

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：悪性胸膜中皮腫に対する新規治療法の開発及び実用化に関する研究
2. 研究開発代表者：仲 哲治（国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所）
3. 研究開発の成果

本研究では、研究開発代表者らが単離した JAK/STAT 系のサイトカインシグナル伝達抑制分子であり、強制発現させることで ERK や FAK などさまざまなキナーゼに対する阻害活性を示し、p53 の生理機能も増強する活性を有する分子である SOCS3 に着目し、悪性胸膜中皮腫に対して GMP 準拠 Ad ベクターを用いた SOCS3 による遺伝子治療の実用化に必要な非臨床試験を達成するため、平成 27 年度は以下の項目を実施した。

(1) 薬理試験：PMDA での対面助言の結果を踏まえ、引き続き AdSOCS3 の作用機序に関する検討を進めた。タカラバイオ株式会社で製造された AdSOCS3(non-GMP)を用いて悪性胸膜中皮腫に対する AdSOCS3 の薬効の確認を *in vitro* および *in vivo* で行った。その結果、悪性胸膜中皮腫細胞に対して、AdSOCS3 はコントロールの AdLacZ よりも有意に細胞増殖を *in vitro* で抑制した。その機序として、AdSOCS3 は悪性胸膜中皮腫細胞に対して JAK/STAT3 シグナル伝達経路を抑制すること、FAK や MAPK などのキナーゼを阻害すること、SOCS3 が p53 と相互作用して p53 の抗腫瘍活性を増強することで、アポトーシスを誘導することを確認した。

(2) 用量探索試験：悪性胸膜中皮腫細胞株 H226 などを ICRnu/nu マウス胸腔内移植および皮下移植した悪性胸膜中皮腫モデルマウスを用い、PMDA 確認済みのプロトコールに従い、至適ベクター量及び投与回数を明らかにした。

(3) 安全性試験：PMDA が追加の実施が必要と判断した 2 試験（マウス単回胸腔内投与毒性試験及びマウス反復静脈内投与毒性試験）を PMDA 確認済みのプロトコールに従って実施し、GLP 安全性試験に最適なベクター投与量の根拠となる non-GLP 安全性試験を実施することで安全性を評価した。単回胸腔内投与、反復静脈内投与とともに各種臓器を病理解析した結果、低用量、中用量、高用量のいずれにおいても有意な毒性を示す所見は認められなかったため、AdSOCS3 を用いた遺伝子治療の安全性が確認された。

(4) 生体内分布試験：AdSOCS3 をヒトの胸腔内に投与した際の体内分布及びどのような臓器に遺伝子導入が起り得るかを予測するデータを得るため、マウスの胸腔内、および、尾静脈内に AdSOCS3 を投与した際の生体内分布の解析を実施した。AdSOCS3 の胸腔内及び静脈内投与試験いずれにおいても肺でアデノウイルスベクターが検出される傾向にあり、高用量群においてのみ肝臓、脾臓にアデノウイルスゲノムが残存している可能性が示唆された。

(5) カルタヘナ二種使用確認申請

遺伝子治療に用いるアデノウイルスベクター（AdSOCS3）を対象とし、産業利用上の第二種使用等について厚生労働大臣に拡散防止措置の確認を受けることを目的として、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 13 条第 1 項の規定に従って第二種使用等拡散防止措置確認申請書および別紙を作成し、PMDA に提出した。

(6) マスターウイルスバンクの製造と品質試験

① マスターウイルスバンクの製造

HEK293 細胞のマスターセルバンク (MCB) より細胞培養を開始し、拡大培養を行い、AdSOCS3 のシードウイルスを HEK293 細胞に感染後、ウイルスの生産培養を行った。産生されたウイルスを回収、濾過した後、容器に充填し、凍結保管した。「治験薬の製造管理、品質管理等に関する基準（治験薬 GMP）について（薬食発第 0709002 号）」に準拠した管理体制で実施した。

② マスターウイルスバンクの品質試験

①で製造したマスターウイルスバンクについて以下の品質試験を行った。試験は GLP/GMP 基準の認定を受けた施設または治験薬 GMP 基準に準拠した管理体制で実施した。AdSOCS3 の各種品質試験を行うとともに安定性試験を行い貯法及び有効期限の設定について検討した。AdSOCS3 の品質試験として、PCR 法による精製アデノウイルスベクター溶液における RCA 混入否定試験を行った結果、RCA の混入がない事を明らかにした。

【作成上の留意事項】

本報告書は、提出締切り時点（事業年度終了61日後）の情報として毎年度当機構ホームページ上に公開されます。知的財産関連の情報（*）、個人情報等公開に適さない内容が含まれていないかご注意ください。

- （1）研究者等は当該報告書を提出した時点で、公表について承諾したものとします。
- （2）当該年度の研究班全体の成果が明らかになるように1600字以内（図表絵等を含めない）で簡潔に記載してください。研究開発期間最終年度の研究班の研究開発代表者は、初年度から最終年度までの全研究開発期間における活動総括概要を作成してください。

4. その他

【作成上の留意事項】

- （1）日本工業規格A列4番（A4）の用紙を用い、全文を1枚以内でまとめてください。
- （2）文字の大きさは、10～12ポイント程度とします。
- （3）当機構に提出の際はPDFに変換したファイルを送付してください。