

厚生労働科学研究研究費補助金

小児疾患臨床研究事業

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニン
およびジクロロ酢酸療法の効果判定と分子病態を踏まえた

新しい治療法開発に関する臨床研究

(若手医師・協力者活用等に要する研究チーム)

平成 14 年度～16 年度 総合研究報告書

主任研究者 古 賀 靖 敏

平成 17 (2005) 年 4 月

総合研究報告

総合研究報告書

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対するL-アルギニンおよびジクロロ酢酸療法

効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する研究

（若手医師・協力者活用等に要する研究チーム）

（H14チーム小児-005）に関する研究

主任研究者 古賀靖敏 久留米大学医学部小児科教授

研究要旨：小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対するL-アルギニンおよびジクロロ酢酸療法の効果判断と分子病態を踏まえた新しい治療に関する研究をサポートするために治験チームにおいて以下の研究を行った。①ミトコンドリア病の脳卒中を来す病型(MELAS)でL-アルギニン療法の治験を行うためのプロトコルの作成およびインフォームドコンセント、レジストリー作成（秋田、久木原）、②ミトコンドリア脳筋症の迅速診断センターを開設し、臨床的、生化学的、筋病理学的、遺伝学的解析を整備した（石田、平田、Povalko、西村）。③国内でのL-アルギニン酸化ストレスおよび血管内皮機能の測定（植木、古井）、④症例の変異の臓器内分布および生化学的解析（西岡、石田、Povalko）、⑤モデル動物の解析（秋田、平田、西村）。これらの研究は、班研究の研究事業を遂行する上で大きな成果を上げている。ミトコンドリア脳筋症のMELASにおいて診断基準および重症度スコアが策定出来たことは、ミトコンドリア脳筋症を適応とする治験研究のインフラ整備が完成したと考える。今後は、MELASの急性期および発作間歇期のL-アルギニンによる治験研究が速やかに開始されることが切望される。

分担研究者

久留米大学医学部小児科

医師 秋田幸大、

医師 西岡淳子、

医師 古井 潤 (植木 勲)、

医師 Povalko Nataliya、

(飯盛健生)、

看護師 久木原博子、

薬剤師 石田香織、

農学博士 平田孝治、

臨床検査技師 西村美紀

A. 研究目的

ミトコンドリア病は、ミトコンドリアエネルギー産生系の異常により発症する遺伝病であり、ヒトの遺伝性疾患としては最も頻度の高いものと考えられている。その遺伝的および生化学的異常は、これまでの多くの研究により明らかにされてきている。しかしながら、本症が小児の難病であるにもかかわらず、我が国を含め世界における本症の診断基準は未だ確立されたものは無く、また効果的な治療方針も決められてはいない。このような状況の中で、本症の効果的診断法を確立し、有効な治療法を開発する事は、現行の医療制度の中では、社会的医療援助が受けられていない病気に苦しむ患者に光明を与え、後遺障害を予防出来、ひいては日本国の医療費削減に寄与できるものであり、一日も早いミトコンドリア病の治療環境の整備が必要である。

小児期発症のミトコンドリア脳筋症は、慢性進行性の難治性疾患でありながら、現在効果的治療方法の確立していない小児難病である。このミトコンドリア脳筋症の2病型 (MELAS、Leigh 脳症) に対するL-アルギニンおよびジクロロ酢酸療法の効果判断と分子病態を踏まえた新しい治療法開発研究をサポートするため、治験チームにおいて以下の研究を行った。①ミトコンドリア病の脳卒中を来す病型 (MELAS) でL-アルギニン療法の治験を行うためのプロトコールの作成およびインフォームドコンセント、レジストリー作成 (秋田、久木原)、②ミトコンドリア脳筋症の迅速診断センターを開設し、臨床的、生化学的、筋病理学的、遺伝学的解析を整備した (石田、平田、Povalko、西村)。③国内でのL-アルギニン酸化ストレスおよび血管内皮機能の測定 (植木、古井)、④症例の変異の臓器内分布および生化学的解析 (西岡、石田、Povalko)、⑤モデル動物の解析 (秋田、平田、西村)。この研究は、主研究を遂行するためのインフラ整備を完成するのに

必要である。

B. 研究方法

①治験事業整備への準備として MELAS のL-アルギニン療法を実施するための診断基準 (資料1)、重症度分類 (資料2)、プロトコール (資料3-1、3-2、3-3、3-4)、レジストリー作成 (資料4) を行った。われわれは、脳卒中様発作発現直後の MELAS 患者3名に対してL-アルギニン製剤 (10%塩酸L-アルギニン注射液) を投与し、脳卒中様症状の速やかな軽減・緩解が得られたことを世界で初めて報告した (Koga Y, et al, Neurology, 2002 58:827-828)。その後、更に多くの患者で効果を確認すべく22名の MELAS 患者の脳卒中様発作発現時に、L-アルギニン製剤を点滴静注し、投与30分後より頭痛、嘔気、嘔吐、半身痙攣、意識障害及び閃輝暗点等の症状の消失状態を観察した。また、血清学的なパラメーターを測定した。また、L-アルギニン国内使用例を臨床的に解析した (表1)。②ミトコンドリア脳筋症の迅速診断センターを開設し、臨床的、生化学的、筋病理学的、遺伝学的解析を整備した (図1)。臨床的に本症を疑われた場合、筋病理学的解析、電子伝達系もしくは酸素消費などを含む生化学的解析、さらには、ミトコンドリア DNA の全周解析を含む遺伝子解析を迅速に行える様に整備した (図2)。③国内でのL-アルギニン酸化ストレスおよび血管内皮機能の測定を患者で行い解析した。④個々の症例の詳細な臨床的解析を行い MELAS における病態を明確にした。⑤モデル動物の解析 (秋田、平田、西村) などを行った。

(倫理面への配慮) 研究に先立ち、患者には研究の目的および、主旨を十分に説明し、同意が得られた場合のみ、研究に使用した。疫学調査に関しては、指針に準拠して行った。また、本研究の計画調書は、久留米大学内の倫理委員会に提出し承認された (#9715、#2139)。遺伝子解析研究に関しては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を尊重した。

C. 研究結果

1) ミトコンドリア病の脳卒中を来す病型 (MELAS) でL-アルギニン療法の治験を行うための診断基準、重症度分類、プロトコール、インフォームドコンセント作成 (秋田、久木原)

①L-アルギニン療法の治験を行うためのプロトコールの作成

MELAS は、ミトコンドリア病の3大病型のうち約25%と最も発現頻度が高い疾患である。

MELAS 患者は、1～数ヵ月に1回程度、脳卒中様発作症状を繰り返すことと、乳酸アシドーシス（高乳酸血症）を主症状とする。脳卒中様発作症状としては、ほとんどの例で痙攣や意識障害、視野・視力障害、その他に頭痛、嘔吐が観察され、進行性の知能障害、筋力低下、低身長等が認められている。明らかな脳卒中様症状を繰り返した患者の剖検例では脳に大きな壊死巣が見られ、また、大きな発作を繰り返すごとに急激に知能低下が進行することから、臨床的には大きな発作を予防することが重要であると考えられている。

この脳卒中様発作の予防あるいは治療方法として、これまで種々の薬物療法あるいは分子遺伝学的治療が試みられてきたが、未だ治療法として確立されていない。

われわれは、脳卒中様発作発現直後の MELAS 患者 3 名に対して L-アルギニン製剤（10%塩酸 L-アルギニン注射液）を投与し、脳卒中様症状の速やかな軽減・緩解が得られたことを世界で初めて報告した（Koga Y, et al, Neurology, 2002 58: 827-828）。その後、更に多くの患者で効果を確認すべく 22 名の MELAS 患者の脳卒中様発作発現時に、L-アルギニン製剤を点滴静注し、投与 30 分後より頭痛、嘔気、嘔吐、半身痙攣、意識障害及び閃輝暗点等の症状の消失あるいは改善を認め、MELAS 患者の脳卒中様発作症状に対する L-アルギニン製剤の有効性を再確認した（Koga Y, et al, Neurology 64(4):710-2, 2005）。

②国内での MELAS 急性発作期の L-アルギニン使用症例の解析

現在まで日本国内において、臨床的な MELAS 患者 11 例の 14 回の脳卒中エピソードに対し、L-アルギニンが使用された。今回解析できた L-アルギニン使用経験例を表 1 に示す。全 11 症例中、MELAS と診断できない 4 例を除く 7 症例 10 回の脳卒中エピソードに関し解析すると、10 回のエピソード中、L-アルギニンの効果が著効ないし効果ありと判断されるケースは、9 回（90%）であり、何ら副作用は報告されていない。一方、効果無しと判断されたエピソードを持つ症例（症例 3）は、発症後 11 時間の投与であり、同じ症例の次のエピソードでは、発症後 35 分の投与で効果ありの判断を下されている。つまり、L-アルギニンは、発症後出来るだけ早期に（5-12 時間以内）使用することで、ほぼ 100%の効果を期待できることが判明した。

今回特記すべき知見は、脳の MRS 解析で、L-アルギニン投与により脳内の乳酸のピーク消失したという報告である（Kubota M et al, Brain Dev 2004 Oct;26(7):481-3）。

2) ミトコンドリア脳筋症の迅速診断センター開設

ミトコンドリア脳筋症の効果的な診断を行うために臨床的、生化学的、筋病理学的、遺伝学的解析を整備した診断センターを開設した（石田、平田、Povalko、西村）（図 1）。

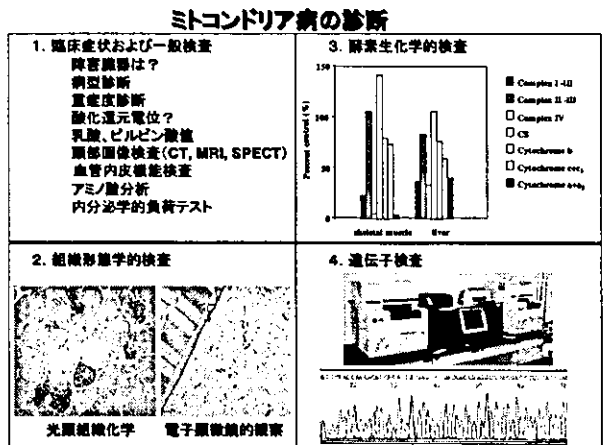
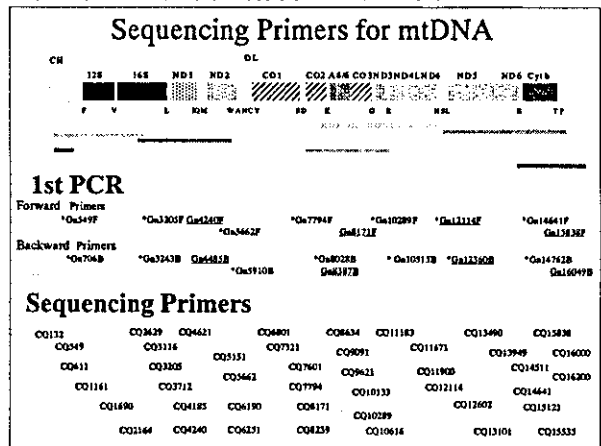


図 1

①効果的なミトコンドリア DNA の全周遺伝子解析の確立

ミトコンドリア異常症の臨床的多様性を考える場合、生化学的異常に影響を与えるミトコンドリア DNA の塩基配列、その多型は無視できない。よってミトコンドリア DNA 全周シーケンス法を決定し、MELAS 患者の塩基配列を検索、解析をし、PCR-RFLP 法による変異確認を行うことは正確に変異の存在確認ができる最も有用な方法であると考えられる。今後の分子遺伝学的検査のひとつとして、ミトコンドリア DNA 全周シーケンスシステムの構築し種々の症例を解析した。 図 2



②MELAS 患者のミトコンドリア DNA 全周解析

③Leber 遺伝性視神経萎縮症 (LHON) 患者のミトコンドリア DNA 全周解析

ロシア人 LHON 患者 15 人の解析を行い、病気の浸透率を 100%にする新規点変異を発見報告した（Povalko N, et al, Mitochondrion 2005 in press）。この点変異は、primary の 3

種の点変異に加えて、新たな病因となりうる塩基置換と考えられた。

3) 国内でのL-アルギニン酸化ストレスおよび血管内皮機能の測定 (植木、古井)

ミトコンドリア脳筋症(MELAS)患者に対して、超音波診断装置を用いて血管内皮機能の検討を行った。MELAS患者では正常群に対して有意に血管内皮機能の低下を認めた。血管内皮機能低下はミトコンドリアのエネルギー産生系酵素の異常による血管内皮からの一酸化窒素(NO)の放出障害であることが示唆された。

4) 症例の変異の臓器内分布および生化学的解析 (西岡、石田、Povalko)

①発症後電撃的な経過をとったMELASの一症例：症例報告

ミトコンドリア病は、ミトコンドリアのエネルギー産生系酵素の遺伝的異常により引き起こされる難治性進行性疾患である。ミトコンドリア異常は各組織や細胞ごとにその度合いが異なるため、その臨床像は各臓器障害の程度によってさまざまである。今回われわれは、初回脳卒中様発作後、電撃的に経過したのち、死亡した症例を経験したので報告した。

②視覚・聴覚障害及び知的退行をきたしたMELAS末期患者の生活実態

MELAS末期状態の患者は、食事摂取、排泄など広範な日常生活の援助が必要である。視覚、聴覚機能の完全消失により、意志の疎通が不可能であり、現状を考えると、長期療養型病院での入院管理が必要であると考えられる。患者のストレス発散のみでなく、介護者の精神的サポートが必要であり、在宅看護の場合は、ショートステイなどのプログラムが必要と考えられた。

5) モデル動物の解析 (秋田、平田、西村)。

単一遺伝子欠損による老化モデルであるKlotho遺伝子欠損マウスを用いて、老化の分子機構・生命維持機構の理解、さらに老化疾患の成立に関連する遺伝子群の解明の研究を行った。今回報告した挿入突然変異マウスは、世界で初めて得られた単一遺伝子の変異により、著明な早期老化を示すマウスであり、加齢にともなって発症する多くの疾患の成立を解明するために重要な疾患モデルと考えられている。

6) L-アルギニンの脳神経終末神経伝達物質輸送機構に及ぼす影響

脳シナプトソームにおけるL-アルギニンの新たな作用機作を考察するために、神経情報伝達機構を主点に、GluとGABAのアミノ酸動態を中心に生化学的諸性質を検討した。結果、Glu/GABAのシナプトソーム内小胞輸送は、ロテノン存在下、アルギニン投与後のGlu/GABA

の取込は減少傾向を示した。一方放出はL-アルギニン添加時に増加傾向を示し、KCl溶出で減少傾向を示した。粗シナプトソームにおいて輸送小胞へのアミノ酸取込と放出がL-アルギニン添加時に駆動すると考えられ、L-アルギニンのシナプトソームに対する何らかの機作が存在すると推察された。

D. 考察

MELASの診断基準、重症度分類を策定出来たことは、今後ミトコンドリア脳筋症の治療方法の開発研究を行う上で、整備すべき最低限の環境である。同時にミトコンドリア脳筋症の効果的診断法を確立できたことは、本症における治験のための薬物のインフラ整備が完成したと考えられ、満足すべき点と考えられる。自由研究としてのL-アルギニンの臨床報告は、国際誌に2報、その他の研究として国際誌に1報が掲載され、研究成果としては、満足すべくレベルと考えられる。ミトコンドリア脳筋症の診断治療で、国が認めたMELASの診断基準、重症度分類は、世界でも初めてである。また、MELASの脳卒中急性期治療および発作予防としてのL-アルギニンの特効薬的效果は、世界的に注目される治療方法であり、何れもNeurologyのhighlighting paperに採択された。今後、この治療法の適応に向けた治験研究の実施が望まれる。今回の治験チームでの研究は、今後の臨床治験に向けての必須のインフラ整備が完結したと考えられる。MELASに対するL-アルギニン療法は、日本で発見した特効薬的治療法であり、今後治験に向けた具体的な医療政策が望まれる。

E. 結論

本研究により、ミトコンドリア脳筋症の治験研究に対するインフラ整備が確立し、今後の治験研究への基盤が確立したと考えられる。

F. 健康危機情報

特記すべき事なし。

G. 研究発表

論文発表

古賀靖敏、植木勲：複合体I。日本臨床：増刊号「ミトコンドリアとミトコンドリア病」日本臨床社 p478-481。(2002年4月発刊)

古賀靖敏、植木勲：複合体II。日本臨床：増刊号「ミトコンドリアとミトコンドリア病」日本臨床社 p482-485。(2002年4月発刊)

古賀靖敏、柗山了：複合体III。日本臨床：増刊号「ミトコンドリアとミトコンドリア病」日本臨床社 p486-489(2002年4月発刊)

古賀靖敏：脳卒中を来すミトコンドリア病(MELAS)とその効果的治療法の開発、筑後小児

科医会会報 2002; 14 : 9-11.

古賀靖敏, 古賀敦子. 小児期発症ミトコンドリア脳筋症に対する新しい治療法. 小児科 2003;44(9):1361-1375.

古賀靖敏. 片頭痛とミトコンドリア病. 日本醫事新報社 2003 ; 4153 : 19-25.

古賀靖敏. 小児期発症ミトコンドリア脳筋症に対する新しい治療法の開発. 福岡県小児科医報 2003 ; 41 : 91-94.

西岡淳子, 古賀靖敏. 小児の悪性高熱症, 悪性症候群, 横紋筋融解症の臨床像と病態および治療. 小児科 2003 ; 44(13) : 2109-2117.

古賀敦子, 古賀靖敏. 神経症状を有するミトコンドリア遺伝子異常. 小児科 2004 ; 45(1) : 51-61.

古賀靖敏 : MELASの新しい治療法, 臨床検査 2005 ; 49(1) (印刷中) ミトコンドリア病.

Koga Y, Ishibashi M, Ueki I, Yatsuga S, Fukiyama R, Akita Y, Matsuishi T: Effects of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS. Neurology 2002; 58:287-288.

Koga A, Koga Y, Akita Y, Fukiyama R, Ueki I, Yatsuga S, Matsuishi T: Increased mitochondrial processing intermediates associated with three tRNA^{Leu}(UUR) gene mutations. Neuromuscular Dis 2003; 13:259-262.

Koga Y: MELAS and L-arginine therapy. Brain & Development 2004; 26:480.

Yamashita Y, Kusaga A, Koga Y, Nagamitsu S, Matsuishi T: Noonan syndrome, moyamoya-like vascular changes, and antiphospholipid syndrome. Pediatric Neurology 2004; 31(5): 364-366.

Koga Y, Akita Y, Nishioka J, Yatsuga S, Povalko N, Tanabe Y, Fujimoto S, Matsuishi T: L-arginine improves the symptoms of stroke-like episodes in MELAS. Neurology 2005 Feb;64(4):710-712.

Povalko N, Zakharova E, Rudenskaia G, Akita Y, Hirata K, Matsuishi T, Koga Y. A new sequence variant in mitochondrial DNA associated with high penetrance of Russian Leber hereditary optic neuropathy. Mitochondrion 2005 (in press)

Tsuneoka M, Teye K, Arima N, Soejima M, Otera H, Ohashi K, Koga Y, Fujita H, Shirouzu K, Kimura H, Koda Y. A novel MYC-target gene, mimitin, that is involved in cell proliferation of esophageal squamous cell carcinoma. J Biol Chem. 2005 Mar 17 (in press)

学会発表

古賀靖敏, 柗山了, 植木勲, 秋田幸大, 松石豊次郎 : ミトコンドリアRNAプロセッシング異常を来す MELAS 型点変異. 第105回日本小児科学会. 2002.4.19 (名古屋)

古賀靖敏, 秋田幸大, 植木勲, 松石豊次郎 : MELAS発作予防におけるL-アルギニンの治療効果 : 急性治療と緩解期の発作予防における評価. 第2回ミトコンドリア研究会年会. 2002.12.21 (東京)

古賀靖敏 : 片頭痛とミトコンドリア病. 第106回

日本小児科学会ワークショップII 「common disease にみる重要な疾患, 重大な疾患」. 2003. 4.25-27 (福岡)

古賀靖敏 : MELASにおけるL-アルギニン療法. 第45回日本小児神経学会イブニングトーク. 2003.5.22-24 (福岡)

Koga Y, Akita Y, Ueki I, Fukiyama R, Matsuishi T. Novel Therapeutic Trial of L-arginine on Acute Phase of Stroke in MELAS. 第76回日本生化学会大会シンポジウム「ミトコンドリアの多様性と機能障害」. 2003.10.15-18 (横浜)

古賀靖敏, 秋田幸大, 松石豊次郎 : ミトコンドリア脳筋症 (MELAS) のL-アルギニン療法. 第46回日本先天代謝異常学会. 2003.11.20-22 (松江)

伊藤晋一, 植木勲, 西岡淳子, 秋田幸大, 古賀敦子, 古賀靖敏, 松石豊次郎 : MELASの自然歴. 第424回日本小児科学会, 福岡地方会例会. 2003.4.12 (福岡)

植木勲, 秋田幸大, 柗山了, 古賀靖敏, 松石豊次郎 : ミトコンドリアtRNA遺伝子異常の遺伝子検索システム. 第45回日本小児神経学会. 2003.5.22-24 (福岡)

久木原博子, 藤丸千尋, 岩崎瑞枝, 古賀靖敏 : MELAS患者の症状に対応した生活支援のあり方を探る—思春期発症の事例を通して—. 第16回日本看護福祉学会. 3002.7.12 (玉名)

久木原博子, 藤丸千尋, 岩崎瑞枝, 古賀靖敏 : MELAS患者の自然歴における各病期 (重症度) に応じた看護の問題点—発症から10年の経過—. 第29回日本看護研究会学術集会. 2003.7.24-25 (大阪)

藤丸千尋, 久木原博子, 岩崎瑞枝, 古賀靖敏. 視覚・聴覚障害及び知的退行をきたしたMELAS末期患者の生活実態—患者および家族の心理的・身体的サポートシステムの整備に向けて—. 第29回日本看護研究会学術集会. 2003.7.25 (大阪)

平田孝治, 秋田幸大, 西岡淳子, 石田香織, 西村美紀, 光益千秋, 古賀靖敏. マウス脳神経終末アミノ酸の動態. 第3回日本ミトコンドリア研究会年会. 2003.12.18-20 (福岡)

石田香織, 西岡淳子, 秋田幸大, 平田孝治, 西村美紀, 光益千秋, 古賀靖敏. ミトコンドリアDNA全周シーケンスシステムの構築. 第3回日本ミトコンドリア研究会年会. 2003.12.18-20 (福岡)

秋田幸大, 柗山了, 平田孝治, 西岡淳子, 石田香織, 西村美紀, 光益千秋, 富田祐子, 古賀靖敏. 頭痛を伴う意識消失発作と糖尿病を呈するミトコンドリア機能異常症と考えられた症例. 第3回日本ミトコンドリア研究会年会. 2003.12.18-20 (福岡)

西岡淳子, 石田香織, 秋田幸大, 平田孝治, 西村美紀, 光益千秋, 古賀靖敏. 発症後電撃的な経過をとったMELASの一症例 : ミトコンドリア全周シーケンス解析法をふまえて. 第3回日本ミトコンドリア研究会年会. 2003.12.18-20 (福岡)

古賀靖敏、秋田幸大、西岡淳子、柗山了、植木勲、松石豊次郎：MELASの脳卒中様発作急性期および寛解期におけるL-アルギニン療法の効果。第107回日本小児科学会総合シンポジウム3「小児の難病はどこまで治るようになったか」。2004.4.9-11（岡山）

西岡淳子、古賀靖敏、秋田幸大、植木勲、後藤憲志、江上公康、柗山了、松石豊次郎：発症後電撃的な経過をとったMELASの一症例：ミトコンドリア全周解析法をふまえて。第107回日本小児科学会。2004.4.9-11（岡山）

秋田幸大、柗山了、植木勲、西岡淳子、古賀靖敏、松石豊次郎：意識消失発作を契機に糖尿病と診断され、mtDNA異常G3316Aを認めた症例。第107回日本小児科学会。2004.4.9-11（岡山）

古賀靖敏、秋田幸大、西岡淳子、松石豊次郎：MELASにおけるL-アルギニン療法。第45回日本神経学会。2004.5.11-14（東京）

米田誠、中川広人、安藤純哉、井川正道、藤井明弘、栗山勝、古賀靖敏：MELASの致死脳卒中様発作に対するL-アルギニンの効果。第45回日本神経学会。2004.5.11-14（東京）

後藤憲志、西岡淳子、秋田幸大、江上公康、八ツ賀秀一、古賀靖敏、松石豊次郎：劇症型転帰を取ったミトコンドリア脳筋症の一例。第430回日本小児科学会福岡地方会。2004.6.26（福岡：九州大学）

古賀靖敏、秋田幸大、西岡淳子、Povalko Nataliya、松石豊次郎：MELAS急性期および寛解期におけるL-アルギニン療法。第46回日本小児神経学会。2004.7.15-17（東京）

西岡淳子、秋田幸大、古賀靖敏、松石豊次郎：発症後電撃的な経過をとったMELASの一症例：ミトコンドリア全周解析法をふまえて。第46回日本小児神経学会。2004.7.15-17（東京）

秋田幸大、西岡淳子、古賀靖敏、松石豊次郎：老化促進モデルマウス（Klotho KO マウス）におけるミトコンドリアエネルギー代謝。第46回日本小児神経学会。2004.7.15-17（東京）

Povalko Nataliya、秋田幸大、西岡淳子、古賀靖敏：ロシア人Leber遺伝性視神経萎縮症家系における全周ミトコンドリアDNA解析。第46回日本小児神経学会。2004.7.15-17（東京）

瀬島斉、石崎茜、南憲明、木村正彦、古賀靖敏、後藤雄一、山口清次：L-アルギニン内服治療を継続しているMELASの幼児例－短期効果の検討－。第46回日本小児神経学会。2004.7.15-17（東京）

Hirata K, Akita Y, Koga Y: Effect of L-arginine on the transmission of neurotransmitter and mitochondrial respiration in mouse brain. 第77回日本生化学会 2004.10.13-16（横浜）

平田孝治、秋田幸大、Povalko Nataliya、西岡淳子、石田香織、西村美紀、光益千秋、古賀靖敏：老化モデルマウスと正常加齢マウスのミトコンドリアエネ

ルギー代謝・組織化学的相関。第4回日本ミトコンドリア研究会年会。2004.12.16-19（東京）

Povalko N, Akita Y, Hirata K, Nishioka J, Koga Y: A novel point mutation associated with high penetrance of Russian Leber's hereditary optic neuropathy. 第4回日本ミトコンドリア研究会年会。2004.12.16-19（東京）

Koga Y, Koga A, Akita Y, et al. Mitochondrial RNA processing intermediates showed dominant negative effects in mitochondrial myopathies. International Congress of Neuromuscular Disorders. 2002.7.6 (Vancouver, Canada)

Koga Y, Koga A, Akita Y, Ueki I, Fukiyama R, Matsuishi T. L-arginine ameliorates the cerebral hemodynamics in the acute episodes of MELAS. 127th American Neurological Association Annual meeting, 2002.10.15 (New York, USA)

Koga Y, Akita Y, Ueki I, Koga A, Matsuishi T. MELAS and L-arginine Therapy. The American society of human genetics 53rd Annual Meeting. 2003.11.4-8 (Los Angeles)

Koga Y, Akita Y, Nishioka J, Povalko N, Matsuishi T: MELAS and L-arginine Therapy. 6th European Meeting on Mitochondrial Pathology. 2004.6.30- 7.4 (Nijmegen, Holland)

Povalko N, Zakharova E, Akita Y, Nishioka J, Koga Y: Entire mtDNA sequence analysis in Russian LHON family. 6th European Meeting on Mitochondrial Pathology. 2004.6.30- 7.4 (Nijmegen, Holland)

Akita Y, Hirata K, Povalko N, Nishioka J, Ishida K, Nishimura M, Mitsumasu C, Koga Y: Mitochondrial energy metabolism in the klotho KO mouse. The American society of human genetics 54th Annual Meeting. 2004.10.26-30 (Toronto, Canada)

Hirata k, Akita Y, Povalko N, Nishioka J, Ishida K, Nishimura M, Mitsumasu C, Koga Y: Effect of L-arginine on the neurotransmission and the mitochondrial respiration of mice brain synaptosome. The American society of human genetics 54th Annual Meeting. 2004.10.26-30 (Toronto, Canada)

Ishida K, Akita Y, Povalko N, Hirata K, Nishioka J, Nishimura M, Mitsumasu C, Koga Y: The entire mitochondrial DNA analysis of 9 MELAS patients with an A3243G mutation. The American society of human genetics 54th Annual Meeting. 2004.10.26-30 (Toronto, Canada)

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定も含む。）

- 1) 国内特許：「ミトコンドリア機能異常に起因する疾患における臨床症状発現の予防・治療的組成物」出願番号：特許 2002-299575 として特許を取得した。
- 2) 国際特許：米国を除く国際特許提出中
- 3) 国内特許：アミノ酸分析の多変量解析による患者病態の層別化

資料 1. MELAS の診断基準

MELASの診断基準		厚生労働科学研究：古賀班 2005年3月作成
疾病系統	神経系	
主な症状	ミトコンドリア病の一病型である。頭痛と嘔吐に加え、痙攣、片麻痺、同名半盲や、皮質盲などの脳卒中様発作を主徴とし、難聴、知的退行、精神症状などの中枢神経系症状がみられる。中枢神経系以外の症状として、筋力低下、低身長、心筋症などを起こすほか、糖尿病、腎不全などを併発することもある慢性進行性の疾患である。遺伝性、家族性にあらわれるものがある。多くは20歳以前に発症する。	
認定基準	<p>確実例：下記のA. 卒中様の臨床所見の2項目を満たし、かつB. ミトコンドリア異常の根拠の2項目を満たすもの（計4項目以上必要）</p> <p>疑い例：下記のA. 卒中様の臨床所見の1項目を満たし、かつB. ミトコンドリア異常の根拠の2項目を満たすもの（計3項目以上必要）</p> <p><u>A. 卒中様の臨床所見</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1 頭痛／嘔吐 2 痙攣 3 片麻痺 4 同名半盲または皮質盲 5 脳画像上脳の急性局所異常所見^{注釈1} <p><u>B. ミトコンドリア異常の根拠</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1 血中又は髄液の乳酸値がくり返し高いか、またはミトコンドリア関連酵素の欠損^{注釈2} 2 筋生検でミトコンドリアの形態異常^{注釈3} 3 (MELAS関連の) 既知の遺伝子変異^{注釈4} 	

注釈1：頭部 CT、MRI などの脳画像検査で、脳の局所病変が存在する。

注釈2：安静臥床時の血中乳酸値、もしくは髄液の乳酸値が 2 mmol/L (18mg/dl) 以上か、あるいは、体細胞由来（筋組織が望ましい）の酵素検索で、電子伝達系、ピルビン酸代謝関連及び TCA サイクル関連酵素、脂質代謝系関連酵素などの酵素欠損がある場合。

注釈3：筋病理で、赤色ぼろ線維（ゴモリトリクローム変法染色における RRF: ragged-red fibers）、コハク酸脱水素酵素染色における RRF や SSV (strongly SDH -reactive blood vessels)、チトクローム c 酸化酵素欠損線維、電子顕微鏡によるミトコンドリア形態異常の存在など。

注釈4：MELAS の原因遺伝子として報告されている既知の遺伝子異常が存在する（ミトコンドリア tRNA-Leu(UUR) 遺伝子の A3243G、G3244A、A3252G、A3260G、T3271C、T3291C、ミトコンドリア tRNA-Val 遺伝子の G1642A、ミトコンドリア tRNA-Cys 遺伝子の A5814G、ミトコンドリア COXIII 遺伝子の T9957C、ミトコンドリア ND5 遺伝子の G13513A 変異など）。

資料2. ミトコンドリア脳筋症の重症度スコア

ミトコンドリア病の重症度スコア

European NeuroMuscular Conference (ENMC) mitochondrial disease rating scaleを改変^{注1}

評価可能対象年齢 6歳以上

厚生労働科学研究：古賀班 2005年3月作成

Section 1セクション1: activities of daily living 日常生活動作

A. Speech 会話

0- normal 正常

1- mildly affected, no difficulty being understood 軽度障害 会話は理解出来る

2- moderately affected, may be asked to repeat 中等度障害 聴きなおされる事がある

3- severely affected, frequently asked to repeat 重度障害 しばしば聴きなおされる

4- unintelligible most of time 最重度障害 ほとんど内容が聴き取れない

B. Swallowing 嚥下

0- normal 正常

1- rare choking まれにむせる

2- occasional choking 時にむせる

3- requires soft food 刻みあるいはペースト食

4- requires nasogastric or gastrostomy tube 経管栄養または胃瘻

C. Handwriting 書字

0- normal 正常

1- slightly small or slow 軽度障害、僅かに小字あるいはゆっくり書字

2- all words small but legible 中等度障害、小さいが判読可能

3- severely affected, not all words legible 重度障害 ほとんど判読可能

4- majority illegible 最重度障害、ほとんど判読不能

D. Cutting food- handling utensils 食物を刻む-道具の使用(手の巧緻性)

0- normal 正常

1- somewhat slow and clumsy but no help needed やや緩慢で不器用だが介助不要

2- can cut most foods, some help needed ほぼ刻むことは可能だが一部介助が必要

3- food must be cut, but can feed self 自分では刻めないが、食べることは出来る

4- needs to be fed 食事は全介助

E. Dressing 更衣

0- normal 正常

1- somewhat slow and clumsy but no help needed やや緩慢で不器用だが介助不要

2- occasional help with buttons or arms in sleeves 時にボタンや着衣に介助が必要

3- considerable help required but can do some things alone

多くの介助を要するが自分で出来ることもある

4- helpless 全介助

F. Hygiene 洗面・入浴

0- normal 正常

1- somewhat slow and clumsy but no help needed やや緩慢で不器用だが介助不要

2- needs help with shower or bath or very slow in hygienic care

入浴介助が必要あるいは非常に緩慢で時間を要

3- requires assistance for washing, brushing teeth, going to bathroom

洗顔、歯磨き、風呂場に行くのに介助を要す

4- helpless 全介助

G. Falling 転倒

0- none なし

1- rare falling まれに転倒

2- less than one per day 一回/日未満

3- average of once per day 平均一回/日

4- more than one per day 一回/日以上

H. Paroxysmal event (migraine, seizures) 発作症状 (片頭痛、けいれん)

- 0- none なし
- 1- < 1 every 1 month 1回/月未満
- 2- > 1 every 1 month < 1 every week 1回/月 - 1回/週
- 3- > 1 every 1 week < 1 every day 1回/週 - 1回/日
- 4- > 1 every day/ status 1回/日以上・痙攣重積

Section 2: セクション2 motor 運動

A. Proximal muscle strength (modified MRC) 近位筋筋力 (MRC 修正)

- 0- normal 正常
- 1- slight reduction of power (grade4 MRC) 軽度筋力低下 (MRC4)
- 2- moderate impairment, able to overcome gravity (MRC3) 中等度筋力低下、抗重力運動可能 (MRC3)
- 3- severe weakness, unable to overcome gravity (MRC2) 重度筋力低下、抗重力運動不能 (MRC2)
- 4- severe weakness, flicker only (MRC1) 重度筋力低下、僅かに動く (MRC1)
- 5- no voluntary muscle activity (MRC0) 最重度筋力低下、随意運動不能 (MRC0)

B. Upper limb coordination (modified ICARS) 上肢の協調運動
(修正ICARS, International Cooperative Ataxia Rating Scale)

- 0- normal 正常
- 1- mild clumsiness- no significant disability 軽度協調運動異常
- 2- moderate clumsiness- poor writing, able to perform ADL 中等度協調運動異常
書字に影響あるものの日常生活動作に問題なし
- 3- severe clumsiness- unable to write 重度協調運動異常、書字不能
- 4- severe clumsiness- unable to feed 重度協調運動異常 食事摂取不能

C. Walking 歩行

- 0- no limitation 全く問題なし
- 1- limited a little (getting tired after 1-2 km) 軽度障害、1-2km歩行で疲労
- 2- moderately limited (difficulties keeping up with friends) 中等度障害、健常人について歩くのが困難
- 3- severe limited (having to stop every 100-400m to rest) 重度障害、100-400mで休息必要
- 4- no walking distance beyond 10m 最重度障害、10m以上歩けない

D. Moderate motor activities (such as vacuum cleaning, carrying groceries, climbing one flight of stairs, preparing your bed) 中等度の運動活動、電気掃除機の操作、買い物、階段昇降、ベッドメイキングなど

- 0- no limitation 制限なし
- 1- limited a little 僅かに制限
- 2- moderately limited 中等度制限
- 3- severely limited 高度に制限
- 4- not capable 不可能

E. Vigorous motor activities (such as running, climbing several flights of stairs, or participating on other strenuous sports) 活発な運動 (走る、階段を一気に昇る、激しいスポーツに参加する)

- 0- no limitation 制限なし
- 1- limited a little 僅かに制限
- 2- moderately limited 中等度制限
- 3- severely limited 高度に制限
- 4- not capable 不可能

Section 3 セクション3: special sensory 感覚

A. Vision 視覚

- 0- Normal 正常
- 1- unable to drive or equivalent (i.e. unable to read traffic or shop signs)

- 交通標識が読めず運転出来ない (18歳以下では、黒板の字・看板が読めない)
- 2- unable to read normal print books 普通の大きさの活字が読めない
- 3- unable to read standard large print books 標準拡大活字が読めない (眼鏡が必要)
- 4- unable to watch TV TVを見ることが出来ない
- 5- no useful vision ADLに著しく影響し、視力がほとんど無い

B. Auditory 聴覚

- 0- < 10dB loss
- 1- 10-20 dB loss (軽度難聴)
- 2- 20-40 dB loss (ささやき声が聞こえない)
- 3- severe >40 dB but improves with hearing aid 補聴器が必要
- 4- severe >40 dB loss and does not improve with hearing aid 補聴器でも改善しない

Section 4 セクション4: endocrine 内分泌障害

- 0- normal 正常
- 1- single endocrine organ involvement 単一内分泌臓器障害
- 2- 2 endocrine organs involved 二つの内分泌臓器障害
- 3- 3 endocrine organs involved 三つの内分泌臓器障害
- For diabetes, add 1 for insulin treated インスリンを要する糖尿病は1点追加

Section 5 セクション5: cardiac 心合併症

- 0- normal ECG and ECHO 正常心電図、心エコー
- 1- conduction system disease, mild impaired LV function (EF >60%) or asymptomatic hypertrophy 不整脈、軽度左室機能低下 (EF >60%)、無症候性肥大型心筋症
- 2- ECHO evidence of cardiomyopathy and restricted physical activity (EF <60%) or cardiac pacemaker 心エコーで心筋症所見あり EF 低下 (<60%) またはペースメーカー装着
- 3- Moderate cardiomyopathy (EF <40-60%) 中等度心筋症 (EF <40-60%)
- 4- Severe cardiomyopathy 重度心筋症

Section 6 セクション6: 腎機能^{注2}

- 0- 正常
- 1- クレアチンクリアランス <50-90%
- 2- クレアチンクリアランス 30-50%
- 3- クレアチンクリアランス 10-30%
- 4- クレアチンクリアランス <10ml/min もしくは透析が必要

Section 7 セクション7: cognition and impairment 高次脳機能と障害

A. intellectual impairment 知的障害

- 0- normal 正常
- 1- mild (consistent forgetfulness with partial recollection of events with no other difficulties) 軽度記憶力障害、日常上問題にならない程度だが、一部に健忘がある
- 2- moderate memory loss with disorientation and moderate difficulty handling complex problems 中等度記憶力障害、見当識障害があるが簡単な対応は出来る
- 3- severe memory loss with disorientation to time and often place, severe impairment with problems 重度記憶力障害、時間や場所の見当識障害があり著しく日常生活が困難
- 4- severe memory loss with orientation only to person, unable to make judgments or solve problems 重度記憶力障害、人に対してのみ見当識は保たれているが日常生活上の問題対応能力は皆無

B. Motivation and drive 動機付けと意欲

- 0- Normal 正常
- 1- lacking in energy, does not restrict activities ただ何となく気力がない
- 2- lacking in energy, restricts hobbies and interests 気力がなく、限定した興味

- 3- lacking in energy, restricts day to day(routine) activities 気力がなく, 日常生活が制限される
- 4- unable to carry out any task どんな作業でも遂行することができない

注1 : ENMCでは主として成人年齢を対象とすることを前提するものと推定され、日本語版では小児年齢も含めるため対象年齢明記

注2 : セクション6 腎機能は日本語版で追加

資料4 患者レジストリー

小児科施設	症例	神経内科施設	症例
久留米大学医学部附属病院	22	北里大学病院	9
東京女子医科大学附属病院	9	北海道大学医学部附属病院	8
千葉県こども病院	7	藤田保健衛生大学病院	6
東北大学医学部附属病院	5	株式会社日立製作所日立総合病院	6
徳島大学医学部附属病院	5	筑波大学附属病院	4
名古屋大学医学部附属病院	5	自治医科大学附属病院	4
自治医科大学附属病院	4	横浜市立大学医学部附属病院	4
府立母子保健総合医療センター	4	川崎医科大学附属病院	3
旭川医科大学医学部附属病院	3	埼玉医科大学附属病院	3
名古屋市立大学病院	3	市立泉佐野病院	3
国立療養所三重病院	2	国立療養所宮城病院	2
大阪大学医学部附属病院	2	九州大学医学部附属病院	2
滋賀医科大学医学部附属病院	2	山口大学医学部附属病院	2
広島大学医学部附属病院	2	岩手医科大学附属病院	2
市立豊中病院	2	産業医科大学病院	2
国立高知病院	1	京都府立医科大学附属病院	2
国立福山病院	1	山形県立河北病院	2
国立療養所南京都病院	1	都立駒込病院	2
国立療養所宮崎東病院	1	奈良県立医科大学附属病院	2
秋田大学医学部附属病院	1	福島県立医科大学医学部附属病院	2

L-アルギニンの臨床研究実施計画書（1）

－ MELAS 脳卒中様発作急性期症状に対する
L-アルギニン（注射剤）の改善効果の検討 －

作成年月日：2004年12月6日

久留米大学医学部小児科

古賀靖敏

施設名：

研究担当者：

目次

1. 臨床研究実施計画書の要約	4
副次的評価項目	5
2. 経緯と背景	6
3. 目的	7
4. 臨床研究の計画	8
4.1 試験スケジュール	8
4.2 対象	8
4.2.1 選択基準	8
4.2.2 除外基準	8
5. 被験薬剤	10
5.1 薬剤 (L-アルギニン製剤およびD-アルギニン) の名称	10
5.2 剤型、容量、貯法及び組成	10
6. 投与方法	11
6.1 投与スケジュール	11
6.2 投与量及び投与方法	11
6.3 投与開始時期	11
6.4 投与期間	11
6.5 併用薬剤及び併用療法	11
6.5.1 併用禁止薬	11
6.5.2 併用禁止療法	12
6.5.3 併用可能な薬剤又は治療法	12
7. 観察、評価項目及び時期	13
7.1 観察、検査スケジュール	13
7.1.1 臨床症状の観察	14
7.1.2 理学検査	14
7.1.3 血液検査	14
7.1.4 特殊検査	14
7.1.5 画像検査	14
7.2 被験者特性の調査項目	15
7.3 有効性の判定・評価項目	15
7.3.1 有効性の主要評価項目	15
7.3.2 有効性の副次的評価項目	16
7.4 安全性の測定・評価項目	16
7.4.1 自覚症状・他覚所見	17
7.4.2 バイタルサイン (体重、体温、血圧、脈拍数)	17
7.4.3 臨床検査	17
7.4.4 バイタルサイン及び臨床検査値の取扱い	17
7.4.5 追跡調査	18
7.5 L-アルギニン製剤及び併用薬の投与状況の調査	18
8. 被験者の同意取得及び情報提供	19
8.1 同意文書及び同意説明文書の作成	19
8.2 同意説明文書に記載すべき内容	19
8.3 同意取得の時期と方法	19

8.4	同意取得に関する一般的留意事項	20
8.4.1	一般的留意事項	20
8.5	臨床研究への継続参加の確認及び同意文書・同意説明文書の改訂	20
9.	被験者の安全性確保	21
9.1	基本的事項	21
9.2	有害事象発現時の対応	21
9.2.1	有害事象の定義	21
9.2.2	重篤な有害事象の定義	21
9.2.3	副作用の定義	21
9.2.4	有害事象の程度（重症度）	22
9.2.5	予測できない副作用の定義	22
9.3	被験者の予想される禁忌、副作用	22
10.	中止基準と手順	23
10.1	投与中止基準	23
10.2	中止手順	23
10.2.1	一般的手順	23
10.2.2	緊急手順	23
11.	統計解析	24
11.1	症例及び観測値の取り扱い	24
11.2	有効性評価	24
11.2.1	有効性評価に関する解析対象集団	24
11.2.2	人口統計学的及び他の基準値の特性	24
11.2.3	評価項目の解析方法	24
11.3	安全性評価	24
11.3.1	安全性評価に関する解析対象集団	24
11.3.2	安全性評価項目と解析方法	24
12.	参考文献	25
13.	同意書および説明文	26
13.1	同意書	26
13.2	説明文	27
14.	MELAS 調査票（静注剤）	28
15.	添付資料	34
15.1	MELAS の診断基準	34
15.2	MELAS の重症度分類	35

略号及び用語の定義

本臨床研究実施計画書中の略号については、以下のとおり定義する。

ADMA	asynmetric dimethyl-arginine
L-アルギニン製剤	本臨床研究で評価する薬剤（被験薬） （アルギU注 又は アルギニン注「リソ」）
ALP	alkaline phosphatase
ALT	alanine aminotransferase (GPT)
AST	aspartate aminotransferase (GOT)
BUN	尿素窒素 (blood urea nitrogen)
cGMP	サイクリック GMP (guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate)
Cr	血清クレアチニン
CT	コンピューター断層撮影 (Computed Tomography)
GOT	Glutamic oxaloacetic transaminase
GPT	Glutamic pyruvic transaminase
γ-GTP	γ-Glutamyltranspeptidase
Hb	血色素量 (hemoglobin)
Ht	ヘマトクリット値 (hematocrit)
iNOS	誘導型 NO 合成酵素 (inducible Nitric Oxide Synthase)
LDH	乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase)
L/P	乳酸/ピルビン酸 (Lactate/Pyruvate)
MELAS	mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes
MRI	磁気共鳴画像 (Magnetic resonance imaging)
NOx	窒素酸化物 (Nitric Oxide metabolites X)
PLT	血小板 (platelet)
RBC	赤血球 (red blood cell)
TBiI	総ビリルビン (total bilirubin)
TCho	総コレステロール (total cholesterol)
TG	triglyceride
99mTc-ECD-SPECT	Technetium-99m Electronic Circular Dichroism Single Photon Emission Computed Tomography
WBC	白血球数 (white blood cell)

1. 臨床研究実施計画書（治験計画書）（静注療法）の要約

目的	脳卒中様発作症状を発現している MELAS 患者に対して、可能な限り早期に L-アルギニン製剤 5-10mL/kg を点滴静注し、その有効性（臨床症状の改善）及び安全性（副作用、臨床検査値異常変動）を検討し、L-アルギニン製剤の効能効果に MELAS の急性期治療薬を追加承認する。																	
対象	脳卒中様発作症状を発現している MELAS 患者で、MELAS の診断基準を全て満たし、かつ下記の除外基準に抵触しないものを対象とする。																	
選択基準	(1) 臨床所見、病理学的検査、並びに遺伝学検査により総合的に MELAS の診断基準を満たしている患者 (2) 年齢、性別、入院・外来は不問 (3) 本臨床研究への参加に対し、事前に患者本人（小児の場合は本人及び親権者、患者本人からの同意が困難な場合には代諾者）から文書による同意が得られる者																	
除外基準	(1) 明らかに脳障害が進行し、痴呆、寝たきり等の認められている患者 (2) 糖尿病、高脂血症、敗血症を合併している患者 (3) アルギナーゼ欠損症の患者 (4) 高クロール性アシドーシスの患者 (5) 気管支喘息の患者 (6) 重篤な肝機能、腎機能、心機能障害を有する患者 (7) 心疾患により冠血管拡張剤（硝酸剤）を服用している患者 (8) 薬物過敏症の患者 (9) 妊娠中、授乳中又は妊娠している可能性のある患者 (10) 他の臨床研究終了後 6 ヶ月以内（同意取得時）の患者 (11) その他、臨床研究責任医師、分担医師により対象として不適切と判断された患者。																	
薬剤	被験薬：L-アルギニン製剤 (1) 薬剤名：アルギU注「味の素」又はアルギニン注「リソ」 (2) 成分含量及び剤型：10%塩酸 L-アルギニン製剤、注射剤 (3) 薬剤の包装：アルギU注「味の素」200mL/袋（プラスチックバッグ） アルギニン注「リソ」300mL/ガラス瓶																	
被験者の同意	被験者本人（小児の場合は本人及び親権者、患者本人からの同意が困難な場合には代諾者）																	
投与スケジュール	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">投与前</th> <th colspan="2">1日目</th> <th colspan="2">2～5日目*</th> </tr> <tr> <th></th> <th>2時間後</th> <th></th> <th>2時間後</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>救急処置</td> <td>L-アルギニン製剤 5・10mL/kg/day もしくはD-アルギニン5mL/kg/day</td> <td>有効性判定</td> <td>L-アルギニン製剤 5・10mL/kg/day もしくはD-アルギニン5mL/kg/day</td> <td>有効性判定</td> </tr> </tbody> </table> <p>* 1日目の投与が有効であった場合のみ2日目以降も投与を継続する。</p>				投与前	1日目		2～5日目*			2時間後		2時間後	救急処置	L-アルギニン製剤 5・10mL/kg/day もしくはD-アルギニン5mL/kg/day	有効性判定	L-アルギニン製剤 5・10mL/kg/day もしくはD-アルギニン5mL/kg/day	有効性判定
投与前	1日目		2～5日目*															
		2時間後		2時間後														
救急処置	L-アルギニン製剤 5・10mL/kg/day もしくはD-アルギニン5mL/kg/day	有効性判定	L-アルギニン製剤 5・10mL/kg/day もしくはD-アルギニン5mL/kg/day	有効性判定														
投与量及び投与方法	投与量は、5・10mL/kg を末梢静脈より1時間かけて点滴静注する。ただし、投与速度は200mL/h を上限とする。																	

投与開始時期	発作発現後可能な限り早期（遅くとも12時間以内）に投与を開始する。
投与期間	原則として1回単回投与する。ただし、発作急性期症状の消失するまで最大5日間投与できる
併用禁止薬 併用禁止療法	①エダラボン（ラジカット®）、②ジクロロ酢酸、③ミダゾラム、④麻酔剤、 ⑤ステロイドパルス療法 併用禁止期間は、本薬剤の1日目の投与開始から投与後2時間の効果判定までであり、投与終了後に効果無ければ使用できるものとする。
併用可能薬	救急処置用： ○痙攣：高度の場合は、制限なし。高度でない場合はジアゼパム注（セルシン®等）を使用する。 ○痙攣以外：ヒドロキシジン注（アタラックスP®）等、ドンペリドン坐剤（ナウゼリン®）等 その他、救急処置以外の薬剤（ビタミン剤等）については、特に制限しない。
観察、検査及び調査項目	(1)臨床症状（発作急性期症状、自覚症状、副作用） (2)理学検査（体重、体温、血圧、脈拍、脳波） (3)血液検査（一般、生化学、血液ガス） (4)特殊検査（血中アルギニン、シトルリン、NO _x 、c-GMP、ADMA、乳酸、ピルビン酸） (5)画像検査（MRI、CT、SPECT、等）
評価項目	1. 有効性 ・主要評価項目：1日目の投与終了2時間後の脳卒中様発作症状の改善の有無 ・副次的評価項目： ①投与終了後の脳卒中様発作症状の推移 ②2～5日目の投与終了後2時間目の脳卒中様発作症状の改善の有無 ③特殊検査（血中アルギニン、血中シトルリン、乳酸、ピルビン酸、血中NO _x 、c-GMP、ADMA）の推移 ④画像検査（CT、MRI、SPECT、MRSなど） 2. 安全性 副作用発現率