

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：化学療法に対する抵抗性を克服することを目的とした希少がん

(悪性胸膜中皮腫)治療薬開発のための医師主導治験の実施

2. 研究開発代表者：金田 安史 (大阪大学大学院 医学系研究科)

3. 研究開発の成果

1) 医師主導治験の準備と実施:

平成27年8月25日に治験計画書を基にIRB審査を受け、承認後PMDAに治験届を提出し10月9日に受理された。<sup>14</sup>C-methionine PET検査の必要性が生じたため、修正版をIRBに提出し11月24日に承認された。

近畿中央胸部疾患センターにおいて、平成27年12月1日に実施計画書固定後の説明会を、平成28年2月2日に1名の治験参加候補者を選定した。

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターでは平成28年1月25日に医師主導治験の説明会を開催し、治験参加候補者の選定作業を行った。

大阪大学医学部附属病院の呼吸器センターで、治験実施体制の確認を平成27年7月30日、10月1日、11月12日に行い、標準化学療法後に手術を施行、再発した方を治験参加候補者に選定した。

平成27年11月25日より兵庫医科大学から紹介のあった7名の候補者の外来受診を順次行い、12月10日から治験を予定した。しかしながら、スクリーニング検査での他悪性腫瘍存在の疑義(2名)、ステロイド内服継続、治験薬投与開始予定日後8週間以上の生存が困難である(病状進行によるPS維持の困難、高度炎症所見の出現、癌性胸膜炎)と考えられたため、別候補者の本治験への参加を決定し、平成28年3月3日より低用量HVJ-E(30000 mNAU)の初回腫瘍内投与を行い、3月31日に2サイクル目の腫瘍内投与を施行した。

2) 薬効・毒性評価のための非臨床研究

用法用量試験：ヒト悪性胸膜中皮種細胞株 MSTO の胸腔内播種モデルを用いて化学療法剤のシスプラチン(5 mg/kg)と本剤(1000 HAU)の単剤、または併用の抗腫瘍効果(生存期間)を評価した。治験と同じく、HVJ-Eは腫瘍内投与1回と皮下投与2週間で3回(シスプラチンは胸腔内投与4回)、これを2サイクル行った。シスプラチンでは腫瘍播種後42日で全例死亡し、コントロール(PBS投与群)と差がなかった。HVJ-Eでは50日で50%生存したが、併用により50日後生存率は100%であった。このマウスでの1000 HAUのHVJ-Eはヒトでの治験薬HVJ-E約10000 mNAUに相当する。悪性胸膜中皮腫の治験においてもメラノーマの医師主導治験で用いている30000 mNAU、60000 mNAUが適合すると考えられ、治験における投与レジメンの設定根拠が得られた。

薬効・薬理試験：ヒト悪性胸膜中皮腫(MPM)細胞株(肉腫型、上皮型、二相型)のいずれもHVJ-Eによる細胞死誘導が認められ、この細胞死を誘導するウイルスRNAの構造が明らかになり、HVJ-Eに含有される薬効成分が解明された。このRNAによりヒト癌細胞ではNoxa, TRAIL遺伝子の発現が誘導されアポトーシスが起るが、それぞれの遺伝子について癌細胞特異的脱メチル化部位を同定した。ヒト悪性胸膜中皮腫細胞EHMESに対し、CRISPR/Cas9系を用いて網羅的に遺伝子をノックアウトしHVJ-E抵抗性になる分子を同定した。パスウェイ解析の結果、 $\beta$ -cateninの活性化やTCFを抑制する複数の候補分子を同定した。

安全性試験：胸膜腫瘍内への投与を想定しているため、本剤1000HAUをマウス胸腔内に2週間ごとに3回投与したが、マウスの生存には影響がなかった。毒性試験については、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、局所刺激性試験、トキシコキネティクス試験は終了した。ラットにおける小核試験と抗体産生試験、マウスにおけるNK細胞活性試験、ラットでの中枢神経系と呼吸器系、サルでの心血管系の試験、生殖発生毒性予備試験を行い、PMDAにより安全性試験の充足性が承認された。

3) 治験薬 GMP 製造：マイコプラズマ否定試験とウイルス否定試験を実施し、いずれも陰性であった。安定性試験により4度で29カ月以上安定であった。治験薬である凍結乾燥 HVJ-E の製造に必要な原薬(凍結乾燥による安定製剤化前の溶液)計19バッチ分の製造を完了し、そのうち5バッチ分を使用して製剤化(256本を凍結乾燥)を実施し、平成27年12月に低用量3例分の治験薬75本が大阪大学医学部附属病院・薬剤部へ納入された。今後必要な治験薬製造のスケールアップのため製造工程の確立を進めた。