

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

(国際水準臨床研究分野)

アンメットメディカルニーズ克服のための創薬と育薬

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 榎野 博史

平成27(2015)年3月

## 目次

・ 総括研究報告	
アンメットメディカルニーズ克服のための創薬と育薬	
【榎野博史】	----- 1
・ 分担研究報告	
1 .同種造血幹細胞移植後の難治性慢性移植片対宿主病を対象としたタミバロテンの 多施設共同医師主導臨床第 相試験	
【前田 嘉信】	----- 11
2 .岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験の準備と実施：生物学的安全性評価・製 造・品質管理・第 相・第 相試験	
【松尾 俊彦】	----- 14
3 .進行・再発乳癌に対するドセタキセル 100mg/m <sup>2</sup> の第 相試験	
【平田 泰三】	----- 19
4 .再発非小細胞肺癌における発癌遺伝子の網羅的検索同定と特定遺伝子異常(HER2) を有する患者への個別化治療確立を目指した基礎臨床橋渡し研究 (第 相試験)	
【木浦 勝行】	----- 23
5 .抗マラリア薬、抗C型肝炎薬のFirst in Manの実施とPhase へ向けた剤型改 善に関する研究	
【土居 弘幸】	----- 28
6 .悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad-REIC)を用いた遺伝子治療臨床研究	
【豊岡 伸一】	----- 34
・研究成果の刊行に関する一覧表	----- 36

## **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(国際水準臨床研究分野))**

## **総括研究報告書**

## **アンメットメディカルニーズ克服のための創薬と育薬**

**研究代表者 横野 博史 岡山大学病院長**

### **研究要旨**

アンメットメディカルニーズの高い疾患を中心に、新規の薬剤並びに医療機器の開発を行うため、臨床研究中核病院整備事業にて構築したアカデミア臨床研究機関 (Academic Research Organization(以下「ARO」という。))としての機能を活用し、アカデミアでありながら主体的に製品開発に関わるとともにエビデンスを世界に発信、新規治療法の確立を通じて国民に恩恵を与えることを目的とし研究を実施した。

平成 26 年度は、難治性疾患に対する治療法の開発、画期的医薬品等の創出を目標とした研究開発、最適治療の確立の 6 試験を研究立案・実施した。

## 研究分担者

氏 名	所属機関名	職 名
那須 保友	岡山大学病院新医療研究開発センター	教 授
樋之津史郎	岡山大学病院新医療研究開発センター	教 授
前田 嘉信	岡山大学病院血液・腫瘍内科	講 師
松岡 賢市	岡山大学病院血液・腫瘍内科	助 教
松尾 俊彦	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	准教授
内田 哲也	岡山大学大学院自然科学研究科	准教授
平田 泰三	呉医療センター腫瘍内科	医 長
田端 雅弘	岡山大学病院腫瘍センター	准教授
土井原博義	岡山大学病院乳腺・内分泌外科	教 授
松岡 順治	岡山大学大学院保健学研究科	教 授
濱田 哲暢	国立がん研究センター研究所	部門長
土居 弘幸	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教 授
加藤 宣之	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教 授
金 惠淑	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	准教授
木浦 勝行	岡山大学病院呼吸器・アレルギー内科	教 授
堀田 勝幸	岡山大学病院血液・腫瘍内科	助 教
大橋 圭明	岡山大学病院呼吸器・アレルギー内科	助 教
豊岡 伸一	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教 授
三好新一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教 授
宗 淳一	岡山大学病院呼吸器外科	講 師

## A . 研究目的

難治性疾患、小児疾患、希少疾患といったアンメットメディカルニーズの高い疾患を対象に、新規の薬剤並びに医療機器の開発を行うために臨床研究中核病院整備事業にて構築した ARO としての機能を活用しアカデミアでありながら主体的に製品開発に関わるとともに世界に向けてエビデンスを発信し、新規治療法を国民へ還元することを目的とする。

本研究では以下 6 試験を実施する。また、当該研究で実施する臨床試験あるいは治験は、関連法令を遵守して行う。

## B . 研究方法

( 分担研究 1 )

同種造血幹細胞移植後の難治性慢性移植片対宿主病を対象としたタミバロテンの多施設共同医師主導臨床第 Ⅰ 相試験

慢性 GVHD に対する新たな治療法の確立のため、タミバロテンを使用した多施設共同医師主導臨床第 II 相非対照オープンラベル試験を実施する。主要評価項目を、タミバロテン治療終了時点(24 週)での Failure-free survival : FFS、治療奏効維持生存率かつ奏効率( Complete response; CR + Partial response; PR ) とし、症例数 18 例(岡山大学病院：3 例)を実施する。

( 分担研究 2 )

岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験の準備と実施：生物学的安全性評価・製造・品質管理・第 Ⅰ 相・第 Ⅱ 相試験

有効な治療法のない網膜色素変性で失明

した患者に対し、岡山大学方式の人工網膜を使用した治療法の確立のため、生物学的安全性評価、製造工程管理と品質管理を実施すると同時に、First-in Human の医師主導治験を計画し、実施する。

分担研究 3) 進行・再発乳癌に対するドセタキセル 100mg/m<sup>2</sup> の第 Ⅰ 相試験

進行・再発乳癌患者を対象とし、ドセタキセル 100 mg/m<sup>2</sup> 投与時の薬物動態、忍容性及び安全性を評価するための医師主導治験を実施する。また、ドセタキセルの有効性及び安全性、並びに薬物動態に影響を及ぼす可能性のあるバイオマーカーを評価する。

分担研究 4)

再発非小細胞肺癌における発癌遺伝子の網羅的検索同定と特定遺伝子異常(HER2)を有する患者への個別化治療確立を目指した基礎臨床橋渡し研究(第 Ⅰ 相試験)

非小細胞肺癌と診断が得られた 1000 例を対象とし、HER2 ステータス(蛋白過剰発現、遺伝子増幅、遺伝子変異)を解析し、病理学的情報、予後を含めた臨床情報、および既知の癌細胞の分子異常に関するデータを診療録から抽出の上、それぞれの関連性についての包括的検討を行う。

それに加え、患者 30 名に T-DMI として体重あたり 1 回 3.6 mg/kg を 3 週間間隔で点滴静注し、その奏効率を検討する。

( 分担研究 5 )

抗マラリア薬、抗 C 型肝炎薬の First in Man の実施と Phase Ⅱ に向けた剤型改善に関する

る研究

新規抗マalaria化合物 N-251 を経皮吸収型製剤として最適化をはかり、マalaria流行地で PhaseI からシームレスに PhaseIII を実施できるよう準備するとともに、難治性 C 型肝炎患者に対する医師主導治験を実施する。

( 分担研究 6 )

悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Ad-REIC) を用いた遺伝子治療臨床研究

悪性胸膜中皮腫に対する、本遺伝子治療前検査にて選択基準に合致し、除外基準に抵触しないことを明らかにした上で、治療計画にしたがって遺伝子治療を施行する。

### (倫理面への配慮)

当該研究で実施する動物実験等は、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針に基づき適切に実施すると共に、岡山大学の動物実験関係規則に基づき、動物実験委員会の承認を得て行う。

当該研究で実施する臨床研究あるいは治験について、研究者等はヘルシンキ宣言に基づく倫理原則及び GCP 省令、各府庁の定める省令及び指針、個人情報保護法等を遵守する。

## C . 研究結果

( 分担研究 1 )

平成 26 年度における進捗として、本学

以外の治験実施施設の変更 ( 都立駒込病院、安城厚生病院、大阪市立大学医学部附属病院、九州大学病院 ) をし、各施設において IRB 申請中もしくは申請準備中である。また、本学において第 1 例目の症例同意が得られ、症例登録へとすすんでいる。

( 分担研究 2 )

### 安全性 :

医療機器の安全性評価としての 6 か月埋植試験は 2015 年 3 月の現時点で実施中であり、2015 年 5 月末にその結果を得る予定である。医療機器の安全性評価としての感作性試験で毒性はなかった。また、色素分子による眼刺激性試験でも毒性はなかった。以上より、現時点までに結果を得たすべての安全性評価試験で毒性はなかった。

### 有効性 :

人工網膜を植込んだ RCS ラットでは、対照と比較して術後 4 週目に網膜電図および視覚誘発電位が記録された。

### 治験機器 :

岡山大インキュベータにクリーンルーム製造ラインを構築した。この製造ラインで医療機器製造販売業許可申請、医療機器製造業登録を行う過程として、構造設備の設計図は岡山県庁医薬安全課の了承を得た。品質管理体制 QMS を確立し、機器の仕様書に記載する項目と数値を確定した。機器の滅菌方法を決定した。

( 分担研究 3 )

本年度は、エンドポイントの適切な評価ができるデザインとなるよう、生物統計家、薬物動態専門家、薬事担当と共同で治験実施計画書を作成した。また、治験結果を適

切にデータ収集するための EDC システムの構築、データの信頼性を担保するために QA、QC 体制を構築した。症例集積を加速させるために、呉医療センター・中国がんセンターを治験実施施設として追加する予定である。

#### ( 分担研究 4 )

平成 26 年 4 月と平成 27 年 1 月に中国四国地方の 30 を超える基幹施設と協力体制を構築するために合同会議を開催した。また SRL メディサーチへ外部委託し中国四国地方の基幹施設と協力して 1000 例の治験候補者から 30 例の治験対象者をスクリーニングするプラットフォームを創成した。

#### ( 分担研究 5 )

##### 抗マラリア薬

昨年度に用いた白色ワセリンとオイル ( 4 : 1 の配合比 ) の配合剤を用いて N-251 経皮吸収型製剤の結果をもとに今年度は界面活性剤 ( 特許申請の関係で詳細は省略 ) を主とする溶液状態の経皮投与剤の体内動態解析を行なった。N-251 が 2% 以上となるように含有された N-251 溶液を 150mg/kg、となるように調整した N-251 溶液を切断したカーゼに乗せ、除毛したマウスの背中に乗せ、外れないようにフィルムと伸縮テープで覆って経皮投与した。薬剤投与 0、4、8、12、16、20、24 時間後の血漿中 N-251 濃度を測定した。これら実験は数回に分けて行なった。採血した血液は遠心後、血漿のみを集め、アセトニトリルを加えて除タンパク質した後に、N-251 を濃縮し、LC-MS/MS を用いて測定した。その結果、N-251 は界面活性剤に溶解した溶液状態での経皮投与

で投与 4 時間目から 40ng/ml 付近で N-251 を維持し、16 時間目まで同様の血漿中濃度を維持した。それから約半分程度の 20ng/ml の濃度を 24 時間まで維持した。

この結果より、単回の経皮投与で抗マラリア薬効を示す十分な血中濃度を維持することが判った。年度途中のヒアリングで N-251 を臨床開発する為には合成ステップが多く、実際の臨床試験に持って行くためには低コストで提供可能な化合物が必要となった。そこで、N-251 の親化合物である、N-89 を用いて再度検討することになった。N-89 は N-251 と同様な抗マラリア活性を有することが以前に判っている。まず、N-89 の GMP/GLP 規格に対応可能な合成工程の検討を行い、純度 99% 以上の N-89 (non-GLP) を 60g/バッチで得ることができた。この N-89 を用いて N-251 と同様の経皮投与における体内動態解析と抗マラリア薬効の再現性を検討した。N-89 を 2% 含む溶液を調製し、N-251 と同様の経皮投与に体内動態解析の結果、37mg/kg 及び 55mg/kg 投与では 28 時間目まで 4ng/ml の N-89 を維持し、最高血漿中濃度も 6ng/ml であった。これは N-251 の投与量に比例して N-89 の血漿中濃度が低いことが判る。次に、新たに合成した N-89 を用いて 4-day suppressive test を行い、抗マラリア薬効の再現性を調べた結果、iv, ip, sc, po の 4 経路で優れた抗マラリア活性を示し、従来古いロット間の違いは見られなかった。

##### 抗 C 型肝炎薬

これまでの解析から、N-251 や N-89 の抗 HCV 活性機序は既知の抗 HCV 機構とは異なることが予想された。この抗 HCV 活

性の作用機序を解明する方法として、当該化合物に抵抗性を示す全長 HCV-RNA 複製細胞を作出できれば、当該化合物に感受性を示す親細胞と比較することにより作用機序を解明できると考えた。そこで、まず、長期継代培養により HCV の遺伝的多様性を獲得した HCV レプリコン複製細胞や全長 HCV-RNA 複製細胞に N-251 を数日ごとに投与しながら濃度を徐々に上げていく方法(1 $\mu$ M から 5  $\mu$ M)を試みた。しかしながら、いずれも治癒細胞となり目的の抵抗性細胞を得ることができなかつた。これらの結果から、HCV の遺伝的多様性より細胞クローンの特殊性が重要ではないかと考え、次に抗 HCV 活性の評価細胞系である OR6 細胞や ORL8 細胞への N-251 の添加実験を行った。OR6 細胞へは N-251 の濃度を 4  $\mu$ M から 8  $\mu$ M に徐々に上げて行く方法で行ったが、N-251 に抵抗性を示す細胞を得ることは出来なかつた。しかし、ORL8 細胞については、4 日ごとに 1  $\mu$ M の N-251 を 10 回投与後、3  $\mu$ M まで徐々に濃度を上げていくことにより、N-251 に抵抗性を示す細胞コロニーが多数得られた。これらの細胞コロニーをプールして増殖させ、ORL8 N-251r 細胞と命名した。ORL8 N-251r 細胞における N-251 の EC<sub>50</sub> 値は 2  $\mu$ M となり、親細胞である ORL8 と比較して 20 倍抵抗性であることが分かった。N-89 の EC<sub>50</sub> 値も 1.9  $\mu$ M となり、ORL8 細胞と比較して 21 倍抵抗性であった。

(分担研究 6)

現時点では REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの入手を完了し、ベクターを保管している。

## D . 考察

前述した 6 つの試験について、当初の予定通りに各種試験は進行した。ARO として ICH-GCP 準拠の臨床試験や治験を実施する体制づくり、産業化に向けた企業との連携も充実化を図っており、次年度も引き続き計画を遂行する。

## E . 結論

各研究は、臨床研究中核病院整備事業の基盤を活用し、当初計画にほぼ準じた進捗状況で研究が進んでいる。次年度は、データマネージメントセンターのさらなる強化を中心とした品質管理体制をさらに充実させる予定であり、外部委託に頼らない ARO 体制を構築する予定である。次年度も、薬事戦略相談、対面助言等有効に活用し、早期の治験開始を実現し、企業へのライセンスアウトを見据えた計画を遂行する所存である。

## F . 健康危険情報

該当なし

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

1. Tetsuhiro Kawata, Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Glass transition temperature of dried lens tissue pretreated with trehalose, maltose, or cyclic tetrasaccharide. SpringerPlus 2014;3:317.
2. Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya Uchida. Vision maintenance and retinal apoptosis reduction in RCS

- rats with Okayama University-type retinal prosthesis (OUReP™) implantation. *Journal of Artificial Organs* 2015 (published online).
3. 内田哲也, 松尾俊彦. 色素固定薄膜型人工網膜(岡山大学方式人工網膜)の実用化に向けた医工連携の取り組み. 「特集 大学発! 次世代を担う R&D 特集」機能材料 2014;34(5):41-47.
  4. Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Photoelectric dye-coupled thin film as a novel type of retinal prosthesis. “Intellectual Property and Enterprise” Okayama Univ. e-Bulletin 2014;8.
  5. 阿拉木斯 松尾俊彦 細谷修 筒井公子, 内田哲也. 第 51 回日本人工臓器学会大会 Tominaga Award 2012 受賞レポート. 人工臓器 2014;43(1):31-32.
  6. 松尾俊彦, 内田哲也. 色素結合薄膜型的人工網膜 (OUReP™) の医師主導治験を目指して. 「特集 人工臓器 最近の進歩」人工臓器 2014;43(3):189-193.
  7. Imada, C., Takahashi, T., Kuramoto, M., Masuda, K., Ogawara, K., Sato, A., Wataya, Y., Kim, H.-S. and Higaki, K. Improvement of oral bioavailability of N-251, a novel antimalarial drug, by long-chain fatty acid-based self-microemulsifying drug delivery system. *Pharmaceutical Research* (in press).
  8. Morita, M., Koyama, T., Sanai, H., Sato, K., hiramoto, A., Masuyama, A., Nojima, M., Wataya, Y. and Kim, H.-S. Stage specific activity of synthetic antimalarial endoperoxides, N-89 and N-251, against *Plasmodium falciparum*. *Parasitol. Int.*, 64, 113-117, 2015.
  9. Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. Rab18 is required for viral assembly of hepatitis C virus through trafficking of the core protein to lipid droplets. *Virology*, 462-463:166-174 (2014).
  10. Kato N, Sejima H, Ueda Y, Mori K, Satoh S, Dansako H, Ikeda M. Genetic characterization of hepatitis C virus in long-term RNA replication using Li23 cell culture systems. *PLoS ONE*, 9(3):e91156 (2014).
- ## 2 . 学会発表
1. Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Preparation of protocol towards investigator (doctor)-initiated clinical trial for Okayama University-type retinal prosthesis under Pharmaceutical Affairs Act in Japan. World Ophthalmology Congress of the International Council of Ophthalmology 2014年4月2日~6日 東京
  2. Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya Uchida. Vision recovery and retinal apoptosis reduction in RCS rats with Okayama University-type retinal prosthesis. The 2014 Annual Meeting of the Association for the Vision and Ophthalmology (ARVO). 2014年5月3~8日 Orlando, FL, USA
  3. (Yutaka Watanabe), Toshihiko Matsuo,

- Tetsuya Uchida. Photoelectric dye-coupled thin film as a novel type of retinal prosthesis. Licensing Executives Society (LES) 2014 Annual Meeting. 2014年10月5~8日 San Francisco, CA, USA
4. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験 ~臨床担当と製造担当の両方からの紹介~. 日本網膜色素変性症協会(JRPS)愛媛県支部 医療講演会 2014年5月25日 松山市
  5. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験. 日本網膜色素変性症協会(JRPS)石川県支部 第18回医療情報講演会「網膜色素変性症」2014年7月20日 金沢市
  6. 松尾俊彦. 臨床と医療機器 II (工学部製造品「岡山大学方式人工網膜」の医師主導治験). メディカルテクノバレー人材育成おかやま 2014年度開発入門コース. 2014年8月3日 岡山市
  7. 内田哲也, 松尾俊彦. 失明した患者さんに再び光を~岡山大学方式人工網膜の実用化への取り組み~. 第19回岡山リサーチパーク研究・展示発表会 2014年9月3日 岡山市
  8. 松尾俊彦, アラ木斯, 細谷修, 内田哲也. 網膜色素変性 RCS ラットでの岡山大学方式人工網膜の長期埋め込み効果. 第52回日本人工臓器学会大会 2014年10月17~19日 札幌市
  9. 新田誠, 金嶋祥子, 内田哲也. ポリエチレンを基板とした光電変換色素固定薄膜型人工網膜の構造と物性. 第58回日本学術会議材料工学連合会講演会 2014年10月27~28日 京都市
  10. 新田誠, 内田哲也. ポリエチレンを基板とした光電変換色素固定薄膜型人工網膜の表面および力学物性. 第29回中国四国地区高分子若手研究会 2014年10月30~31日 高松市
  11. 松尾俊彦, 内田哲也. 失明した患者さんに再び光を~岡山大学方式人工網膜の実用化に向けた医工連携の取り組み~. 岡山大学 知恵の見本市 2014 2014年11月14日 岡山市
  12. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験の準備と実施. 生物学的安全性評価・製造・品質管理・feasibility & pivotal study. 革新的医療技術創出拠点プロジェクト 平成26年度拠点調査 シーズ開発・臨床試験進捗会議 2014年11月21日 岡山市
  13. 松尾俊彦. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験 生物学的安全性評価・製造・品質管理. 橋渡し研究加速ネットワークプログラム キックオフシンポジウム 公開シンポジウム「社会の求める医療を日本から世界へ」 2014年12月13日 岡山市
  14. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜(OUReP™)の医師主導治験. 医工連携と企業連携による岡山大インキュベータ製造ラインの構築. 医療展示会 中央西日本メディカル・イノベーション 2015年2月17日~18日 岡山市
  15. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験: 生物学的安全性評価・製造・品質管理. 口頭発表とポスター展示. 文部科学省・厚生労働省 革新的医療技術創出拠点プロジェクト 平成26年度成果報告会. 2015年3月5日

- ~ 6 日 . 東京
16. 抗マラリア候補・環状過酸化物の開発現況。金 惠淑。第 84 回日本寄生虫学会大会、東京、2015 年 3 月 21-22 日。
17. Antimalarial drug development of synthetic endoperoxides as new drug.  
Hye-Sook Kim, Yuka Nakamura, Risa Komoto, Kaoru Kanai, Akira Sato, Yuji Kurosaki, Kazutaka Higaki and Yusuke Wataya. 大韓寄生虫学・熱帯医学会。第 56 回総会及び学術大会。釜山 (韓国)、2014 年 10 月 30 日-31 日。
18. Antimalarial drug development of synthetic N-251 compound as new drug.  
Hye-Sook Kim, Yuka Nakamura, Risa Komoto, Akira Sato, Yusuke Wataya, Daniel Adjei Boakye. 13<sup>th</sup> International congress of parasitology, Mexico City, August 10<sup>th</sup>-15, 2014.
19. 上田 優輝、金 惠淑、團迫 浩方、佐藤 伸哉、池田 正徳、土居 弘幸、綿矢 有佑、加藤 宣之。抗マラリア薬候補で強い抗 HCV 活性を示す N-251 の臨床応用に向けた研究と DAA との併用効果。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月。
20. 上田 優輝、團迫 浩方、佐藤 伸哉、池田 正徳、加藤 宣之。臨床応用に向けた抗マラリア薬候補 N-251 の抗 HCV 活性作用機序の解析。第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)。神戸、2014 年 10 月。
21. Ueda Y, Kim HS, Hiromichi Dansako H, Satoh S, Ikeda M, Doi H, Wataya Y, Kato N. Characterization of anti-HCV activity of N-251, a preclinical antimalarial drug, and its

combination effect with DAA. 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff Canada, 2014 年 9 月。

## H . 知的財産権の出願・登録状況

### 1 . 特許取得

1. 特願 2014-216997  
出願日 2014 年 10 月 24 日  
発明の名称  
「人工網膜の品質管理方法」  
発明者 内田哲也、松尾俊彦  
出願人 国立大学法人岡山大学
2. 特願 2015-34737  
出願日 2015 年 2 月 25 日  
発明の名称  
「アポトーシス抑制剤」  
発明者 松尾俊彦、内田哲也  
出願人 国立大学法人岡山大学
3. 発明の名称：新規悪性中皮腫治療剤及び免疫賦活化剤  
出願人：岡山大学 他  
公開番号：WO 2010/013846  
国内特許：特願 2010-522773  
(特許査定通知)  
特願 2014-106448  
(分割出願)

### 2 . 実用新案登録

商標登録証 登録第 5713744 号  
OUReP (オーレップ)  
指定商品又は指定役務並びに商品及び役務の区分：第 10 類 人工網膜  
商標権者：国立大学法人 岡山大学  
出願番号 商願 2014-043507

出願日 平成 26 年 5 月 29 日

登録日 平成 26 年 10 月 31 日

### 3 . その他

#### 1. 2014 年度日本人工臓器学会論文賞

Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu  
Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya  
Uchida. Behavior tests and  
immunohistochemical retinal response  
analyses in RCS rats with subretinal  
implantation of  
Okayama-University-type retinal  
Prosthesis. Journal of Artificial  
Organs 2013;16:343-351.

#### 2. 特許出願

- 1) 抗マラリア剤。金 恵淑、綿矢 有佑、  
佐藤 聡、土居 弘幸。特願  
2014-214605。
- 2) 抗マラリア剤。金 恵淑、綿矢 有佑、  
佐藤 聡、土居 弘幸。特願  
2014-214606。

## 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(国際水準臨床研究分野))

### 分担研究報告書

## 分担研究 1) 同種造血幹細胞移植後の難治性慢性移植片対宿主病を対象としたタミバロテンの多施設共同医師主導臨床第 Ⅱ 相試験

研究分担者 前田 嘉信 岡山大学病院・講師

### 研究要旨

同種造血幹細胞移植後の難治性慢性移植片対宿主病 (GVHD) 患者に対して、合成レチノイドであるタミバロテンを投与して有効性を検討し、慢性 GVHD の治療薬としての適応拡大を目的とする。

我々は慢性 GVHD 発症の新たなメカニズムとして、Th1 細胞と Th17 細胞の関与を発見し、タミバロテンがこれらの細胞を抑制してマウスモデルにおける慢性 GVHD を改善することを見出した。この結果をもとに、タミバロテンの慢性 GVHD に対する医師主導多施設共同第 Ⅱ 相非対照オープンラベル試験を実施することで臨床応用を検討する。目標症例数は合計 18 例で本学目標症例数は 3 例である。治験実施期間は平成 25 年 11 月から平成 28 年 10 月とし、平成 25 年度から 27 年度で症例登録、平成 28 年度から平成 28 年度を症例観察期間とする。平成 28 年度に有効性、安全性を解析して、平成 29 年度には総括報告書を作成し、論文発表の上でタミバロテンの慢性 GVHD への適応拡大取得をめざす。投与方法はタミバロテン 2mg 錠を用いて、経口で 24 週間投与する。

本研究により、タミバロテンの慢性 GVHD に対する効果が証明され、適応が取得されれば、難治性慢性 GVHD に対する新たな治療法の選択肢が増えて、慢性 GVHD に罹患している患者様にとって非常に有益である。また、付随研究として患者 Th 細胞等の解析を予定しており、更なる慢性 GVHD の基礎研究が加速し、慢性 GVHD メカニズムの全容解明が期待される。

### A . 研究目的

同種造血幹細胞移植後の難治性慢性移植片対宿主病 (graft-versus-host disease: GVHD) 患者に対して、急性前骨髄性白血病の治療薬として適応のある合成レチノイドであるタミバロテンを投与して、有効性を証明し、本薬剤の慢性 GVHD 治療の適応拡大を取得することを目的とする。

### B . 研究方法

本臨床研究は、多施設共同医師主導臨床第 Ⅱ 相非対照オープンラベル試験である。目標症例数は合計 18 例で岡山大学病院の目標症例数は 3 例である。治験実施期間は平成 25 年 11 月から平成 28 年 10 月とし、症例登録期間を 2 年間、最終症例のタミバ

ロテン投与終了後 1 年間は経過観察を行う。タミバロテン 2mg 錠を用いて、経口で 24 週間投与する。投与は 1 日 3mg/m<sup>2</sup> 相当(通常 4mg) を朝夕食後 2 回(朝夕 2mg 錠 1 錠ずつ) で開始する。副作用が軽度(Grade0-1) の場合は 4 週間継続後から 1 日 5mg/m<sup>2</sup> (2 mg 錠を 4 錠) まで増量可能とする。Grade2 又は予期されうる Grade3 の有害事象を認める場合は、1 日 2mg (朝食後 1 錠の 1 回) に減量して継続する。または、2 週間の休薬の後、1 日 2mg から再開、継続する。また、24 週間終了以前に十分な治療効果が認められた場合、終了まで、1 日 2mg での維持継続を可能とする。本研究代表者(治験責任医師)または分担者(治験分担医師)は、被験者からの同意取得後、登録前検査を行い、その結果を登録事務局へ送付し、被験者の登録事務局への登録が完了した後、原則として 14 日以内に治験実施計画書に従った治験薬による治療を開始する。

本治験での主要評価項目は、タミバロテン治療終了時点(24 週)での Failure-free survival : FFS、治療奏効維持生存率、すなわち治療不成功(死亡・再発・慢性 GVHD に対する追加治療施行)のない状態での生存率)かつ奏効率(Complete response; CR + Partial response; PR)である。本治験での副次的評価項目は、以下の通りである。

タミバロテン投与開始 12 週時点での FFS かつ奏効率(CR + PR)

タミバロテン治療開始 24 週後より 1 年後の生存率及び FFS

タミバロテン治療開始 24 週時点での FFS かつプレドニゾロンを 50% 以上減量できた被験者の割合

評価に際しては、National Institutes of Health (NIH) が提唱した慢性 GVHD 診断基準を用いる。また、特にタミバロテンが皮膚、粘膜に対して効果を発揮することが基礎実験から明らかとなっていることより、皮膚に関しては NIH の診断基準による評価だけでなく、Total skin score、すなわち体表を 10 の領域に細分化してそれぞれの領域における皮膚慢性 GVHD grade を 0~4 に分類して、それぞれの範囲の割合を記載して評価する。

治験期間中に観察された自覚症状・他覚所見及び臨床検査値からの有害事象及び副作用の発現頻度を評価する。なお、本治験で報告された有害事象は、有害事象共通用語規準 v4.0 [CTCAE v4.03/MedDRA v12.0 (日本語表記: MedDRA/J v15.1) 対応] に準じて判定を行う。治験の中止は、

12 週での治療効果判定時に、1 日 4mg 以上のタミバロテン投与を 1 ヶ月以上継続していて、かつ、ステロイドの減量を行っていない症例で、効果判定が progressive disease (PD) の場合、予期されない grade3~4、または予期される grade4 の有害事象出現時、再移植、ドナーリンパ球輸注、抗がん剤治療を行った場合、被験者から治験中止の申し入れがあった場合、被験者の死亡、重大な治験実施計画書違反が判明した場合、開始後に治験対象として不適格と判明した場合、などである。本研究協力者は、有害事象確認のための各種検査、治療評価の時期などを確認して適宜本研究代表者、分担者へ報告してプロトコルの逸脱なく研究を遂行するよう協力する。

## **(倫理面への配慮)**

慢性 GVHD 患者への本薬剤の投与実績はこれまでになく、人での有効性、有害事象は不明であるが、急性前骨髄性白血病における市販後調査で多くのものが把握されているため予測可能なものが多い。また、治験のための血液検査や問診などの手間や身体的負担も懸念されるため、治験に起因して被験者に健康被害が生じた場合には、責任をもって治療にあたる。補償や賠償については、施設基準に従い適切な補償を行う。本研究代表者は、治験に関連して被験者に生じた健康被害の補償責任・賠償責任の履行を確保するため、保険に加入しその他必要な措置を講じる。説明と同意については別途書面を用いて行い、同意を得られた患者に対してのみ試験を行う。

## **C . 研究結果**

平成 26 年度における進捗として、本学以外の治験実施施設の変更（都立駒込病院、安城厚生病院、大阪市立大学医学部附属病院、九州大学病院）をし、各施設において IRB 申請中もしくは申請準備中である。また、本学において第 1 例目の症例同意が得られ、症例登録へとすすんでいる。

## **D . 考察/ E . 結論**

本対象が希少疾患であることより、症例登録が難しいが、このたび近隣施設に広く広報し、紹介受診という形で本学における第 1 例目のスタートを切ることができたことより、引き続き、分担施設へ紹介していただけるように広報していく。

## **F . 研究発表**

### **1 . 論文発表**

なし

### **2 . 学会発表**

なし

## **G . 知的財産権の出願・登録状況**

### **1 . 特許取得**

なし

### **2 . 実用新案登録**

なし

### **3 . その他**

なし

## 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(国際水準臨床研究分野))

### 分担研究報告書

## 分担研究2) 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験の準備と実施：生物学的安全性評価・製造・品質管理・第 相・第 相試験

研究分担者 松尾 俊彦 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授

### 研究要旨

岡山大学方式の人工網膜(光電変換色素結合のポリエチレン・フィルム)の医師主導治験の実施に向けて準備した。1)行政対応：医薬品医療機器総合機構 PMDA の薬事戦略相談として、2014年4月21日事前面談、6月30日対面助言、10月24日事前面談、2015年3月20日事前面談を実施した。治験前相談の対面助言を2015年6月に実施する予定である。2)安全性：6月30日の対面助言に基づいて、医療機器の生物学的安全性評価「6か月埋植試験」を2014年11月から実施し、2015年5月に結果を得る予定である。3)有効性：網膜色素変性(RCS)ラットでの人工網膜の効果を、他覚的視覚評価である網膜電図と視覚誘発電位で確認した。4)治験機器製造：2014年12月26日、岡山大学と岡山県内の異業種企業(三乗工業株式会社)が共同研究契約を締結し、2015年1月31日、中小企業基盤整備機構の岡山大インキュベータに入居し、2月20日、クリーンルーム製造ラインの構造設備の設計図を持って岡山県庁医薬安全課を訪問し、医療機器製造販売業許可申請、医療機器製造業登録に向けて面談を行った。設計図に問題なしとの回答を得て、3月末、製造ラインを完成させ、岡山県による実地検分を受ける予定である。

#### A. 研究目的

岡山大学方式の人工網膜は光電変換色素をポリエチレン・フィルム表面に結合した世界初の新方式「色素結合薄膜型」人工網膜で、カメラ撮像・電極集合体(アレイ)方式の従来型の人工網膜とは異なる。この研究では、人工網膜の医師主導治験の準備として、医療機器の生物学的安全性評価としての感作性試験と6か月埋植試験、動物における有効性の追加試験として網膜電図と視覚誘発電位の測定、治験機器を製造するクリーンルーム製造ラインの整備を実施

する。

#### B. 研究方法

生物学的安全性評価としての感作性試験と6か月埋植試験は、厚生労働省告示(薬食機発0301第20号、平成24年3月1日)に基づいて、認定施設である(株)日本バイオリサーチセンターで行った。

製造工程管理と品質管理の要点は、医薬品医療機器総合機構の事前面談と対面助言を受けた。品質管理体制(quality management system: QMS)は、岡山大学研究

推進産学官連携機構の石坂春彦参与（ナカシマメディカル(株)薬事安全管理部長）の助言に基づいて確立した。

動物における有効性の追加試験は、6週齢の網膜色素変性ラット(RCSラット)に人工網膜を植込み、その2週目、4週目に網膜電図と視覚誘発電位を記録した。

### （倫理面への配慮）

生物学的安全性評価にかかわる動物実験、ラットでの網膜電図、視覚誘発電位測定は、動物の愛護及び管理に関する法律を遵守して行った。岡山大学における動物実験は、動物実験委員会の審査承認を受けて実施した。

### C . 研究結果

**安全性：**医療機器の安全性評価としての6か月埋植試験は2015年3月の現時点で実施中であり、2015年5月末にその結果を得る予定である。医療機器の安全性評価としての感作性試験で毒性はなかった。また、色素分子による眼刺激性試験でも毒性はなかった。以上より、現時点までに結果を得たすべての安全性評価試験で毒性はなかった。

**有効性：**人工網膜を植込んだRCSラットでは、対照と比較して術後4週目に網膜電図および視覚誘発電位が記録された。

**治験機器：**岡山大インキュベータにクリーンルーム製造ラインを構築した。この製造ラインで医療機器製造販売業許可申請、医療機器製造業登録を行う過程として、構造設備の設計図は岡山県庁医薬安全課の了承を得た。品質管理体制QMSを確立し、機器の仕様書に記載する項目と数値を確定し

た。機器の滅菌方法を決定した。

### D . 考察

医療機器の安全性評価として未実施であった感作性試験と6か月埋植試験を実施できた。動物（網膜色素変性ラット）における視覚の他覚的評価として網膜電図と視覚誘発電位を測定し、有効性を示す追加のデータを得た。

### E . 結論

安全性と有効性に関するデータを追加できた。2015年3月20日の事前面談に基づいて、2015年6月中に治験前相談としての対面助言を実施する予定である。

### F . 研究発表

#### 1 . 論文発表

#### （査読あり論文）

1. Tetsuhiro Kawata, Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Glass transition temperature of dried lens tissue pretreated with trehalose, maltose, or cyclic tetrasaccharide. SpringerPlus 2014;3:317.
2. Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya Uchida. Vision maintenance and retinal apoptosis reduction in RCS rats with Okayama University-type retinal prosthesis (OUReP™) implantation. Journal of Artificial Organs 2015 (published online).

#### （総説）

1. 内田哲也, 松尾俊彦. 色素固定薄膜型人工網膜（岡山大学方式人工網膜）の実用

- 化に向けた医工連携の取り組み。「特集 大学発！次世代を担う R&D 特集」機能材料 2014;34(5):41-47.
2. Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Photoelectric dye-coupled thin film as a novel type of retinal prosthesis. "Intellectual Property and Enterprise" Okayama Univ. e-Bulletin 2014;8.
  3. 阿拉木斯 松尾俊彦 細谷修 筒井公子, 内田哲也. 第 51 回日本人工臓器学会大会 Tominaga Award 2012 受賞レポート. 人工臓器 2014;43(1):31-32.
  4. 松尾俊彦, 内田哲也. 色素結合薄膜型の人工網膜 (OUReP™) の医師主導治験を目指して。「特集 人工臓器 最近の進歩」人工臓器 2014;43(3):189-193.
  5. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験. 日本網膜色素変性症協会 (JRPS) 愛媛県支部 医療講演会 2014 年 5 月 25 日 松山市
  6. 松尾俊彦. 臨床と医療機器 II (工学部 製造品「岡山大学方式人工網膜」の医師主導治験). メディカルテクノバレー人材育成おかやま 2014 年度開発入門コース. 2014 年 8 月 3 日 岡山市
  7. 内田哲也, 松尾俊彦. 失明した患者さんに再び光を～岡山大学方式人工網膜の実用化への取り組み～. 第 19 回岡山リサーチパーク研究・展示発表会 2014 年 9 月 3 日 岡山市
  8. 松尾俊彦, 阿拉木斯 細谷修, 内田哲也. 網膜色素変性 RCS ラットでの岡山大学方式人工網膜の長期埋め込み効果. 第 52 回日本人工臓器学会大会 2014 年 10 月 17 ~ 19 日 札幌市
  9. 新田誠, 金嶋祥子, 内田哲也. ポリエチレンを基板とした光電変換色素固定薄膜 Ophthalmology (ARVO). 2014 年 5 月 3 ~ 8 日 Orlando, FL, USA
  3. (Yutaka Watanabe), Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Photoelectric dye-coupled thin film as a novel type of retinal prosthesis. Licensing Executives Society (LES) 2014 Annual Meeting. 2014 年 10 月 5 ~ 8 日 San Francisco, CA, USA
  4. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験 ~ 臨床担当と製造担当の両方からの紹介 ~. 日本網膜色素変性症協会 (JRPS) 愛媛県支部 医療講演会 2014 年 5 月 25 日 松山市
  5. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験. 日本網膜色素変性症協会 (JRPS) 石川県支部 第 18 回医療情報講演会「網膜色素変性症」2014 年 7 月 20 日 金沢市
  6. 松尾俊彦. 臨床と医療機器 II (工学部 製造品「岡山大学方式人工網膜」の医師主導治験). メディカルテクノバレー人材育成おかやま 2014 年度開発入門コース. 2014 年 8 月 3 日 岡山市
  7. 内田哲也, 松尾俊彦. 失明した患者さんに再び光を～岡山大学方式人工網膜の実用化への取り組み～. 第 19 回岡山リサーチパーク研究・展示発表会 2014 年 9 月 3 日 岡山市
  8. 松尾俊彦, 阿拉木斯 細谷修, 内田哲也. 網膜色素変性 RCS ラットでの岡山大学方式人工網膜の長期埋め込み効果. 第 52 回日本人工臓器学会大会 2014 年 10 月 17 ~ 19 日 札幌市
  9. 新田誠, 金嶋祥子, 内田哲也. ポリエチレンを基板とした光電変換色素固定薄膜

## 2. 学会発表

1. Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida. Preparation of protocol towards investigator (doctor)-initiated clinical trial for Okayama University-type retinal prosthesis under Pharmaceutical Affairs Act in Japan. World Ophthalmology Congress of the International Council of Ophthalmology 2014 年 4 月 2 日 ~ 6 日 東京
2. Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya Uchida. Vision recovery and retinal apoptosis reduction in RCS rats with Okayama University-type retinal prosthesis. The 2014 Annual Meeting of the Association for the Vision and

型人工網膜の構造と物性 .第 58 回日本学術会議材料工学連合会講演会 2014 年 10 月 27 ~ 28 日 京都市

10. 新田誠, 内田哲也. ポリエチレンを基板とした光電変換色素固定薄膜型人工網膜の表面および力学物性 .第 29 回中国四国地区高分子若手研究会 2014 年 10 月 30 ~ 31 日 高松市

11. 松尾俊彦, 内田哲也. 失明した患者さんに再び光を ~ 岡山大学方式人工網膜の実用化に向けた医工連携の取り組み ~ . 岡山大学 知恵の見本市 2014 2014 年 11 月 14 日 岡山市

12. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験の準備と実施 . 生物学的安全性評価・製造・品質管理・feasibility & pivotal study . 革新的医療技術創出拠点プロジェクト 平成 26 年度拠点調査 シーズ開発・臨床試験進捗会議 2014 年 11 月 21 日 岡山市

13. 松尾俊彦. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験 生物学的安全性評価・製造・品質管理 . 橋渡し研究加速ネットワークプログラム キックオフシンポジウム 公開シンポジウム「社会の求める医療を日本から世界へ」 2014 年 12 月 13 日 岡山市

14. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜(OUReP™)の医師主導治験 . 医工連携と企業連携による岡山大インキュベータ製造ラインの構築 . 医療展示会 中央西日本メディカル・イノベーション 2015 年 2 月 17 日 ~ 18 日 岡山市

15. 松尾俊彦, 内田哲也. 岡山大学方式の人工網膜の医師主導治験 : 生物学的安全性評価・製造・品質管理 . 口頭発表とポ

スター展示 . 文部科学省・厚生労働省 革新的医療技術創出拠点プロジェクト 平成 26 年度成果報告会 . 2015 年 3 月 5 日 ~ 6 日 . 東京

## G . 知的財産権の出願・登録状況

### 1 . 特許出願

1. 特願 2014-216997

出願日 2014 年 10 月 24 日

発明の名称

「人工網膜の品質管理方法」

発明者 内田哲也, 松尾俊彦

出願人 国立大学法人岡山大学

2. 特願 2015-34737

出願日 2015 年 2 月 25 日

発明の名称

「アポトーシス抑制剤」

発明者 松尾俊彦, 内田哲也

出願人 国立大学法人岡山大学

### 2 . 実用新案登録

商標登録証 登録第 5713744 号

OUReP (オーレップ)

指定商品又は指定役務並びに商品及び

役務の区分 : 第 10 類 人工網膜

商標権者 : 国立大学法人 岡山大学

出願番号 商願 2014-043507

出願日 平成 26 年 5 月 29 日

登録日 平成 26 年 10 月 31 日

### 3 . その他

2014 年度日本人工臓器学会論文賞

Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya Uchida.

Behavior tests and immunohistochemical retinal response analyses in RCS rats

with subretinal implantation of  
Okayama-University-type retinal  
Prosthesis. Journal of Artificial Organs  
2013;16:343-351.

## 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(国際水準臨床研究分野))

### 分担研究報告書

#### 分担研究3) 進行・再発乳癌に対するドセタキセル 100mg/m<sup>2</sup>の第 相試験

研究分担者 平田 泰三 呉医療センター腫瘍内科・医長  
(岡山大学病院・非常勤講師)

#### 研究要旨

本研究では乳癌に対するドセタキセル100 mg/m<sup>2</sup>の適応拡大を取得することを目的とする研究である。日本人患者における本剤100 mg/m<sup>2</sup>投与時の情報が不十分であるため、日本人患者での100 mg/m<sup>2</sup>投与時の薬物動態、忍容性及び安全性を評価するための医師主導治験を実施する。

本治験で上記のエンドポイントが適切な評価が出来るデザインとなるよう生物統計家、薬物動態専門家、薬事担当と共同で試験を作成した。また、治験結果を適切にデータ収集するためのEDCシステムの構築、データの信頼性を担保するためにQA, QCの体制を構築した。本試験の結果を以て、承認用量の拡大を目標とする。

#### A. 研究目的

本研究では乳癌に対するドセタキセル100mg/m<sup>2</sup>の適応拡大を取得することを目的とする研究である。現在、ドセタキセルは乳癌に対しては日本では75mg/m<sup>2</sup>という承認用量であり、海外では検証試験の結果を元に、最大100mg/m<sup>2</sup>が認められているとともに、国内外のガイドラインでも100mg/m<sup>2</sup>の推奨の記載がなされている。この乖離の原因として国内第I相試験では、日本人患者における本剤の3~4週間隔投与の薬物動態、忍容性、安全性は90 mg/m<sup>2</sup>までの検討にとどまっていることがあげられる。そのため、現時点では薬物動態を含めた情報が不十分であり、今後、日本人患者での薬物動態、忍容性、安全性について評価可能な臨床試験成績、エビデンスなどがさらに蓄積さ

れる必要があると考えられている。また現在、日本の臨床の現場においても同用量の投与が求められている。このような現状を踏まえ、日本人患者での100 mg/m<sup>2</sup>投与時の薬物動態、忍容性及び安全性を評価するための医師主導治験を実施して、それらの結果により適応拡大を目標とする。

#### B. 研究方法

進行・再発乳癌患者を対象に総予定症例数6症例として、エンドポイントを100 mg/m<sup>2</sup>投与時の薬物動態、忍容性及び安全性と設定した。

また、ドセタキセルの有効性及び安全性、並びに薬物動態に影響を及ぼす可能性のあるバイオマーカーを評価する予定である。

主な選択基準は以下の通りとして、被験

者の安全性に慎重に対応する。

### 選択基準

以下のすべての選択基準を満たす患者を選択する。

- (1) 同意取得時の年齢が 20 歳以上の患者
- (2) 病理組織学的に乳癌と確定診断されている患者
- (3) 手術不能又は放射線療法が不適な再発乳癌患者もしくはステージ IV 期の乳癌患者（測定可能病変の有無は問わない）
- (4) スクリーニング検査時の Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status (PS) が 0~1 の患者
- (5) スクリーニング検査時の臨床検査で、以下に示す臓器機能を有する患者
  - ・ ヘモグロビン：8.0 g/dL 以上
  - ・ 好中球数：1,500/mm<sup>3</sup> 以上
  - ・ 血小板数：100,000/mm<sup>3</sup> 以上
  - ・ AST (GOT)、ALT (GPT)：施設基準値上限の 2.0 倍以下
  - ・ 総ビリルビン：1.5 mg/dL 以下
  - ・ 血中アルカリホスファターゼ：施設基準値上限の 2.5 倍以下
  - ・ 血清クレアチニン：1.0 mg/dL 以下
- (6) 手術後 2 週間以上経過している患者又は前治療が化学療法又はホルモン療法の場合には最終投与日から 4 週間以上、放射線療法の場合は最終照射日から 2 週間以上経過している患者
- (7) 3 ヶ月以上の生存が可能と判断される患者

- (8) HER2 過剰発現を認めない患者（ただし、HER2 過剰発現を認めるが、抗 HER2 療法が適応とならない患者は参加可能とする）
- (9) 前治療として行われた癌に対する治療（手術、放射線治療、抗癌剤など）に関連するすべての臨床的に重要な毒性が、有害事象共通用語規準 [Common Terminology Criteria for Adverse Events Ver 4.0 日本語訳 JCOG 版 (CTCAE v4.0)] グレード 1 以下まで回復している患者
- (10) 被験者本人から文書で本治験への参加同意が得られた患者

### 除外基準

以下の除外基準のいずれかに抵触する患者は除外する。

- (1) ドセタキセル、アルコール又はポリソルベート 80 含有製剤のいずれかに対し過敏症の既往歴のある患者
- (2) 精神病を有する患者又は精神症状を有しており本治験への参加が困難と思われる患者
- (3) コントロールが困難な感染症（真菌、ウイルス、細菌など）のある患者
- (4) 不安定又は未治療の中樞神経系転移を有する患者
- (5) コントロールされていない心疾患を有する患者 [心筋症、ニューヨーク心臓協会 (New York Heart Association: NYHA) 分類 III 又は IV 度の心疾患、不整脈、不安定狭心症、心筋梗塞を含む]
- (6) 進行・再発乳癌として、ドセタキセルの投与歴を有する患者（ただし、術

- 前・術後の補助化学療法としてドセタキセルを投与し、最終投与から 6 ヶ月以上経過して再発した場合は参加可能とする)
- (7) ステロイドが臨床的に禁忌であることにより、デキサメタゾンの前投薬ができない患者
- (8) 同意文書への署名前 5 年以内に乳癌以外の悪性腫瘍の既往歴を有する患者又は乳癌以外の悪性腫瘍の現病歴を有する患者(ただし、基底細胞癌、上皮内癌又は表在性膀胱癌を発症し、適切に治療された場合は参加可能とする)
- (9) ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 抗体陽性の患者、又は慢性活動期の B 型肝炎、C 型肝炎感染 (HBS 抗原陽性又は HCV 抗体陽性) を認める患者 (適格性を確認するための検査は必須とはしないが、治験責任・分担医師が必要と判断した場合には実施する)
- (10) CTCAE v 4.0 のグレード 2 以上の末梢性ニューロパチーを合併している患者
- (11) 妊婦あるいは妊娠している可能性のある患者、及び授乳中の患者
- る場合に限り本治験を開始・継続する。
- ・被験者の人権の保護，安全の保持及び福祉の向上に対する配慮を最も大事とし，科学と社会のための利益よりもこれを優先する。
  - ・また，本治験では，実施にあたり十分な非臨床試験及び臨床試験に関する情報を得て，試験内容も科学的に妥当であることを確認する。また，治験審査委員会にて，本試験の倫理性，科学性，社会性の審査を行い，承認された治験実施計画書を遵守して本治験を実施する。
  - ・すべての被験者から治験に参加する前に，本治験の詳細（期待される効果と副作用等），従来の治療法，同意撤回の自由などを十分説明し，自由意思によるインフォームド・コンセントを得る。被験者の身元を明らかにする可能性のある記録は被験者のプライバシーと秘密保全に配慮して保護を行う。
  - ・治験に関連して被験者に健康被害が生じた場合には，過失によるものがあるか否かを問わず，被験者の損失を適切に補償し，その際，因果関係の証明等について被験者に負担を課することがないようにする。

### （倫理面への配慮）

本治験では，ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則及びGCP省令を遵守し，以下のように人権擁護上の配慮，不利益・危険性の排除や説明と同意への徹底した対応を行う。

- ・ 治験を実施する前に被験者及び社会にとって期待される利益と予想される危険及び不利益とを比較考量し，期待される利益によって危険を冒すことが正当化され

### C . 研究結果

平成 26 年度では本治験で上記のエンドポイントが適切な評価が出来るデザインとなるよう生物統計家、薬物動態専門家、薬事担当と共同で治験実施計画書を作成した。また、治験結果を適切にデータ収集するための EDC システムの構築、データの信頼性を担保するために QA, QC の体制を構築した。症例集積を加速させるために、呉医療セ

ンター・中国がんセンターを治験実施施設として追加する予定である。

#### **D．考察**

本研究では乳癌に対するドセタキセル100 mg/m<sup>2</sup>の適応拡大を取得することを目的とする研究である。それらが達成されることにより日本人患者においても標準治療が日常臨床で可能となること、ドセタキセル100mg/m<sup>2</sup>は標準治療であるためこれを対照群あるいはドセタキセルをベースに併用する臨床試験及び治験には、承認がないことを理由にこれまで日本が参加できなかった試験にも参加が可能となり、医薬品・医療機器の開発の推進につながる可能性が期待される。

#### **E．結論**

進行・再発乳癌患者を対象としたドセタキセル 100mg/m<sup>2</sup>の第 Ⅲ相試験の症例集積を加速させるために、呉医療センター・中国がんセンターを治験実施施設として追加する予定である。

#### **F．研究発表**

##### **1．論文発表**

なし

##### **2．学会発表**

なし

#### **G．知的財産権の出願・登録状況**

##### **1．特許取得**

なし

##### **2．実用新案登録**

なし

##### **3．その他**

なし

## 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(国際水準臨床研究分野))

### 分担研究報告書

#### 分担研究4)再発非小細胞肺癌における発癌遺伝子の網羅的検索同定と特定遺伝子異常(HER2)を有する患者への個別化治療確立を目指した基礎臨床橋渡し研究(第 相試験)

研究分担者 木浦 勝行 岡山大学病院呼吸器・アレルギー内科・教授

#### 研究要旨

本研究にて治療標的となりうる分子異常を有する肺癌をスクリーニングするために、中国四国地方の基幹施設合同の患者登録システムを構築する。このシステムにて、1000例のヒト肺癌検体をスクリーニングし、HER2 遺伝子異常、タンパク過剰発現を有する肺癌を同定する。

また、それら HER2 異常を有する 30 例の肺癌に対し、HER2 を標的とした新規分子標的薬であるトラスツズマブ エムタンシンの効果を検討する医師主導治験を実施する。

#### A. 研究目的

トラスツズマブ エムタンシン(遺伝子組み換え)(以下、T-DM1)は、HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor Type 2: ヒト上皮増殖因子受容体 2 型)陽性の悪性腫瘍の治療を目的としてデザインされた新規の抗体薬物複合体であり、HER2 を標的とするヒト化モノクローナル抗体であるトラスツズマブとチューブリン重合阻害作用を有するメイタンシン誘導体(以下、DM1)とを安定性の高いリンカー試薬である SMCC (N-succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate)を用いて結合した構造を有している。

T-DM1 の臨床開発は 2006 年に開始され、抗 HER2 療法及び化学療法既治療の HER2 陽性進行・再発乳癌を対象とした海外第相臨床試験 (TDM4258g 試験、TDM4374g 試

験)で、T-DM1 の有効性と安全性が示された。また、2009 年に開始されたハーセプチン及びタキサン系薬剤既治療の HER2 陽性進行・再発乳癌を対象とした海外第相臨床試験 [EMILIA 試験 (TDM4370g 試験)] では、対照群に対し無増悪生存期間及び全生存期間の有意な延長が示され、米国では 2013 年 2 月に HER2 陽性転移・再発乳癌の治療薬として承認された。国内では、国内第相臨床試験、国内第相臨床試験 (J022997 試験)と EMILIA 試験を含む海外臨床試験データに基づき製造販売承認申請を行い、2013 年 9 月、「HER2 陽性の手術不能又は再発乳癌」の効能・効果にて承認された。

非小細胞肺癌では、発癌の直接的な原因となる driver mutations として EGFR 遺伝子変異が 40%~50%程度と高頻度に認め

られ、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬が標準治療となっている。しかし非小細胞肺癌では、低頻度の driver mutations の正確な頻度や臨床的背景は前向きに十分調べられていない。これらを今回臨床研究として明らかにすることで、非小細胞肺癌に対する病態のさらなる理解が深まり、ひいては創薬あるいは個別化治療開発がさらに推進されると考えられる。

個別化治療につながる治療標的候補として HER2 異常は非小細胞肺癌においても検討されている。非小細胞肺癌の検体を用いて HER2 異常に関する後方視的な検討が行われている。HER2 蛋白過剰発現の状態が免疫染色法により、強陽性(3+)はおおよそ 10% に認め、同時に HER2 遺伝子増幅の状態も Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法にて評価され、HER2/Chromosome17 比 $\geq 2$  は 2%であったという報告がある。また、非小細胞肺癌において HER2 遺伝子 exon20 領域の挿入型変異が 1.7%~3.6%に存在する。以上より、約 10% の非小細胞肺癌患者で HER2 陽性であり、これらの HER2 陽性腫瘍を持つ患者選択を行うことで、非小細胞肺癌においても T-DM1 の有効性が期待できる。T-DM1 の HER2 陽性再発非小細胞肺癌患者に対する適応拡大を視野に入れ、同患者へ T-DM1 の有効性・安全性を評価する医師主導治験(第2相試験)を計画した。

## B . 研究方法

非小細胞肺癌と診断が得られた 1000 例を対象とする。同意取得後、日常診療において採取された腫瘍検体の残余分を用いて、HER2 ステータス(蛋白過剰発現、遺伝子増幅、遺伝子変異)を外部委託業者(株式会

社エスアールエルおよび株式会社ジェネティックラボ)に解析を依頼する。同時に

上記に加えて、病理学的情報、予後を含めた臨床情報、および既知の癌細胞の分子異常に関するデータを診療録から抽出の上、それぞれの関連性についての包括的検討を行う。

それに加え下記に該当する患者 30 名に T-DM1 として体重あたり 1 回 3.6 mg/kg (前回投与算出に用いた算出体重から  $\pm 5$  投与当日の体重が  $\pm 10\%$  以上変動した場合は投与量を再算出すること)を 3 週間間隔(直近の投与日から 22 日目以降に投与すること)で点滴静注し、その奏効率を検討する。

### 選択基準

- (1)本治験内容について十分な説明を受け、被験者本人から文書による同意が得られている患者。
- (2)同意取得時の年齢が 20 歳以上の患者
- (3)病理組織学的に非小細胞肺癌と確定診断されている患者
- (4)原発巣または転移・再発病変の肺癌組織において、HER2 陽性 ( IHC 法 3+、または IHC 法 2+でかつ FISH 法陽性、または、ダイレクトシーケンス法による HER2 遺伝子 exon 20 領域の変異陽性)のいずれか 1 つが確認された患者

治験実施施設において上記の HER2 陽性を確認できる記録があれば本治験への組み入れを可とする

遺伝子変異の種類は、少なくとも既存研究でドライバー遺伝子変異であることが示唆され、HER2 阻害薬の有効性が報告されているものとする

- (5)術後再発もしくは根治手術不能及び根治放射線療法が不適な IIIB/IV 期の患者

(6)非小細胞肺癌に対する前治療として、白金製剤を用いた化学療法歴\*を有する有し、不応または増悪した患者（術前なお術前あるいは術後補助化学療法については、最終投与日から1年以内の再発患者の場合これを1レジメンとして扱う）。但、75歳以上の場合は白金製剤を用いた化学療法に加え、標準的単剤化学療法歴療法でも可とする。

(7)EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の場合は、上記(6)に加えて、1レジメン以上のEGFRチロシンリン酸化酵素阻害薬（EGFR-TKI）治療歴\*を有する患者

(8)ALK融合遺伝子陽性肺癌の場合は、上記(6)に加えて、1レジメン以上のALK阻害薬治療歴\*を有する患者

(9)RECIST v1.1で規定される測定可能病変を有する患者（8.有効性評価の項を参照）

(10)スクリーニング検査時のECOG performance status（PS）が0~2の患者  
(11)スクリーニング検査時の臨床検査で、以下に示す臓器機能を有する患者

- ・ヘモグロビン：8.0 g/dL以上
- ・好中球数：1,000/mm<sup>3</sup>以上
- ・血小板数：75,000/mm<sup>3</sup>以上
- ・AST（GOT）、ALT（GPT）：施設基準値上限の2.5倍以下
- ・総ビリルビン：施設基準値上限の1.5倍以下
- ・血清クレアチニン：施設基準値上限の1.5倍以下
- ・プロトロンビン（PT-INR）：施設基準値上限の2.5倍以下

(12)過去にT-DM1による治療を受けていない患者

#### 除外基準

(1)治験薬の成分または添加物のいずれか

に対し過敏症の既往歴のある患者

(2)妊婦あるいは妊娠している可能性のある患者、及び授乳中の患者

(3)妊娠の可能性のある閉経前の女性患者又は妊娠能力を有する男性患者の場合、治験薬投与開始2週間前から治験薬投与終了180日後までの間、医学的に承認された方法により避妊することに同意しない患者

(4)画像上で明らかな間活動性間質性肺疾患（間質性肺炎、肺臓炎、放射線肺炎、器質化性肺炎を伴う閉塞性細気管支炎、肺線維症、急性呼吸窮迫症候群、肺浸潤、胞隔炎等）を合併している、又はその既往を有する患者。ただし、照射野内の放射線肺炎の既往（線維化）は許容する。

(5)登録前28日以内の心エコーによる測定で左室駆出率（LVEF）45%未満の患者

(6)胸部への放射線治療に伴う毒性が登録前2週間以内にGrade1まで回復していない患者

(7)以下の疾患を含む臨床的に重要な心疾患を有する患者

(ア)NYHA分類クラスII以上、またはCommon Terminology Criteria for Adverse Events（CTCAE）ver.4.03に規定されたGrade3以上に該当する心機能障害を有する患者（別紙「心機能評価」参照）

(イ)登録前6ヵ月以内にうっ血性心不全、または薬物療法を要する心室性不整脈と診断されている患者

(8)登録前6ヵ月以内に臨床的に重要な冠動脈疾患（不安定狭心症、心筋梗塞等）と診断されている患者

(9)登録時にコントロール不良の高血圧（収縮期160mmHg以下および拡張期100mmHg以下にコントロールできない）あるいは、コ

ントロール不良の糖尿病（HbA1c>12%）を持つ患者

(10)未治療、症候性、または症状コントロールが困難な中枢神経系への転移を有している患者（中枢神経系転移病変があっても、同部に対して局所療法を実施しており、且つし、その後2週間以上の病勢コントロール可能となったを確認し得た患者は登録可とする。また、局所療法後に抗けいれん剤を予防的に内服している患者は登録可とするが、中枢神経系転移に対してステロイドの継続投与が必要な患者は不可とする）

(11)CTCAE ver.4.03に規定されたGrade3以上の末梢神経障害を有する患者

(12)前治療（肺癌に対する化学療法、免疫療法、または生物学的療法）による本試験の主要評価に著しく影響を与える毒性が持続している患者、または前治療から適切な期間\*が空いていない患者（\*前治療レジメンの1サイクル分の期間 [サイクルの規定がない場合は3週間]）

(13)投与前4週間以内に他の試験薬を投与された患者

(14)投与前4週間以内に外科的処置または著しい外傷を受け回復していない患者、または試験期間中に外科的処置の必要な患者

(15)コントロールが困難な活動性のある全身性感染症（HBV、HCVを含む）のある患者、またはHIV感染が明らかな患者

(16)無病期間が5年未満の重複癌を有する患者（完全切除した皮膚基底細胞癌と子宮頸部上皮内癌、又は内視鏡的粘膜切除により完全切除した消化器癌が除く）

(17)第1サイクルの試験薬投与開始日から少なくとも8日間入院治療ができない患者

(18)その他試験責任医師または試験分担医

師により本試験への参加が不適切であると判断した患者

### （倫理面への配慮）

本試験は、ヘルシンキ宣言、試験実施計画書、薬事法第14条第3項及び第80条の2に規定する基準、並びに「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（GCP）を遵守して実施する。

### C. 研究結果

平成26年4月と平成27年1月に中国四国地方の30を超える基幹施設と協力体制を構築するために合同会議を開催した。またSRLメディサーチへ外部委託し中国四国地方の基幹施設と協力して1000例の試験候補者から30例の試験対象者をスクリーニングするプラットフォームを創成した。

平成27年2月より試験対象者のスクリーニングが開始され、患者登録、HER2検索が行われている。TDM1の医師主導試験に関しては、平成27年5月から開始予定である。

### D. 考察

本研究はTDM1の肺癌に対する適応拡大を念頭に、HER2陽性肺癌におけるその効果を探索することを目的とした研究である。この結果を踏まえて、TDM1の奏効が期待できるHER2陽性が定義されることが期待される。

また、この医師主導試験を通して中国四国の基幹施設の患者登録システムが構築され、今後の治療開発を加速させるプラットフォームとなることが期待される。

### E. 結論

中国四国地方の30を超える基幹施設と協力体制を構築した。また SRL メディサーチへ外部委託し患者登録システムを構築した。平成27年2月より患者登録が始動し、同5月より治験が開始予定である。

## **F . 研究発表**

### **1 . 論文発表**

なし

### **2 . 学会発表**

なし

## **G . 知的財産権の出願・登録状況**

### **1 . 特許取得**

なし

### **2 . 実用新案登録**

なし

### **3 . その他**

なし

## 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(国際水準臨床研究分野))

### 分担研究報告書

#### 分担研究5) 抗マラリア薬、抗C型肝炎薬のFirst in Manの実施とPhase Ⅱへ向けた 剤型改善に関する研究

研究分担者 土居 弘幸 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

#### 研究要旨

徐放性化が可能で肝臓初回通過効果を回避することができる経皮投与に着目し、N-251の溶液状態での経皮投与を試みた。その結果、経口投与時より投与回数を軽減してもマラリア感染マウスが完治できる体内動態解析結果を得た。また、低コストと低用量をベースにN-251の欠点を補う次世代の化合物の探索を行い、N-251と同様の抗マラリア活性を示すN-89に焦点をあて、N-89の製造工程を確立した。N-89のGMP/GLP規格に対応可能な合成工程の検討を行い、純度99%以上のN-89 (non-GLP) を60g/バッチで得ることができた。このN-89を用いてN-251と同様の経皮投与における体内動態解析と抗マラリア薬効の再現性を検討した結果、優れた抗マラリア活性を示した。

ORL8細胞を使用することで、今年度初めて当該化合物に抵抗性(約20倍)を示す細胞を作出することに成功した。この抵抗性細胞と親細胞のORL8を丹念に比較することにより、抵抗性の原因がウイルス側に依るものなのか宿主側に依るものなのかを今後、明らかにすることができると期待される。これにより抗HCV標的を明らかにすることができれば、当該化合物の抗HCV活性の作用機序解明につながることを期待される。

#### A. 研究目的

本研究は新規抗マラリア化合物N-251を経皮吸収型製剤として最適化をはかり、マラリア流行地でPhaseⅠからシームレスにPhaseⅢを実施できるよう準備するとともに、難治性C型肝炎患者に対する医師主導治験を、平成28年度を目途に実施することを目的とする。

#### B. 研究方法

抗マラリア薬

本研究では種々の基剤と溶媒、既存の素材を用いてN-251製剤を作製し、マウスマラリアモデルにおいて抗マラリア効果を評価する。また、各種基剤を用いたN-251製剤を投与したマウスの薬物体内動態解析を行い、経皮吸収率並びに生物学的利用能BAを調べ、最適な投与スケジュールを計画する。以上の研究から治療効果の高い経皮吸収型製剤を見出し、抗マラリア治療効果、予防効果を調べる。

各種基剤及び溶媒を検討することで

N-251の経皮吸収率を改善出来ると考える。有望なN-251製剤に関しては薬物放出調節（制御）膜、薬物基剤を保持させる高分子マトリックスの検討を行い、薬物の皮膚移行性を調節可能な貼付剤もしくはテープ剤とし、ラットの皮膚を用いた皮膚透過性試験を実施してその有効性を検討する。上記の研究成果を、新規抗マラリア化合物N-251の経皮吸収型製剤に応用し、マラリア流行地（熱帯の発展途上国）で臨床使用できる貼付剤もしくはテープ剤の開発を目指す。

#### 抗C型肝炎薬

N-251 に抵抗性を示すヒト細胞評価系の作出のために、全長 HCV-RNA 複製細胞である OR6 細胞（ヒト肝癌細胞株 HuH-7 由来）や ORL8 細胞（ヒト肝癌細胞株 Li23 由来）に N-251 を連続的に添加して、G418 (0.3 mg/ml)存在下でも増殖できる（N-251 添加で HCV-RNA 量が低下すると G418 感受性となり細胞は死滅するようにアレンジされている）細胞コロニーを得ることを試みた。使用した N-251 の濃度や添加方法については、適時変化させて行った（詳細は研究結果の項目に記載した）。

抗 HCV 活性の評価は、24 ウェルプレートにそれぞれ  $2 \times 10^4$  個の細胞を播き、N-251 或いは N-89（各種濃度）を添加して 72 時間後にレニラルシフェラーゼ活性を測定することにより行った。得られた測定値から添加化合物の 50% 阻害濃度（EC<sub>50</sub>）を算出した。

細胞毒性については、別途 96 ウェルプレートにそれぞれ  $1 \times 10^3$  個の細胞を播き、N-251 或いは N-89（各種濃度）を添加して 72 時間後に WST-1 アッセイを行った。得られた測定値から 50% 細胞毒性濃度（CC<sub>50</sub>）

を算出した。選択性指数（SI）は CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub> にて算出した。

#### （倫理面への配慮）

##### 抗マラリア薬

本研究ではネズミマラリア原虫

（*Plasmodium berghei*）を用い、マウスに感染させて抗マラリア薬効試験を行う。薬物体内動態解析研究にはマウスを使用する。経皮吸収型製剤の皮膚透過性試験には、腹部由来の皮膚、あるいは、背部を剃毛したマウスを使用する。本研究で行うすべての動物実験は岡山大学の動物実験関係規則に基づき、動物実験委員会の申請・承認を得て進める。

また、感染性廃棄物処理や実験場所に関しては、関係法令・指針、及び研究施設の設けた基準を遵守して研究を行う。

##### 抗 C 型肝炎薬

本研究においては、実験及び解析に用いた材料は全てこれまでに確立されているものである。本年度の研究にはヒトの臨床材料を用いたものがない。そのために倫理面への特段の配慮はなかった。但し、実験に使用した細胞および核酸については蒸気滅菌を施した後に廃棄した。

#### C . 研究結果

##### 抗マラリア薬

昨年度に用いた白色ワセリンとオイル（4 : 1 の配合比）の配合剤を用いて N-251 経皮吸収型製剤の結果をもとに今年度は界面活性剤（特許申請の関係で詳細は省略）を主とする溶液状態の径皮投与剤の体内動態解析を行なった。N-251 が 2% 以上となる

ように含有された N-251 溶液を 150mg/kg、となるように調整した N-251 溶液を切断したカーゼに乗せ、除毛したマウスの背中に乗せ、外れないようにフィルムと伸縮テープで覆って経皮投与した。薬剤投与 0、4、8、12、16、20、24 時間後の血漿中 N-251 濃度を測定した。これら実験は数回に分けて行なった。採血した血液は遠心後、血漿のみを集め、アセトニトリルを加えて除タンパク質した後に、N-251 を濃縮し、LC-MS/MS を用いて測定した。その結果、N-251 は界面活性剤に溶解した溶液状態での経皮投与で投与 4 時間目から 40ng/ml 付近で N-251 を維持し、16 時間目まで同様の血漿中濃度を維持した。それから約半分程度の 20ng/ml の濃度を 24 時間まで維持した。

この結果より、単回の経皮投与で抗マラリア薬効を示す十分な血中濃度を維持することが判った。年度途中のヒアリングで N-251 を臨床開発する為には合成ステップが多く、実際の臨床試験に持って行くためには低コストで提供可能な化合物が必要となった。そこで、N-251 の親化合物である、N-89 を用いて再度検討することになった。N-89 は N-251 と同様な抗マラリア活性を有することが以前に判っている。まず、N-89 の GMP/GLP 規格に対応可能な合成工程の検討を行い、純度 99% 以上の N-89 (non-GLP) を 60g/バッチで得ることができた。この N-89 を用いて N-251 と同様の経皮投与における体内動態解析と抗マラリア薬効の再現性を検討した。N-89 を 2% 含む溶液を調製し、N-251 と同様の経皮投与に体内動態解析の結果、37mg/kg 及び 55mg/kg 投与では 28 時間目まで 4ng/ml の N-89 を維持し、最高血漿中濃度も 6ng/ml であった。

これは N-251 の投与量に比例して N-89 の血漿中濃度が低いことが判る。次に、新たに合成した N-89 を用いて 4-day suppressive test を行い、抗マラリア薬効の再現性を調べた結果、iv, ip, sc, po の 4 経路で優れた抗マラリア活性を示し、従来古いロット間の違いは見られなかった。

#### 抗 C 型肝炎薬

これまでの解析から、N-251 や N-89 の抗 HCV 活性機序は既知の抗 HCV 機構とは異なることが予想された。この抗 HCV 活性の作用機序を解明する方法として、当該化合物に抵抗性を示す全長 HCV-RNA 複製細胞を作出できれば、当該化合物に感受性を示す親細胞と比較することにより作用機序を解明できると考えた。そこで、まず、長期継代培養により HCV の遺伝的多様性を獲得した HCV レプリコン複製細胞や全長 HCV-RNA 複製細胞に N-251 を数日ごとに投与しながら濃度を徐々に上げていく方法 (1 $\mu$ M から 5  $\mu$ M) を試みた。しかしながら、いずれも治癒細胞となり目的の抵抗性細胞を得ることができなかった。これらの結果から、HCV の遺伝的多様性より細胞クローンの特殊性が重要ではないかと考え、次に抗 HCV 活性の評価細胞系である OR6 細胞や ORL8 細胞への N-251 の添加実験を行った。OR6 細胞へは N-251 の濃度を 4  $\mu$ M から 8  $\mu$ M に徐々に上げて行く方法で行ったが、N-251 に抵抗性を示す細胞を得ることは出来なかった。しかし、ORL8 細胞については、4 日ごとに 1  $\mu$ M の N-251 を 10 回投与後、3  $\mu$ M まで徐々に濃度を上げていくことにより、N-251 に抵抗性を示す細胞コロニーが多数得られた。これらの細胞コロ

ニーをプールして増殖させ、ORL8 N-251r 細胞と命名した。ORL8 N-251r 細胞における N-251 の EC<sub>50</sub> 値は 2 μM となり、親細胞である ORL8 と比較して 20 倍抵抗性であることが分かった。N-89 の EC<sub>50</sub> 値も 1.9 μM となり、ORL8 細胞と比較して 21 倍抵抗性であった。

#### D . 考察

##### 抗マラリア薬

N-251 の薬効を最大限に引き出し、臨床での応用を目指した投与設計を行った。今年度の成果として経皮投与における N-251 の体内動態を解析し、高濃度で N-251 が持続することが判った。単回、あるいは 1 日 1 回の投与で抗マラリア活性を示す新しいタイプの抗マラリア剤形を見出すことができた。一方、投与量において臨床に適用するための低コストにフォーカスを絞り、N-251 周辺の化合物を再度評価し、N-251 の母化合物である N-89 を用いた臨床開発を試みることにした。N-89 の抗マラリア活性は N-251 と同様で合成工程が極めて短い。そのため、低コストでの臨床開発が可能となると期待できる。Non-GLP での合成工程の確立と N-89 の体内動態解析、抗マラリア薬効の評価を終え、本格的に N-89 の剤形の改善に向け、製薬企業の専門家の知見を取り入れ研究を進めて行く予定である。

##### 抗 C 型肝炎薬

これまで N-251 や N-89 の抗 HCV 活性の作用機序は不明で、薬剤耐性が生じにくいところを標的にしていると考えられていた。事実、N-251 に耐性を示す HCV-RNA 複製細胞の作出は困難であった。しかし、

ORL8 細胞を使用することで、今年度初めて当該化合物に抵抗性(約 20 倍)を示す細胞を作出することに成功した。この抵抗性細胞と親細胞の ORL8 を丹念に比較することにより、抵抗性の原因がウイルス側に依るものなのか宿主側に依るものなのかを今後、明らかにすることができると期待される。これにより抗 HCV 標的を明らかにすることができれば、当該化合物の抗 HCV 活性の作用機序解明につながることを期待される。

#### E . 結論

##### 抗マラリア薬

徐放性化が可能で肝臓初回通過効果を回避することができる経皮投与に着目し、N-251 の溶液状態での経皮投与を試みた。その結果、経口投与時より投与回数を軽減してもマラリア感染マウスが完治できる体内動態解析結果を得た。また、低コストと低用量をベースに N-251 の欠点を補う次世代の化合物の探索を行い、N-251 と同様の抗マラリア活性を示す N-89 に焦点をあて、N-89 の製造工程を確立した。また、抗マラリア活性の再現性を確認し、N-89 の経皮投与における体内動態解析結果より、臨床での薬剤量の軽減が期待できる予備結果を得た。

##### 抗 C 型肝炎薬

N-251 や N-89 に抵抗性を示す全長 HCV-RNA 複製細胞の作出に成功した。これにより当該化合物の抗 HCV 活性作用機序の解明に向けた研究基盤を得た。

#### F . 研究発表

## 1 . 論文発表

1. Imada, C., Takahashi, T., Kuramoto, M., Masuda, K., Ogawara, K., Sato, A., Wataya, Y., Kim, H.-S. and Higaki, K. Improvement of oral bioavailability of N-251, a novel antimalarial drug, by long-chain fatty acid-based self-microemulsifying drug delivery system. *Pharmaceutical Research* (in press).
2. Morita, M., Koyama, T., Sanai, H., Sato, K., hiramoto, A., Masuyama, A., Nojima, M., Wataya, Y. and Kim, H.-S. Stage specific activity of synthetic antimalarial endoperoxides, N-89 and N-251, against *Plasmodium falciparum*. *Parasitol. Int.*, 64, 113-117, 2015.
3. Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. Rab18 is required for viral assembly of hepatitis C virus through trafficking of the core protein to lipid droplets. *Virology*, 462-463:166-174 (2014).
4. Kato N., Sejima H, Ueda Y, Mori K, Satoh S, Dansako H, Ikeda M. Genetic characterization of hepatitis C virus in long-term RNA replication using Li23 cell culture systems. *PLoS ONE*, 9(3):e91156 (2014).
5. Komoto, Kaoru Kanai, Akira Sato, Yuji Kurosaki, Kazutaka Higaki and Yusuke Wataya.大韓寄生虫学・熱帯医学会。第56回総会及び学術大会。釜山（韓国）2014年10月30日-31日。
6. Antimalarial drug development of synthetic N-251 compound as new drug. Hye-Sook Kim, Yuka Nakamura, Risa Komoto, Akira Sato, Yusuke Wataya, Daniel Adjei Boakye. 13<sup>th</sup> International congress of parasitology, Mexico City, August 10<sup>th</sup>-15, 2014.
7. 上田 優輝、金 惠淑、團迫 浩方、佐藤 伸哉、池田 正徳、土居 弘幸、綿矢 有佑、加藤 宣之。抗マラリア薬候補で強い抗HCV活性を示す N-251 の臨床応用に向けた研究と DAA との併用効果。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月。
8. 上田 優輝、團迫 浩方、佐藤 伸哉、池田 正徳、加藤 宣之。臨床応用に向けた抗マラリア薬候補 N-251 の抗 HCV 活性作用機序の解析。第 18 回日本肝臓学会大会 (JDDW)。神戸、2014 年 10 月。
9. Ueda Y, Kim HS, Hiromichi Dansako H, Satoh S, Ikeda M, Doi H, Wataya Y, Kato N. Characterization of anti-HCV activity of N-251, a preclinical antimalarial drug, and its combination effect with DAA. 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff Canada, 2014 年 9 月。

## 2 . 学会発表

1. 抗マラリア候補・環状過酸化物の開発現況。金 惠淑。第 84 回日本寄生虫学会大会、東京、2015 年 3 月 21-22 日。
2. Antimalarial drug development of synthetic endoperoxides as new drug. Hye-Sook Kim, Yuka Nakamura, Risa

## G . 知的財産権の出願・登録状況

### 1 . 特許取得

なし

## **2 . 実用新案登録**

なし

## **3 . その他**

特許出願

3-1 抗マラリア剤。金 惠淑、綿矢 有  
佑、佐藤 聡、土居 弘幸。特願  
2014-214605。

3-2 抗マラリア剤。金 惠淑、綿矢 有  
佑、佐藤 聡、土居 弘幸。特願  
2014-214606。

## 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(国際水準臨床研究分野))

### 分担研究報告書

#### 分担研究6) 悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad-REIC)を用いた遺伝子治療臨床研究

研究分担者 豊岡 伸一 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

#### 研究要旨

本臨床研究は、悪性胸膜中皮腫に対し Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (以下、REIC/Dkk-3) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合、安全性の検討(最大耐量の推定)を行うことを主目的とする。

#### A. 研究目的

悪性胸膜中皮腫症例に対して、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で胸水または局所病巣内に直接投与する。

その際の質的、量的安全性を確認し、治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や腫瘍マ - カ - の低下を期待する際の根拠となる、組織学的、分子生物学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの REIC/Dkk-3 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第Ⅰ相試験とする。

#### B. 研究方法

悪性胸膜中皮腫に対する、本遺伝子治療前検査にて選択基準に合致し、除外基準に抵触しないことを明らかにした上で、治療計画にしたがって遺伝子治療を施行する。REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与による副作用の評価、治療

効果、及び REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの最大耐量(定義:最大の効果を認めかつ最小の副作用を示す用量)を推定するため、投与量を  $1.0 \times 10^{11}$  vp から開始し約 3 倍ずつ増量し、 $3.0 \times 10^{12}$  vp に至る 4 レベルの治療群を設定する。各用量レベルでそれぞれ 3 人の被験者を評価し、有害事象が発生しなければ逐次用量レベルの上昇を行う。ただし、有害事象が発生した場合はその重篤度を評価し、安全・効果評価・適応判定部会における検討結果に従い、症例数を追加して同一用量で検討するか、試験を中止するかを判断する。

最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)では 3 人に投与して問題なければさらに 3 人、計 6 人の被験者で評価する。つまり、各用量レベルでの安全性の検討(最大耐量の推定)を行った後、治療効果の観察も行うことを目的とする。遺伝子治療終了後、評価基準に従って安全性ならびに治療効果を評価する。

## （倫理面への配慮）

REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた本遺伝子治療においては、CT ガイド下にごん病変部を直視しながらベクターを局所注入する手法、及び胸水貯留を認める胸腔中に注入する手法を用いており、導入された REIC/Dkk-3 遺伝子の過剰発現による腫瘍特異的アポトーシスを介して、一連の治療効果が誘導されることが期待される。REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与におけるヒトでの安全性をさらに確認、確保する目的で、種々の動物実験が実施されているが、動物実験レベルではいずれも有害事象は生じていない。

対象は前立腺がんであるが、すでに REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が実施されており、平成 25 年 7 月現在までに計 20 症例（A 群 6 例及び B 群 14 例）で治療が実施され、主要エンドポイントである Ad-REIC を用いた遺伝子治療臨床研究の安全性については、現時点での確認が為された状況にある。したがって、これらの蓄積された情報より安全性に関して、重篤な副作用発現の可能性は低いと推測される。

被験者は本臨床研究について、文書に基づいて説明を受け、その内容と期待される治療効果及び危険性を十分に理解し、自主的に同意をした上で、同意書に署名するものとする。なお、同意後も被験者からの申し出により同意を撤回し、本臨床研究への参加をいつでも中止することができるものである。

## C . 研究結果

現時点では REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデ

ノウイルスベクターの入手を完了し、ベクターを保管している。

## D . 考察

臨床研究を始めるため準備を進めている。

## E . 結論

現在は、臨床研究の準備段階である。

## F . 研究発表

### 1 . 論文発表

なし

### 2 . 学会発表

なし

## G . 知的財産権の出願・登録状況

### 1 . 特許取得

発明の名称：新規悪性中皮腫治療剤及び免疫賦活化剤

出願人：岡山大学 他

公開番号：WO 2010/013846

国内特許：特願 2010-522773

（特許査定通知）

特願 2014-106448

（分割出願）

### 2 . 実用新案登録

なし

### 3 . その他

なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	書籍名	出版社名	出版年	ページ
該当なし				

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	出版年	ページ
内田哲也,松尾俊彦	色素固定薄膜型人工網膜（岡山大学方式人工網膜）の実用化に向けた医工連携の取り組み.「特集 大学発！次世代を担う R&D 特集」	機能材料	2014 年 5 月	34(5):41-47
アラ木斯, 松尾俊彦, 細谷修, 筒井公子, 内田哲也	第 51 回日本人工臓器学会大会 Tominaga Award 2012 受賞レポート.	人工臓器	2014 年 6 月	43(1):31-32
Tetsuhiro Kawata, Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida	Glass transition temperature of dried lens tissue pretreated with trehalose, maltose, or cyclic tetrasaccharide.	SpringerPlus	2014 年 6 月	3(317)
Toshihiko Matsuo, Tetsuya Uchida	Photoelectric dye-coupled thin film as a novel type of retinal prosthesis. "Intellectual Property and Enterprise"	Okayama Univ. e-Bulletin	2014 年 9 月	8
松尾俊彦,内田哲也	色素結合薄膜型の人工網膜 (OUREPTM) の医師主導治験を目指して.「特集 人工臓器 最近の進歩」	人工臓器	2014 年 12 月	43(3):189-193
Alamusi, Toshihiko Matsuo, Osamu Hosoya, Kimiko M Tsutsui, Tetsuya Uchida	Vision maintenance and retinal apoptosis reduction in RCS rats with Okayama University-type retinal prosthesis (OUREPTM) implantation.	Journal of Artificial Organs	2015 年 2 月	published online