

無症状及び軽症 COVID-19 患者に対するネルフィナビルの 有効性及び安全性を探索するランダム化非盲検並行群間比較試験

研究代表者

宮崎 泰可 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 臨床感染症学分野 准教授

研究要旨

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に対する有効性及び安全性が示された抗ウイルス薬が極めて限られている状況において、既承認薬によるドラッグリポジショニングは、迅速な治療法の確立に有用である。研究分担者である渡士、岩見、山本らは、既承認薬のインビトロ及びインシリコスクリーニングから、ネルフィナビルが新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対して高い抗ウイルス効果を示すことを明らかにした。また、COVID-19 患者のウイルス量動態変化の報告に基づいたシミュレーション結果から、ネルフィナビルの HIV 感染症に対する既承認用法・用量（1回 750 mg を 1日 3回）にて SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス効果が期待できると予測された。これらを踏まえ我々は、無症状および軽症 COVID-19 患者を対象とした、医師主導、多施設共同、対症療法群対照ランダム化非盲検並行群間比較試験を立案した。

全国多施設共同治験として 10 施設（長崎大学病院、東京大学医科学研究所附属病院、国際医療福祉大学成田病院、埼玉医科大学病院、大阪市立十三市民病院、福岡大学筑紫病院、埼玉医科大学総合医療センター、産業医科大学病院、富山大学附属病院、大阪市立大学医学部附属病院）での実施体制を確立し、治験薬は日本たばこ産業株式会社及びファイザー株式会社から提供を受けた。目標症例数は 120 例（治験薬群及び対症療法群各 60 例）であり、主要評価項目はウイルス陰性化までの日数としたが、ウイルス学的検査は国立感染症研究所で実施する体制を構築した。治験薬輸入による登録期間中断及び急激な COVID-19 感染拡大による医療ひっ迫を受けたが、令和 3 年 3 月 31 日までに 50 例を登録した。

本研究は、ネルフィナビルの SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス効果を世界で初めて臨床的に検証するものであり、対症療法群とのランダム化比較試験によってエビデンスレベルの高い結果を出すことができる。この成果は、世界的に COVID-19 の制圧を目指す上で、今後の臨床開発につながる重要な知見となるだけでなく、ネルフィナビルによる重症化抑制やウイルス排出期間短縮が示されれば、感染者の大半を占める無症状病原体保有者や軽症患者に対する治療指針の策定に直接反映あるいはその過程で間接的に反映される可能性がある。

研究分担者
河野 茂・長崎大学・学長
細萱直希・長崎大学病院・臨床研究センター・助教
森本心平・長崎大学・大学院医歯薬学総合研究・助教
竹森幸子・長崎大学病院・臨床研究センター・戦略職員
山本弘史・長崎大学病院・臨床研究センター・教授
迎 寛・長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科 呼吸器内科学分野・教授
柳原克紀・長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・診断学分野・教授
泉川公一・長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科 臨床感染症学分野・教授
脇田隆宇・国立感染症研究所・所長
渡土幸一・国立感染症研究所・ウイルス第二部・主任研究官
宮崎義継・国立感染症研究所・真菌部・部長
山越 智・国立感染症研究所・真菌部・室長
花岡英紀・千葉大学・医学部附属病院 臨床試験部・教授
岩見真吾・九州大学・大学院理学研究院生物科学部門・准教授
山本典生・東海大学・医学部・教授
四柳 宏・東京大学・医科学研究所・教授
松本哲哉・国際医療福祉大学・医学部感染症学講座・主任教授
加藤康幸・国際医療福祉大学成田病院・感染症科・部長
樽本憲人・埼玉医科大学病院・感染症科・感染制御科・准教授

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) による新興感染症であり、2019 年 12 月から世界中に感染が拡大し、2020 年 3 月には世界保健機関から「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」であると宣言された。現在も感染拡大は続き、感染者数、死亡者数ともに増加の一端であるが、COVID-19 に対する有効性及び安全性が示された抗ウイルス薬は極めて限られている現状において、治療効果の期待できる薬剤を探索することは喫緊の課題である。

ネルフィナビルは、ウイルスのメインプロテアーゼを阻害する抗 HIV 薬であるが、研究分担者の渡土、岩見、山本 (典) らによる *in vitro* スクリーニングで SARS-CoV-2 に対する高い抗ウイルス効果を示した (Ohashi H, *iScience* 2021)。また数理モデルを活用したウイルス動態予測による *in silico* シミュレーションの結果、HIV 感染症に対して承認された用法・用量で抗ウイルス効果が期待できることが示唆された。

ネルフィナビルは HIV 治療薬の変遷により現在は使用されていないが、HIV 感染症に対する使用経験から日本人に対する安全性については十分に検討されている薬剤であり、迅速な医薬品開発が期待できる。本研究では、ネルフィナビルの無症状及び軽症 COVID-19 患者に対する抗ウイルス効果、有効性及び安全性を探索することを目的とし、多施設共同、ランダム化非盲験並行群間比較試験を計画した。

本研究は、基礎研究で得られたネルフィナビルの SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス効果を世界で初めて、高いエビデンスレベルで臨床的に検証するものである。COVID-19 患者の大半は無症状病原体保有者や軽症者であるが、ネルフィナビルによる COVID-19 の発症や重症化の抑制、ウイルス排出期間の短縮等が示されれば、入院患者数の減少や入院期間短縮による医療資源の節減、感染拡大リスクの軽減に繋がり、個人及び社会全体の健康に寄与できる。本研究の結果は、治療法確立のための医薬品開発に有用な情報をもたらすだけでなく公衆衛生上の観点からも意義があり、厚生労働行政の推進に貢献することが期待される。

B. 研究方法

本研究では、第 I - II 相医師主導治験として、無症状及び軽症 COVID-19 患者を対象として、ネルフィナビルの有効性と安全性を探索するために、対症療法を対照群としたランダム化非盲検並行群間比較試験として実施する。治験実施医療機関は、患者発生の多い関東・関西地方の感染症指定医療機関（東京大学医科学研究所附属病院、国際医療福祉大学成田病院、埼玉医科大学病院、大阪市立十三市民病院）に研究代表者の所属する長崎大学病院を加えた、多施設共同治験とした。治験調整事務局業務は、長崎大学病院臨床研究センターに加え、臨床研究中核病院である千葉大学医学部附属病院臨床試験部の支援を受け、更にモニタリング、データマネジメント、統計解析業務も同部に委託することで高品質な治験データを生成する盤石な治験実施体制を構築した。ウイルス学的検査は、国立感染症研究所において、唾液検体から定量的にウイルス量測定を行う体制を構築した。治験参加期間は 28 日間（14 日間の治験薬投与期間、14 日間の追跡期間）であり、治験薬投与群は、対症療法に加え、ネルフィナビル 1 回 750mg を 1 日 3 回、14 日間の経口投与とし、2 回連続で唾液 PCR 陰性が確認された場合は治験薬の服用を終了可能とした。対照群は、対症療法薬の処方等を含めた対症療法を行うこととした。

選択・除外基準は以下のとおりである（治験実施計画書 6.0 版、2021 年 2 月 12 日）。

選択基準

- 同意取得時に 20 歳以上の日本人患者、男女の性別は問わない
- 同意取得前 3 日以内に上下気道由来検体から PCR 検査又は LAMP 法で SARS-CoV-2

が検出された患者、又は抗原検査が陽性であった患者

- 説明文書の内容、その他、治験に関する事項について十分な説明を受け、その内容を理解し、本治験への参加について自由意思に基づく文書による同意が得られた患者

除外基準

- 登録時点で症状出現から 8 日以上経過している患者
- 経皮酸素飽和度 (SpO₂) が 96%未満（室内気）の患者
- スクリーニング時検査において以下のいずれかに該当する患者
 - 1) ALT 又は AST が基準値上限の 5 倍を超える
 - 2) Child-Pugh 分類 B 又は C に該当する
 - 3) 血清クレアチニンが基準値上限の 2 倍を超え、且つクレアチンクリアランスが 30mL/min 未満*の場合
*Cockcroft-Gault 式による推定クレアチンクリアランス値。但し実測値がある場合は実測値を用いる。
- コントロール不良の糖尿病患者（糖尿病の治療を受けているにもかかわらず、随時血糖が 200mg/dL 以上又は HbA1c が 7.0%以上の糖尿病患者）
- 重篤な疾患を合併しており、治験対象として治験責任医師又は治験分担医師が不適当と判断した患者
- 血友病患者又は著しい出血傾向のある患者
- 高度な下痢症状がある患者
- 被験薬の成分に対し過敏症の既往歴のある患者

- 授乳中、妊娠中、又は妊娠の可能性がある女性患者
- 被験薬初回投与日から治験参加の期間、適切な避妊法を用いることができない患者（男性及び女性は妊娠の可能性がある女性）
- リファンピシンを同意取得前2週間以内に服用した患者
- 同意取得前12週以内に他の治験又は臨床試験に参加し投薬を受けた患者
- HIV感染症治療中の患者
- 新型コロナワクチンの接種歴のある患者、治験参加中に新型コロナワクチンの接種を希望する患者
- その他、治験責任医師あるいは治験分担医師が不適当と判断した患者

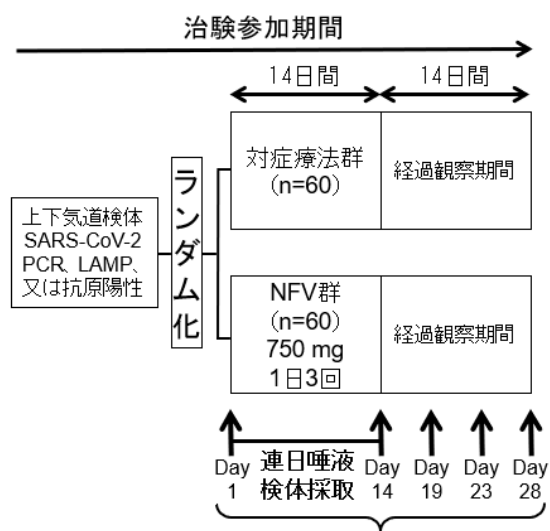
主要評価項目は、登録時からウイルス陰性化までの日数とした。また副次評価項目は、有効性評価項目として、共通項目（ウイルス量の曲線下面積、ウイルス量の半減期、各時点における体温、全死亡者数の割合、肺炎発症率、肺炎発症者の割合、酸素投与率、酸素投与者の割合）、無症状者（COVID-19発症者の割合、発熱症状を発現した被験者の割合、咳嗽症状を発現した被験者の割合）、軽症者（解熱率、臨床症状の前消失率、症状ごとの改善率）それぞれに設定し、また安全性評価項目は有害事象（有害事象発現割合、重篤な有害事象発現割合、副作用発現割合、重篤な副作用発現割合）、臨床検査（血液学的検査、生化学的検査、バイタルサイン）の評価を設定した。

目標症例数は、感染者体内での既報時系列ウイルス量データをもとに開発した数理モデル nonlinear mixed effect model (medRXIV, doi:https://doi.org/10.1101/2020.03.23.

20040493) を用いたウイルス動態パラメータの確率分布の推定から、検出力及び被験者脱落率を考慮し、120例（各群60例）と設定した。

統計解析については、治験開始前に固定した統計解析計画書を別に定めて行い、すべての有効性評価は Intern-To-Treat 解析対象集団における解析を主として行い、安全性解析は安全性対象集団における解析を実施する。

治験薬及び治験薬に係る安全性情報については、日本たばこ産業株式会社から提供を受ける。



- 主要評価項目：ウイルス陰性化までの日数
- 副次評価項目：ウイルス量AUC・陰性化率 重症化抑制効果
- 安全性評価項目：有害事象、副作用
- 探索的項目：NEWS2

※重症化時の取扱い：主要評価項目については欠測、副次評価項目については解析対象とする

本研究の適正且つ円滑な実施の検討、及び登録促進のため、研究分担者や治験責任医師に参加いただき、班会議を行った（令和2年7月15日 スタートアップミーティング、令和2年10月8日 中間報告会）。

(倫理面への配慮)

本医師主導治験は、「無症状及び軽症 COVID-19 患者に対するネルフィナビルの有効性及び安全性を探索するランダム化非盲検並行群間比較試験」として各施設の治験審査委員会の承認を得て実施した(長崎大学病院治験審査委員会の承認日令和 2 年 5 月 25 日)。治験責任医師又は治験分担医師は、被験者が治験に参加する前に、治験審査委員会の承認を得た説明文書を用いて十分に説明し、十分な質問機会及び検討時間を与えたうえで、同意文書を用いて治験への参加について自由意思による同意を本人から得て行った。

C. 研究結果

1. 無症状及び軽症 COVID-19 患者に対するネルフィナビルの有効性及び安全性を探索するランダム化非盲検並行群間比較試験

1) 医師主導治験実施

各施設治験準備を行い治験審査委員会の承認を受け[長崎大学病院(承認日令和 2 年 5 月 25 日)、東京大学医科学研究所附属病院(承認日令和 2 年 7 月 22 日)、国際医療福祉大学成田病院(承認日令和 2 年 6 月 25 日)、埼玉医科大学病院(承認日令和 2 年 6 月 23 日)、大阪市立十三市民病院(承認日令和 2 年 8 月 3 日)]、7 月 22 日第一例目の登録を行った。日本たばこ産業株式会社に提供いただいた治験薬は、使用期限が令和 2 年 8 月末日までであり、新規治験薬確保までの 12 月 21 日までの約 4 か月間新規登録中断を余儀なくされ、令和 3 年 3 月 31 日までに 50 例の登録となった。

2) 治験実施施設の拡充

被験者登録を加速させるため、治験実施施設の拡充を行った。追加施設については、感染流行や医療機関のひっ迫が治験の実施に

及ぼす影響を最小限に抑えるため、患者発生の多い都市部に加え、比較的患者発生が少ない地域を含めた選定を行い、福岡大学筑紫病院(治験審査委員会承認日令和 2 年 9 月 2 日)、埼玉医科大学総合医療センター(治験審査委員会承認日令和 2 年 9 月 17 日)、産業医科大学病院(治験審査委員会承認日令和 2 年 10 月 12 日)、富山大学附属病院(治験審査委員会承認日令和 2 年 9 月 17 日)、大阪市立大学医学部附属病院(治験審査委員会承認日令和 2 年 9 月 23 日)の 5 施設を加えた合計 10 施設での治験実施体制とした。

3) ウイルス学的検査実施

主要及び副次評価項目であるウイルス学的検査については、国立感染症研究所にて定量的にウイルス量を測定する体制を構築し、ウイルス量測定のための検体処理、ウイルス測定機器、及び測定までの期間についての validation を行い、ウイルス学的検査結果の信頼性を確保した。検体については、鼻咽頭よりも感度が高く、被験者の採取に伴う苦痛軽減及び医療従事者の感染リスク低減の観点から、唾液検体での検査実施を選択した。

4) 新規治験薬獲得

日本たばこ産業株式会社にご提供いただいた治験薬であるネルフィナビルは、令和 2 年 3 月 31 日に薬価基準から削除されたため、使用期限が令和 2 年 8 月末日までであった。そのため、ネルフィナビルの海外製造販売業者であるファイザー株式会社との協議の上、治験薬をご提供いただけることとなった。海外からの輸入に約 4 か月間の時間を要したものの、各治験実施機関への治験薬提供体制を整え、令和 2 年 12 月 21 日に症例登録を再開した。

D. 考察

治験実施体制の構築、及び治験開始までは極めて順調であった。しかし、治験中断期間の影響は大きく、令和3年3月31日の時点で目標症例数までは到達せず50例の登録であった。全国的且つ急激なCOVID-19流行拡大による医療のひっ迫時は被験者登録が困難であったものの、感染拡大の影響を最小限にするため治験実施施設を都市部と地方に分散させることで、新規被験者登録の律速をある程度避けることができた。

COVID-19流行拡大状況による影響はあるものの、今回治験の実施施設体制、治験支援体制、及びウイルス学的検査実施体制を確立し、使用期限に懸念のない治験薬を確保して、安定した医師主導治験実施体制を確立することができた。今後はより効率的な被験者登録が可能であり、令和3年度内の症例登録完了及び総括報告書の作成を予定している。

E. 結論

COVID-19は感染拡大が続き、感染者数、死亡者数ともに増加の一途である中、薬事承認されている抗ウイルス薬は極めて限られており新規治療薬開発は急務である。薬理学的に頑健な理論的根拠のある既承認薬を利用した迅速な治療薬開発は、薬事規制当局国際連携組織(ICMRA)における臨床試験に関する共同声明でも優先される臨床試験とされている。本研究は基礎研究で得られたネルフィナビルのSARS-CoV-2に対する抗ウイルス効果を世界で初めて、高いエビデンスレベルで臨床的に検証するものであり、優先度が高い臨床試験である。今後もこの医師主導治験を継続し、症例登録完了、データ固定、統計解析を実施し総括報告書を作成する予定である。また、本探索的研究結果を踏まえ、検証

的試験の実施などCOVID-19治療薬としての開発を進めていく。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

• Hosogaya N, Miyazaki T, Fukushige Y, Takemori S, Morimoto S, Yamamoto H, Hori M, Kurokawa T, Kawasaki Y, Hanawa M, Fujii Y, Hanaoka H, Iwami S, Watashi K, Yamagoe S, Miyazaki Y, Wakita T, Izumikawa K, Yanagihara K, Mukae H, Kohno S. Efficacy and safety of nelfinavir in asymptomatic and mild COVID-19 patients: a structured summary of a study protocol for a multicenter, randomized controlled trial. *Trials*. 2021, 22(1), 309.

• Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim KS, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, McKeating JA, Wakita T. Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and nelfinavir, and their usage for combination treatment. *iScience*. 2021, 24(4), 102367.

• Shionoya K, Yamasaki M, Iwanami S, Ito Y, Fukushi S, Ohashi H, Saso W, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Iwami S, Takahashi Y, Suzuki T, Muramatsu M, Takeda M, Wakita T, Watashi K. Mefloquine, a Potent anti-Severe Acute Respiratory Syndrome-related Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) drug as an entry inhibitor in vitro. *Front Microbiol* (in press)

• Yamamoto N, Matsuyama S, Hoshino T, Yamamoto N. Nelfinavir inhibits replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in vitro. *bioRxiv*. 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.06.026476>

• Yamauchi Y, Uehara Y, Boutin S, Yamamoto N, Kuwahara-Arai K, Kirikae T, Hiramatsu K, Zimmermann S. Detection of *Arcobacter* Species in Human Stool Samples by Culture and Real-time PCR. *Juntendo Medical Journal*. 2020, doi:

<https://doi.org/10.14789/jmj.2020.66.JMJ19-OA05>

• Singh M, Matsuo M, Sasaki T, Hishinuma T, Yamamoto N, Morimoto Y, Kirikae T, Hiramatsu K. RNA Sequencing identifies a common physiology in vancomycin- and ciprofloxacin-tolerant *Staphylococcus aureus* induced by *ileS* mutations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2020, in press

• Saito M, Adachi E, Yamayoshi S, Koga M, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y, Yotsuyanagi H. Gargle Lavage as a Safe and Sensitive Alternative to Swab Samples to Diagnose COVID-19: A Case Report in Japan. *Clinical Infectious Diseases*. 2020, 71(15), 893-894.

• Yamamoto S, Saito M, Nagai E, Toriuchi K, Nagai H, Yotsuyanagi H, Nakagama Y, Kido Y, Adachi E. Seroconversion against SARS-CoV-2 occurred after the recovery in patients with COVID-19. *Journal of Medical Virology*. 2021, 93(2), 692-694.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし