

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) 臨床研究・治験推進研究事業
(英語) Project Promoting Clinical Trials for Development of New Drugs

研究開発課題名： (日本語) PAI-1 阻害に基づく新規放射線障害治療薬の臨床開発
(英語) Clinical development of a novel PAI-1 inhibitor against radiation injuries

研究開発担当者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 教授 宮田 敏男
所属 役職 氏名： (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Professor Toshio Miyata

実施期間： 平成24年 10月 1日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) プログラムの総合的推進の補佐
開発課題名： (英語) Assist in the program promotion

研究開発分担者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 准教授 段 孝
所属 役職 氏名： (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Associate Professor Takashi Dan

分担研究 (日本語) 治験プロジェクターマネージャー (薬事・規制)
開発課題名： (英語) Clinical Project manager (regulatory science)

研究開発分担者 (日本語) 東北大学病院臨床試験推進センター 客員教授 菊地 克史
所属 役職 氏名： (英語) Clinical Research Innovation and Education Center,
Tohoku University Hospital
Visiting Professor Katsushi Kikuchi

分担研究 (日本語) 生化学的データ解析
開発課題名： (英語) Biochemical data analysis

研究開発分担者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 非常勤講師 市村 敦彦
所属 役職 氏名: (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Assistant Professor Atsuhiko Ichimura

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の総合的推進
開発課題名: (英語) Comprehensive Promotion of Phase II Study

研究開発分担者 (日本語) 東海大学医学部内科学系 教授 安藤 潔
所属 役職 氏名: (英語) Tokai University School of Medicine
Professor Kiyoshi Ando

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の評価
開発課題名: (英語) Analysis of Phase II study

研究開発分担者 (日本語) 東海大学医学部基盤診療学系 准教授 八幡 崇
所属 役職 氏名: (英語) Tokai University School of Medicine
Associate Professor Takashi Yahata

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の実施と評価
開発課題名: (英語) Evaluation of Phase II study

研究開発分担者 (日本語) 東海大学医学部内科学系 講師 鬼塚 真仁
所属 役職 氏名: (英語) Tokai University School of Medicine
Senior Lecture Makoto Onizuka

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の実施と評価
開発課題名: (英語) Practical doctor in Phase II study

研究開発分担者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 教授 張替 秀郎
所属 役職 氏名: (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Professor Hideo Harigae

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の実施と評価
開発課題名: (英語) Practical doctor in Phase II study

研究開発分担者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 講師 大西 康
所属 役職 氏名: (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Senior Lecture Yasushi Onishi

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の実施と評価

開発課題名: (英語) Practical doctor in Phase II study

研究開発分担者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 講師 福原 規子

所属 役職 氏名: (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Senior Lecture Noriko Fukuhara

分担研究 (日本語) 第Ⅱ相試験の実施と評価

開発課題名: (英語) Practical doctor in Phase II study

研究開発分担者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 助教 小林 匡洋

所属 役職 氏名: (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Assistant Professor Masahiro Kobayashi

II. 成果の概要（総括研究報告）

放射線障害は重篤な組織障害をもたらすが、有効な治療薬は未だ無い。そこで、新たな治療薬の開発が世界的に切望されている。放射線照射において正常細胞・組織では、造血幹細胞が最も感受性が高く、次に皮膚や粘膜、消化管等の上皮細胞が影響を受けやすい。マクロファージの浸潤は、炎症、活性酸素による酸化ストレス、細胞障害をもたらし、最終的に線維化が進行するため、組織再生は難しくなる。これら全ての過程に PAI-1 が関与している。

申請者は、血栓や組織線維化に関わる PAI-1 の低分子経口阻害薬 TM5509 が、①マクロファージ遊走を阻害する、②放射線照射による骨髄抑制後の幹細胞移植で造血再生を促進する、③薬剤誘発 ROS 依存性の腸炎や肺炎モデルで効果を示す、④虚血に伴う血管修復を促進するなどの知見を見出し、PAI-1 阻害薬が放射線照射による組織障害を防御、治癒する画期的な医薬品になる可能性を一連の動物試験で実証した。そこで本研究では、第 I 相試験（健常人）での安全性と薬物動態、ならびに第 II 相試験で TM5509 の全身照射前処置幹細胞移植に対する効果を示すことで POC（治療効果の証明）を取得することを目標とした（全て医師主導治験）。

平成 24 年度には、(1)治験薬（錠剤）製造検討、(2)ヒト代謝物の同定とヒト PK 試験測定系の確立、(3)薬理薬効試験の追加、(4)治験薬概要書と臨床試験プロトコルの作成、(5)PMDA 戦略相談の実施、(6)治験届提出を行い、第 I 相試験までの準備を完了させた。

平成 25 年度は、PMDA 相談の結果である TM5509 の第 I 相低用量(1～30 mg)の単回試験を実施、PMDA に報告し、「医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス」準拠の単回用量試験 (30 mg 以上)が承認されたので、30、60 mg 投与を実施した。

平成 26 年度は、第 I 相単回試験 (30～180 mg) を完了し、安全性と薬物動態を確認の上、PMDA からの要請により計画外であった対面助言を行い、第 I 相反復試験 (60、120 mg) を実施した。

平成 27 年度は、第 II 相試験に向けての PMDA 相談を実施し、東海大学で第 II 相試験を開始した。但し、当初計画では推定有効用量の 1 日 1 回 120mg1 用量の設定であったが、その半量の 60mg 投与群での安全性を先に確認することを PMDA から要求された。しかし、効果が期待できない用量であること（患者にとってはリスクしかない）等から、被験者が集まらず、実施施設を追加（東北大学）することで、60mg 群を実施し、安全性を確認した。

平成 28 年度は、目標用量 120mg の 2 例（必要例数 12 例）を実施した段階で、並行実施中の第 II 相試験で、高度なビリルビンの上昇を認めたため、重篤な有害事象（肝障害、後に高ビリルビン血症と修正）と報告され（6 月 2 日）、PMDA から治験中止の指示がなされた（6 月 30 日）。なお、該当被験者はビリルビンの肝細胞取込みが低下する OATP1B1*15 と OATP1B3 (T334G、G699A) の両方の遺伝子多型を有することが原因であり、肝障害に関する権威である帝京大学滝川一教授からの意見、肝障害ではなく、無症候性のローター型高ビリルビン血症と考えられることを PMDA に報告していた(6 月 23 日)。本件に関して、PMDA からは計 8 回 33 項目の照会事項があり、試験計画書における被験者の除外基準に、「上記遺伝子を有する患者」を追加する等の修正をすることで、治験の再開が認められ(1 月 24 日)、治験を再開した

Radiation causes severe damages to tissues, but no effective treatment is currently available. Thus, novel therapies are anticipated throughout the world. In normal cells and tissues, hematopoietic stem cells are the most sensitive to radiation exposure, followed by skin, mucosa, and gastrointestinal tract epithelial cells. Infiltration of macrophages induces inflammation, oxidative stress by reactive oxygen species (ROS) and cytotoxicity, and eventually progressing to fibrosis when tissue regeneration is impossible. PAI-1 is involved in all these processes.

The applicant has found that TM5509, an orally available, small molecule drug which inhibits PAI-1 involved in thrombosis and tissue fibrosis, 1) inhibits macrophage migration, 2) promotes hematopoietic regeneration after stem cell transplantation following radiation-induced myelosuppression, 3) shows effect in drug-induced ROS-dependent enteritis and lung fibrosis model, 4) promotes blood vessel regeneration in ischemic diseases, etc., and have demonstrated the possibility of PAI-1 inhibitor as an innovative drug for the protection and the treatment of radiation-induced tissue damages in several experimental animals. Therefore, in this project, our aim was to confirm its safety and pharmacokinetics (PK) for the phase 1 study in healthy volunteers and obtain the proof-of-concept (POC) by demonstrating the efficacy of TM5509 for the phase 2 study in patients after stem cell transplantation following total body irradiation (both as investigator-initiated trials).

In FY 2012, we completed 1) evaluation of investigational drug (tablet) manufacturing, 2) human metabolite identification and establishment of human PK study measurements, 3) additional pharmacological study, 4) investigator's brochure and protocol, 5) PMDA strategic consultation, 6) and clinical trial notification up through to the preparation for the phase 1 study.

In FY2013, we conducted a phase 1 single-dose study with low doses (1 to 30mg) of TM5509 determined at the previous PMDA consultation and reported the result to PMDA. Since PMDA agreed to the conduct of single dose study over 30mg based on "Guidance For Establishing Safety in First-in-Human Studies during Drug Development", 30 and 60mg doses were administered.

In FY2014, a phase 1 single-dose study (30 to 180mg) was completed, confirmed the safety and pharmacokinetics, and then conducted a PMDA consultation as requested by PMDA which was not scheduled in the first place for the conduct the phase 1 repeated-dose study (60 and 120mg).

In FY2015, PMDA consultation was conducted for the planned phase 2 study, and started the study at Tokai University. In the initial plan, single dose of 120mg once a day (the estimated effective dose) was selected, but there was a requirement from the PMDA to confirm the safety of 60mg cohort (half). However, since good efficacy could not be anticipated with the low dose (meaning that it will only be a risk to patients) etc., subject recruitment was not successful and the safety was confirmed through the 60mg cohort by adding an investigational site (Tohoku University),

In FY2016, at the time of conducting a study with the target dose of 120mg in two subjects (target subject number =12), high plasma bilirubin level elevation was observed in the phase 2 study running in parallel, and it was reported as serious adverse event (liver disorder which was amended to hyperbilirubinemia) on June 2, and the study was discontinued under the PMDA's direction (June 30).

However, it was reported to the PMDA that the elevated bilirubin level was due to the fact that the subject had both gene polymorphisms OATP1B1*15 and OATP1B3 (T334G, G699A), which is the cause of decreased hepatic bilirubin uptake, and we reported the opinion from Prof. Takigawa, Teikyo University, an authority on liver disorders, that this can be considered as asymptomatic rotor-type hyperbilirubinemia and not a hepatic disorder (June 23).

With regard to this project, we had received 33 inquiries in total over 8 times from the PMDA, and amendment was made as the "exclusion criteria" by adding "patients having the above genes". We restarted the study after obtaining permission from the PMDA on January 24.

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 17件）

【論文】

1. Miyata T, Kikuchi K, Kiyomoyo H, van Ypersele de Strihou C. New era for drug discovery and development in renal disease. *Nature Review Nephrology* 2011; 7: 469-477.
2. Huang WT, Vayalil PK, Miyata T, Hagood J, Liu RM. Therapeutic value of small molecule inhibitor to plasminogen activator inhibitor-1 for lung fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2012; 46: 87-95.
3. Tashiro Y, Nishida C, Sato-Kusubata K, Ohki-Koizumi M, Ishihara M, Sato A, Gritli I, Komiyama H, Sato Y, Dan T, Miyata T, Okumura K, Tomiki Y, Sakamoto K, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K. Inhibition of PAI-1 induces neutrophil-driven neoangiogenesis and promotes tissue regeneration via production of angiocrine factors in mice. *Blood* 2012; 119: 6382-6393.
4. Ichimura A, Matsumoto S, Suzuki S, Dan T, Yamaki S, Sato Y, Kiyomoto H, Ishii N, Okada K, Matsuo O, Hou FF, Vaughan DE, van Ypersele de Strihou C, Miyata T. A Small Molecule Inhibitor to Plasminogen Activator Inhibitor 1 Inhibits Macrophage Migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 935-942.
5. Remuzzi G, Benigni A, Finkelstein FO, Grunfeld JP, Joly D, Katz I, Liu ZH, Miyata T, Perico N, Rodriguez-Iturbe B, Antiga L, Schaefer F, Schieppati A, Schrier RW, Tonelli M. Kidney failure: aims for the next 10 years and barriers to success. *Lancet* 2013; 382: 353-362.
6. Boe A, Eren M, Murphy S, Kamide C, Ichimura A, Terry D, McAnally D, Smith LH, Miyata T, Vaughan DE. Plasminogen activator inhibitor-1 antagonist TM5441 attenuates N ω -nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension and vascular senescence. *Circulation* 2013; 128: 2318-24
7. Ibrahim AA, Yahata T, Onizuka M, Dan T, van Ypersele de Strihou C, Miyata T, Ando K. Inhibition of Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 Activity Enhances Rapid and Sustainable Hematopoietic Regeneration. *Stem Cells* 2014; 32: 946-58.
8. Miyata T, Ando T, Hiragi H, Watanabe K, Yamamoto F, Vaughan D.E, van Ypersele de Strihou C, Takeuchi M. Drug discovery in renal disease —towards a more efficient framework. *Nature Review Nephrology* 2014; 10: 290-6. .
9. Eren M, Boe A, Murphy SB, Place AT, Nagpal V, Morales-Nebreda L, Urich D, Quaggin SE, Budinger GS, Mutlu GM, Miyata T, Vaughan DE. PAI-1-regulated extracellular proteolysis governs senescence and survival in Klotho mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 7090-7095.
10. Jo-Watanabe A, Ohse T, Nishimatsu H, Takahashi M, Ikeda Y, Wada T, Shirakawa JI, Nagai R, Miyata T, Nagano T, Hirata Y, Inagi R, Nangaku M. Glyoxalase I reduces glycative and oxidative stress and prevents age-related endothelial dysfunction through modulation of endothelial nitric oxide synthase phosphorylation. *Aging Cell* 2014; 13: 519-28
11. Boe AE, Eren M, Morales-Nebreda L, Murphy SB, Budinger GR, Mutlu GM, Miyata T, Vaughan DE. Nitric oxide prevents alveolar senescence and emphysema in a mouse model. *PLoS One* 2015; 10: e0116504

12. Pelisch N, Dan T, Ichimura A, Sekiguchi H, Vaughan DE, van Ypersele de Strihou C, Miyata T. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Antagonist TM5484 Attenuates Demyelination and Axonal Degeneration in a Mice Model of Multiple Sclerosis. PLoS One 2015; 10: e0124510.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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】

主な特別講演のみ記載

1. Miyata T. Drug Discovery and Development from Academia. UK-Japan Workshop: How do we identify new targets for new medicine? in Tokyo (Japan). 2013 January 28-29. 国内.
2. Miyata T. Drug Discovery and Clinical Development: Role of Academia and Global Perspective. The 12th Kitasato University-Harvard School of Public Health Symposium in Tokyo (Japan). 2013 May 13-14. 国内.
3. Miyata T. Drug discovery in kidney disease: From serendipity to rationality. ISN Nexus Symposium: New era of drug discovery and clinical trials in kidney disease in Bergamo (Italy). 2014 April 3-6. 国外.
4. Miyata T. Drug discovery and development: Respective role of academia. Third International Conference on Innovative Biology, Medicine, and Engineering (ICIBME 2015) in Nagoya (Japan). 2015 January 15-16. 国内.
5. 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. 国外.
6. 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. 国内.

7. 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. 国外.

【国内講演】

主な特別講演のみ記載

1. 宮田敏男. 腎・心血管治療薬の開発：PAI-1阻害薬、酸素センサー阻害薬. 第85回日本薬理学会年会シンポジウム 2012.3.15. 京都, 国内.
2. 宮田敏男. TR・グローバルな視点の重要性. 第56回日本腎臓学会学術総会（主催：日本腎臓学会） 2013.5.12. 東京, 国内.
3. 宮田敏男. PAI-1分子：新たな役割と臨床応用. 第75回日本血液学会学術集会（主催：日本血液学会） 2013.10.11. 札幌, 国内.
4. 宮田敏男. PAI-1阻害薬：開発状況と臨床応用. JALSG合同班会議（名古屋大学） 2015.6.2. 名古屋, 国内.
5. 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, 国内.
6. 宮田敏男. PAI-1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, 国内.
7. 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～生命科学研究所の総合的推進：日本医療研究開発機構（AMED）に期待する 2016.7.26 東京, 国内.
8. 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, 国内.
9. 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, 国内.
10. 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, 国内.

(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

平成 29 年 6 月 28 日

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) 臨床研究・治験推進研究事業
(英語) Project Promoting Clinical Trials for Development of New Drugs

研究開発課題名： (日本語) PAI-1 阻害に基づく新規放射線障害治療薬の臨床開発
(英語) Clinical development of a novel PAI-1 inhibitor against radiation injuries

研究開発担当者 (日本語) 東北大学大学院医学系研究科 教授 宮田 敏男
所属 役職 氏名： (英語) Tohoku University Graduate School of Medicine
Professor Toshio Miyata

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) 第Ⅱ相試験：放射線全身照射後幹細胞移植に対する有用性・有用性評価
開発課題名： (英語) PhaseII clinical study of PAI-1 inhibitor for post-transplantation patients with TBI

研究開発分担者 (日本語) 東海大学医学部内科学系 教授 安藤 潔
所属 役職 氏名： (英語) Tokai University School of Medicine
Professor Kiyoshi Ando

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合
- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：東北大学・医学部・宮田敏男

総括研究報告を参照。

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 0 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
無し
- (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