

⑧生体内に存在する物質であり、副作用がほとんどなく、多くの臨床研究がすでに存在している（臨床使用については公知の事実となっている）。

項目 1 の引用文献

- 1) Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Kakuma T, Koga Y, Taro Matsuoka for MELAS Study Group in Japan. MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochim Biophys Acta-general*. 2012 May;1820(5):619-24.
- 2) Kaufmann P, Engelstad K, Wei Y, Jhung S, Sano MC, Shungu DC, Millar WS, Hong X, Gooch CL, Mao X, Pascual JM, Hirano M, Stacpoole PW, DiMauro S, De Vivo DC. Dichloroacetate causes toxic neuropathy in MELAS: a randomized, controlled clinical trial. *Neurology*. 2006 Feb 14;66(3):324-30.
- 3) Tanaka M, Nishigaki Y, Fuku N, Ibi T, Sahashi K, Koga Y. Therapeutic potential of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. *Mitochondrion*. 2007 Dec;7(6):399-401.
- 4) P. Kaufmann, MD, D.C. Shungu, Sano, S. Jhung, K. Engelstad, E. Mitsis, X. Mao, S. Shanske, M. Hirano, S. DiMauro, and D.C. De Vivo. Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS. *Neurology* 2004;62:1297–1302
- 5) P. Kaufmann, MD, D.C. Shungu, Sano, S. Jhung, K. Engelstad, E. Mitsis, X. Mao, S. Shanske, M. Hirano, S. DiMauro, and D.C. De Vivo. Natural history of MELAS associated with mitochondrial DNA m.3243A>G genotype. *Neurology* 2011;77:1965–1971.
- 6) FRIEDRICH C. LUFT. Lactic Acidosis Update for Critical Care Clinicians. *J Am Soc Nephrol* 12: S15–S19, 2001
- 7) Kuroda Y, Ito M, Toshima K, Takeda E, Naito E, Hwang TJ, Hashimoto T, Miyao M, Masuda M, Yamashita K, et al. Treatment of chronic congenital lactic acidosis by oral administration of dichloroacetate. *J Inher Metab Dis*. 1986;9(3):244-52.
- 8) MICHAEL P. KING, YASUTOSHI KOGA, MERCY DAVIDSON AND ERIC A. SCHON. Defects in Mitochondrial Protein Synthesis and Respiratory Chain Activity Segregate with the tRNA^{LeU}(UUR) Mutation Associated with Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like Episodes. *Molecular and Cellular Biology*, Feb. 1992, p. 480-490
- 9) Robert T. Mallet, Jie Sun, E. Marty Knott, Arti B. Sharma, Albert H, Olivencia-Yurvati. Metabolic Cardioprotection by Pyruvate: Recent Progress. *Experimental Biology and Medicine* 2005, 230:435-443.

2 物理的、化学的及び薬剤学的性質並びに製剤組成

2.1 化学式及び構造式

CAS番号: 113-24-6

化学名: ピルビン酸ナトリウム

別名: ピルビン酸ナトリウム;2-オキシプロパン酸ナトリウム;2-オキシプロピオン酸ナトリウム;ピルビン酸ナトリウム塩

英語化学名: Sodium pyruvate

2.2 物理的・化学的性質

融点: >300 °C(lit.)

比重(密度): 1,267g/cm

屈折率: 1,426-1,43

貯蔵温度: 2-8° C

solubility: H₂O: 100 mg/mL

外観: 白色粉末

純度: 99.0%以上

BRN: 3568341

安定性: Stable. Incompatible with strong oxidizing agents.

CAS データベース: 113-24-6(CAS DataBase Reference)

EPAの化学物質情報: Propanoic acid, 2-oxo-, sodium salt(113-24-6)

2.3 薬剤学的性質並びに製剤組成 データなし

2.4 製剤の安定性 データなし

2.5 再溶解液の安定性 データなし

3 薬理試験

3.1 効力を裏付ける試験

①ピルビン酸はシトリン欠損マウス (Ctrn^{-/-}) におけるアンモニアからの尿素合成障害を改善する¹⁾

ミトコンドリアのアスパラギンとグルタミン酸キャリアーであるシトリンをコードしているSLC25A13の変異は、成人発症II型シトルリン血症 (CTLN2) の原因である。シトリンKOマウス (Ctrn^{-/-}) ではCTLN2の症状は呈さないが、肝の還流では乳酸/ピルビン酸比の上昇を伴うアンモニアからの尿素合成障害を来す。この研究では、ピルビン酸の効果を確かめるために、シトリンKOマウス (Ctrn^{-/-}) でのアスパラギンとシトリンについて検討した。方法は、肝還流実験によりアンモニウムクロライドからの尿素合成率を測定した。その結果、シトリンKOマウス (Ctrn^{-/-}) の肝を用いた還流実験では、ピルビン酸の投与により、L/P比は低下し、アンモニアからの尿素合成障害を改善した。この影響は用量依存性であつ

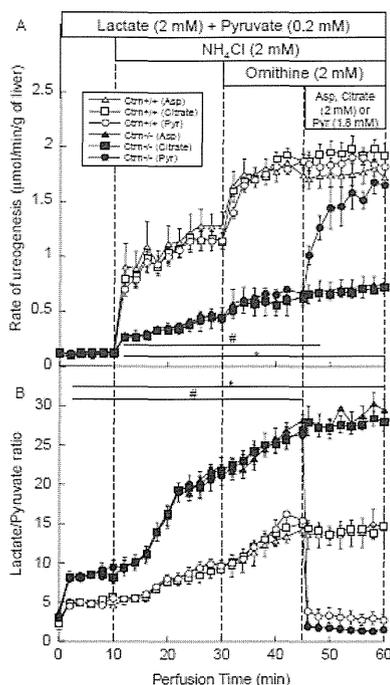


Fig. 1. Effects of Asp, citrate and Pyr on ureogenesis (A) and L/P ratio (B) in perfused liver. Ureogenesis from NH_4Cl and L/P ratio were measured by perfusion with Lac, Pyr, NH_4Cl , Orn, Asp and citrate infused for times indicated in figure. The concentrations for each are shown. Livers from $\text{Ctrn}^{+/+}$ or $\text{Ctrn}^{-/-}$ mice were perfused as described in Section 2. Results are expressed as means \pm SEM for 5-6 independent experiments. Significant difference between genotypes within the same treatment group are indicated by * ($P < 0.05$) for Asp and citrate, and # ($P < 0.05$) for Pyr.

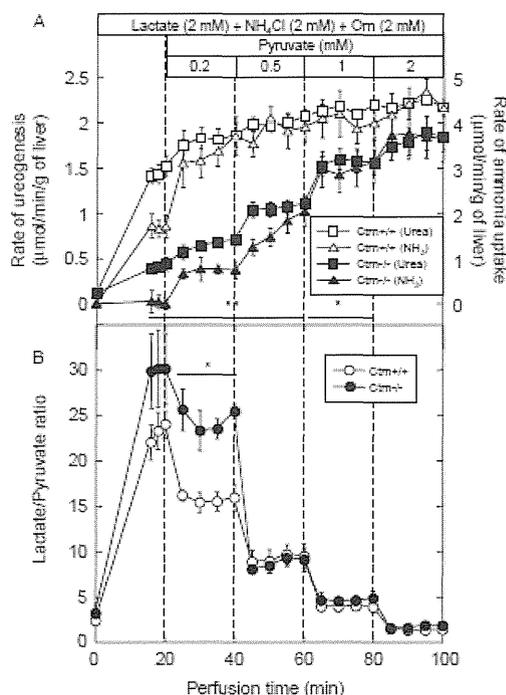


Fig. 2. Dose-dependent effect of Pyr on ureogenesis and ammonia uptake (A), and L/P ratio (B). Following Lac, NH_4Cl and Orn infusion, the Pyr concentration was gradually raised, as shown in figure. Results are expressed as means \pm SEM for four independent experiments. * ($P < 0.05$) and ** ($P < 0.01$) for significant differences in urea, ammonia and L/P values compared to $\text{Ctrn}^{+/+}$ mice.

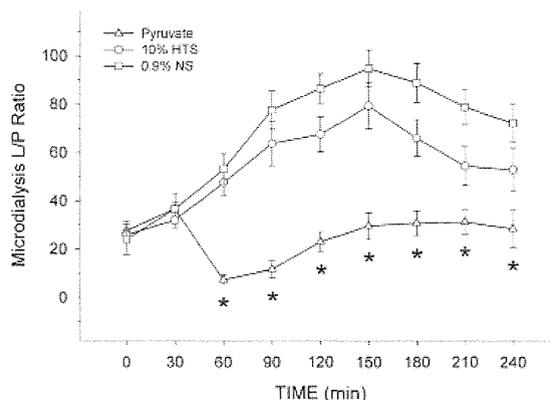
た。一方、細胞質での酸化剤である phenazine methosulfate でも、尿素合成障害を改善し、L/P 比も低下した。アスパラギンとシトリンの添加は、尿素合成障害も L/P 比もいずれも変化しなかった。シトリン欠損は、還元等量の再酸化の限界により一次的に細胞質の NADH/NAD⁺比が上昇することで、尿素合成障害を来すと考えられた。この実験から、ノックアウトマウスの肝を使った還流実験では、ピルビン酸は細胞質の NADH/NAD⁺比を低下することが示された。

②ピルビン酸は豚での出血性ショックにおいて酸化還元状態を改善させ肝臓でのアポトーシス指標を減少させる²⁾

出血性ショックにおいては、肝での障害が最初の兆候となる。豚でのハロセン麻酔時の出血性ショックにおいて、ピルビン酸が肝障害を予防するメカニズムについて検討した。血圧 40mmHg での 4 時間の出血後の 30 分後に、ピルビン酸ナトリウムを動脈内濃度が 5mM となるように(0.5g/kg/h)で投与した。量と浸透圧は 10%食塩水 (HTS) と 0.9%の生理的食塩水 (NS) と同じ様に調整した。最大出血量はピルビン酸および HTS いずれも増加したが、ピルビン酸投与群では心循環不全を来す時期を遅らせることが出来た。さらに、ピルビン酸は、ピルビン酸レベルを微小透析することで、乳酸/ピルビン酸比を有意に減少させ、

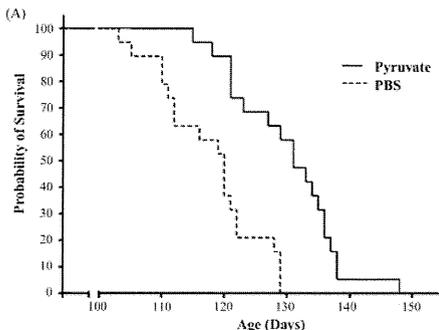
Table 4. Caspase 3 and PARP immunoblot signal intensity

Protein	Pyruvate	0.9% NaCl	10% NaCl
Intact caspase 3 (32 kDa)	0.81 \pm 0.03*	0.43 \pm 0.02	0.64 \pm 0.16
Activated caspase 3 (21 kDa)	0.02 \pm 0.01*	0.54 \pm 0.10	0.41 \pm 0.11
Total caspase 3 (32 + 21 kDa)	0.83 \pm 0.17	0.97 \pm 0.21	1.05 \pm 0.62
%Activated caspase 3 [(21/32 kDa)100]	3%*	56%	40%
Intact PARP (116 kDa)	3.27 \pm 0.27	2.94 \pm 0.33	2.63 \pm 0.16
Fragmented PARP (85 kDa)	0.05 \pm 0.03*	1.15 \pm 0.08	0.93 \pm 0.05
Total PARP (116 + 85 kDa)	3.32 \pm 0.63	4.09 \pm 0.92	3.56 \pm 0.41
%PARP fragmentation [(85 kDa/116)100]	1.5%*	28%	26%



NADH/NAD の酸化還元状態を効率よく維持できた。ピルビン酸は、細胞内抗オキシダントである GSH の減少を抑制し、GSH/GSSG 比を減少させた。このような酸化還元状態を好ましい方向に変化することで、アポトーシス環境における肝細胞死を防ぐ事が可能である。ピルビン酸は、有意に Bcl-X1 (antiapoptotic molecule)/Bax (proapoptotic molecule)比を増加させ、ミトコンドリアからのチトクローム C の放出を抑制し、caspase 3 と poly(ADP ribose) polymerase (DNA repair enzyme)の断片化を減少させた。これらの効果は、重篤な出血性ショックの発現から 30 分以内にピルビン酸を静注する事で、還元状態を保ち抗オキシダントの中心的役割を担う GSH の減少を抑制でき、初期の細胞死のマーカーを減少させることが出来る。

③ピルビン酸は G93A SOD1 トランスジェニックマウス（筋萎縮性側索硬化症のモデル）の病気の進行を遅らせる³⁾



(B)

Group	Disease Onset	Mean Survival
PBS-treated	97.1 ± 9.1	117.8 ± 8.0
Pyruvate-treated	98.1 ± 8.5	130.1 ± 8.5
	n.s.	P < 0.05

ALS（筋萎縮性側索硬化症）は、選択的な運動神経の神経細胞死を特徴とする進行性神経変性疾患であり、有効な治療法が無い遺伝病である。この動物モデルである G93A SOD1 トランスジェニックマウスを用い、ピルビン酸が病気の進行を抑えられるかの検討を行った。マウスは、生後 70 日からピルビン酸を 1000mg/kg/week で腹腔内投与したところ、その生存期間が平均 12.3 日（10.5%）延長し、病気の進行を遅くし運動能力も改善したが病気の発現時期に変化はなかった。ピルビン酸の治療効果は、nitrotyrosine の免疫反応性やグリア造成も低下させ、マウス脊髄の Bcl-2 発現を増加させた。これらの事実から、ピルビン酸治療は、ALS の治療方法として期待できる。

④ピルビン酸は心肺停止時の救急蘇生において神経学的回復を促す⁴⁾

目的：心停止から蘇生する場合に脳内酸化ストレスと代謝不全が神経学的回復に重要である。主要な抗酸化作用とエネルギー源となるピルビン酸は酸化一虚血に起因する神経障害に対して抗オキシダントを示す。この研究では、心肺蘇生を行う中で急性にピルビン酸治療を行う事で心停止から神経機能不全や神経障害を防ぐことが出来るかどうかを検証した。方法：麻酔後、5 分間開胸下で心停止を起こし 5 分間心臓圧迫を行い除細動をしたのち 3 日で回復した。ピルビン酸（9 匹）、塩化ナトリウム（8 匹）は 0.125mmol/kg/min で OCCC で投与し最初の 55 分で回復した。同朋のイヌ（6 匹）は手術し心停止—蘇生なく回復した。結果：2 日目の回復度では、神経学的障害スコア（NDS）は NaCl 処理したイヌ（10.3 ± 3.5）で同朋イヌ（1.2 ± 0.4）に比較しより鮮明に回復したが、ピルビン酸処理したものではさらに有意に回復した（NDS = 3.3 ± 1.2; P < 0.05 versus NaCl）。脳組織は組織学的に検討され 3 日目の回復状態を炎症細胞や細胞死で評価した。海馬の CA1 領域の橋神経細胞は、ピルビン酸群より NaCl 群で有意に減少した（11.7 ± 2.3% versus 4.3 ± 1.2%; P < 0.05）。心停止は、caspase-3 活性、matrix metalloproteinase 活性と DNA 断片化を CA1 領域で認めたが、ピルビン酸群では caspase-3 活性上昇と DNA 断片化を防ぎ、matrix metalloproteinase を抑制した。

文献

1) Moriyama, M.a , Li, M.X.b , Kobayashi, K.b , Sinasac, D.S.c , Kannan, Y.a , Iijima, M.b , Horiuchi, M.b , Tsui, L.-C.c , Tanaka, M.d , Nakamura, Y.a , Saheki, T.b. Pyruvate ameliorates the defect in ureogenesis from ammonia in citrin-deficient mice. Journal of Hepatology Volume 44, Issue 5, May 2006, Pages 930-938

- 2) Mongan, Paul D., John Capacchione, Shanda West, John Karaian, Dawn Dubois, Ryan Keneally, and Pushpa Sharma. Pyruvate improves redox status and decreases indicators of hepatic apoptosis during hemorrhagic shock in swine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: H1634–H1644, 2002.
- 3) Jong-Ha Park, Yoon-Ho Hong, Hyun-Jung Kim, Sung-Min Kim, Min-Jeong Kim, Kyung-Seok Park, Jung-Joon Sung, Kwang-Woo Lee. Pyruvate slows disease progression in a G93A SOD1 mutant transgenic mouse model. *Neuroscience Letters* 413 (2007) 265–269
- 4) Arti B. Sharma, Matthew A. Barlowa, Shao-Hua Yangb, James W. Simpkinsb, Robert T. Mallet. Pyruvate enhances neurological recovery following cardiopulmonary arrest and resuscitation. *Resuscitation* (2008) 76, 108–119.

3.2 安全性薬理試験 データなし

4 薬物動態試験 データなし

- 4.1 吸収 データなし
- 4.2 分布 データなし
- 4.3 代謝 データなし
- 4.4 排泄 データなし

5. 毒性試験 データなし

- 5.1 毒性試験のまとめ データなし
- 5.2 単回投与毒性試験 データなし
- 5.3 反復投与毒性試験 データなし
- 5.4 遺伝毒性試験 データなし
- 5.5 生殖発生毒性試験** データなし
- 5.6 局所刺激性試験** データなし
- 5.7 その他の毒性試験** データなし

6 臨床試験成績

1. ミトコンドリア病での臨床研究

Table 1
Changes of the NPMDS scores with pyruvate therapy.

Section	Before Tx	1 month after Tx	2 months after Tx
I	7	7	7
II	6	6	6
III	5	5	5
IV	17	13	13
Overall	35	31	31

NPMDS, Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale; Tx, treatment.

Table 2
Changes in motor function and lactate levels with pyruvate therapy.

	Before Tx	1 month	2 months
Lip pouting	6	15	ND
Winking	6	10	11
Pulling the mouth corner	None	None	8
Tapping a xylophone with a stick	5	7	ND
Raising the forearms from the bed floor	None	30°	90°
Raising the lower legs against gravity	Barely	Possible	Can hold
Flexing the wrists against gravity	Impossible	Possible	Possible
Blood lactate level	2.5 mM	2.7 mM	2.3 mM
Lactate-to-pyruvate ratio	18	18	18

①ミトコンドリア DNA 欠乏症による Leigh 脳症に対する治療効果¹⁾

ミトコンドリア DNA 欠乏症により臨床的に Leigh 脳症と診断した症例に、ピルビン酸ナトリウムを胃管チューブより 0.5g/Kg/Day TID し、その臨床的效果を検討した。患者の臨床的評価は、Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale (NPMDS)と徒手筋力テストで行った。この重度の発達遅滞を来している患者での改善効果の評価は、NPMDS ではきちんとした評価が出来なかったため、舌の突出、ウインク、楽器をステイックでたたく回数などで評価した。同時に血中の乳酸、ピルビン酸値もモニターした。

結果は、一か月間治療を行い、ピルビン酸投与により、NPMDS のセクション IV の QOL で 17 から 13 へ改善した。患者は、前腕、下肢を上げることができるようになり、把握出来るようになった。指示に従って行う動作も回数も増して力強くなった。臨床的改善は診られたが、血中乳酸、ピルビン酸、L/P 比の変化はなかった。ピルビン酸ナトリウムの

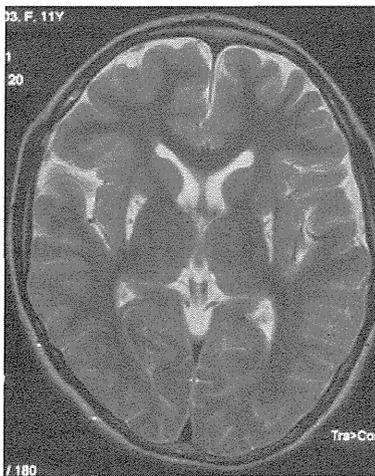


Fig. 1. T2-weighted magnetic resonance imaging (MRI) of the brain of the patient at 11 years of age.

0.5g/Kg/ Day 投与で、ミトコンドリア DNA 欠乏症による Leigh 脳症の患者で NPMDS のスコアを改善させた。

① ピルビン酸脱水素酵素 PDHE1 α 欠損症による Leigh 脳症に対する治療効果²⁾

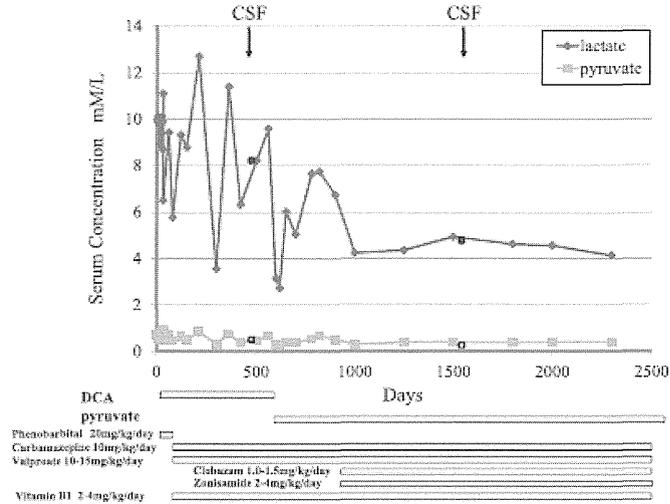


Fig. 2. Entire clinical course.

ピルビン酸脱水素酵素PDHE1 α 欠損症(N200T)によるLeigh脳症で新生児期から入院し、その間、ジクロロ酢酸(Dichloroacetate:DCA)25mg/kg/day、その後、DCAを中止し、ピルビン酸ナトリウム0.5g/Kg/Day TIDを投与し、その効果について検討した。全経過につき、臨床的(けいれんの頻度、入院期間、緊急受診回数)および生化学的(血中乳酸、ピルビン酸、L/P比、アラニン濃度、髄液中の乳酸、ピルビン酸、L/P比)に評価した。その結果、DCA投与中は、血中乳酸、ピルビン酸の濃度は、軽度低下したものの、臨床的にはけいれんが頻発し臨床的には症状は進行性に悪化していった。脳波では、Lennox Gastaut syndromeであり、一日のけいれん回数も10回以上であった。ピルビン酸ナトリウム0.5g/Kg/Day TID投与により、けいれんは数か月に一回となり、脳波でも著明に改善した。お座りが出来、呼びかけに対して表情も豊かになり、歌が歌え、自分で食事ができるようになった(それまではチューブ栄養が主体であった)。臨床症状の改善とともに、血中乳酸、ピルビン酸、アラニン濃度も有意に低下した。また、髄液中の乳酸、ピルビン酸もDCAでは低下しなかったが、ピルビン酸投与で有意に改善した。ピルビン酸ナトリウムは、臨床的改善のみでなく、血中の乳酸、ピルビン酸も低下し、かつ髄液の乳酸代謝を改善することが分かった。

② チトクロームC酸化酵素欠損症によるLeigh脳症に対する治療効果³⁾

11歳のチトクロームC酸化酵素欠損症によるLeigh脳症を来した患者で、ピルビン酸ナトリウムの効果を検討した。患者は、11歳女児で、歩行時の転倒と徒競走で遅い事を主訴に受診した。周産期の異常なく3590gにて出生。6歳時に複視を認め、眼振と両側外転神経障害を認めた。MRIで、両側大脳基底核被核、淡蒼球のT2、Flairで高信号異常所見を認め、Leigh脳症と診断された。髄液の乳酸値31mg/dlと異常高値であった。筋生検では、チトクロームC酸化酵素染色で全般的な染色性の低下を認め、赤ボロ線維やSSVは認めなかった。筋生検でのチトクロームC酸化酵素活性は、正常の17%と低下していた。8歳より経口的なコエンザイムQ10の内服を開始したが、運動発達の退行が進行していた。10歳時には、心エコーにて心機能の低下を認め、EFが52%となった。血中乳酸・ピルビン酸は、20.5 mg/dl、1.13 mg/dlで、L/P比は18.1となった。11歳からピルビン酸ナトリウムを0.5g/Kg/Day TID投与開始したところ、血中乳酸・ピルビン酸は、10.3 mg/dl、0.88 mg/dlと低下し、L/P比は11.7と改善した。ピルビン酸ナトリウム内服後は、学校の体育の授業に参加できるようになり、一年後には神経学的兆候の改善はないものの、心機能は正常化した。消化管感染症に罹患時、ピルビン酸ナトリウムを中断すると、血中乳酸・ピルビン酸は、11.3 mg/dl から14.3 mg/dl、0.96 mg/dl から0.94 mg/dlへと変化し、ピルビン酸ナトリウム内服がL/P比改善に有効であることを示唆した。

2. シトリン血症II型での臨床研究

③ 早期発症Ⅱ型シトリン血症のシトリン欠損の治療でアルギニンとピルビン酸ナトリウムの効果⁴⁾

シトリン欠損では、高アンモニア血症に由来する神経学的障害をなくすには肝移植が重要であるが、アルギニンは高アンモニア血症を軽減するのに有効であり、また、高タンパク低炭水化物食は小児における成長障害を予防するのに有効と考えられる。今回の研究では、13歳のシトリン血症Ⅱ型(CTLN2)で、経口的なアルギニンとピルビン酸ナトリウムの効果を調べた。患者は、食思不振と疲労性、成長障害を著明に認め、生化学的には血症シトルリンの上昇、スレオリン/セリン比の増加、膵分泌性トリプシン抑制因子の増加と典型的な所見を示した。3年間の経口的なアルギニンとピルビン酸ナトリウム投与で、臨床症状も改善し、生化学的異常も正常化した。このことから、経口的なアルギニンとピルビン酸ナトリウム投与と低炭水化物食は、有効な治療法であり、肝移植療法と遜色ない効果を示す。副作用はなかった。

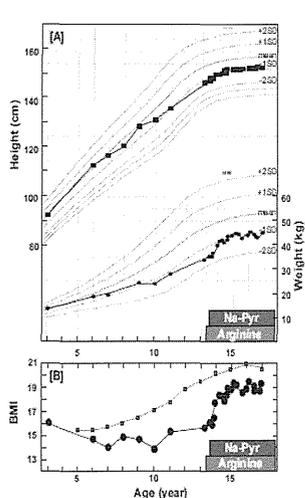


Fig. 1 Changes in body height and weight (A) and body mass index (BMI; B) of patient M.I. over time and showing the effect of arginine and sodium pyruvate (Na-Pyr) administration. Growth curves (mean, \pm 1SD and 2SD values; \square) and median BMI values (squares in B) for the Japanese population (Ito and Murata 2002) are also shown

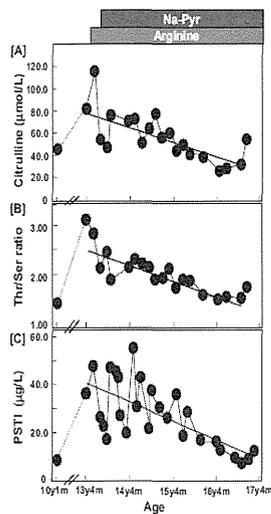
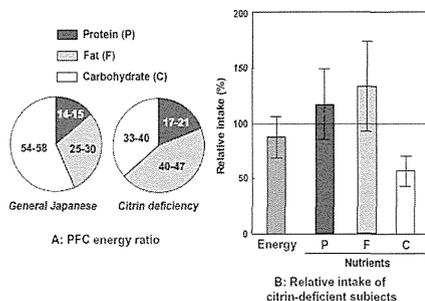
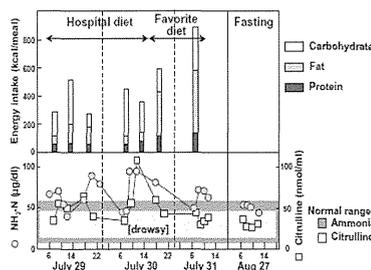


Fig. 2 Changes in plasma citrulline levels (A), threonine/serine (Thr/Ser) ratio (B), and serum pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) levels (C) of patient M.I. during arginine and sodium pyruvate (Na-Pyr) administration. \square -Axis shows age in years (y) and months (m)



nutritional assessment of 18 citrin deficiency subjects revealed their characteristic dietary intake. (A) Energy ratio of protein, fat and carbohydrate are in the 2nd panel of citrin deficiency subjects (right), and (B) relative intake of energy and nutrients relative to age- and sex-matched controls (left).



④ シトリン欠損症と現在の治療方法⁵⁾

シトリン血症(CTLN2)では、10%グリセオールや5%フルクトースの栄養を入れることで、高血糖、高アンモニア血症を来し死亡する。このように高炭水化物による毒性は、致命的となる。入院中に高炭水化物の入院食を食べると、血中のアンモニアとシトルリンが上昇し、意識障害を来した。

Table 1 Changes in laboratory data of patient M.I.

Parameter	Age (years [y] months [m])						
	13y 4m	13y 6m	13y 8m	13y 9m	14y 9m	15y 9m	16y 9m
Total bilirubin (2-12 mg/L)	4.4	3.8	3.2	5.4	2.9	3.1	4.1
AST (3-37 IU/L)	31	27	27	24	23	17	15
ALT (2-40 IU/L)	19	16	16	15	16	13	13
Amylase (40-160 IU/L)	116	109					
Total cholesterol (4.14-5.66 mmol/L)	6.16	5.28					
HDL-cholesterol (1.03-2.28 mmol/L)	3.83	3.29					
Triglyceride (0.56-1.68 mmol/L)	1.22	1.00					
Urea-N (2.1-8.2 mmol/L)	7.6	6.7					
Uric acid (0.17-0.36 mmol/L)	0.31	0.27					
Ammonia (7-43 μmol/L)	nt	25					
Total protein (67-83 g/L)	72	70					
Lactate (0.47-1.89 mmol/L)	nt	nt					
Pyruvate (0.03-0.10 mmol/L)	nt	nt					
Sodium ion (135-147 mEq/L)	137	140					
PSTI (5.9-22.7 μg/L)	36.4	47.4					
<i>Plasma amino acids²</i>							
Citrulline (17.9-43.0 μmol/L)	81.6	114.4					
Arginine (35-150 μmol/L)	102	231					
Glutamine (418-740 μmol/L)	555	671					
Alanine (259-615 μmol/L)	348	450	394	436	411	420	299
BCAA/AAA ratio (2.20-4.30)	3.10	2.60	2.90	3.56	3.30	3.80	3.90
Thr/Ser ratio (0.88-1.19)	3.09	2.79	2.14	1.68	1.88	1.58	1.72

Values in parentheses indicate normal ranges.

nt, not tested.

² Only relevant acids related are listed.

Table 1

Influence of intracoronary pyruvate on left ventricular volumes before and during pyruvate application. LVEDV=left ventricular end-diastolic volume (ml), LVESV=left ventricular end-systolic volume (ml)

Condition	Left ventricular volumes	
	LVEDV (ml)	LVESV (ml)
Baseline (saline)	237 ± 48	175 ± 41
Pyruvate 360 ml/h	232 ± 53	151 ± 43

そこで、彼女の好きな高脂肪高タンパク低炭水化物食を摂取すると、症状は速やかに改善した。シトリン血症では、経口的なアルギニンとピルビン酸ナトリウム投与および低炭水化物食が有効と考えられた。

3. 心筋症に対するピルビン酸投与の効果

⑤ 鬱血性心不全患者の冠動脈にピルビン酸を投与することで収縮期および拡張期心機能が改善した。⁶⁾

ピルビン酸が分離した心筋細胞での心機能を改善し、鬱血性心不全患者での血流動態を改善する事が示されてきた。本研究は、心不全患者での収縮期、拡張期の左心室パラメーターについてピルビン酸の効果を検証する。拡張型心筋症患者でピルビン酸を異なる濃度で心臓カテーテル先端から投与した。LV容積はシネ心室グラフィで測定した。ピルビン酸は、LV同容量圧を802±106 から 1125±103 mmHgys (P<0.05)へ増加させ、LV拡張末期圧を17±2から12±2 mmHg (P<0.05)へ減少させ、心拍数は79±4 から72±5/min (P<0.05)へ減少させた。ストロークボリュームインデックスは34±4 から 43±6 ml/m² (P<0.05)、拡張末期LV量は変化なかった。このことから、LVEFはピルビン酸投与により、30±4 から 39±4% (P<0.05)へ有意に増加した。ピルビン投与を中止するとこのような効果は速やかにもとに戻った。結果:ピルビン酸を鬱血性心不全患者の冠動脈から投与することで、心拍を増加させることなく、収縮期および拡張期心機能を改善することが出来た。ピルビン酸は、慢性心不全患者の心機能を改善する効果が考えられるが、急性心不全に使用できるかが今後の課題である。

⑥ 鬱血性心不全患者に冠動脈からピルビン酸を投与することで血流動態:オープンスタディー⁷⁾

8名の拡張型心筋症でピルビン酸もしくは食塩水を左主幹冠動脈から注入し、血流動態の変化を調べた。その結果、2つのピルビン酸濃度では、変化はなかったが、ピルビン酸投与で、心機能が23%増加し、ストローク容量が38%増加、肺動脈圧が36%減少した。心拍は11%減少した。平均大動脈圧や体血管の抵抗に変化はなかった。最も効果が大きな時間帯は、注入後15分であった。ピルビン酸は、心不全患者での有効な治療と考えられた。

Table 2 Hemodynamic effects of intracoronary pyruvate in addition to catecholamines and IABP

Intervention (point in time)	Pyruvate (40 min)	NaCl 0.9% (50 min)
HR (min ⁻¹)	76 ± 9	76 ± 7
CI (L min ⁻¹ m ⁻²)	2.23 ± 0.53	1.95 ± 0.45*
SVI (mL m ⁻²)	29 ± 6	26 ± 5*
Mean SAP (mmHg)	95 ± 9	87 ± 9
Mean PAP (mmHg)	33 ± 6	31 ± 4
Mean PCWP (mmHg)	23 ± 7	22 ± 4
Mean RAP (mmHg)	16 ± 3	16 ± 3
SVR (dyn s cm ⁻⁵)	1,608 ± 354	1,635 ± 325
PVR (dyn s cm ⁻⁵)	216 ± 136	236 ± 159

* Means p < 0.05

⑦ 心原性ショック患者にピルビン酸を投与することで血流動態の改善に寄与⁸⁾

心筋梗塞で心原性ショックを来した患者にカテ先からピルビン酸ナトリウム(300mmol/L)を360ml/H投与し、血流動態を検討した。ピルビン酸は、cardiac index (CI 2.23 ± 0.53 vs. 1.95 ± 0.45 L /min/m²; p<0.05), stroke volume index (SVI, 29 ± 6 vs. 26 ± 5 mL/m²; P<0.05), mean systemic arterial pressure (mean SAP, 95 ± 9 vs. 87 ± 9 mmHg; p<0.05)と改善した。一方、心拍を増加させることはなかった。

⑨ピルビン酸は心肺循環を使用する外科領域で心保護作用に寄与⁹⁾

目的:冠動脈再建術でピルビン酸を用いた心肺循環と乳酸を用いた心肺循環で、術後の左心機能の回復と虚血性バイオマーカーを指標にピルビン酸がより有効かどうかを検証する。

方法:前方視的、ランダム化、半盲検臨床試験

エントリー:血液と心停止保護液を4対1に混ぜ、一群にはピルビン酸溶液を、他の群には乳酸をベースとした保護液を用いた。血行動態と生化学検査は心停止前、心拍再開後、およびバイパス手術の4、6、8、12時間後に検査した。

結果:乳酸をベースとした保護液に比較し、ピルビン酸溶液を用いた場合がバイパス後4

時間から12時間までのleft ventricular stroke workが良かった($p < 0.001$)。coronary sinus troponin I と creatine phosphokinase-MB 活性も 67% ($p < 0.001$) と 53% ($p < 0.01$) と低く、coronary sinus hemoglobin 飽和度も 18% ($p < 0.001$) と高かった。乳酸を用いた心肺循環患者の10人がB-刺激剤を必要としたが、ピルビン酸群では4人のみであった。ピルビン酸溶液を用いた場合、入院期間が有意に短縮した(6.3 ± 0.3 から 5.2 ± 0.1 days、 $p < 0.002$)。結論:ピルビン酸溶液を用いた場合、冠動脈手術時のバイパスを行う場合の心筋障害を緩和する可能性があり、心機能の回復に良好な効果がえられた。したがって、冠動脈再建術では、乳酸ベースよりピルビン酸ベースでの心肺循環が好ましい。

TABLE 3
Dietary intake as determined by 3-d food records*

	Placebo		Pyruvate	
	Week 0	Week 6	Week 0	Week 6
Energy (MJ/kg body wt)	0.091 ± 0.008	0.096 ± 0.006	0.096 ± 0.009	0.099 ± 0.009
P:S†	2.5 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1
Total fat (%)	24 ± 2	23 ± 2	23 ± 1	22 ± 2
(g)	46.1 ± 1.7	46.9 ± 1.6	47.4 ± 2.2	49.7 ± 3.3
Saturated fatty acid (%)	18 ± 1	18 ± 1	19 ± 1	20 ± 1
(g)	8.3 ± 0.4	8.5 ± 0.5	9.2 ± 0.7	9.8 ± 0.9
Monounsaturated fatty acid (%)	31 ± 1	31 ± 1	30 ± 1	29 ± 1
(g)	14.3 ± 0.8	14.5 ± 0.8	14.1 ± 0.8	14.6 ± 1.2
Polyunsaturated fatty acid (%)	45 ± 1	44 ± 1	44 ± 1	44 ± 1
(g)	20.6 ± 0.5	20.8 ± 0.5	20.8 ± 0.6	21.9 ± 1.0
Cholesterol (mg)	165 ± 8.4	163 ± 8.0	176 ± 7.9	180 ± 9.6
Total carbohydrate (%)	60 ± 2	60 ± 2	61 ± 2	61 ± 2
(g)	257.4 ± 14.6	272.9 ± 16.6	287.3 ± 13.3	308.0 ± 14.3
Total protein (%)	16 ± 1	16 ± 1	16 ± 1	17 ± 1
(g)	71.3 ± 3.8	75.0 ± 5.4	77.4 ± 3.5	86.1 ± 5.0
Total dietary fiber (g)	14.3 ± 1.8	17.6 ± 2.3	13.1 ± 1.1	14.6 ± 1.7

* $\bar{x} \pm SE$, $n = 17$ per group. There were no significant differences between groups.
† Ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids.

Table 1. Characteristics of Control and Study Patients

	Lactate Group	Pyruvate Group
Men, women (N)	12, 3	11, 4
Age (years)	72 (46-78)	71 (52-78)
Cardiopulmonary bypass time (min)	81 (60-120)	88 (58-110)
Crossclamp time (min)	58 (46-96)	62 (48-90)
Cardioplegia infusion volume (mL)	310 (200-400)	350 (300-450)
Preoperative LV ejection fraction (%)	56 (45-68)	54 (38-68)

NOTE. Patients in the lactate group received lactate-based cardioplegia during the period of cardiac arrest; patients in the pyruvate group received pyruvate-fortified cardioplegia. Values are means; ranges are within the parentheses. No statistically significant differences were detected between the groups.
Abbreviation: LV, left ventricular.

⑩ピルビン酸の代謝的な心筋保護作用:最近の進歩¹⁰⁾

ピルビン酸は、自然界に存在する代謝燃料であり心筋や他の組織の抗酸化剤でもあり、生理的濃度以上に上げた場合、種々の程度の心筋保護を発揮する。ピルビン酸は、心筋収縮力を増し、心筋細胞のエネルギー状態を増加させ、内因性の抗酸化システムを活性化し、虚血再灌流やオキシダントストレスからの心筋保護に働く。このレビューでは、最近数年間に明らかになったピルビン酸の心筋収縮と心筋保護についての基礎および臨床研究の成果を紹介する。特にピルビン酸の筋小胞体でのCa転送、抗酸化作用、心筋障害における可逆性および不可逆性の作用について解説する。これらの研究は、基本的にはピルビン酸治療の臨床的適応に基づく研究努力であり、心肺バイパス手術、心肺蘇生術、心筋障害と心不全などが含まれる。

4. 肥満症におけるピルビン酸投与の効果

⑪低コレステロールおよび低脂肪食におけるピルビン酸の投与、高脂血症患者における血清脂質濃度と体組成¹¹⁾
3炭素組成であるピルビン酸の血漿中濃度と体組成を低コレステロール食(165-180 mg)、および低脂肪食(総エネルギーの22-24%:エネルギーの18-20%を飽和脂肪酸で取っていた)を行っている高脂血症患者で検討した。この食事療法を4週間続けた後で、血清脂質の値は低下したが、その後、34名はランダムにピルビン酸群(22-44g/日)とポリグルコース群(18-35g/日)に分けられた。ピルビン酸を用いた群で体重と体脂肪の有意な減少を示した以外($P < 0.05$)、血漿中のコレステロール、LDL、HDLとトリグリセリドは両群間で差はなかった。食事療法で引き起こされる血症脂質濃度低下に加えて、ピルビン酸を低コレステロールおよび低脂肪食に追加することで、脂質の濃度を変えずに体重減少と脂肪減少を達成できる。

⑫体組成、エネルギー利用、窒素代謝に与えるピルビン酸の影響¹²⁾

代謝病棟に入院中の14名の肥満女性で一日4.25-MJ/d 液体食 (68% carbohydrate, 22% protein) 21日間行いピルビン酸の有るなしでの体組成、エネルギー損失、窒素代謝について検討した。体組成とロイシン酸化、およびターンオーバーは体重の変動する前後で解析した。エネルギー欠損は、定常状態の代謝率で計算した。ピルビン酸を与えた群が、体重減少が有意に診られた。窒素バランスとロイシン代謝、ターンオーバーは両群で変化はなかった。3炭素組成であるピルビン酸は、6炭素組成であるグルコースの代わりに同じエネルギー源として働くことで脂肪と体重を減少させると考えられた。

⑬高脂血症患者における脂質組成に与えるピルビン酸の影響¹³⁾

高脂血症患者でhigh-cholesterol (560-620 mg), high-fat (45-47% of energy; 18-20% of energy as saturated fatty acid), anabolic diet (0.11-0.12 MJ/kg body wt) を 6 wk与えている方で、3炭素組成であるピルビン酸の血漿脂質組成に与える影響を解析した。40名は、36-53 g のピルビン酸 (n = 19)、21-37 g のポリグルコース(placebo, Polycose, n = 21) as a portion of carbohydrate energyの2群に分けられた。TCとLDLはプラセボ群で変化しなかったが、ピルビン酸群では、4%、5%とそれぞれ低下した(P < 0.05 vs placebo)。

HDL、HDL3とTGはどちらも同じ程度で差が無かった。心拍数、拡張期血圧は6週間の治療でプラセボでは変化しなかったが、ピルビン酸投与群では、9%、6%、12%と減少した(P < 0.05 vs placebo)。

TABLE 2 Dietary intake*

	Placebo (n = 21)		Pyruvate (n = 19)	
	Week 0	Week 6	Week 0	Week 6
Energy (MJ/kg body wt)	0.114 ± 0.014	0.116 ± 0.012	0.107 ± 0.006	0.117 ± 0.008
P:†	0.34 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.30 ± 0.03
Total fat (%)	46.6 ± 1.4	46.7 ± 1.6	45.2 ± 1.4	45.6 ± 1.5
(g)	106 ± 10	110 ± 9	101 ± 6	110 ± 7
Saturated fatty acid (%)	42 ± 1	42 ± 1	40 ± 1	42 ± 1
(g)	44 ± 5	46 ± 4	40 ± 2	46 ± 3
Monounsaturated fatty acid (%)	35 ± 1	35 ± 1	37 ± 1	35 ± 1
(g)	37 ± 4	38 ± 3	38 ± 3	38 ± 3
Polysaturated fatty acid (%)	14 ± 1	13 ± 1	14 ± 1	13 ± 1
(g)	15 ± 2	14 ± 1	14 ± 1	14 ± 1
Cholesterol (mg)	594 ± 30	575 ± 31	566 ± 40	620 ± 39
Total carbohydrate (%)	37.1 ± 1.6	37.8 ± 1.6	38.0 ± 1.3	37.7 ± 1.3
(g)	200 ± 19	211 ± 18	202 ± 11	215 ± 15
Total protein (%)	16.3 ± 0.7	15.7 ± 0.6	16.9 ± 0.5	16.6 ± 0.7
(g)	86 ± 6	85 ± 5	87 ± 4	92 ± 5
Total dietary fiber (g)	14.0 ± 1.2	13.8 ± 1.5	13.1 ± 1.1	13.9 ± 1.3

* $\bar{x} \pm SE$. Data are based on 3-d food records.
† Ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids.

5. ピルビン酸ナトリウムのstable isotopeを用いたin vivo代謝

⑭高脂血症患者における脂質組成に与えるピルビン酸の影響¹⁴⁾

ミトコンドリアは、代謝疾患、神経変性疾患、老化などの病態で重要な役割を示す。それゆえ、ミトコンドリアの代謝機能を非侵襲的に検証する必要がある。C13の呼気テストは、ミトコンドリアの代謝機能を検証するのに有用である。動的なミトコンドリア代謝を非侵襲的にかつ60分以内で解析できる。患者の臨床的評価のみでなく、今後の種々の評価に利用できる。

左図は、stable isotopeを用いたピルビン酸の代謝図である。

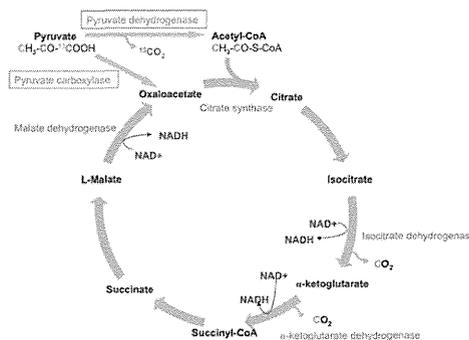


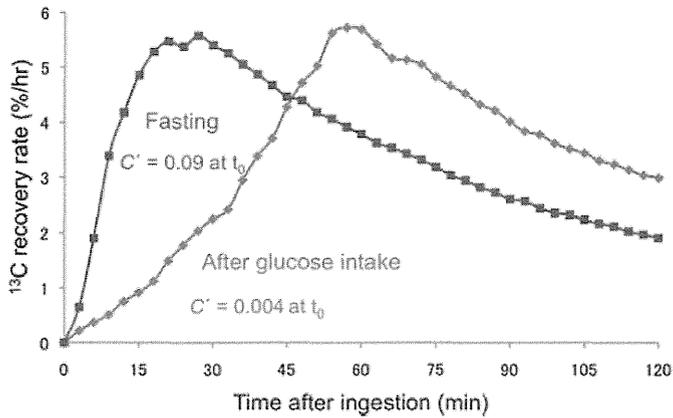
Figure 1. Metabolic pathway of ¹³C-labeled pyruvate. Administered pyruvate is converted to acetyl-CoA via the action of pyruvate dehydrogenase, and subsequently fed into the citric acid cycle. The fate of the labeled carbon depends on its position in the pyruvate molecule. Labeled carbon in [1-¹³C] pyruvate is released in the form of ¹³CO₂ during pyruvate oxidation by pyruvate dehydrogenase. On the other hand, labeled carbons in [2-¹³C] pyruvate and [3-¹³C] pyruvate are released as ¹³CO₂ after completing the second turn of the citric acid cycle.

TABLE 1 Patient profile

Diet and subject	Waist/hip circumference	Weight		Initial BMI*	Initial REE†	Weight loss		Energy deficit
		Initial weight	Initial body fat			kg	kg	
Placebo								
1	0.83	140.7	71.4	47.5	9.4	5.2	3.0	146.2
2	0.78	114.7	61.7	47.8	6.4	3.7	1.9	83.0
3	0.98	103.2	48.8	36.1	8.6	5.1	3.1	125.4
4	0.86	98.0	42.2	33.1	8.0	4.3	2.7	122.5
5	0.78	97.4	46.8	35.3	6.4	3.3	2.3	71.4
6	0.83	97.2	44.3	34.0	8.1	5.1	3.4	124.0
7	0.78	78.1	32.9	28.0	6.7	3.2	2.4	86.2
\bar{x}	0.83	104.2	49.7	37.4	7.7	4.3	2.7	108.4
SE	0.03	7.3	4.9	2.8	0.4	0.3	0.2	10.5
Pyruvate								
1	0.80	149.0	79.8	51.6	8.6	9.2	6.1	145.5
2	0.83	138.2	72.0	52.7	8.8	6.6	4.7	145.8
3	0.78	114.6	61.6	47.7	6.5	4.0	2.1	83.8
4	0.76	101.7	45.2	35.6	8.5	6.4	4.7	118.5
5	0.96	101.7	48.8	38.2	7.4	5.0	3.5	106.7
6	0.77	97.2	47.6	43.2	7.9	5.9	3.8	117.9
7	0.93	74.9	38.6	27.8	6.2	3.9	3.1	75.4
\bar{x}	0.83	111.0	54.8	42.4	7.7	5.9	4.0	113.4
SE	0.03	9.6	6.6	3.4	0.4	0.7	0.5	10.3

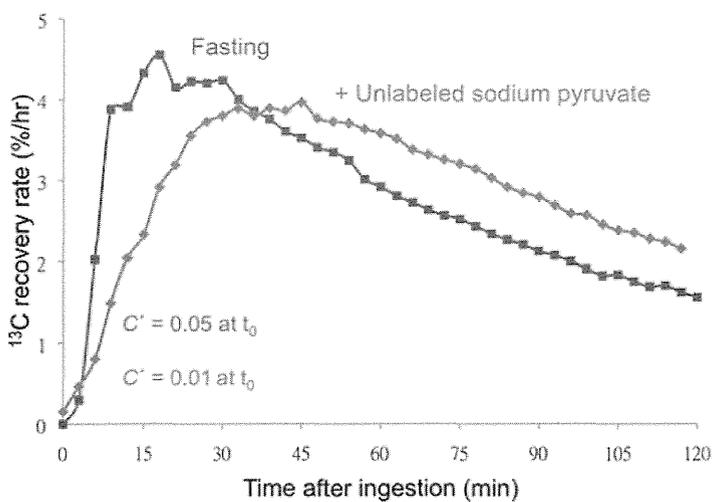
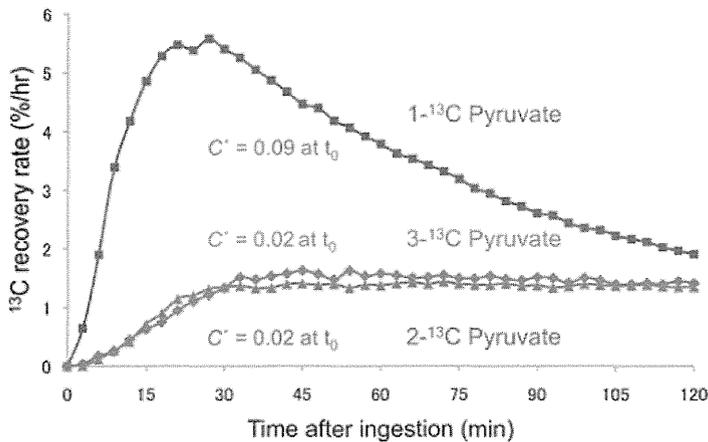
* In kg/m².
† Resting energy expenditure.
‡ Significantly different from placebo, P < 0.05.

{1-¹³C}を用いたピルビン酸代謝は、ピルビン酸ナトリウム100mgを50mlの水で溶解した場合、その回収率は、絶食状態では18分でピークを示す。一方、50gのブドウ糖を服薬後60分で投与した場合、回収率のピークは60分となる。



同様に、{1-¹³C}、{2-¹³C}、{3-¹³C}をそれぞれピルビン酸ナトリウム100mgを50mlの水で溶解して用いた場合、{1-¹³C}では回収率のピークは18分、{2-¹³C}および{3-¹³C}では、30分後にプラトーとなり、以後は継続して呼気中出现してくる。

{1-¹³C}ピルビン酸を2gの非標識ピルビン酸と同時に摂取すると、回収率のピークは30分となり、その後、徐々に代謝されることがわかった。



6. ミトコンドリア病のバイオマーカーとしてのFGF-21の意義

FGF21は、共通の遺伝子構造を有するFGF遺伝子ファミリーに属す新規バイオマーカーとして2000年に発見された(Nisimura, et al. 2000)。生体のFGF21の分泌器官は、肝臓、膵臓、筋肉、白色脂肪細胞など広範囲にわたり、肝臓では糖新生、 β -酸化、ケトン産生を亢進させ、飢餓時と同様の反応を示し、白色脂肪細胞からは、空腹時に脂肪酸を肝臓に運ぶ役割を担っていると考えられている。

ミトコンドリア病のモデルマウスであるDeletorマウス(慢性外眼筋麻痺のミトコンドリア病モデルマウス)では、筋のFGF21のmRNA発現レベルと血漿FGF21の値が、野生型マウスに比べて異常高値であったことが報告されている(Tyynismaa & Carroll 2010)。そのメカニズムはまだ解明されていないが、TyynismaaらやSuomalainenらの考察では、筋でのミトコンドリア異常によるATP産生能力の低下が、空腹時と同様のシグナル伝達を示し、その結果ミトコンドリア病では血漿FGF21が空腹時同様に高値になると考えられている。この研究をさらにすすめ、ヒトにおいても多くのミトコンドリア病で同様に血漿FGF21は高値となることが報告された(Suomalainen 2011)。つまり血漿FGF21はミトコンドリア病モデルマウスだけでなくヒトにおいてもバイオマーカーになり得ることが最新の知見である。Suomalainenらの研究では、血漿FGF21がミトコンドリア病のバイオマーカーとして従来のバイオマーカーと比較して感度・特異度共に非常に高いことも証明された(感度95.7%、特異度91.7%)。ミトコンドリア病では、血漿fibroblast growth factor 21(以下FGF21と略す)が健常人に比べて有意に高いことが明らかにされ(Suomalainen et al. 2011)、ミトコンドリア病の新たなバイオマーカーとして注目されている。血漿FGF21がミトコンドリア病の種々の病型もしくは重症度をこのバイオマーカーを用いて感度特異度を踏まえて、再現性をもって定量化することで、ピルビン酸ナトリウムの薬効評価に利用できると思われる。

文献

- 1) Saito K, Kimura N, Oda N, Shimomura H, Kumada T, Miyajima T, Murayama K, Tanaka M, Fujii T. Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome. *Biochim Biophys Acta-general*. 2012 May;1820(5):632-636.
- 2) Koga Y, Povalko N, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Naito E, Tanaka M. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 α gene. *Brain Dev*. 34 (2012) 87-91
- 3) Komaki H, Nishigaki Y, Fuku N, Hosoya H, Murayama K, Ohtake A, Goto Y, Wakamoto H, Koga Y, Tanaka M. Pyruvate therapy for Leigh syndrome due to cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Mar;1800(3):313-5.
- 4) K. Mutoh, K. Kurokawa, K. Kobayashi, T. Saheki. Treatment of a citrin-deficient patient at the early stage of adult-onset type II citrullinaemia with arginine and sodium pyruvate. *J Inherit Metab Dis* (2008) 31 (Suppl 2):S343-S347.
- 5) Saheki T, Inoue K, Ono H, Tushima A, Katsura N, Yokogawa M, Yoshidumi Y, Kuhara T, Ohse M, Eto K, Kadowaki T, Sinasac DS, Kobayashi K. Metabolomic analysis reveals hepatic metabolite perturbations in citrin/mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double-knockout mice, a model of human citrin deficiency. *Mol Genet Metab*. 2011 Dec;104(4):492-500.
- 6) Hans-Peter Hermann*, Jordis Arp, Burkert Pieske, Harald Ko"glar, Steffen Baron, Paul M.L. Janssen, Gerd Hasenfuss. Improved systolic and diastolic myocardial function with intracoronary pyruvate in patients with congestive heart failure. *The European Journal of Heart Failure* 6 (2004) 213-218
- 7) Hermann HP, Pieske B, Schwarzmüller E, Keul J, Just H, Hasenfuss G. Haemodynamic effects of intracoronary pyruvate in patients with congestive heart failure: an open study. *Lancet*. 1999 Apr 17;353(9161):1321-3.
- 8) Schillinger W, Hünlich M, Sossalla S, Hermann HP, Hasenfuss G. Intracoronary pyruvate in cardiogenic shock as an adjunctive therapy to catecholamines and intra-aortic balloon pump shows beneficial effects on hemodynamics. *Clin Res Cardiol*. 2011 May;100(5):433-8.
- 9) Albert H. Olivencia-Yurvati, James L. Blair, Mirza Baig, PharmD, and Robert T. Mallet, Pyruvate-Enhanced Cardioprotection During Surgery With Cardiopulmonary Bypass. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, Vol 17, No 6 (December), 2003: pp 715-720
- 10) Robert T. Mallet, Jie Sun, E. Marty Knott, Arti B. Sharma, Albert H. Olivencia-Yurvati. Metabolic Cardioprotection by Pyruvate: Recent Progress. *Experimental Biology and Medicine* 2005, 230:435-443.
- 11) Ronald T Stanko, Helenbeth Reiss Reynolds, Ruth Hoyson, Janine E Janosky, and Randi Wolf, Pyruvate supplementation of a low-cholesterol, low-fat diet: effects on plasma lipid concentrations and body composition in hyperlipidemic patients. *Am J C/in Nutr* 1994;59:423-7.
- 12) Ronald T Stanko, Denise L Tietze, and Judith E Arch. Body composition, energy utilization, and nitrogen metabolism with a 4.25-MJ/d low-energy diet supplemented with pyruvate. *Am J C/in Nutr* 1992;56:630-5.
- 13) Ronald T Stanko, Helenbeth Reiss Reynolds, Kim D Lonchar, and Judith E Arch. Plasma lipid concentrations in hyperlipidemic patients consuming a high-fat diet supplemented with pyruvate for 6 wk. *Am J C/in Nutr* 1992;56:950-4.
- 14) I-Chien Wu, Ikuroh Ohsawa, Noriyuki Fuku, and Masashi Tanaka. Metabolic analysis of ¹³C-labeled pyruvate for noninvasive assessment of mitochondrial function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1201 (2010) 111-120

6.1 バイオアベイラビリティ試験

- 6.2 第 I / II 相試験
- 6.3 第 II 相臨床試験
- 6.4 第 III 相試験
- 6.5 第 II 相臨床試験
- 6.6 安全性確認試験

7 安全性

- 7.1 比較的良好に見られる有害事象
- 7.2 死亡
- 7.3 その他の重篤な有害事象 (SAE)
- 7.4 その他の重症の有害事象

8 治験責任医師に対するガイダンス

- 8.1 組成
- 8.2 剤形
- 8.3 臨床に関する項目

引用文献

補遺

分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

1. MELAS変異を有するモデル細胞における代謝中間体の動態に関する研究

研究分担者 田中雅嗣 東京都健康長寿医療センター・部長

研究要旨：ミトコンドリア病のモデル細胞において代謝中間体の量および代謝流量を解析した。ピルビン酸ナトリウム添加によって、酸化還元バランスが保持され、細胞内エネルギー状態が正常化した。ピルビン酸療法 of 科学的根拠が得られた。

A. 研究目的

ミトコンドリア呼吸鎖欠損を有するモデル細胞を用いてピルビン酸ナトリウム投与とジクロロ酢酸投与のどちらが物質代謝ならびにエネルギー代謝をより改善するかを検討する。

B. 研究方法

ヒト 143B 骨肉腫細胞に由来する MELAS m. 3243A>G 変異 mtDNA を有するサイブリッド (2SD) と正常 mtDNA を有するサイブリッド (2SA) を 1 mM ピルビン酸の存在下で培養した。これらのサイブリッドの培地を 10 mM ピルビン酸 ([3-13C]pyruvate) を含む培養液、あるいは 1 mM ジクロロ酢酸と 10 mM 乳酸

([3-13C]lactate) を含む培養液に切り換え、0, 1, 2, 4 時間後に細胞内および培養液中の代謝産物をキャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析 (CE-TOFMS) によって網羅的に解析した。。

(倫理面への配慮) 該当しない。

C. 研究結果

細胞内および培養液における代謝中間体の量の時間経過および代謝流量を解析した。ピルビン酸ナトリウムを培地に添加することによって、[NADH]/[NAD⁺]のバランスが保持され、細胞内エネルギー状態が正常化した。同時に、解糖系が賦活化され、TCA 回路の代謝流量も部分的に正常化した。一方、ジクロロ酢酸の培地の添加によっては全く細胞内エネルギー状態が改善されず、ピルビン酸の優位性が示された。

D. 考察

脳卒中様発作を伴うミトコンドリア脳筋症

(mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: MELAS) 症候群の病因の一つとして

tRNA^{Leu}(UUR) 遺伝子の m. 3243A>G 変異がある。ミトコンドリア病に対する治療法としてジクロロ酢酸 (dichloroacetate: DCA) の投与がこれまでに試みられてきた。ジクロロ酢酸投与によって血中乳酸値が低下したとする肯定的な報告があるものの、ジクロロ酢酸投与によっては臨床的改善が見られず、むしろ末梢神経障害・肝障害・腎障害などが出現するとする否定的な報告もある。我々は、ピルビン酸療法を提唱し、ピルビン酸ナトリウム投与が MELAS を含むミトコンドリア病の臨床症状を緩和することを報告してきた。今回の結果から、2SD 細胞へのピルビン酸ナトリウム添加によってエネルギー代謝に対して劇的かつ持続可能な好影響が得られることが明確になった。

E. 結論

メタボローム解析により、ピルビン酸ナトリウム投与は代謝学的に合理的な治療法であり、MELAS をはじめとするミトコンドリア病の症状を改善する可能性があることが示された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Mitochondrion 12: 644-665, 2012

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

2. ミトコンドリア病の新規遺伝子変異の同定に関する研究

分担研究者 藤井 克則 千葉大学大学院医学研究院・小児病態学・講師

研究要旨：我々は以前よりミトコンドリア病の病型診断および遺伝子解析を行なってきた。今年度我々は従来のミトコンドリアとは異なる病型を持った2例についてその遺伝子変異を同定し、特異な病型について報告した。症例1は幼少期から筋量減少とそれに伴う運動発達遅滞を呈する男児であり、精神発達は境界域であった。6歳時に高乳酸血症と高CK血症を契機に筋生検が行われ ragged red fiber を認めミトコンドリア筋症と診断、m. 3236A>G を末梢血リンパ球で同定した。症例2は乳児期から重度の発達遅滞、てんかん、難聴を呈する女児であり、筋生検により ragged red fiber を認めミトコンドリア筋症と診断、m. 5537A>G を末梢血リンパ球で同定した。前者は国内外を通じて2例目の報告であり、後者は1例目であった。いずれも報告のない表現型のミトコンドリア病であり、今後ピルビン酸ナトリウムによる治療の適応対象として治療検討してゆきたい。

A. 研究目的

ミトコンドリア病は人体の細胞内小器官であるミトコンドリアの機能不全により、様々な臓器不全を呈する疾患である。臓器分布や変異内容、さらに heteroplasmy と呼ばれる不均一な異常ミトコンドリア分布により、多くの病型を呈することが知られている。高乳酸血症を来たす疾患の中には、少なからずこのミトコンドリア病が含まれており、今後ピルビン酸ナトリウムを治療応用するにあたり、対象疾患を確定することは本研究を遂行する上で重要な点となる。今回高乳酸血症を呈した2症例についてその臨床像とミトコンドリア遺伝子変異を比較検討したので報告する。

B. 研究方法

対象は千葉大学医学部附属病院小児科を高乳酸血症を主訴として受診した2症例。これらの症例についてミトコンドリアの遺伝学的検査を自治医大小児科森雅人先生に依

頼し施行した。方法は従来どおり末梢血よりDNAを抽出しミトコンドリア遺伝子の特異的プライマーを用いて塩基配列を解析した。

症例1は幼少期から筋量減少とそれに伴う運動発達遅滞を呈する男児であり、精神発達は境界域であった。6歳時に高乳酸血症と高CK血症を契機に筋生検が行われ ragged red fiber を認めミトコンドリア筋症と診断、m. 3236A>G を末梢血リンパ球で同定した。

症例2は乳児期から重度の発達遅滞、てんかん、難聴を呈する女児であり、筋生検により ragged red fiber を認めミトコンドリア筋症と診断、m. 5537A>G を末梢血リンパ球で同定した。前者は国内外を通じて2例目の報告であり、後者は1例目であった。いずれも報告のない表現型のミトコンドリア病であった。

（倫理面への配慮）

倫理面への配慮は、書面で遺伝学的検査の利点および不利益な点について説明し、同意をいただき解析した。なお、本研究は北里大

学医学部倫理委員会の承認を得た上、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して行われた。

C. 研究結果

症例1で m. 3236A>G 変異を同定した。これは1例が従来報告としてあるのみであり、かつ本変異は患児のみの同定であることから、病因とするには今後家族の遺伝子解析を行う必要がある。

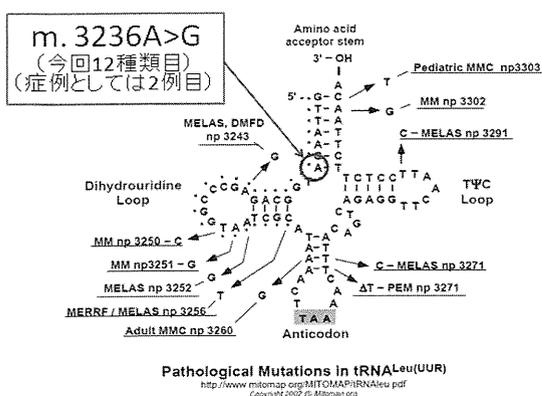
症例2で mtDNA5537 変異を同定した。この点突然変異はこれまでに報告はなく、他内容の変異が報告されていることから本部位が tRNA 機能において重要な部位であることが示唆された。

E. 結論

症例1: 同じ tRNA^{LEU} 上に変異を認める疾患 (MELAS など) や、また同一の変異を持つ症例であっても、個々の表現型はそれぞれ異なっている。その理由として、heteroplasmy や tRNA 変異部位による機能異常の違いなどが推測されるが、環境因子などの後天的な要素が表現型に影響を及ぼすとの報告も見られた。

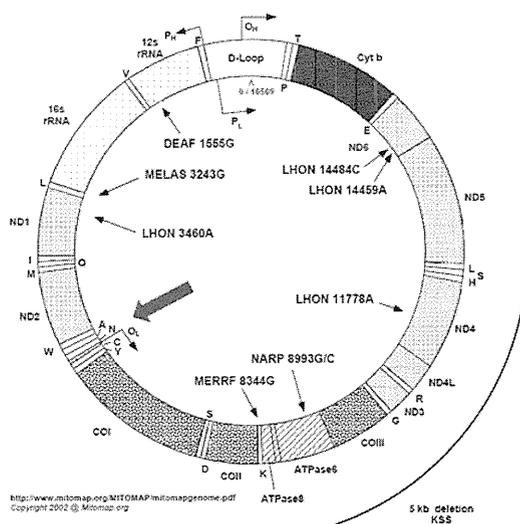
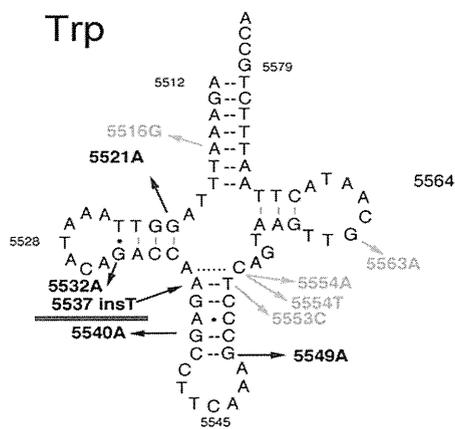
今回の症例1で認めたミトコンドリア遺伝子変異 m. 3236A>G は tRNA^{LEU} 上にあり、従来の11種類の変異に加え、12種類目の部位報告となる。症例1は筋症状と肥大型心筋症のみを呈しており、同じ tRNA 上に変異を認める他の疾患とは表現型が異なっている。その理由として、heteroplasmy や環境因子などの後天的要素が影響を及ぼしていると考えられた。

11種類の変異報告



症例2: 本症例で認めた mtDNA5537 の点突然変異はこれまでに報告はなく、本部位が tRNA 機能において重要な部位であることが示唆された。既報告では mtDNA5537 異常により Complex IV 異常をきたしているがこれ以外にも Complex I にも作用することも考えられる。本症例の重要性は、変異部位が tRNA の coding region であること、Trp をコードしていることの2点が考えられる。

遺伝子検索で今回同定された m. 5537A>G at tRNA (Trp) はこれまでに報告のない変異であった。同部位の他の変異報告では Complex 4 異常の2例の報告があり、同部位が tRNA において重要な部位であることが示唆された。



F. 健康危険情報なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

藤田真祐子、水落弘美、須山麻衣子、内川英紀、森雅人、大竹明、高木敦子、塩浜直、藤井克則、河野陽一. ミトコンドリア遺伝子変異 m.5537A>G at

tRNA(Trp)を認めた1女児例. 第54回日本小児神経学会学術総会. 2011.5-17-19. 札幌

奥主朋子、藤井克則、須山麻衣子、水落弘美、内川英紀、森雅人、大竹明、高木敦子、塩浜直、河野陽一. ミトコンドリア遺伝子変異 m.3236A > G at tRNA(Leu)を認めた1男児例. 第54回日本小児神経学会学術総会. 2011.5-17-19. 札幌

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

3. Leigh 脳症に対するピルビン酸ナトリウム治療に関する研究

研究分担者 戸川雅美 鳥取大学医学部脳神経小児科・助教

研究要旨：当科に通院中のミトコンドリア病患者 2 名に対してピルビン酸ナトリウム療法を 1 年間行い、その有効性と安全性について検討した。【症例】症例 1 は MELAS/Leigh overlap 症候群の 8 歳男児。7 ヶ月時に痙攣で Leigh 症候群を発症し 1 歳時の筋生検でミトコンドリア DNA G13513A 変異を認めた。ビタミン剤等の治療開始後も病状は進行し、寝たきり、気管切開、夜間人工呼吸管理、経管栄養となった。8 歳時に stroke like episode を発症し MELAS/Leigh overlap 症候群と診断した。症例 2 は Leigh 症候群の 2 歳女児。乳児期より発達の遅れを認め 1 歳時に Leigh 症候群と診断した。ビタミン等の内服で高乳酸血症は改善したが病状は進行し、投与開始時点で寝たきり、経管栄養であった。【方法】ピルビン酸ナトリウムは 0.5g/kg/日、分 3 で開始し増量した。評価項目は乳酸・ピルビン酸値（血液、髄液）、L/P 比、頭部 MRI、SPECT、脳波、ミトコンドリア病重症度スコア、Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale (NPMDS)、緊急入院の回数とした。症例 2 は GMFM も行った。【結果】ピルビン酸ナトリウムは症例 1 で 1.5g/kg/日まで増量し、症例 2 では 1.2g/kg/日で下痢が出現し 0.7g/kg/日に減量した。検査データでは症例 1 で髄液中乳酸が軽度上昇、L/P 比は変化しなかった。症例 2 は開始前から正常だった。症例 1 でミトコンドリア病重症度スコア変化なし、NPMDS は QOL の項目のみ改善を認めた。症例 2 は開始後 9 ヶ月で GMFM が 2%から 4%へ改善した。緊急入院の回数は症例 1 が 5 回/年から 2 回/年に、症例 2 は 5 回/年から 0 回/年に減少した。【考察】ピルビン酸ナトリウム投与により臨床的な改善を認めたがデータ上は変化なく客観的な評価は困難であった。症例 1 は副作用を認めず、症例 2 で下痢を認めたが、ピルビン酸ナトリウムの減量で速やかに改善した。

A. 研究目的

ミトコンドリア病に対するピルビン酸療法はその概念が 2007 年に初めて報告された (M. Tanaka, et al, Mitochondrion 2007; 7: 399-401)。その機序は (1) 過酸化酸素の除去、(2) 解糖系の賦活、(3) ピルビン酸脱水素酵素複合体の賦活の 3 つが考えられている。

今回、当科へ通院中のミトコンドリア病の小児患者 2 例に対し 1 年間ピルビン酸ナトリウムを投与

し、その有効性と安全性について検討した。

B. 研究方法

対象：

対象は当科へ通院中のミトコンドリア病患者 2 名とした。症例の特徴を表 1 に示す。症例 1 は治療開始時 8 歳 11 か月の MELAS/Leigh overlap 症候群の症例である。7 ヶ月時に痙攣を発症し、血液中、髄液中の乳酸高値であり頭部 MRI で中脳に対称性病変を認め Leigh 症候群と診断した。1 歳時

の筋生検でミトコンドリア DNA G13513A 変異を認めた。診断後、ビタミン、ジクロロ酢酸等の内服を行ったが、その後も頭部 MRI で脳幹、基底核等に対称性病変が新たに出現し、病状は進行した。幼児期に寝たきり、気管切開、夜間人工呼吸管理、経管栄養となった。8 歳時に初回の stroke like episode を認め、MELAS/Leigh overlap 症候群と診断した。症例 2 は治療開始時 2 歳の Leigh 症候群の女兒である。乳児期より発達の遅れと筋緊張低下を認めた。血液、髄液中の乳酸高値、頭部 MRI で基底核に対称性病変を認め、1 歳時に Leigh 症候群と診断した。ミトコンドリア DNA の変異は検出されなかった。診断後、ビタミン等の内服を開始し、高乳酸血症は改善したが病状は進行した。発達の伸びはほとんど認めず、治療開始時、顎定なし、寝たきりで完全経管栄養だった。

方法：

ピルビン酸ナトリウムは 0.5g/kg/日より開始し、1 日 3 回に分けて、3.3g あたり 200ml の水分に溶かして投与した。症状の経過と副作用の有無を見ながらピルビン酸ナトリウムを最大 1.5g/kg/日まで増量した。

評価項目は血液・髄液中の乳酸・ピルビン酸値、L/P 比、頭部 MRI、SPECT、脳波、ミトコンドリア病重症度スコア（2005 年、厚生労働科学研究 古賀班）、Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale (NPMDs)、緊急入院の回数とした。症例 2 については粗大運動を Gross Motor Function Measure (GMFM) で評価した。

本研究は鳥取大学医学部倫理委員会の承認後、家族の同意を得て実施した。

C. 研究成果

症例 1：

ピルビン酸ナトリウムを 0.5g/kg/日より開始し、以前より内服していたジクロロ酢酸を中止後に漸増した。副作用を認めず 1.5g/kg/日まで増量できた。検査データでは投与開始 1 年後の血液中の L/P 比が軽度低下したが、髄液中の L/P 比は変化しなかった。乳酸、ピルビン酸の値は血液中に変化せ

ず、髄液中で軽度上昇した。検査データの推移を表 2 に示す。

頭部 MRI では stroke like episode の回数は投与開始前 1 年間に 3 回だったところ、開始後 1 年間では 2 回であった。しかし、2 回のうち 1 回は右後頭葉～頭頂葉に広く広がる病変を生じ、同部位の萎縮をきたした。SPECT では投与開始前は左後頭葉の軽度血流低下 (stroke like episode 後 6 ヶ月)、開始後 1 年では右後頭葉に軽度血流低下 (stroke like episode 後 8 ヶ月) を認めた。脳波では投与開始前から突発波はなく、基礎波にも変化を認めなかった。

家族の評価ではピルビン酸ナトリウム開始後、患児は活気が出て、以前よりもよく笑うようになった。また、上肢の動きが増加し、音の出る装置のボタンを押すことができるようになった。

ミトコンドリア病重症度スコアは開始前、1 年後とも 50 で変化しなかった。NPMDs は開始前 68 から 1 年後 61.6 へ低下したが、変化したのは section IV (QOL) のみだった。感染症や stroke like episode による緊急入院の回数は投与開始前 1 年間の 5 回から、開始後 1 年で 2 回に減少した。

症例 2

ピルビン酸ナトリウムを漸増したところ 1.2g/kg/日で下痢が出現し、0.7g/kg/日に減量した。0.7g/kg/日の投与では副作用を認めなかった。乳酸、ピルビン酸値は血液中で投与開始前から正常範囲内であった。血液中の L/P 比は軽度低下した。髄液中乳酸、ピルビン酸値は開始後 1 年後正常範囲内だが、L/P 比は軽度高値であった。検査データの推移を表 3 に示す。

投与開始前後で頭部 MRI、SPECT に変化を認めなかった。脳波では投与開始前両側後頭部、右中心部、左前頭部の突発波を認め、開始後半年で左半球の突発波が減少したが、1 年後には再度出現していた。てんかん発作は投与開始後も持続した。

家族の評価では投与開始後活動性が増加して、四肢の動きが増加した。ミトコンドリア病重症度スコアは低年齢のため実施しなかった。NPMDs (0-24 か月版) は投与開始前 38.9、開始後 1 年で 39.0