験の準備完了を目指す。

5. オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

非臨床のデータ集積を積極的に実施した。有効性薬理試験結果から、臨床試験開始に必要な非臨床試験項目を決定してゆく。平成26年度にFirst in huma

n試験を開始する予定である。

6. 慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

平成26年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備中である。

F . 健康危険情報

特になし

骨髄間葉系幹細胞血中動員因子を用いた末梢循環不全に伴う難治性皮膚潰瘍治療薬開発

研究分担者 玉井 克人 大阪大学大学院医学系研究科 寄附講座教授

【研究要旨】

損傷組織が放出する high mobility group box 1 (HMGB1)が、末梢循環を介して骨髄間葉系幹細胞を損傷組織に集積させて組織再生を誘導しているという、我々が見いだした新たな生体内組織再生誘導メカニズムを基盤として、HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞遊走活性ドメインペプチドを用いた末梢循環不全性皮膚潰瘍治療薬開発を進めている。平成 25 年度は、HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性ドメインペプチドの最適化を終了し、医師主導治験実施に必要な非臨床安全性試験プロトコル内容を確定した。

A．研究目的

我々は、生体内損傷組織から放出される HMGB1 が骨髄間葉系幹細胞を刺激して血中動員し、損傷部位に集積させて組織再生を誘導していることを世界で初めて明らかにした。この活性を利用して HMGB1 を創薬化することにより、損傷組織に間葉系幹細胞を集積させて、局所の炎症・瘢痕形成を抑制し、さらに間葉系幹細胞の持つ再生誘導効果により機能的組織再生を誘導することが可能になると期待される。

昨年度までに我々は HMGB1 の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性ドメインを同定し、そのドメインを含む化学合成ペプチドの種々のアミノ酸欠失変異体、置換変異体、修飾変異体を作製し、それらの骨髄間葉系幹細胞血中動員活性を比較検討した。平成 25 年度は、これらの研究成果を基にして最終候補化合物を決定するとともに、非臨床安全性試験内容の確定作業を進めた。

B．研究方法

HMGB1 ペプチド医薬の最適化作業により選定された候補化合物について、間葉系幹細胞培養株 ST2 を用いた遊走活性試験およびマウス血中投与による間葉系幹細胞血中動員活性試験を実施した。これら実験で得られた容量-薬効相関を基にしてヒト投与量を概算し、その数値を基に医師主導治験 Phase I 試験開始に必要な非臨床安全性試験プロトコルを作成した。

1) 間葉系幹細胞株 ST2 を用いた遊走活性試験：遊走活性を評価する目的で作成された培養チャンパー

（中央に着脱式プラスチック製隔壁のある培養皿）内に ST2 細胞を播種・培養し、サブコンフルエント状態で中央隔壁を脱着して帯状の無細胞ゾーンを作成、同時に評価化合物（HMGB1 ペプチド）または溶媒（PBS）コントロールを添加して、以後経時的に ST2 の無細胞ゾーンへの遊走程度を比較評価した。

2) 間葉系幹細胞血中動員試験：評価化合物（HMGB1 ペプチド）および溶媒コントロール（生理食塩水）を PDGFR α プロモーター/EGFP ノックインマウス尾静脈より投与し、種々の時間経過で末梢血を採血したのち、間葉系幹細胞マーカーである PDGFR α の発現（EGFP 蛍光）指標にして骨髄間葉系幹細胞の血中動員活性を、フローサイトメトリーを用いて評価した。

3) 非臨床安全性試験プロトコル作成：1) 2) で得られた用量-薬効相関データを外挿してヒト投与量を決定し、医師主導治験 Phase I 試験開始に必要な非臨床安全性試験プロトコルを決定した。

（倫理面への配慮）

施行した動物実験は、大阪大学の動物実験に関する倫理委員会より承認を得て、その倫理規定に基づいて施行した。

C．研究結果

1) 間葉系幹細胞株 ST2 を用いた遊走活性試験：HMGB1 ペプチド添加群は、濃度依存性に間葉系幹細胞株 ST2 の遊走を活性化した。最大活性に必要な濃度は 10 μ M であった。ペプチド塩の種類（TFA 塩、酢酸塩、塩酸塩）で活性に大きな違いは認めなかった。

2) 間葉系幹細胞血中動員試験：HMGB1ペプチドを種々の用量でPDGFR α プロモーター/EGFPノックインマウス尾静脈より投与し、12時間後の血中EGFP陽性細胞(PDGFR陽性間葉系幹細胞)数をコントロール(溶媒投与群)と比較した結果、ペプチド投与群で有意に間葉系幹細胞が増加した。最少有効用量は10 μ g/bodyであった。

3) 非臨床安全性試験プロトコール作成：上記の試験で得られた用量-活性相関を基に、薬効の得られるHMGB1ペプチドのヒト投与量を500 μ g/kgと設定し、Phase I試験申請に必要な非臨床安全性試験を計画した。具体的には遺伝毒性試験、安全性薬理試験、一般毒性試験それぞれについて、試験プロトコール、動物種、投与量、投与回数、投与期間を決定した。平成26年度12月までにすべての試験を終了し、Phase I医師主導試験を申請する予定である。

D. 考察

平成25年度の研究により、HMGB1の骨髄間葉系幹細胞血中動員活性医薬開発のための最終候補化合物が確定し、マウスを基にした非臨床薬理試験(間葉系幹細胞血中動員活性試験)結果から推定したヒト投与量を基にした非臨床安全性試験内容が確定した。

HMGB1は生体内のすべての細胞が産生しているクロマチン制御蛋白であり、健康人でも通常5~10ng/ml濃度で血中に存在している。一方、末梢組織に大量壊死が生じる病態では壊死組織から大量のHMGB1が血中に放出され、その血中濃度は100ng/ml以上の濃度で維持される(たとえば大量皮膚壊死を伴う皮膚疾患では重症薬疹、表皮水疱症などでHMGB1の血中濃度が極めて高値となる)が、これらの疾患において心血管系、呼吸系、肝臓、腎臓などに対するHMGB1毒性を疑わせる根拠は無い。これらの事実、HMGB1蛋白それ自体には毒性が無いことを示している。さらに、現在開発を進めている最終開発候補化合物は化学合成HMGB1断片ペプチドであり、HMGB1タンパクと比較して血中での安定性は極めて低く、現在進めつつある探索的安定性試験ではラット静脈内投与数分後に検出感度以下まで消失する。また、これまで実施した非臨床薬効薬理試験では推定投与量の50倍量を投与しても毒性は得られていない。

以上の事実から、HMGB1ペプチドの安全性は極めて高いと予想される。平成26年度に実施する非臨床安全性試験により予想通りの高い安全性が証明され次

第、PMDAの機構相談を実施し、平成27年には医師主導Phase I試験を開始する予定である。

E. 結論

骨髄間葉系幹細胞血中動員活性医薬開発のためのHMGB1ペプチド最終候補化合物選定を終え、非臨床薬効薬理試験により得られた推定ヒト投与量を基にした非臨床安全性試験プロトコール内容を確定した。

F 研究発表

論文発表

1. Furumoto T, Ozawa N, Inami Y, Toyoshima M, Fujita K, Zaiki K, Sahara S, Akita M, Kitamura K, Nakaoji K, Hamada K, Tamai K, Kaneda Y, Maeda A. Mallotus philippinensis bark extracts promote preferential migration of mesenchymal stem cells and improve wound healing in mice. *Phytomedicine*. 2014. 21(3). 247-253, pii: S0944-7113(13)00360-7. doi: 10.1016/j.phymed.2013.09.003.
2. Umegaki-Arao N, Tamai K, Nimura K, Serada S, Naka T, Nakano H, Katayama I. Karyopherin Alpha2 Is Essential for rRNA Transcription and Protein Synthesis in Proliferative Keratinocytes. *PLoS One*. 2013 Oct 3;8(10):e76416. doi: 10.1371/journal.pone.0076416.

学会発表

1. Katsuto Tamai, In vivo mobilization of bone marrow mesenchymal stem cells accelerates regeneration of tissue injury. International Symposium of Anatomical Science for Advance in Healgh and Clinical Therapy, 2013.Aug.27-28, Sendai.
2. 玉井克人、皮膚と骨髄のクロストーク：間葉系幹細胞の体内移動メカニズム解明と治療への応用。第41回日本臨床免疫学会総会 6学会合同シンポジウム：トランスレーショナル研究と新規治療。2013.11.-28, 山口

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許出願

1. 名称：
組織再生を誘導するためのペプチドとその利用
PCT出願番号：PCT/JP2012/059113
国際出願日：平成24年4月3日

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Furumoto T, Ozawa N, Inami Y, Toyoshima M, Fujita K, Zaiki K, Sahara S, Akita M, Kitamura K, Nakaoji K, Hamada K, <u>Tamai K</u> , Kaneda Y, Maeda A.	Mallotus philippinensis bark extracts promote preferential migration of mesenchymal stem cells and improve wound healing in mice.	Phytomedicine.	21 (3)	247-253	2014
Umegaki-Arao N, <u>Tamai K</u> , Nimura K, Serada S, Naka T, Nakano H, Katayama I.	Karyopherin Alpha2 Is Essential for rRNA Transcription and Protein Synthesis in Proliferative Keratinocytes.	PLoS One.	8(10)	e76416	2013

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
玉井克人	表皮水疱症に対する再生医療の現状と未来	天谷雅行	皮膚科臨床アセット:19巻、水疱性皮膚疾患	中山書店	東京	2014	196-201
玉井克人	表皮水疱症の再生医療	宮地良樹	WHAT'S NEW in 皮膚科学	メディカルレビュー社	東京	2014	26-27

血管新生作用を有する新規ペプチドの虚血性潰瘍への応用

研究分担者 中神 啓徳
大阪大学大学院 大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・
福井大学連合小児発達学研究所 寄附講座教授

【研究要旨】

血管新生作用と抗菌活性を併せ持つ新規ペプチドを用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発を行う。大阪大学で同定した新規抗菌ペプチド AG30/5C を血清で処理させたのちの分解産物を MALDI-TOF/MS を用いて測定した結果から、この分解産物の中の 20 個のアミノ酸の一部のアミノ酸を D 体で置換した新規ペプチド（SR-0379）を作成した。構造上はアルファヘリックス構造を呈し、緑膿菌・黄色ブドウ球菌・真菌に対する抗菌活性を有し、血管内皮培養細胞での管腔構造形成や線維芽細胞の増速を促進する作用を有していた。SR-0379 の薬理薬効試験では、ラットの皮膚損傷モデルにおいて創修復作用の促進を認めた。SR-0379 の測定系を確立し、薬物動態試験を実施した。非臨床試験として、ラット 4 週反復毒性試験、ウサギでの眼刺激性試験、皮膚刺激性試験、モルモットでの感作性試験、ラットでの安全性薬理試験（呼吸・中枢系）を行った。原薬合成・製剤化の予備検討を行い、次年度から治験薬合成および臨床試験（フェーズ I）を開始する予定である。

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を用いた難治性皮膚潰瘍治療薬の開発

B．研究方法

SRペプチドの非臨床試験として、薬物動態試験、毒性試験、刺激性・感作性試験、安全性薬理試験を行い、次年度の健康人を用いたパッチテストの準備を行った。

LC-MS/MSを用いたMRM（Multiple Reaction Monitoring）でのSRペプチドの測定法を用いて、静脈内投与あるいは皮下投与下でのラット血漿中のSR-0379濃度測定を行った。

治験薬GMPを想定した原薬合成および製剤化の予備検討を行った。

また、SRペプチド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。

（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ー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

薬物動態試験ではLC/MS/MSを用いたペプチドの測定法を確立し、1 ng/mlからの微量測定可能な検出系を確立した。ラットにSR-0379を200 μg/kgの投与量で単回静脈内投与した際、血漿中消失半減期は4.8分であった。また、1mg/kg以上

の投与量で皮下投与した際の薬物動態を調べたところ、投与後30分後にはほぼ血中濃度が検出限界以下まで減少していることが分かった。

非臨床試験においては、ラット4週毒性試験で全身毒性を認めず、安全性薬理試験（呼吸・中枢系）でも異常なく、ウサギ皮膚刺激性試験でも陰性であった。モルモット感作生試験においてのみ、陽性所見を認めた。

予備検討として、原薬の規格値の決定、製剤化の安定性試験などを行い、製品標準書を作成した。容器としてスプレー製剤を予定し予備安定性試験では室温・冷蔵では安定であり光刺激に対しても安定であった。

SRペプチドはヒト皮膚培養線維芽細胞の増殖活性を有し、その細胞内情報伝達系の解析ではphosphoinositide 3-kinase/Akt/mTOR経路が活性化されていることを見出した。

次年度の健康人でのパッチテストの準備として、手順書の確認と実施計画書、症例報告書、患者説明文書の作成を行った。

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用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、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ため、今後の臨床試験で注意して進める必要がある。今後は健康人でのパッチテストを行った後に、患者での試験を予定している。

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ペプチド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を進めている。

F . 研究発表

1. 論文発表

Tomioaka 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. Mar 27

2. 学会発表

中神 啓徳「Clinical Application of Novel Angiogenic Peptide for Severe Ischemic Ulcer; from Discovery to Drug Development from Academia」第78回日本循環器学会学術集会、2014.3.23、東京<シンポジウム>

3 . 新聞報道

「傷治し感染を抑える化合物を開発、大阪大、皮膚潰瘍に。」2014.3.28. 毎日新聞、中日新聞、西日本新聞、大分合同新聞他

G . 知的財産権の出願・登録状況

新規知財特になし。

すでに取得済の特許

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

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomioka H, <u>Nakagami H</u> , 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 (Public Library of Science, PL OS)	Vol. 9 Issue 3 e92597	1-11 (e92597)	2014

左室補助人工心臓（LVAD）を装着した拡張型心筋症に対する 液性免疫異常の解明とアフエレーシス治療の確立

研究分担者(研究代表者) 澤 芳樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授
研究協力者 吉岡 大輔 大阪大学大学院医学系研究科 寄附講座助教

【研究要旨】

拡張型心筋症（DCM）の原因の一つとして自己免疫性応答異常があげられており、特に抗心筋抗体による心筋障害が報告されている。この抗心筋抗体陽性の DCM 症例において、アフエレーシス療法により心筋抗体を透析除去することで、心機能が改善されることが報告されているが、LVAD（Left Ventricular Assist Device/左室補助人工心臓）を必要とするような重症 DCM においては報告がないのが現状である。

2011 年 4 月に植込型の LVAD が保険償還され、LVAD 装着症例は急速に増加しつつある。我々は、LVAD 装着により循環動態が安定するため、非装着者よりも安全にアフエレーシス治療が可能であると考え、「LVAD を装着した患者を対象にアフエレーシス治療による心機能の改善を目指す」初の研究を行う。具体的には国内企業(旭化成クラレメディカル(株))から選択式血漿成分吸着器として AMT-0902-1(製品名：イムソーバ TR)を購入し、LVAD 装着者のうち、DCM 患者に対し臨床研究を実施し、心抑制性心筋抗体との関連も検討する。

この治療により、LVAD 装着の重症 DCM 患者の心機能の改善、機能維持が図られ、心移植までの待機期間におけるリスクの軽減や、なかには LVAD からの離脱が可能な症例を検討し、及び患者の QOL の向上、医療費の抑制などを図ると共に、データ集積の中で、液性免疫異常の解明も進めつつ、重症心不全治療の新たな選択肢を確立することを目的としている。

A . 研究目的

拡張型心筋症（DCM）は慢性進行性であることが多く、予後が良くないことから、安定時でも定期的観察、また再び不全症状が出現すると入院及びその後の長期間安静臥床、運動制限などが必要となり、患者及び医療費の負担が大きい。最終的には心移植が必要となる事も多いが、臓器移植改正法案施行後も我が国の移植待機期間は短縮されることなく、その中で 2011 年 4 月に植込型の LVAD（Left Ventricular Assist Device/左室補助人工心臓）が保険償還され、LVAD 装着症例が急速に増加しつつある。この LVAD を装着した患者を対象に、アフエレーシス治療によって心機能の改善を目指す初めての研究である。

重症心不全治療の新たな選択肢としてトリプトファンをリガンドとするアフエレーシス治療を行い、心移植までの待機期間のリスク軽減、患者の QOL(Quality of Life/ 生活の質)の向上を図ることを目的とする。

B . 研究方法

基礎研究(非臨床研究)では、心抑制性抗心筋自己抗体の簡易測定システムに対して、日本及び米国に対して特許を申請している。さらに心不全患者の血液よりプロテオミックス技術を用いて新規のバイオマーカーを抽出、同定し、同バイオマーカーの生理活性の検討を行った。

試験機器である選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1(製品名：イムソーバTR、旭化成クラレメディカル(株))」を用いて、我々は症例が増えつつある LVA D 装着者のみに対象をしばって臨床研究を行い、データを測定・集積する。

(対象者選択基準)

- ・特発性拡張型心筋症
- ・心筋抗体を測定している。
- ・NYHA4度以上
- ・標準的心不全治療を3ヶ月以上継続している。
- ・20歳以上

(対象患者除外基準)

- ・二次性心筋症
- ・心移植を受けた者
- ・その他医師が不相当と認めた者

(臨床研究デザイン)

- ・単群非ランダム化オープン試験
- ・被験者数：3名
- ・主評価項目：安全性評価

(倫理面への配慮)

基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミド DNA あるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施した。

動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行なった。

臨床研究において、「臨床研究に関する倫理指針」(厚生労働省)を厳守し、さらに被験者保護を最優先に実施する。

C . 研究結果

24年度は臨床研究のための実施計画書、同意書の作成や臨床研究開始に向けての体制整備を行った。

平成25年1月7日には学内の「治験外臨床研究医学系研究科医学倫理委員会」にての承認を得て、3例の集積を目標に平成25年8月より臨床研究を開始した。3症例にアフエレーシスを実施し、現在まで医療機器と因果関係がある重篤な有害事象は認めていない。現在最後の症例のアフエレーシス後のフォローアップ期間中である。

D . 考察

心抑制性心筋自己抗体を測定し、陽性を示す症例の中で同意の得られた3症例に、選択式血漿成分吸着器「AMT-0902-1(製品名：イムソーバTR)」によるアフエレーシス治療の臨床研究を安全に施行することができた。最後の症例のフォローアップ期間が終了後、心抑制性心筋自己抗体の測定と治療前後の心機能の比較等の評価を行い、総括報告書を作成する予定である。

E . 結論

AMT-0902-1(イムソーバTR)をもちいたアフエレーシス治療に関しては、安全に使用できると考えて

いる。

研究発表

1. 論文発表
特になし
2. 学会発表
特になし

G . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

ドラッグデリバリーシステムを用いた急性心筋梗塞治療薬の開発

研究分担者 南野 哲男 大阪大学大学院医学系研究科 講師
研究協力者 松崎 高志 大阪大学大学院医学系研究科 特任助教

[研究要旨]

急性心筋梗塞発症数は過去 20 年間に 2 倍に増加している。繰り返して入院加療が必要な梗塞後心不全患者が増加しており、国民医療費増大の一因となっている。そのため、梗塞後心不全進展を抑制する治療法の開発は重要なアンメットニーズである。我々は、分担研究者が代表研究者を務めた、厚生労働科研医療機器開発推進研究事業「ナノサイズリポソームを用いた急性心筋梗塞治療法の開発」で、ナノサイズリポソームが障害心筋へ特異的に集積し、リポソームに封入された心保護薬の薬効増強と副作用軽減することを世界に先駆けて見出した。本技術を用い、ラット心筋梗塞モデルにおいて、低用量リポソーム製剤による心筋梗塞サイズ縮小増強効果を確認した。そこで本研究では、リポソーム製剤を新規心筋梗塞治療薬としてアカデミア創薬することを目指し、本年度までに、薬効薬理試験、薬物動態試験、製剤最適化を終了した。現在、早期・探索的臨床試験拠点事業で整備した GMP リポソーム製造装置の稼働準備中である。さらに、リポソーム製剤を用いた安全性薬理試験・毒性試験を実施中である。

本研究の成果は、梗塞後心不全の発症・重症度の軽減につながり、患者 QOL の改善や心不全治療に関する医療費軽減が多いに期待できる。

A . 研究目的

高齢化や糖尿病・脂質代謝異常患者の増加により、急性心筋梗塞発症数は過去 20 年間に 2 倍に増加している(Takii T, et al. Circ J 2010)。再灌流療法の普及により、急性期死亡率は低下する一方、繰り返し入院が必要な梗塞後心不全患者が著明に増加しており、医療費増大の一因になっている。そのため、慢性期心不全発症を抑制する治療法の開発は重要なアンメットニーズである。梗塞後心不全発症を抑制する方法として、心筋梗塞急性期における薬物補充療法による心筋虚血再灌流障害抑制が期待されるが、未だ確立された治療法はない。

一方、がんや炎症部位では血管透過性が亢進し、ナノサイズの粒子が血管より流出し、集積する。薬剤をナノリポソームに内包し、炎症部位特異的に薬剤を特異的に送達することにより、薬効の増強と副作用の軽減が期待できる。心筋梗塞部位では激しい炎症が生じるため、同部位での血管透過性亢進を利用したリポソーム製剤の高い有効性が期待できる。研究分担者は、研究代表者として厚生労働科研医療機器開発推進研究事業<ナノサイズリポソームを用いた急性心筋梗塞治療法の開発>を実施し、ナノリ

ポソームの心筋梗塞部位へ高い集積による、心保護薬の作用増強と副作用軽減を示した(Takahama H, et al. J Am Coll Cardiol. 2009; 特願：PCT/JP2008/00652)。本技術を用い、既にラット心筋梗塞モデルにおいて、低用量リポソーム製剤の心筋梗塞サイズ縮小増強効果を確認した(PCT/JP2013/064384)。

そこで、本研究では、リポソーム製剤をアカデミア創薬として開発を進める。心筋梗塞部位での血管透過性亢進に着目し、ナノサイズリポソームを治療に応用するアイデアは画期的であり、特許戦略にも基づいている。

B . 研究方法

1 . 薬効薬理試験（学内で信頼性基準）

ラット心筋梗塞モデルを用い、再灌流時にリポソーム製剤、または製剤の静脈内単回投与を行う。

2 . 薬物動態試験（信頼性基準）

3H標識製剤を封入したリポソーム製剤の体内分布を定量オートラジオグラフィ法で解析し、製剤体内分布を検討する。

3 . 安全性薬理試験・一般毒性試験

PMDA薬事戦略相談(対面助言)を反映し、Lipo-CsA

を用いた安全性薬理コアバッテリー試験ならびに拡張型単回投与毒性試験を実施する。

C . 研究結果

基礎的検討

製剤では心筋梗塞サイズ縮小効果はないが、リポソーム製剤で著明な心筋梗塞サイズ縮小効果を認められた。さらに、投与タイミングによる心筋梗塞縮小効果の影響を検討した。

GMPリポソーム製剤の組成・製造 - PMDA相談

GMPリポソーム製剤の組成・製造については、PMDA相談を反映し、市販リポソーム製剤ドキシルと同様の組成で、ロット間の均一性を担保しつつ製造している。大阪大学医学部附属病院薬剤部での治験薬GMPに基づくリポソーム製造に準備中である。

C . 考察

基礎的検討では、リポソーム製剤の用量設定、濃度測定の実験系構築、薬理薬効試験、薬物動態試験をおこなった。また、リポソーム製剤の**GMP 院内製造**に向け、1) GMP 基準受け入れ態勢の構築と手順書の作成、2) 阪大病院薬剤部に GMP 基準対応リポソーム製造機を設置した。GMP 基準対応リポソーム製造機では、低分子化合物、ペプチド、核酸製剤も封入可能なため、アカデミアシーズの早期探索臨床試験へのトランスレショナルを著しく促進することが期待できる。

D . 結論

本年度は、リポソーム製剤の基礎的検討と、阪大病院薬剤部無菌製剤室に設置するGMP基準対応無菌リポソーム製造装置インフラ整備を中心に行った。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ishii T, Asai T, Oyama D, Agato Y, Yasuda N, Fukuta T, Shimizu K, Minamino T, Oku N. Treatment of cerebral ischemia-reperfusion injury with PEGylated liposomes encapsulating FK506. *FASEB Journal*. Vol.27:1362-1370,2013
- 2) Takahama H, Shigematsu H, Asai T, Matsuzaki T, Sanada S, Fu HY, Okuda K, Yamato M, Asanuma H, Asano Y, Asakura M, Oku N, Komuro I, Kitakaz M, Minamino T. Liposomal Amiodarone Augments Anti-arrhythmic Effects and Reduces Hemodynamic Adverse Effects in an Ischemia/Reperfusion Rat Model. *Cardiovasc Drugs Ther*. Vol.27:125-132,2013
- 3) Kioka H, Kato H, Fujikawa M, Tsukamoto O, Suzuki T, Imamura H, Nakano A, Higo S, Yamazaki

S, Matsuzaki T, Takafuji K, Asanuma H, Asakura M, Minamino T, Shintani Y, Yoshida M, Noji H, Kitakaze M, Komuro I, Asano Y, Takashima S. Evaluation of intramitochondrial ATP levels identifies G0/G1 switch gene 2 as a positive regulator of oxidative phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 Jan 7;111(1):273-8.

2. 学会発表

○南野哲男

日本循環器学会学術集会総会（2014年3月、東京）
プレナリーセッション＜循環器病学のトランスレショナルリサーチ＞

「Academic Drug Development for Treatment of Acute Myocardial Infarction Using Nano-sized Liposomes」

G . 知的財産権の出願・登録状況

発明の名称：炎症性疾患治療用医薬組成物

国際出願番号：PCT/JP2013/064384

出願日：平成24年5月23日

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishii T, Asai T, Oyama D, Agato Y, Yasuda N, Fukuta T, Shimizu K, <u>Minamino T</u> , Oku N	Treatment of cerebral ischemia-reperfusion injury with PEGylated liposomes encapsulating FK506.	The FASWB Journal	Vol.27	1362-1370	Apr.2013
Takahama H, Shigematsu H, Asai T, Matsuzaki T, Sanada S, Fu HY, Okuda K, Yamato M, Asanuma H, Asano Y, Asakura M, Oku N, <u>Komuro I</u> , Kitakaz M, <u>Minamino T</u>	Liposomal Amiodarone Augments Anti-arrhythmic Effects and Reduces Hemodynamic Adverse Effects in an Ischemia/Reperfusion Rat Model	Cardiovasc Drugs Ther.	Vol.27	125-132	2013
Kioka H, Kato H, Fujikawa M, Tsukamoto O, Suzuki T, Imamura H, Nakano A, Higo S, Yamazaki S, Matsuzaki T, Takafuji K, Asanuma H, Asakura M, <u>Minamino T</u> , Shintani Y, Yoshida M, Noji H, Kitakaze M, Komuro I, Asano Y, Takashima S.	Evaluation of intramitochondrial ATP levels identifies G0/G1 switch gene 2 as a positive regulator of oxidative phosphorylation.	PNAS Proc Natl Acad Sci U S A.	Vol.111	273-278.	Jan.2014

オキシム誘導体徐放性マイクロスフェア（ONO-1301MS）製剤の重症心不全への適応

分担研究者 宮川 繁 大阪大学大学院医学系研究科 講師
研究協力者 福嶋 五月 大阪大学大学院医学系研究科 助教

【研究要旨】

重症心不全患者の根本治療は心臓移植であるが、臓器移植法改定後においてもドナーの絶対的不足状態は変わらない。現在重症心不全患者には、埋め込み型補助人工心臓（LVAD）が実施されているが、社会復帰には尚、問題点が多い。また、長期培養を有する自己細胞移植療法は、汎用性および緊急使用の面で問題点も多い。これらに代わり、治療効果が高く、細胞培養を不要（セルフリー）とする、低分子合成化合物の製剤化による心臓移植・LVAD装着の回避、およびLVAD離脱を目指した心臓の再生医療への期待は大きい。

低分子合成化合物であるオキシム誘導体の徐放性製剤（ONO-1301MS）を、心臓に直接投与（心筋内投与および心臓表面に貼付）することにより、各種内因性修復因子（HGF、VEGF、SDF-1、HMGB1等）が産生促進される。その結果、骨髄細胞から梗塞部へ修復細胞が誘導されることにより、心機能の改善等に有効性があることを、各種重症心不全（虚血性心筋症および拡張型心筋症）モデルにおいて確認した。

臨床予定投与ルート（ゼラチンシートにONO-1301MSを吸収させ心臓梗塞部に貼付）での、ブタ虚血心筋症（OMI）モデルにおける最小有効投与量を確認した後、PMDA 対面助言にて追加非臨床試験項目・内容を決定した。現在追加非臨床試験を実施しており、平成26年3QにPMDA 対面助言にて医師主導治験プロトコルを決定し、年末にFirst in human（FIH）試験を開始する予定である。

A．研究目的

重症心不全（虚血性心筋症および拡張型心筋症）の治療に対し、従来の人工心臓、心臓移植療法や長期培養を有する自己細胞移植療法に代わるような、治療効果が高く、細胞培養を不要（セルフリー）とする低分子合成化合物の製剤化により、汎用性の向上および緊急使用可能な心血管・心筋再生療法剤の開発を目的とする。

B．研究方法

ONO-1301MS剤心臓局所投与における各種重症心不全モデルで薬効薬理試験を実施し、有効性を確認している。

1) マウス左冠動脈結紮心筋梗塞モデルに対し、梗塞心筋周囲にONO-1301MS（4週間徐放剤）を直接筋注投与し、その効果を検討した。マウスを冠動脈結紮後に、ONO-1301MS（4週間徐放剤）およびONO-1301を含まないMS剤を梗塞周辺部2か所に局所投与した。

2) 開心術によりアメロイドコンストリクターをブタ心臓左回旋枝（LCx）の根部に埋め込み、4週間後に冠動脈造影（CAG）を施行、LCx完全閉塞を認められたブタを対象とした。ONO-1301MS剤（4週間徐放剤）およびONO-1301を含まないMS剤を虚血周辺部の心筋内に投与し、2群間比較を行った。

3) ONO-1301MS（3週間徐放剤）を用いて、イヌ高速ペーシング（拡張型心筋症）モデルで誘発された拡張型心筋症モデルに対する心機能改善効果の検討を行った。心室ペーシングは240ビート/分で、4週間処理を行い、4週後に、ONO-1301を含まないMS群およびONO-1301MS群の2群に分け、左室心筋内に投与を行った。

4) 心筋梗塞マウスへのONO-1301MS（4週間徐放剤）心臓貼付の治療効果に関して、骨髄由来細胞の影響について検討した。

5) -筋グリカン欠損自然発症拡張型心筋症モデルであるJ2N-Kハムスターに、ONO-1301MS（4週間徐放剤）をアテロコラーゲン膜に浸透させたシートを心

臓に直接貼付投与群、ONO-1301を含まないMS剤群、および正常群にて比較を行った。

6) ミニブタ陳旧性心筋梗塞(OMI)モデルを用いて、ONO-1301MS(4週間徐放剤)心臓貼付投与での心機能改善効果を示す最小有効投与量を検討した。

(倫理面への配慮)

基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミドDNAあるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施した。動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行なった。

C. 研究結果

1) 28日後の、生存曲線では、薬物投与群で有意な延長が認められ、心破裂を抑制し、心エコー図でも心機能改善効果が認められた。組織学的評価では、梗塞サイズの縮小、心筋細胞の肥大化、間質の線維化を抑制した。また7日目の免疫組織学的検査では毛細血管密度は薬剤投与群で増加し、HGFおよびVEGFのmRNAの増加が確認され、これらの作用は抗HGF/抗VEGF抗体投与により減弱した。

2) ONO-1301MS投与群では、多数の側副血行路が形成され、さらにNOGAシステムによる拡張末期容量(LVSDV)は、投与群で少なく心筋リモデリングを抑制した。さらに、8週後に採取した心臓内虚血部位のCD31陽性細胞は、投与群で有意に多数であった。ONO-1301MSは心筋内の血管新生を促進し、心筋リモデリングを抑制した。

3) 心エコー検査および心カテテル検査ではONO-1301MS投与により有意な縮小作用を示した。また、組織学的検査において、心筋線維化面積およびcell diameterはONO-1301投与により有意に縮小していた。電顕検査において、ミトコンドリアの変化がONO-1301投与により回復していた。これらの結果は、ONO-1301MSにより誘導された幾つかの体内再生因子による血管新生・心筋再生効果によることが示唆された。(論文1)

4) ONO-1301MSまたはONO-1301を含まないMS剤をアテロコラーゲン膜に浸透させたシートを心臓表面に貼付することにより、ONO-1301MS群で4週間後の梗塞周辺部において、SDF-1、HGF、VEGFは上昇していた。骨髓細胞をGFP陽性細胞により置換したマウスを用いて、冠動脈完全閉塞心筋梗塞モデルにONO-1301MSシート貼付し、2ヵ月後に検討した結果、心筋梗塞部にGFP陽性細胞が存在し、そのいくつか

は毛細血管の構成部に存在していた。また、ONO-1301MS投与群において、LV壁は肥厚し、梗塞面積は縮小しており、生存率の延長も認めた。ONO-1301MSの心筋貼付により、体内再生因子(SDF-1)を産生促進し、骨髓細胞から梗塞部へ修復細胞を補充することにより、心筋梗塞を治癒することが示唆された。(論文2)

5) ONO-1301群で有意な生存率の延長、及び心エコー検査により、心機能の有意な改善効果が認められた。また、ONO-1301投与により毛細血管数の増加とコラーゲン蓄積の減少が認められた。ONO-1301MSシートにより、拡張型心筋症発症により障害を受けた心筋を再生することが示唆された。(論文3)

6) 心エコー検査(LVEF)において、心臓貼付における最小有効投与量は0.3mg/kgであることが確認された。(学会発表1)

D. 考察

虚血性心筋症および拡張型心筋症モデルを用いたONO-1301MS剤の心筋内投与およびアテロコラーゲンシートを用いたONO-1301MS剤懸濁液の心臓貼付投与における有効性は、すでにマウス、ハムスター、イヌ、ブタモデルにおいて心機能、梗塞面積、線維化面積、生存率において確認しているが、臨床投与予定ルート(ゼラチンシートにONO-1301MSを吸収させ心臓梗塞部に貼付)におけるブタ虚血性心筋症モデルでの有効性薬理試験では、最小有効投与量は0.3mg/kgであることが確認された。長期的有効性に関しては、現在実施中である。

E. 結論

今後、臨床投与予定ルート(ゼラチンシートにONO-1301MSを吸収させ心臓梗塞部に貼付)における虚血性心筋症モデルにおいて、最小有効投与量は0.3mg/kgであった。これらの有効性薬理試験結果から、臨床試験開始に必要な非臨床試験項目を決定し、PMDA対面助言にて確認後、現在実施中である。これらの結果とFIH試験プロトコル(案)の確認を平成26年3QにPMDA対面助言にて行う予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Imanishi Y, Miyagawa S, Fukushima S, Ishimaru K, Sougawa N, Saito A, Sakai Y, Sawa Y
Sustained-release delivery of prostacyclin analog

gue enhances bone marrow-cell recruitment and yields functional benefits for acute myocardial infarction in mice. PLoS One. 2013 Jul 19;8(7):1-8

2) T.Shirasaka, S.Miyagawa, S.Fukushima, A.Saito, M.Shiozaki, N.Kawaguchi, N.Matsuura, S.Nakatani, Y.Sakai, T.Daimon, Y.Okita, Y.Sawa

A slow-releasing form of prostacyclin agonist(ONO1301SR) enhances endogenous secretion of multiple cardiotherapeutic cytokines and improves cardiac function in a rapid-pacing-induced model of canine heart failure J Thorac Cardiovasc Surg. 2013 Aug;146(2):413-421

3) Ishimaru K, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Sakai Y, Ueno T, Sawa Y.

Synthetic prostacyclin agonist, ONO1301, enhances endogenous myocardial repair in a hamster model of dilated cardiomyopathy: a promising regenerative therapy for the failing heart.

J Thorac Cardiovasc Surg. 2013 Dec;146(6):1516-1525.

4) Kubota Y, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Watabe H, Daimon T, Sakai Y, Akita T, Sawa Y.

Impact of cardiac support device combined with slow-release prostacyclin agonist in a canine ischemic cardiomyopathy model. J Thoracic Cardiovascular Surgery Vol.147 #3 1081-1087

2. 学会発表

1) Hiroki Mizoguchi ; Shigeru Miyagawa ; Satsuki Fukushima ; Atsuhiko Saito ; Yoshiki Sakai ; Yukiko Imanishi ; Akima Harada ; Takayoshi Ueno ; Koich Toda ; Toru Kuratani ; Yoshiki Sawa
A Novel Therapeutic Technology of Long-Acting Prostacyclin Agonist for Mature Porcine Ischemic Heart Model AHA2013(American Heart Association Nov.2013, Dallas)

G . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

1) ONO-1301類新規作用機序、適応症、ONO-1301MS製剤特許:「内因性修復因子産生促進剤」

出願日:2003年10月9日

国際出願番号:W02004 / 032965

出願国:日米欧取得:米(US7,547,715B2) 日(特許第4497320号)、欧(EP1563846)

2) ONO-1301MS個別製剤・製法特許:「組織再生治療用徐放性製剤」

出願日:2007年10月18日

国際出願番号:W02008 / 047863

出願国:日米欧;米・欧取得済

3) ONO-1301MS心臓貼付剤・ネット併用:「心筋・血管再生デバイスとしての重症心不全治療材」

出願日:2012年9月13日

特願2012/208799、PCT出願番号:JP2013 / 74948

4) ONO-1301MS静注肺DDS;「肺疾患特異的治療剤」

出願日:2012年10月29日

特願2012/238017、PCT出願番号:JP2013 / 79134

5) ONO-1301MSステントグラフト:「薬剤溶出性ステントグラフト」

出願日:2013年10月15日、

特願2013/215067

雑誌

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Imanishi Y, <u>Miyagawa S</u> , Fukushima S, Ishimaru K, Sougawa N, Saito A, Sakai Y, <u>Sawa Y.</u>	Sustained-release delivery of prostacyclin analogue enhances bone marrow-cell recruitment and yields functional benefits for acute myocardial infarction in mice.	PLoS One.	Vol.8 Issue 7 e69302	1-8	2013
T.Shirasaka , <u>S.Miyagawa</u> , S.Fukushima, <u>A.Saito</u> M.Shiozaki, N.Kawaguchi, N.Matsuura, S.Nakatani, Y.Sakai, T.Daimon, Y.Okita, <u>Y.Sawa</u>	A slow-releasing form of prostacyclin agonist(ONO1301SR) enhances endogenous secretion of multiple cardiotherapeutic cytokines and improves cardiac functuion in a rapid-pacing-induced model of canineheart failure	J Thoracic Cardiovascular Surgery	Vol.146 #2	413-421	2013
Ishimaru K, <u>Miyagawa S</u> , Fukushima S, Saito A, Sakai Y, Ueno T, <u>Sawa Y.</u>	Synthetic prostacyclin agonist, ONO1301, enhances endogenous myocardial repair in a hamster model of dilated cardiomyopathy: a promising regenerative therapy for the failing heart.	J Thoracic Cardiovascular Surgery	Vol.146 #6	1516-1525	2013
Kubota Y, <u>Miyagawa S</u> , Fukushima S, Saito A, Watabe H, Daimon T, Sakai Y, Akita T, <u>Sawa Y.</u>	Impact of cardiac support device combined with slow-release prostacyclin agonist in a canine ischemic cardiomyopathy model.	J Thoracic Cardiovascular Surgery	Vol.147 #3	1081-1087	2014

慢性心不全治療薬としてのHGFプラスミドの開発

研究分担者(研究代表者) 澤 芳樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授
研究分担者 宮川 繁 大阪大学大学院医学系研究科 講師
研究分担者 森下 竜一 大阪大学大学院医学系研究科 寄附講座教授

[研究要旨]

国内で発見された HGF* プラスミド（*ヒト肝細胞増殖因子/hepatocyte growth factor:HGF）は、各種の心不全モデル動物に対して、抗線維化作用、心筋細胞に対する抗アポトーシス作用、血管新生作用による心機能改善効果が認められている。今回我々は、この HGF プラスミドの臨床での安全性の確認を目標に、虚血性心筋症を基礎疾患とする慢性心不全を対象として、開胸下で HGF プラスミドを心筋へ直接注入投与する医師主導治験を計画している。

本薬は遺伝子治療用医薬品であり遺伝子治療の確認申請制度廃止後の「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成 25 年 7 月 1 日薬食審査発 0701 第 4 号別添）の指針に規定された品質及び安全性に係る基本的な技術要件を満たす必要がある。これらの確保の確認に加えて、臨床試験デザインや実施計画書の内容についても、PMDA 薬事戦略相談対面助言を活用し、医師主導治験の準備を進める。IRB 申請や治験届に必要な書類を準備し、本事業期間中の平成 26 年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備する。

A . 研究目的

国内で発見されたHGF* プラスミド(*ヒト肝細胞増殖因子/hepatocyte growth factor:HGF)は国内企業（アンジェスMG株式会社 以下、アンジェス社）では、末梢動脈疾患やリンパ浮腫に対する血管・リンパ管新生促進薬としての開発がなされている薬剤であるが、またこのHGFプラスミドは各種の心不全モデル動物において抗線維化作用、心筋細胞に対する抗アポトーシス作用や血管新生作用による心機能改善効果が認められている。

慢性心不全では、内因性HGF量の低下がみられ、心筋細胞の変性、喪失、線維化等が生じている。HGF プラスミドの投与により一定期間持続的に産生したHGFは、オートクライン・パラクライン効果により内在性のHGFの産生をも増強させる。

本剤投与による治療は、国内で推定患者数100～250万人と言われ年々増加傾向にあるとされる慢性心不全に対するHGFの補充療法にあたり、病態の進行を抑え、心機能をもとの状態に近づけることで重症心不全患者の救命や生活の質（quality of life: QOL）を改善することが期待される。同時に、超高齢化社会における医療費の抑制にも資するものと期待する。

B . 研究方法

アンジェス社では、重症安定狭心症患者を対象に、HGFプラスミドのインジェクションカテーテルによる左室心筋内投与による第I相臨床試験を、米国にて実施しており、この時安全性に問題がなかった事が確認されている。重篤な有害事象はすべて本剤との関連性は否定されており、本剤との関連性の可能性ありと判断された副作用は、心室性頻脈1例1件(4mg群)であった。その他の有害事象や副作用に関しては投与手技かデバイス（心筋内投与用カテーテル）に関連するものであった。

今回我々は、虚血性心筋症を基礎疾患とする慢性心不全を対象として、開胸下でHGFプラスミドを心筋へ直接注入投与する医師主導治験（第I相臨床試験）を計画しているが、より確実な心筋内への投与方法であることから副作用の発生頻度も低くなりより安全であると考えている。同時に上記の米国での試験以上の効果が期待される。

医師主導治験（第I相臨床試験）骨子

1) 概要：開胸下で HGF プラスミドを投与し、投与後観察期間（AMG0001 投与 24 週後まで）及び追

跡期間（AMG0001 投与 48 週後まで）安全性の評価を実施する。合わせて有効性に係る予備的な検討を行なう。

2) 対象患者：最大限の内科的治療及び外科的治療が行われた NYHA 心機能分類 III 又は IV 度に該当する虚血性心筋症を基礎疾患とする慢性心不全患者

3) 投与量・方法：4.0mg の HGF プラスミドを 2mL に希釈調製し、MIDCAB により左室側壁の心筋 10 箇所に投与する（1 部位あたりの投与量が 0.2mL）

4) 目標症例数：3 例

5) 選択基準：

- (1) 治験参加に本人の自由意思による文書同意が得られた患者。
- (2) 同意取得時の年齢が 20 歳以上 85 歳未満であること。性別不問。
- (3) 虚血性心筋症と診断された患者。
- (4) NYHA 心機能分類 Ⅲ 又は Ⅳ 度の心不全患者。
- (5) 病変部位が特定可能で、心臓を脱転することなく投与可能な患者。
- (6) スクリーニング検査、又は治験薬投与前 8 週以内の心エコーのデータにおいて、安静時の左室駆出率（left ventricular ejection fraction:LVEF）が 40%以下の患者。
- (7) ジギタリス、利尿剤、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬や β 遮断薬等による最大限の内科的治療が行われている患者。
- (8) 冠動脈バイパス術、左室形成術、僧帽弁形成術等の最大限の外科的治療が行われている患者。
- (9) 経皮的冠動脈インターベンション、両心室ペースメーカー心臓再同期療法(cardiac resynchronization therapy: CRT) 又は植込み型除細動器（implantable cardioverter defibrillator: ICD）等の措置が施され、当該治療効果が不十分で有症状の患者。若しくは、当該措置が適用されず、有症状の患者。

6) 評価項目：

- ・安全性（有害事象、一般臨床検査、理学的検査による心不全症状、バイタルサイン及び心電図）
- ・探索的な有効性の検討項目：
 - (1)心機能評価：心エコー、CT、Gated SPECT（^{99m}Tc-MIBI）
 - (2)臨床評価：自覚症状、NYHA 心機能分類
 - (3)運動耐容能：6 分間歩行試験、Specific Activity Scale (SAS)
 - (4)QOL 評価：SF-36
 - (5)BNP 検査

（倫理面への配慮）

- 1) 研究対象者に対する人権擁護上の配慮、不利益、危険性の排除や説明と同意に関する状況：本年度は人を対象とした研究を実施していないため該当しない。今後予定される臨床試験においては「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」（厚労省通知）、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（GCP 省令）、ヘルシンキ条約などを厳守し被験者保護を最優先に実施する予定である。
- 2) 実験動物に対する動物愛護上の配慮：本研究で行ったすべての動物実験は、大阪大学実験動物倫理委員会の承認を受けており、最大限の配慮のもとに実施した。
- 3) 基礎的研究においては、遺伝子組み換え生物などの使用などの規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約など各種法令・告示・通知に基づき研究を実施した。

C. 研究結果

PMDA薬事戦略相談対面助言を実施して、遺伝子治療の確認申請制度廃止後の「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」（平成25年7月 | 日薬食審査発0701第4号別添）の指針に規定された品質及び安全性に係る基本的な技術要件を満たす事を確認した。又、実施計画書の内容に関してもPMDAからの助言を受け、虚血性心筋症を基礎疾患とする慢性心不全を対象としてHGFプラスミドの臨床での安全性の確認を目標に医師主導治験の準備を進めることとした。臨床試験デザインの詳細について検討し、各種手順書、実施計画書、試験薬概要書、患者説明文書を作成し、その他IRB申請に必要な書類を準備した。これら以外の文書作成も開始し、本事業期間中の平成26年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備中である。

品質部分に関しては治験薬提供企業であるアンジェス社より提供される予定であり、その為の契約書の作成も進めた。

D. 考察

本剤は遺伝子治療用医薬品であるため、治験の実施に先立ち、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保について」の指針に規定された品質及び安全性に係る基本的な技術要件を満たす事が必要である。

非臨床安全性に関しては、アンジェス社が米国の試験と同投与経路にて行っており、本医師主導治験

を行うにあたり、現行の非臨床安全性試験で十分と考えている。また、治験薬はアンジェス社より提供を受ける予定であり、どちらも基本的な要件を満たすことを薬事戦略相談の対面助言で確認できた。

医師主導治験では胸部左側方に小切開を施行し、HGFプラスミドを病変部位の心筋内に直接投与する。米国第I相臨床試験において、既にヒトへの投与がなされており、特に本剤による副作用は問題となっていないことや、手技的にもより確実に投与できるため、開胸下投与での本剤によるリスクが増強する可能性は低いと考える。医師主導治験の計画の内容に関しても薬事戦略相談対面助言を実施してPMDAからの助言を受け、患者の安全性に配慮しながら第I相の臨床試験を計画している。

E . 結論

品質、及び非臨床部分は薬事戦略相談対面助言にてPMDAとの確認を行ない整備を終了した。臨床部分は平成26年度内の医師主導治験の開始に向け、体制を整備している。

F . 研究発表

論文発表

医師主導治験終了後速やかに臨床試験報告書を作成するとともに、内容を論文にまとめ投稿予定である。

学会発表

論文作成と平行して学会への発表も予定している。

G . 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

- 1) 発明の名称：HGF遺伝子からなる医薬
PCT出願番号：PCT/JP96/02359
出願日： 1996年8月22日
出願人(権利者)：アンジェスMG株式会社
- 2) 発明の名称：心筋症遺伝子治療
PCT出願番号：PCT/JP/06947
出願日： 2000年10月5日

研究成果の刊行に関する一覧表 (集約表)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Furumoto T, Ozawa N, Inami Y, Toyoshima M, Fujita K, Zaiki K, Sahara S, Akita M, Kitamura K, Nakaoji K, Hamada K, <u>Tamai K</u> , Kaneda Y, Maeda A.	Mallotus philippinensis bark extracts promote preferential migration of mesenchymal stem cells and improve wound healing in mice.	Phytomedicine.	21 (3)	247-253	2014
Umegaki-Arao N, <u>Tamai K</u> , Nimura K, Serada S, Naka T, Nakano H, Katayama I.	Karyopherin Alpha2 Is Essential for rRNA Transcription and Protein Synthesis in Proliferative Keratinocytes.	PLOS ONE (Public Library of Science, PLOS)	8(10)	e76416	2013
Tomioka H, <u>Nakagami H</u> , 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	Vol. 9 Issue 3 e92597	1-11 (e92597)	2014
Ishii T, Asai T, Oyama D, Agato Y, Yasuda N, Fukuta T, Shimizu K, <u>Minamino T</u> , Oku N	Treatment of cerebral ischemia-reperfusion injury with PEGylated liposomes encapsulating FK506.	The FASWB Journal	Vol.27	1362-1370	2013
Takahama H, Shigematsu H, Asai T, Matsuzaki T, Sanada S, Fu HY, Okuda K, Yamato M, Asanuma H, Asano Y, Asakura M, Oku N, <u>Komuro I</u> , Kitakaz M, <u>Minamino T</u>	Liposomal Amiodarone Augments Anti-arrhythmic Effects and Reduces Hemodynamic Adverse Effects in an Ischemia/Reperfusion Rat Model	Cardiovasc Drugs Ther.	Vol.27	125-132	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kioka H, Kato H, Fujikawa M, Tsukamoto O, Suzuki T, Imamura H, Nakano A, Higo S, Yamazaki S, Matsuzaki T, Takafuji K, Asanuma H, Asakura M, <u>Minamino T</u> , Shintani Y, Yoshida M, Noji H, Kitakaze M, Komuro I, Asano Y, Takashima S.	Evaluation of intramitochondrial ATP levels identifies G0/G1 switch gene 2 as a positive regulator of oxidative phosphorylation.	PNAS Proc Natl Acad Sci U S A.	Vol.111	273-278.	.2014
Imanishi Y, <u>Miyagawa</u> <u>S</u> , Fukushima S, Ishimaru K, Sougawa N, Saito A, Sakai Y, <u>Sawa</u> <u>Y</u> .	Sustained-release delivery of prostacyclin analogue enhances bone marrow-cell recruitment and yields functional benefits for acute myocardial infarction in mice.	PLoS One.	Vol.8 Issue 7 e69302	1-8	2013
T.Shirasaka <u>S.Miyagawa</u> , S.Fukushima, <u>A.Saito</u> , M.Shiozaki, N.Kawaguchi, N.Matsuura, S.Nakatani, Y.Sakai,, T.Daimon, Y.Okita, <u>Y.Sawa</u>	A slow-releasing form of prostacyclin agonist(ONO1301SR) enhances endogenous secretion of multiple cardiotherapeutic cytokines and improves cardiac functiuon in a rapid-pacing-induced model of canineheart failure	J Thoracic Cardiovascular Surgery	Vol.146 #2	413-421	2013
Ishimaru K, <u>Miyagawa</u> <u>S</u> , Fukushima S, Saito A, Sakai Y, Ueno T, <u>Sawa Y</u> .	Synthetic prostacyclin agonist, ONO1301, enhances endogenous myocardial repair in a hamster model of dilated cardiomyopathy: a promising regenerative therapy for the failing heart.	J Thoracic Cardiovascular Surgery	Vol.146 #6	1516-1525	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kubota Y, <u>Miyagawa S</u> , Fukushima S, Saito A, Watabe H, Daimon T, Sakai Y, Akita T, <u>Sawa</u> <u>Y</u> .	Impact of cardiac support device combined with slow-release prostacyclin agonist in a canine ischemic cardiomyopathy model.	J Thoracic Cardiovascular Surgery	Vol.147 #3	1081-1087	2014

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
玉井克人	表皮水疱症に対する再 生医療の現状と未来	天谷雅行	皮膚科臨床アセ ット:19巻、水疱 性皮膚疾患	中山書店	東京	2014	196-201
玉井克人	表皮水疱症の再生医療	宮地良樹	WHAT ' S NEW in 皮膚科学	メディカル レビュー社	東京	2014	26-27