

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) 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
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer,
Adaptable and Seamless Technology Transfer Program Through Target-driven R&D (A-STEP)

研究開発課題名： (日本語) PAI-1 阻害に基づく造血幹細胞移植での造血機能改善薬
(英語) Development of PAI-1 inhibitor as an accelerator of hematopoietic regeneration.

研究開発担当者 (日本語) 株式会社レナサイエンス、取締役・総務部長、森岡 幹夫
所属 役職 氏名： (英語) RenaScience Co., Ltd., Director, Motoo Morioka

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

1. 研究開発の目的と概要

難治性血液疾患で施行される臍帯血を用いた造血幹細胞移植は利便性が高いことから実施例数は増加している。その一方で、臍帯血中の幹細胞数には限りがあることから生着不全の頻度も高いことが難点である。

本事業における技術的基盤は、放射線照射や抗癌剤投与後の骨髄環境において、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1 (PAI-1) が高発現して組織線溶系を抑制していることを見出したことを端緒として、マウスやヒト化マウスにおける骨髄幹細胞移植で、TM5509 などの PAI-1 阻害剤により組織線溶系の活性化で遊離する造血幹細胞因子 (c-kit リガンド) を介して造血再生が著明に亢進することを発見したことにある。研究開発の目的は PAI-1 阻害を機序とする新規な低分子経口薬 TM5509 の臍帯血移植における造血機能改善に係わる有効性を確認し、造血不全に対する骨髄再生促進薬という新規なカテゴリーの治療薬剤を提供することである。従来の造血幹細胞移植における造血促進のための治療法は G-CSF の点滴静注投与であり、白血球の分化を促進する効果しか有していない。しかしながら、TM5509 は特定の血液細胞に限定することなく、すべての血液細胞の再生を促進する効果を有している。更に TM5509 は低分子化合物であるため経口薬として使用でき、利便性に優れ、製

造コストも低く出来ることから医療経済性にも優位な特徴があり、造血幹細胞移植における標準治療薬となる造血改善薬を目指す。平成24年10月よりGMPレベルでの治験薬製造、製剤研究、錠剤化、GLPレベルでの前臨床試験、および臨床第I相試験を進め、安全性を確認した。PMDA戦略相談を経て、臨床第II相試験を開始し、ステップ1として目標用量の半量（60mg）での安全性を確認し、ほぼ予定通りにステップ2として目標用量（120mg）での臨床試験ができる段階に到達した。

2. 平成28年度の研究成果

1) 臨床第II相試験

ステップ2として、目標用量（120mg）での医師主導治験が5月に開始された。一例目の被験者において、TM5509の7日間投与終了3日後から血中ビリルビンとタクロリムス濃度の上昇が見られた。臨床症状は黄疸のみで、肝腫大や肝中心静脈の閉塞も認めなかったが、関連が否定できない肝障害として有害事象を報告し、血中タクロリムス濃度を下げするための医学的対応が行われた。被験者の遺伝子を解析した結果、ビリルビン排泄に関わる2つの肝トランスポーターがともに低活性の遺伝子多型を有する非常に稀な症例であることが明らかとなり、無症候性のローター型高ビリルビン血症と類似の症例と推測された。さらに、血中タクロリムス濃度の上昇は、当該被験者のタクロリムスの代謝酵素の一方が非発現型であったことに加えて、タクロリムス排泄にも関わる肝トランスポーターをTM5509が阻害することが重なったことによる薬物相互作用の可能性が示唆された。その後被験者は軽快し、有害事象は「高ビリルビン血症」と修正された。一方、治験は6月末にPMDAの指示で一旦中断し、PMDAから8回（33項目）の照会事項とそれへの回答の往復に半年以上を費やした。被験者の除外基準に上記遺伝子多型を加える等の治験実施計画書、治験薬概要書、同意説明文書の修正を行い、平成29年1月末にPMDAから治験再開の承認が得られた。なお、ステップ1（60mg投与）の3例中2例と、ステップ2（120mg投与）の1例で移植後の生着が確認されており、一定の有効性が示唆されている。その後、効果安全性評価委員会の承認、東海大学病院のIRBの承認を得て治験を再開した。

1. The aim and overview of the project

Cord blood transplantation has advantages among various hematopoietic stem cell transplantation methodologies and is more frequently applied to treat refractory hematopoietic malignancies. However, cord blood has limited number of hematopoietic stem cells, which frequently results in engraftment failure.

The rationale of this project is hinged upon our *in vivo* finding that high expression of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in the bone marrow niche environment after irradiation or anti-cancer drug administration suppressed the tissue fibrinolytic system. Furthermore, PAI-1 inhibitors such as TM5509 administered orally to mice or humanized-mice after bone marrow stem cell transplantation lead to the activation of the tissue fibrinolytic system, and markedly promoted hematopoietic regeneration via hematopoietic stem cell factor (c-kit ligand) liberated by this activation. The aim of this project is to evaluate the efficacy of this novel, orally available, low-molecular-weight (LMW) PAI-1 inhibitor (TM5509) in improving the hematopoietic function after cord blood transplantation and to provide a new category drug, a bone marrow regeneration promoter drug for the treatment of hematopoietic failure. Our concept to stimulate by a PAI-1 inhibitor the hematopoietic stem cells in

patients with refractory hematopoietic malignancies, is quite innovative and enables easy usage at low cost. TM5509 has an advantage over existing G-CSF to activate broad spectrum of hematopoietic cells.

Since 2012, we completed TM5509 synthesis under the GMP regulation and formulation study. We also conducted its full program of toxicopharmacological studies under the GLP regulation and, after several strategic meetings with PMDA, completed both single- and repeated-dose phase I clinical trials. TM5509 has been proved to be safe in healthy subjects, and phase II clinical trial at half of the target dose (60 mg) to confirm the safety of TM5509 had been successfully accomplished. Phase II clinical trial at the target dose (120 mg) as step 2 was ready to start as scheduled.

2. Results from fiscal year 2016

1) Phase 2 study

As step 2, the first subject was enrolled in May 2016 in the investigator initiated trial at the target dose (120mg). This subject showed high blood concentration of bilirubin and tacrolimus from three days after the termination of the 7 days daily administration of TM5509. Clinical symptom was only jaundice and neither hepatomegaly nor occlusion of the central vein of liver was observed. However, it was reported as incidence of adverse event for hepatopathy to the IRB, PMDA and the Data and Safety Monitoring Board. Also, thorough medical care had been performed to lower the blood tacrolimus concentration. Gene analysis of the subject revealed that both of the two hepatic transporters involved in bilirubin excretion were single nucleotide polymorphisms (SNPs) known to lower the hepatic transporter activity. The subject was supposed to have very similar symptoms to this rare syndrome known as ROTOR type hyperbilirubinemia, which show high direct bilirubin level without harmful symptoms to the subject. It was suggested that increase in blood tacrolimus concentration was possibly caused by the fact that one of the metabolic enzymes of tacrolimus was non-expressing type and by the drug interaction of TM5509 for hepatic transporter inhibition. The subject had fully recovered and was discharged from hospital, and as a consequence, the adverse event had been revised from “hepatopathy” to “hyperbilirubinemia”. However, PMDA had ordered a temporary halt to continue the clinical trial and we spent over half a year to answer inquiries from PMDA (total of 8 times, 33 inquiries). Revision was made to the exclusion criteria of the protocol adding gene analysis and the SNPs conditions, investigator’s brochure and the informed consent and then we finally obtained permission from PMDA to restart the clinical trial at the end of January 2017. Successful engraftment had been observed in two out of three subjects in step 1 (60mg/day) and one subject in step 2 (120mg/day), which may indicate the positive effect of TM5509 administration. Following the permission from PMDA, both the Data and Safety Monitoring Board and the IRB of Tokai University Hospital issued permission in February, we restarted the clinical trial.

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 件、国際誌 7件）

1. Souma T, Nezu M, Nakano D, Yamazaki S, Hirano I, Sekine H, Dan T, Takeda K, Fong GH,

- Nishiyama A, Ito S, Miyata T, Yamamoto M, Suzuki N. Erythropoietin Synthesis in Renal Myofibroblasts Is Restored by Activation of Hypoxia Signaling. **J Am Soc Nephrol** 2016; 27: 428-438.
2. Maessen DE, Brouwers O, Gaens KH, Wouters K, Cleutjens JP, Janssen BJ, Miyata T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. Delayed intervention with Pyridoxamine improves metabolic function and prevents adipose tissue inflammation and insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice. **Diabetes** 2016; 65: 956-966.
 3. Piao L, Jung I, Huh JY, Miyata T, Ha H. A novel plasminogen activator inhibitor-1 inhibitor, TM5441, protects against high-fat diet-induced obesity and adipocyte injury in mice. **British J Pharmacology** 2016; 173:2622-2632.
 4. Jeong BY, Uddin MJ, Park JH, Lee JH, Lee HB, Miyata T, Ha H. Novel Plasminogen Activator Inhibitor-1 Inhibitors Prevent Diabetic Kidney Injury in a Mouse Model. **PLoS One** 2016; 11: e0157012.
 5. Liu RM, Eldridge S, Watanabe N, Deshane J, Kuo HC, Jiang C, Wang Y, Liu G, Schwiebert L, Miyata T, Thannickal VJ. Therapeutic potential of an orally effective small molecule inhibitor of plasminogen activator inhibitor for asthma. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol** 2016; 15: 328-336.
 6. Placencio VR, Ichimura A, Miyata T, DeClerck YA. Small Molecule Inhibitors of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Elicit Anti-Tumorigenic and Anti-Angiogenic Activity. **PLoS One** 2015; 10: e0133786.
 7. Ghosh AK, Rai R, Park KE, Eren M, Miyata T, Wilsbacher LD, Vaughan DE. A small molecule inhibitor of PAI-1 protects against Doxorubicin-induced cellular senescence: molecular basis. **Oncotarget** Epub ahead of print.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

【国際講演】

特別講演のみ記載

1. Miyata T. Inhibition of PAI-1 regulates cellular regeneration and senescence. **The 2016 Gordon Conference on Plasminogen Activation and Extracellular Proteolysis** in Ventura (USA). 2016 February 14-19.
2. Miyata T. Development of a novel, radical treatment for chronic myelogenous leukemia (CML) PAI-1 inhibitor, TM5614. **Falling Walls Venture 2016** in Sendai (Japan). 2016 September 21.
3. Miyata T. Discovery and development of PAI-1 inhibitors: Potential clinical implications. **2016 International Conference on Diabetes and Metabolism** in Seoul (Korea). 2016 October 13-15.

【国内講演】

特別講演のみ記載

1. 宮田敏男. アカデミアからの医薬品開発. **東大病院先端医療シーズ開発フォーラム 2016～アカデミアからの挑戦～** 2016.2.2 東京
2. 宮田敏男. PAI- I 阻害薬の開発. **理研シンポジウム第3回創薬ワークショップ～アカデミア発創薬**

の到達点と課題～ 2016.3.3 横浜

3. 宮田敏男. オールジャパンでのバイオ医薬品開発. 日本学術会議ワークショップ～生命科学研究の総合的推進：日本医療研究開発機構（AMED）に期待する 2016.7.26 東京
4. 宮田敏男. PAI-1 阻害薬の開発. 日本情報計算化学生物（CBI）学会 2016 年大会 2016.10.25-27 東京
5. 宮田敏男. アカデミア発創薬：現状と意義 慶應大学医学部橋渡し研究（TR）セミナー 2016.10.31 東京
6. 宮田敏男. PAI-1 分子研究の新たな展開～ガン幹細胞、老化～. 第 121 回日本眼科学会総会 2017.4.7 東京

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

無し

(4) 特許出願

無し