

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 27 年度終了課題 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者)	株式会社新日本科学 取締役 角崎英志
研究責任者	国立大学法人長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 創薬薬理学分野 教授 植田弘師
支援タイプ	ハイリスク挑戦
研究開発課題	革新的脳卒中治療ペプチド製剤の創出

1. 研究開発の目的

脳卒中治療における tissue type Plasminogen Activator (tPA) 血栓溶解療法は、出血リスクを伴うため発症後 4.5 時間以内の使用に制限され、全脳卒中患者の 2-3% に適用されるのみであるが、未だにその課題を解決する治療薬は開発されていない。我々はこれまでの研究で優れた脳保護作用を有する新規ペプチドを同定し、同ペプチド(以下、P6-A)を tPA と併用することで、発症後 4.5 時間以上経過した後でも、副作用なく tPA の血栓溶解作用を有する画期的な治療法の可能性を見出した。本研究開発では P6-A の詳細な作用機序を解明すると共に、モデルマウスを用いて、用法用量を最適化した上で、ヒトへの外挿性を考慮した霊長類モデルで薬効を証明し、臨床処方への重要な根拠となるデータを取得することを目的とする。

2. 研究開発の概要

① 成果

P6-A に関するメカニズム解析にて、脳梗塞時の脳傷害および脳血管破綻に関与するプロテアーゼの一種マトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)の産生責任細胞種の同定に成功し、マウスへの P6-A 投与によりこれらの細胞における MMPs 産生抑制作用があること、MMPs が関連する脳内出血リスクを抑制可能であることを見出した。並行して、サル脳塞栓症モデルを用いて P6-A の薬効評価を実施した。予備的なサル PK 試験にて用量相関を確認した後、サル脳塞栓症モデルに tPA と P6-A を併用投与した結果、神経脱落症状の改善傾向がみられた。また、サル薬効試験では、P6-A による tPA に起因する脳内出血に対して、改善効果は認められなかった。以上から、P6-A の作用機序を解明するとともに、サルを用いた薬効データを取得することができ、計画通りに研究目的を達成した。

研究開発目標	達成度
I. in vitro / in vivo 評価系を用いたペプチド:P6-A の安定性確保および毒性評価	
① 原薬の安定性試験 冷凍下および冷蔵下での安定性を確認し、急速には分解しないことを確認する。	① 原薬の安定性試験 P6-A の安定性を検討し、問題無いことを確認した。また、サル血漿中における P6-A の安定性評価を完了させた。
② マウス毒性試験 マウスを用いて、P6-A の最大有効濃度である 10-30 mg/kg の 10 倍量である 100-300 mg/kg 投与時の毒性を検討する。	② マウス毒性試験 マウスに対し、300 mg/kg P6-A を i.v. 投与した場合の安全性について、循環器系に与える影響は確認されなかった。また、毒性について、雌雄共に異常な変動は見受けられなかった。

II. カニクイザル血栓作成型脳梗塞モデルにおける病態改善効果の実証

③ 予備 PK 試験(マウスおよびサル)

PK プロファイルを予備的に確認し、用量相関性を確認する。

④ マウス脳移行性試験

P6-A の治療標的臓器である、脳への移行性について、詳細なプロファイルを得ることを目的とする。

⑤ マウス薬効試験

マウス脳梗塞モデル2種を駆使し、急性病態および慢性病態に対する P6-A 単独ならびに tPA 併用時の有効性を検討する。

⑥ サル薬効試験

サル脳塞栓症モデルにおける P6-A の薬効を確認する。

③ 予備 PK 試験(マウスおよびサル)

P6-A をマウスおよびサル静脈内に投与した結果、P6-A の血漿中濃度は投与量に比例して増加し、投与直後より速やかに消失することを確認した。

④ マウス脳移行性試験

P6-A について確実に標的臓器に到達しているか検討した結果、少なくとも末梢投与から5分後まで脳実質試料中から P6-A を検出可能であった。また本検討で、正常な反対側にも P6-A は移行すること、障害側は正常な反対側よりも移行量が多いことが明らかになった。

⑤ マウス薬効試験

- ・ tPA の治療有効時間の延長を目的とした、4.5-6 時間 tPA 併用 tMCAO モデルにおいて、脳内出血ならびに clinical score の改善効果を見出した。
- ・ PIT モデルでは、脳梗塞処置 4.5-6 時間後の tPA 併用時における脳傷害領域の有意な縮小、行動学的には脳梗塞性の運動障害改善作用を見出し、サル試験への橋渡し試験を完了した。

⑥ サル薬効試験

- ・ 自家血血餅を注入することで中大脳動脈を閉塞させることにより脳塞栓症を発症させ、P6-A および tPA の併用投与を行い、神経脱落症状および脳梗塞巣、脳出血を指標として薬効評価を行った。
- ・ tPA の梗塞後 4.5 および 6 時間からの投与において P6-A の併用による脳梗塞巣の縮小作用および tPA 誘発性脳内出血に対する抑制効果は確認できなかったが、P6-A の 30 mg/kg 併用では、梗塞後 4.5 時間で一部のサルにおいて神経脱落症状の筋の統合運動の項目に改善がみられ、梗塞後 6 時間でも、統計学的有意な差ではないものの神経脱落症状の意識レベル、運動系、感覚系あるいは筋

	<p>の統合運動のいずれかの項目に改善がみられた。なお P6-A に由来する副作用は確認されていない。</p>
<p>III. 脳梗塞後遺症病態に対する治療範囲拡大の検討</p>	
<p>⑦ 脳梗塞以外での薬効試験 認知機能障害、精神症状、慢性疼痛に対する P6-A の改善効果を検討する。</p>	<p>⑦ 脳梗塞以外での薬効試験 適用範囲拡大を目指し、脳梗塞後遺症病態である疼痛病態、学習障害、社会活動性障害、ならびにうつ様行動に対する有効性を検討したところ、有意に改善することを見出した。</p>
<p>IV. 脳梗塞保護機構の分子基盤解明</p>	
<p>⑧ メカニズム研究 P6-A の脳保護作用の詳細な機序を解明する。</p>	<p>⑧ メカニズム研究 マウス脳梗塞モデルである tMCAO 単独処置時に MMPs の産生・活性化が上昇し、BBB の構成分子種が破壊されること、その傷害は tPA 併用時に増強されること、一方で P6-A は脳傷害に関連する MMPs ならびに plasmin に対する直接の酵素活性阻害作用を有さずその発現自体を抑制している可能性を新たに見出した。</p> <p>さらに、MMPs の産生責任細胞種の詳細について明らかにした。また、ProTa と同様に直接の神経細胞保護機能のみならず、炎症性の脳神経細胞拡散を抑制することが明らかになった。</p>
<p>V. その他</p>	
<p>⑨ 事業化検討 開発品を保護する特許網を強化すると共に、競合薬の分析を通して、質の高い開発戦略を構築する。</p>	<p>⑨ 事業化検討 P6-A を保護対象として含む PCT 国際出願特許について日本、米国及び欧州への移行手続きを進め、最終的に P6-A の物質特許が日本において特許査定を受け、登録に至った。</p>

②今後の展開

本研究開発では、P6-A と tPA の併用投与によるサル薬効試験にて神経脱落症状の改善傾向がみられたが、薬効評価での統計学的有意差を見出すために、作用メカニズムに基づく評価モデルの妥当性を再考するとともに、投与量及び投与方法の最適化を図っていく。今後は、発症後 4.5 時間以上経過後でも、副作用なく tPA の血栓溶解作用を有する画期的な治療法を目指す。また、作用メカニズムが明らかになったことで、単剤でも脳卒中病態の治療可能な新規薬剤創出に向けた開発も可能と考える。

3. 総合所見

本研究開発課題の主目標である P6-A のサルにおける『脳梗塞巣の縮小効果』および『tPA 誘発性脳内出血に対する抑制効果』については、明確な薬効の確認はできなかったが、神経脱落症状の改善傾向は認められたことは一定の成果である。

また、作用機序については、MMPs の活性化や発現上昇の抑制作用は認められたものの、標的分子の特定など、さらなる解明が必要と判断される。

今後、本開発化合物 P6-A の開発を進めるためには、サルへの投与量、投与方法、および用いた脳塞栓モデルの臨床適用上の妥当性などを再検討して、サルでの試験を積み重ねる必要があると考えられる。

※記載の情報は平成 28 年 7 月時点の情報です。