

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業
(英語) Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases

研究開発課題名：

(日本語) 重症拡張型心筋症患者の生命予後改善・人工心臓離脱を目指した新規オキシム誘導体徐放性製剤による体内誘導型再生治療法の開発と実践

(英語) Development and practice of the in situ induced regeneration therapy using new oxime derivatives sustained-release formulation, aiming for life prognosis improvement and artificial heart device removal in cardiomyopathy patients with severe heart failure dilated

研究開発担当者 (日本語) 宮川 繁

所属 役職 氏名：(日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 特任教授 宮川 繁

(英語) Osaka University Graduate School of Medicine

Specially Appointed Professor

Shigeru Miyagawa

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 医師主導治験関係

- 1) 重症虚血性心筋症 (ICM) 治療薬の開発
- 2) 拡張型心筋症 (CDM) 治療薬の開発

開発課題名：(英語) Results related to investigator-initiated clinical trials

1) Development of a therapeutic drug for severe ischemic cardiomyopathy (ICM)

2) Development of a therapeutic drug for dilated cardiomyopathy (DCM)

研究開発分担者 (日本語) 福嶋 五月、秦 広樹

所属 役職 氏名：(日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 助教 福嶋五月、秦広樹

(英語) Osaka University Graduate School of Medicine Associate Professor

Satsuki Fukushima , Hiroki Hata

分担研究 (日本語) 基礎試験関係

開発課題名 : 1) オキシム誘導体新規改良経口製剤の処方検討

2) YS-1402 間歇筋注/皮下注投与の検討

3) 疾患局所集積性のある DDS 製剤の開発

4) オキシム誘導体の作用機序検討等

(英 語) Basic studies

1) Evaluation of formulation of the newly improved oxime derivative oral preparation

2) Evaluation of intermittent subcutaneous/intramuscular injection of YS-1402

3) Development of DDS preparation with accumulating properties at local disease sites

4) Investigation of mechanism of action and others of oxime derivative

研究開発分担者 (日本語) 齋藤 充弘

所属 役職 氏名 : (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科 特任准教授 齋藤充弘

(英 語) Osaka University Graduate School of Medicine

Specially Appointed Associate Professor

Atsuhiko Saito

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

1. 目的；重症虚血性心筋症（ICM）の5年生存率は60%であり、重症拡張型心筋症（DCM）の1年死亡率は75%である。これらの根本治療は心臓移植であるが、ドナーの絶対的不足状態は変わらない。心臓移植適応患者には、待機的治療として補助人工心臓（LVAD）が施行されるが、合併症（脳梗塞等）の危険性も高い。生命予後改善・人工心臓離脱を目指した心臓再生療法の開発は喫緊の課題である。LVAD、心臓移植、及び細胞療法に代わり、治療効果が高く、細胞培養を不要とするセルフリーな体内誘導型再生促進剤を開発することを目的とする。

2. 背景

オキシム誘導体は、過去、経口抗血栓剤として開発されたが、副作用（血管拡張作用、下痢等）と有効性との乖離が少ないことにより開発が中止されていた。今回オキシム誘導体が線維芽細胞等に作用して、低濃度で各種体内再生因子（HGF、VEGF、SDF-1等）を誘導することを発見し、これらの作用による自然治癒力の増幅薬として新しい適応症を見出した。また、生体分解性ポリマーに本剤を内包した4週間徐放性製剤（YS-1402）を新しく作製し、疾患局所投与（DDS）法を開発した。本研究は、セルフリーな再生医療として体内誘導型再生促進剤を目指す。

3. 医師主導治験関係

1) 重症虚血性心筋症（ICM）治療薬の開発

治験1として、「冠動脈バイパス手術を施行するICM患者にYS-1402を心臓貼付投与し、安全性・忍容性を確認し、引き続き心機能改善効果を検証する並行群間用量漸増試験（P-I/IIa）」を開始した。現在初回投与群の投薬が終了し、血中動態及び安全性確認後、次用量の投薬を開始した。

2) 拡張型心筋症（DCM）治療薬の開発

治験2として治験1でのP-I試験で安全性が確認された最大安全量を用いて、「DCM患者のLVAD装着時に本剤を心臓貼付投与し、DCM患者での安全性・忍容性の確認と心機能改善効果を検証（P-IIa）」する。

4. 基礎試験関係；

1) 目的；心筋症患者への早期治療介入及び術後維持療法として、汎用性、安全性、経済性、利便性を考慮して、オキシム誘導体新規改良経口製剤の検討、及びYS-1402間歇皮下注/筋注投与の可能性検討を行った。

①：オキシム誘導体新規改良経口製剤の処方検討。

検討項目は、(1)反転腸管法による吸収部位特定試験、(2)in vitro放出性試験による処方検討、及び(3)in vivo イヌ経口投与におけるスクリーニング試験にて最良製剤処方を選択した。本製剤を用いて、旧製剤とのイヌ経口投与クロスオーバー比較確認試験を実施した結果、旧製剤での問題点が改良された製剤であることが確認された。本改良製剤を用いて、P-I再試験を実施する予定である。

②：YS-1402間歇筋注/皮下注投与の検討

間歇投与において点滴静注様の血中動態を示すYS-1402皮下注/筋注間歇投与におけるラット及びイヌでの追加安全性試験を実施し、無毒性量（NOAEL）を確認した。また、筋注投与での有効性確認として、ラット下肢虚血（ASO）モデルを用いて虚血部への筋注投与の有効性を検討した。その結果、下肢血流量、及び運動量（トレッドミル）の回復効果、及び微小血管数の増加が認められ、全身投与（皮下注）に比し局所投与の有用性が確認された。

2) 目的；疾患局所集積性のあるDDS製剤の開発

オキシム誘導体の製剤改良として、疾患局所特異的な各種ナノスフェアDDS製剤の検討を行い、これ

らの特性確認から最適化 DDS 製剤を選択した。本製剤を用いて、虚血性心筋症モデル、拡張型心筋症モデル等を用いて検討した結果、局所集積性における有用性を確認した。

3) 目的 ; オキシム誘導体の作用機序検討等

オキシム誘導体の作用機序から、現在臨床で使用されている β 遮断薬、及び関連試薬 (医薬品) を用いて、ラット冠動脈虚血モデル、自然発症拡張型心筋症ハムスターモデル、及びイヌ高速ペーシングモデル等にてオキシム誘導体との効果比較から作用機序の検討を行っている。また、オキシム誘導体は光に対して不安定であるため、BALB/3T3 細胞を用いる NRU 光毒性試験 (in vitro) を実施した結果、陰性であることが確認された。

英文

1. Objective

The 5-year survival rate for severe ischemic cardiomyopathy (ICM) is 60%, and the 1-year mortality rate for severe dilated cardiomyopathy (DCM) is 75%. Although a curative therapy for these diseases is cardiac transplantation, the number of donors remains entirely insufficient. In patients eligible for cardiac transplantation, left ventricular assist devices (LVADs) are implanted as palliative therapy; however, there is a high risk of complications (including cerebral infarction). It is an urgent issue to develop cardiac regenerative therapy for the improvement of vital prognosis/weaning from artificial heart. Instead of LVAD, cardiac transplantation, and cell therapy, developing a cell-free, in vivo induced regeneration promoter that has high therapeutic efficacy and does not need any cell culture is the objective of this research.

2. Background

The development of oxime derivative preparation, which was previously developed as an oral antithrombotic drug, has been discontinued because the efficacy profile did not adequately outweigh the risk of adverse reactions (including vasodilatory actions and diarrhea). This time, we have found that the oxime derivative acts on fibroblasts and others to induce varieties of internal regeneration factors (including HGF, VEGF, and SDF-1) at low concentrations and discovered new indications for the drug amplifying the natural healing power through these actions. Furthermore, a 4-week sustained-release preparation (YS-1402) contained in biodegradable polymer has been newly prepared, and a topical application method to disease sites (DDS) has been developed. This research aims at the discovery of an in vivo induced regeneration promoter as a cell-free regenerative therapy .

3. Results related to investigator-initiated clinical trials

1) Development of a therapeutic drug for severe ischemic cardiomyopathy (ICM)

In Clinical Trial 1, safety/tolerability of YS-1402 was confirmed by applying the preparations to the hearts of patients with ICM who were to undergo coronary artery bypass grafting, and a parallel-group, dose-escalation study (P- I / II a) to verify the improvement effect on cardiac function was continuously started. At present, administration to the first dose group has been completed, and administration at the next dose level has been launched after evaluating blood kinetics and safety.

2) Development of a therapeutic drug for dilated cardiomyopathy (DCM)

In Clinical Trial 2, these preparations will be applied to the hearts of patients with DCM when LVADs are implanted, and safety/tolerability and improvement effect on cardiac function in patients with DCM

will be verified (P- II a) using the maximum safety level identified in the P-I study of Clinical Trial 1.

4. Basic studies

1) Objective: As early therapeutic intervention and postoperative maintenance therapy, a newly improved oxime derivative oral preparation and possible intermittent subcutaneous/intramuscular injection of YS-1402 were evaluated considering versatility, safety, economic efficiency, and convenience.

[1] Evaluation of formulation of the newly improved oxime derivative oral preparation

Evaluating points are as follows: (1) Study to identify absorption sites using the everted sac technique, (2) Evaluation of formulation in an in vitro release test, and (3) Selection of the best formulation in an in vivo screening test of oral administration in dogs. The new preparation was compared with the former one in a confirmatory comparative crossover oral administration study in dogs, which demonstrated that the problems of the former preparation had been improved. A P-I retest will be conducted using the improved preparation.

[2] Evaluation of intermittent subcutaneous/intramuscular injection of YS-1402

YS-1402 administered by intermittent injection shows similar blood kinetics to that by intravenous infusion. Intermittent subcutaneous/intramuscular injection of YS-1402 was evaluated in an additional safety study in rats and dogs, and no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was identified. Furthermore, the efficacy of intramuscular injection to ischemic sites was evaluated using a rat model of lower limb ischemia (ASO) for confirmation. The results demonstrated recovery effects on lower limb blood flow and motor activity (treadmill) and demonstrated increased microvessels, confirming that topical administration is more useful than systemic administration (subcutaneous injection).

2) Objective: Development of DDS preparation with accumulating properties at local disease sites

For the improvement of the oxime derivative preparation, a variety of nanosphere DDS preparations specific to local disease sites were evaluated, and the optimized DDS preparation was selected by identifying individual properties. As the result of study with the preparation, which was conducted using ischemic cardiomyopathy model, dilated cardiomyopathy model, and others, usefulness of the preparation in terms of local accumulation was confirmed.

3) Objective: Investigation of mechanism of action and others of oxime derivative

Based on the identification of its mechanism of action, the oxime derivative is being compared with β -blockers currently in clinical use and associated reagents (pharmaceutical products) in terms of individual effects in a rat model of coronary ischemia, a hamster model of spontaneous dilated cardiomyopathy, and a dog model of rapid cardiac pacing; the mechanism of action is being identified. In addition, Neutral Red Uptake (NRU) phototoxicity testing (in vitro) with BALB/3T3 cells, which was conducted because oxime derivatives are photounstable, demonstrated its negative properties.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. Satoshi Umeda, Shigeru Miyagawa, Satsuki Fukushima, Noriko Oda, Atsuhiro Saito, Yoshiki Sakai, Yoshiki Sawa, Hiroomi Okuyama 「Enhanced Pulmonary Vascular and Alveolar Development via Prenatal Administration of a Slow-release Synthetic Prostacyclin Agonist in Rat Fetal Lung Hypoplasia」 PLoS One. 11(8):e0161334. 2016 Aug 16

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. A Slow-Release Synthetic Prostacyclin Agonist “YS1402” Combined with Pedicle Omental Flap Reduces Microvascular Resistance and Increases Myocardial Blood Flow, Associated with Functional Recovery, in a Porcine Chronic Myocardial Infarction Model について、ポスター、矢嶋 真心、宮川 繁 et al、AHA2016、2016/11/12～16、国外
2. Intravenous Injection of Liposome-Based Nanoparticles Containing a Novel Prostacyclin Analogue Selectively Targets Ischemia-Reperfused Myocardium to Enhance Angiogenesis and Functional Recovery in Rat について、ポスター、矢嶋 真心、宮川 繁 et al、AHA2016、2016/11/12～16、国外
3. A Slow-Releasing Synthetic Prostacyclin Agonist “ONO 1301-SR” Combined with Omental Flap Increases Myocardial Blood Flow and Reduces Microvascular Resistance, Associated with Functional Recovery, in a Porcine Chronic Myocardial Infarction Model について、口頭、矢嶋 真心、宮川 繁 et al、BSCR Autumn Meeting 2016、2016/9/5～6、国外
4. 肺動脈性肺高血圧に対する ONO1301 nano-sphere 製剤の有効性の実験的検討について、口頭、金谷 知潤、宮川 繁 et al、第 69 回日本胸部外科学会、2016/9/28～10/1、国内
5. ミニブタ虚血性心筋症モデルを用いた ONO-1301 と有茎大網を用いた心筋再生療法の開発について、口頭、矢嶋 真心、宮川 繁 et al、第 116 回日本外科学会、国内、2016/4/14～16
6. 虚血性重症心不全に対するプロスタサイクリンアゴニストを用いたセルフリー型心筋再生療法の開発、口頭、矢嶋 真心、宮川 繁 et al、第 21 回日本冠動脈外科学会、国内、2016/7/14～15
7. Drug Repositioning によるセルフリー型心筋再生療法の開発について、口頭、福嶋 五月、宮川 繁 et al、第 116 回日本外科学会、国内、2016/4/14～16

8. 遠隔成績から見た冠動脈バイパス術の課題とその対策 ～心筋再生、創薬の臨床応用に向けて～、口頭、福島 五月、宮川 繁 et al、第 69 回日本胸部外科学会、2016/9/28～10/1、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当無し

(4) 特許出願