

201231169A

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)

ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に
対するタウリン療法の開発

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 砂田芳秀

平成 25(2013) 年 3 月

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)

ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に
対するタウリン療法の開発

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 砂田芳秀

平成 25(2013) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発

砂田芳秀 1

II. 分担研究報告

1. 砂田芳秀 9

2. 後藤雄一 11

3. 古賀靖敏 15

4. 太田成男 17

5. 萩原宏毅 21

6. 西松伸一郎 23

7. 村上龍文 25

8. 大澤 裕 27

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 29

IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 33

I. 総括研究報告

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究代表者 砂田芳秀 川崎医科大学 神経内科学・教授

研究要旨

希少難病ミトコンドリア脳筋症に対し薬事承認を得た薬剤は世界的に皆無である。このうち MELAS は脳卒中様発作を反復しながら進行するため、その再発抑制治療の確立が急務である。タウリンは、既にうっ血性心不全と高ビリルビン血症患者を適応として本邦で薬事承認（大正製薬）されているアミノ酸製剤である。本研究は、このタウリンの MELAS 脳卒中様発作の予防効果を立証する医師主導治験であり、新たな薬事承認獲得を目的とする。

MELAS は、ミトコンドリア DNA がコードしている tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子の一塩基置換により発症する。われわれは世界に先駆け、MELAS の変異 tRNA^{Leu(UUR)} においてアンチコドンのタウリン修飾が欠損していることを発見した。このタウリン修飾は翻訳におけるコドン認識に重要な役割を担い、欠損するとミトコンドリア蛋白質の合成障害をきたすため、MELAS の基本病態は RNA 修飾異常症であると提唱した。本年度、モデル細胞にタウリンを添加するとミトコンドリア機能異常が改善し、2 例の MELAS 患者へタウリンを経口投与すると反復していた脳卒中様発作が 10 年以上にわたって完全抑制された試験結果を発表した (Rikimaru M, et al. *Intern Med* 51 : 3351-3357, 2012)。また厚生労働省ミトコンドリア病調査研究班、日本神経学会、日本小児神経学会のバックアップのもと全国 911 専門医認定施設へのアンケート調査によって、本邦 MELAS の全国疫学調査をおこない、本治験の患者登録体制を準備した。治験インフラを整備し、これまでに医薬品医療機器総合機構 (PMDA) の事前審査を終了した。現在、平成 25 年 6 月の本審査での承認を目指し、プロトコルの問題点について検討している。今後は、各医療施設の IRB 承認を得て、平成 25 年度から 26 年度にかけて、1 年間の投与期間で医師主導治験を実施する。中期的（5 年後）には大正製薬が MELAS 脳卒中様発作予防の国内薬事承認を獲得、長期的（10 年後）には市販後調査をまとめ、国際標準化治療への展望を拓くことを最終目標とする。安価なアミノ酸製剤による MELAS 治療が可能となれば、厚生労働行政の課題である希少難病対策の一翼を担える。さらに日本で疾患概念が確立し遺伝子変異が同定された MELAS に対する治療薬として、わが国の厚生労働科学研究事業と医薬品開発力の卓越性を世界にアピールできる。本年度タウリン療法に関する国内特許が成立したが、今後は特許協力条約に基づく国際特許の出願を計画に含める。

研究分担者

砂田芳秀 川崎医科大学神経内科学 教授
後藤雄一 (独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第 2 部 部長
古賀靖敏 久留米大学医学部 小児科 教授
太田成男 日本医科大学大学院医学研究科 教授
萩原宏毅 帝京科学大学医療科学部 教授
西松伸一郎 川崎医科大学分子生物学 1 講師

村上龍文 川崎医科大学神経内科学 准教授
大澤 裕 川崎医科大学神経内科学 講師

A. 研究目的

本研究は希少難病であるミトコンドリア脳筋症 MELAS 患者における脳卒中様発作の再発抑制治療としてタウリン療法の医師主導治験を実施しその有効性と安全性を検証して国内薬事承認を得ることを目的とする。

MELAS はミトコンドリア病で最も頻度の高い病型で、ミトコンドリア DNA がコードしている tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子一塩基置換が原因とされているが、発症のメカニズムは未だ解明されていない。脳卒中様発作を繰り返しながら中枢神経系にダメージが蓄積していく進行性の経過をとる。現在、急性期には脳梗塞急性期に準じた治療が、慢性期にはエネルギー代謝改善を目的とした治療が行われているが、効果は十分とはいえない。とりわけ最も問題となる脳卒中様発作の再発を抑制する治療法の確立が急務である。われわれは、世界に先駆け MELAS の変異 tRNA^{Leu(UUR)} においてアンチコドンのタウリン修飾が欠損していることを発見した (Yasukawa, Ohta, et al. *JBC* 275, 2000)。このタウリン修飾は翻訳におけるコドン認識に重要な役割を果たす。MELAS ではタウリン修飾欠損が蛋白質合成障害を惹起することを証明し、基本病態が RNA 修飾異常症であると提唱した (Yasukawa, Ohta, et al. *EMBO J* 20, 2001)。さらに MELAS モデル培養細胞にタウリンを添加するとミトコンドリア機能が改善する。こうした独創的な基礎研究に基づき、2 例の MELAS 患者にタウリン経口投与をおこなったところ、反復していた脳卒中様発作が 9 年以上にわたって完全に抑制されている (Rikimaru, et al. *Intern Med* 51, 3351-3357, 2012)。タウリンは 1987 年にうっ血性心不全と高ビリルビン血症に対する保険適応が既に承認され、これまで重篤な副作用報告はなく安全性の高い薬剤と考えられる。厚生労働省ミトコンドリア病研究班のバックアップのもと、平成 24 年度は将来の国際標準治療を見据えたタウリン療法の医師主導治験のプロトコルを整備し、平成 25 年度から 2 年間の計画で治験を実施し有効性・安全性を評価し、薬事承認申請に取り組む。MELAS 脳卒中様発作の再発抑制治療の開発研究としては、分担研究者の古賀らによる L-アルギニン療法を除いては国内外で類似研究はない。

研究班全体として、①医師主導治験により MELAS 脳卒中様発作予防に対するタウリンの有効性の立証 (多施設・オープン・Phase III)、②MELAS 脳卒中様発作のバイオマーカーの開発 (先行臨床研究の結果からは患者白血球 tRNA^{Leu(UUR)} タウリン修飾率 < 10% が想定される)、③タウリン有効投与量の確認 (血清タ

ウリン値：先行臨床研究では 0.4mM 以上と予測される)、を目標とする。

B. 研究方法

平成 24 年度中にタウリンの MELAS 脳卒中様発作に対する再発防止の薬事承認を目指す医師主導治験についてプロトコルを作成し PMDA の治験承認を受け、治験インフラを整備する。具体的方法と担当について以下に記載する。

①治験薬 (タウリン) 供与 (砂田)：既に心不全と高ビリルビン血症を適応としてタウリン薬事承認をうけている企業 (大正製薬) と交渉し、試験薬提供・GCP に従った治験協力・終了後の薬事承認の申請について合意を得る。

②治験薬概要書作成 (砂田、太田、萩原)：企業と協議し、心不全・高ビリルビン血症承認時の薬事データを収集する。さらにミトコンドリア病に対する非臨床試験成績に関しても、*in vitro*, *in vivo* ともに、POC データを収集して治験薬概要書を作成する。

③治験患者登録・実施医療機関選定 (砂田、後藤、古賀)：厚生労働省ミトコンドリア病研究 (後藤) 班、日本神経学会、日本小児神経学会のバックアップを得て MELAS 患者に関する全国アンケート調査を実施し患者登録と医療施設選定の準備をおこなう。

④治験プロトコル・同意説明文書作成 (砂田、大澤、萩原、村上)：治験プロトコル原案を 12 月初旬までに作成し PMDA 事前面談を受ける。まず川崎医科大学内の内部部署担当者：医師、治験管理室、薬剤部、医事課、統計解析担当者、倫理審査担当者、及び外部部署担当者 (監査) からなるプロトコル作成ワーキンググループを立ち上げ、プロトコルを作成・改善し計画に反映させる。

⑤PMDA 本審査・対面助言 (砂田)：治験実施計画・症例報告書・同意説明文書・治験薬概要書・治験実施の科学的妥当性について書類一式を纏め、PMDA の事前面談に臨み、問題点を本審査に提出し治験実施の承認を受ける。

⑥IRB 審査・患者登録：患者同意説明文書を含む倫理委員会申請書類を川崎医科大学及び参加医療施設の治験・倫理委員会に申請し審査を受ける。承認後直ちに計画を

web上で公表、治験参加患者への説明・同意を経て患者登録を実施。

⑦薬効モニタリング準備（太田、萩原、西松）：被験者検体（白血球）を用いたミトコンドリア遺伝子変異率、プライマー延長法によるtRNA^{Leu(UUR)}タウリン修飾率、ND6蛋白質量ウエスタンブロット解析、血中尿中ミトコンドリア障害マーカーによる薬効判定の準備を行う。

⑧国際特許申請（太田、砂田）：本研究の基本特許となるタウリン特許（太田：登録番号5028639）から進歩性が得られればPCT出願を行う。

（倫理面への配慮）

本研究は2008年ソウル版ヘルシンキ宣言に準じ平成20年“ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”及び平成23年版“医療における遺伝子検査・診断に関するガイドライン”を遵守し、さらに平成24年3月発令の「臨床研究・治験活性化5ヶ年計画」に基づいた医師主導治験である。

バイオモニタリングのため採取された血液のタウリン含量やタウリン修飾についての個人情報連結匿名化され計画全体の個人情報管理者である川崎医科大学神経内科学 村上龍文が管理する。連結匿名化する理由としてタウリン含量やタウリン修飾について新たな知見が得られた場合には患者への直接フィードバック“連結”ができるようにするためである。本研究の結果は学会発表・論文発表される場合があるが、個人情報漏洩の防止について個人情報管理者を中心に行う。

タウリンは既に安全性が確認されている市販薬であり、オフラベル使用である本研究では対象者に対する直接の不利益はないと予想される。しかし被験者について生じた健康被害の補償に対しては「臨床研究に関する倫理指針」の原則に準じて、日本医師会治験推進センターが締結した補償賠償責任保険を雛形として保険加入し対応する。

また、以上の倫理的配慮について対象者あるいは対象者が未成年の場合には両親などの代諾者に対して、研究の目的、研究の方法、研究に協力する際の利益・不利益、個人情報保護、研究結果発表、研究協力の任意性と撤回の自由、費用負担に関する事項、有害事象・健康被害の補償について詳

細に記載した同意説明文書を準備し、説明して同意を得る。

現在、治験プロトコル作成と並行して、以上の配慮を盛り込んだ IRB 申請書を作成している。本年6月予定のPMDA 対面助言でプロトコルについて承認が得られれば、直ちに川崎医科大学及び参加医療施設の IRB へそれぞれ提出し承認を得る。

C. 研究結果

難治性疾患克服研究事業平成24年度第5次募集で採択された本研究について、平成24年10月9日の事業開始から平成25年3月31日までの研究成果について、以下に記載する。

・研究班全体としての研究成果

タウリンのMELAS脳卒中様発作に対する再発防止の薬事承認を目指す医師主導治験についてプロトコルのPMDA承認を受けて来年度から実施するため、治験インフラの整備を中心に研究をすすめた。

①治験薬（タウリン）供与：申請者は既に心不全と高ビリルビン血症を適応としたタウリン薬事承認をうけている企業（大正製薬）と治験薬提供・GCPに従った治験協力・終了後の薬事承認申請について合意（平成24年10月）。現在、大正製薬では既に市販薬として販売されているタウリンを治験試験物としてGCP基準で製造するラインの構築を行った（平成25年6月完成予定）。

②治験薬概要書作成：大正製薬と協議し、心不全・高ビリルビン血症承認時の薬事データとMELASに対する非臨床試験成績のPOCデータを収集し治験薬概要書を作成した。PMDA事前審査（第一回：平成24年12月、第二回平成25年3月）では問題点は指摘されなかった。

③治験患者登録・実施医療機関選定：ミトコンドリア病研究（後藤）班のバックアップ（平成24年10月）により、日本神経学会、及び日本小児神経学会の承認（平成25年1月）を受け、それぞれの専門医認定施設（合計911施設）神経内科、及び小児科診療部長あてにMELAS潜在患者に関するアンケート調査を実施した（平成25年1-3月）。

(i) アンケート一次調査結果：①回答率：59.5%（487施設/全911施設）、②本邦MELAS患者数：297名（小児科69名/

神経内科 228 名)、③本タウリン治験の登録候補患者:過去 2 年間に 2 回以上の脳卒中様発作:85 名(小児科 33 名/神経内科 52 名)、④タウリン適応外服用:3 名。

(ii)平成 24 年度患者登録キックオフミーティング結果:(i)で 2 回以上の脳卒中様発作反復患者のいる専門医認定施設の担当医を抽出して平成 25 年 3 月 2 日に患者登録キックオフミーティングを開催した。その結果、全 12 医師、連続 16 例の抽出患者のうち、少なくとも 9 例で L-アルギニンを併用していることが明らかとなった。L-アルギニン併用例が予想外に多数であることから、

(iii)アンケート二次調査結果:平成 25 年 3 月 31 日現在、一次調査で集積された、過去 2 年間に 2 回以上の脳卒中様発作 85 名について、現在、発作回数と併用薬を中心とした二次調査を実施している。

④治験プロトコル・同意説明文書作成:プロトコル作成ワーキンググループを立ち上げ(平成 24 年 10 月)、治験プロトコル原案を作成し PMDA 事前面談を受けた(第一回:平成 24 年 12 月)。PMDA から、(i)対象患者年齢制限の撤廃(当初は成人のみ)、(ii)治験症例数の設定根拠の明確化(当初は 10 例)、(iii)タウリン経口投与量設定の理論的根拠(当初は 0.25 g/kg/day)の提示、の助言を受けた。これに対応するため、現在、小児科も含めた患者アンケート調査の実施、先行臨床研究におけるタウリン血中濃度の再測定・再評価を行い、対象患者・症例数・投与量について検討した。更に、キックオフミーティングで得られた L-アルギニン併用例の取り扱いを課題として、PMDA の第二回事前面談を受けた(平成 25 年 3 月)。L-アルギニン併用条件を記載したプロトコル改訂を薦められた。以上のワーキングプロトコルに準拠した患者同意説明文書を作成した(平成 25 年 3 月)。

⑤PMDA 本審査:現在、平成 25 年 6 月予定の PMDA 本審査の準備中である。④の検討課題について治験実施計画を改訂し、症例報告書・同意説明文書・治験薬概要書・治験実施の科学的・倫理的妥当性についての書類一式を整えている。PMDA 本審査に提出し治験実施の承認を受ける。

⑥IRB 審査・UMIN 治験登録・患者登録:PMDA 本審査でプロトコルが承認されれば、患者

同意説明文書を含む IRB 関連書類一式を各実施医療施設の治験・倫理委員会に申請し審査を受ける(平成 25 年 6 月-8 月予定)。承認後は直ちにプロトコルを UMIN データベースへ登録し公表(平成 25 年 8 月予定)、治験参加患者への説明・同意を経て患者登録を実施(平成 25 年 6 月-9 月予定)する。

⑦薬効モニタリング準備:現在、血中タウリン濃度、被験者検体(白血球)を用いたミトコンドリア遺伝子変異率、プライマー延長法による tRNA^{leu(UUR)} タウリン修飾率、ND6 蛋白質質量ウエスタンブロット解析、血中尿中ミトコンドリア障害マーカーによる薬効判定アッセイについて正常対象者検体によって試行している(平成 25 年 6 月終了予定)。

・研究分担項目の成果

砂田:治験薬供与交渉・治験薬概要書作成・治験患者登録と実施医療機関選定・治験プロトコル作成・IRB 審査・患者登録・PMDA 事前審査

後藤:プロトコル作成・治験患者登録・実施医療機関選定

古賀:プロトコル作成・治験患者登録・実施医療機関選定

太田:治験薬概要書作成・薬効モニタリング準備

萩原:治験プロトコル作成・治験患者登録・実施医療機関選定

西松:薬効モニタリング準備

村上:同意説明文書作成・ワーキンググループ立ち上げ

大澤:治験プロトコル作成・IRB 審査・患者登録・薬効モニタリング準備

研究目的の達成度

平成 24 年度の目標である治験インフラの整備について、概ね当初計画したタイムテーブルに沿って進捗している。

・達成できた目的・目標

治験プロトコル委員会の立ち上げ・治験薬供与体制の確立・治験薬概要書作成・治験プロトコルの PMDA 事前相談・患者・医療施設のレジストリ準備(アンケート調査)・IRB 関連書類準備

・達成できなかった目的・目標

現時点では国際特許・先進医療申請については着手できていない。これについては、PMDA 本審査が終了し、プロトコル

が確定した段階で、これらの開始を検討する。同様に本審査終了後に治験ホームページによって研究活動の周知を図る予定である。

D. 考察

本邦で遺伝子変異が発見され、疾患概念が確立した MELAS は特定疾患に認定されている希少難病で、予後を決する脳卒中様発作の再発予防治療が待望されている。

ところが世界的にも MELAS 患者の疫学・自然歴については、小規模なコホート研究に限られているのが現状である (Yasuga S, Koga Y, et al. *BBA* 1820:619-624, 2012)。今回、本研究で明らかとなった本邦の MELAS とその脳卒中様発作についての最新疫学調査結果は、これまでの報告と比較し最大の症例を集積することに成功した。このうち反復する脳卒中様発作患者の占める頻度については、小児科患者が神経内科患者を上回り、小児期発症 MELAS が成人発症 MELAS と比較して、より重症と考えられる。

既に薬事承認を受け市販されている安価なアミノ酸製剤タウリンの医師主導治験に取り組む本研究は平成 24 年 3 月厚生労働省・文部科学省発令の臨床研究・治験活性化 5 ヶ年計画 2012 の目的のうち、(i) 日本の国民に医療上必要な医薬品・医療機器を迅速に届ける、(ii) 日本発のシーズによるイノベーションの進展・実用化に繋げる、(iii) 市販後の医薬品・医療機器の組み合わせにより、最適な治療法等を見出すためのエビデンスの構築を進める、のいずれにも合致する。本年度の治験インフラ整備により来年度から 2 ヶ年度で治験実施期間 1 年の医師主導治験を予定し、これまでの研究を総括した。本研究で得られた MELAS 疫学情報は、将来予定されるピルビン酸・EPI 治験についても重要なデータベースになるものと考えられる。

E. 結論

MELAS 発症の基本病態が RNA 修飾異常症であるとする独創的な基礎・臨床研究の成果を発表した。次いで、本邦 MELAS の最新疫学調査を実施し、経口タウリン治療についての医師主導治験のインフラ整備を行い来年度から 2 ヶ年で実施する。

F. 健康危険情報

現段階は治験実施前のため有害事象の該当はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S-i, Ohta S, Sunada Y. Taurine ameliorates impaired mitochondrial function and prevents stroke-like episodes in patients with MELAS. *Intern Med.* 51(24): 3351-7, 2012

Ohsawa Y, Okada T, Nishimatsu S, Ishizaki M, Suga T, Fujino M, Murakami T, Uchino M, Tsuchida K, Noji S, Hinohara A, Shimizu T, Shimizu K, Sunada Y. An inhibitor of transforming growth factor beta type I receptor ameliorates muscle atrophy in a mouse model of caveolin 3-deficient muscular dystrophy. *Lab Invest.* 92(8) : 1100-1114, 2012

Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Kakuma T, Koga Y. MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *BBA*, 1820(5):619-624, 2012

Koga Y, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Yatsuga S, Matsuishi T. Molecular pathology of MELAS and L-arginine effects. *BBA*, 1820(5):608-614, 2012

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(2) : 87-91, 2012

Koga Y, Tanaka M, Ohta S, Wei YH. Biochemistry of mitochondria, life and intervention 2010. *BBA.* 1820(5) : 551-552, 2012

Hayashida K, Sano M, Kamimura N,

- Yokota T, Suzuki M, Maekawa Y, Kawamura A, Abe T, Ohta S, Fukuda K, Hori S. H2 gas improves functional outcome after cardiac arrest to an extent comparable to therapeutic hypothermia in a rat model *J. Am. Heart Assoc.* 1(5):e003459, 2012
- Ikawa M, Arakawa K, Hamano T, Nagata M, Nakamoto Y, Kuriyama M, Koga Y, Yoneda M. Evaluation of systemic redox states in patients carrying MELAS A3243G mutation in mitochondrial DNA. *European Neurology.* 67(4) : 232-237, 2012
- Yatsuga S, Hiromatsu Y, Sasaki S, Nakamura H, Katayama K, Nishioka K, Koga Y. A two-day-old hyperthyroid neonate with thyroid hormone resistance born to a mother with well-controlled Graves' disease: case report. *J Med Case Rep.* 6(1) : 246-249, 2012
- 古賀靖敏. ミトコンドリア病の治療. 薬物治療. *Clinical Neuroscience 別冊* 30(9) : 1058-1063, 2012
- 古賀靖敏. ミトコンドリア病 - アルギニン療法, ピルビン酸ナトリウム療法など - クローズアップ、ここまで治せるようになった先天代謝異常. *小児内科* 10:1653-1656, 2012
- 古賀靖敏. ミトコンドリア脳筋症. *神経・筋疾患* 638-639, 2012
- 古賀靖敏. ミトコンドリア病. *小児内科* 第4版 Vol. 44: 724-727, 2012
- 古賀靖敏. 世界に先駆けたミトコンドリア脳筋症の効果的な治療法の開発. 難病と在宅のケア筋ジストロフィーのすべて, 2012
- 古賀靖敏. ミトコンドリア病の治療 生体の科学. 63(5) : 442-443, 2012
- Hoshi H, Hao W, Fujita Y, Funayama A, Miyauchi Y, Hashimoto K, Miyamoto K, Iwasaki R, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto H, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Kitagawa K, Nakayama KI, Kawamoto T, Sano M, Fukuda K, Ohsawa I, Ohta S, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Toyama Y, Miyamoto T. Aldehyde-stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis. *J. Bone Miner Res.* 27(9):2015-23, 2012
- Sakurazawa M, Katsura K, Saito M, Asoh S, Ohta S, Katayama Y. Mild hypothermia enhanced the protective effect of protein therapy with transductive anti-death FNK protein using a rat focal transient cerebral ischemia model. *Brain Res.* 1430:86-92, 2012
- Kashio A, Sakamoto T, Kakigi A, Suzuki M, Suzukawa K, Kondo K, Sato Y, Asoh S, Ohta S, Yamasoba T. Topical application of the antiapoptotic TAT-FNK protein prevents aminoglycoside-induced ototoxicity. *Gene Ther.* 19(12):1141-9, 2012
- 太田成男. ミトコンドリア DNA 構造と発現制御 *Clinical Neuroscience ミトコンドリア病 up to date.* 30(9) : 988-991, 2012
- 太田成男. 酸化ストレス制御とアンチエイジング *SURGERY FRONTIER* 19(2):80(184)-83(187), 2012
- 太田成男. 水素医学の現状 : 基礎医学から臨床医学へ *ファルマシア* 48(8) : 767-771, 2012
- Shimizu-Nishikawa K, Nishimatsu S, Nishikawa A. Strategies to detect interdigital cell death in the frog, *Xenopus laevis*: T3 accerelation, BMP application, and mesenchymal cell cultivation. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 48 (5) : 313-325, 2012

2. 学会発表

(国際学会)

Goto Y, "Mitochondrial diseases". Joint Congress of 12th International Child Neurology Congress and 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, 5.28, 2012.

Goto Y, "Reversible infantile respiratory chain deficiency: a clinical and molecular study". The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian Oceanian Myology Center, Kyoto, Japan, 6.7, 2012.

Sato Y, Goto Y. Furnishing with appropriate information on mitochondrial diseases to patients and their families. The 62nd Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, San Francisco, USA, 11.6-11.10, 2012,

Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine. International symposium of Mitochondrial biomedicine ,China, 4.8, 2012

(国内学会)

大澤 裕, 力丸満恵, 西松伸一郎, 萩原宏毅, 砂田芳秀. タウリンによる MELAS のミトコンドリア機能異常改善効果. 第7回筋ジストロフィー治療研究合同発表会、神奈川, 11.3, 2012

後藤雄一. ミトコンドリアと老化. ART FORUM 2012, 大阪, 8.30, 2012

後藤雄一. ヒトミトコンドリアの特性〜ヒト疾患の病態基盤, 第12回日本ミトコンドリア学会、公開講座、筑波, 12.21, 2012

末岡浩、佐藤卓、水口雄貴、泉陽子、高橋香織、佐藤健二、中林章、吉村泰典、後藤雄一. ミトコンドリア遺伝病における着床前遺伝子診断の不効率例に対する新たな対策の必要性. 第57回日本人類遺伝学会大会、東京、10.24-27, 2012

太田成男. 水素医学の発展と健康への貢献 日本アンチエイジング歯科学会、名古屋, 5.19, 2012

太田成男. 東洋はり医学会 ミトコンドリアを維持し、増やすための生活の知恵、東京、5.13, 2012

太田成男. 老いと若さを制御するミトコンドリア エイジングサイエンスシンポジウム、東京、6.7, 2012

太田成男. 水素医学の展開 日本NO学会 学術集会、神戸、6.29, 2012

太田成男. ミトコンドリアはどこ迄老化と若返りに関与している? 日本抗加齢医学会、札幌、9.30, 2012

太田成男. 水素による抗酸化作用とアンチエイジング効果 第6回東京眼科アカデミー、東京、1.20, 2013

太田成男. 水素医学研究 update-2012 分子状水素医学シンポジウム、東京、2.10

西松伸一郎, 日野純, 寒川賢治, 松尾壽之, 相賀裕美子, 寺田久美子, 成田知弘, 濃野勉. プロセシング酵素PC5/6による形態形成の制御. 第85回(平成12年度)日本生化学会、福岡, 12.16, 2012

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

取得した特許等知的財産権

特許: 028639号

<http://www1.ipdl.inpit.go.jp/>

[RS1/cgi-bin/RS1P400.cgi/9001/](http://www1.ipdl.inpit.go.jp/RS1/cgi-bin/RS1P400.cgi/9001/)

発明の名称: ミトコンドリア病の予防又は治療薬

出願人 太田成男

出願日 平成13年8月2日

出願国 日本

登録日 平成24年7月6日

特許番号 5028639

登録国 日本

特許満了日 平成33年8月1日

特許名称:生体内の有害な活性酸素及び
/またはフリーラジカル除去剤

出願人 太田成男

特許番号:5106110

取得年月日:2012.10.12

2. 実用新案登録

なし

3. その他

TBS あの日に帰りたい特別編、ダイエットの5大落とし穴完全脱出SP 出演、9.25, 2012

NHKゆうどきネットワーク出演、6.13, 2012

TBS はなまるマーケット若さを保つ！
水素パワー 出演、9.3, 2012

チバテレビ 達人道「水素の達人」出演
12.9, 2012

II. 分担研究報告

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 砂田芳秀

川崎医科大学 神経内科学・教授

研究要旨

ミトコンドリア病 MELAS はミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子領域の点変異が原因であるが、この変異から発症に至る分子メカニズムの全容は解明されていない。分担研究者の太田らは、MELAS の変異 tRNA^{Leu(UUR)} のアンチコドンで、正常で認められるタウリン修飾の欠損を発見した。われわれは、MELAS モデル細胞におけるミトコンドリア異常がタウリンの培地添加によって改善することに着目して、脳卒中様発作を反復する MELAS 患者にタウリン投与を行ってきた。その結果、①10 年以上にわたり脳卒中発作が完全に抑制される、②高乳酸血症が改善される、ことを本年度報告しタウリン治療による脳卒中様発作防止療法の可能性を示した (Rikimaru M, et al. *Intern Med.* 51: 3351-3357, 2012)。この先行臨床試験の結果をもとに、2012 年 10 月からタウリン投与による MELAS 脳卒中様発作の再発予防効果を証明し薬事承認獲得を目指す本研究に着手した。本年度の治験インフラ整備を研究代表者として総括し、患者登録のための本邦 MELAS 患者全国アンケート調査、企業連携による治験薬提供・概要書作成、治験プロトコル検討を行っている。

A. 研究目的

MELAS はミトコンドリア病で最も頻度の高い病型で、ミトコンドリア DNA がコードしている tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子一塩基置換が原因とされているが、発症のメカニズムの全容は未だ解明されていない。脳卒中様発作を繰り返しながら中枢神経系にダメージが蓄積していく進行性の経過をとるため、その再発を抑制する治療法の確立が急務である。分担研究者である日本医科大学の太田らは、世界に先駆け MELAS の変異 tRNA^{Leu(UUR)} においてアンチコドンのタウリン修飾が欠損していることを発見した (Yasukawa, Ohta, et al. *JBC* 275, 2000)。このタウリン修飾は翻訳におけるコドン認識に重要な役割を果たし、MELAS ではタウリン修飾欠損が蛋白質合成障害を惹起することを証明した (Yasukawa, Ohta, et al. *EMBO J* 20, 2001)。この結果から MELAS 発症の基本病態が RNA 修飾異常症であると提唱した。さらに MELAS モデル培養細胞にタウリンを添加するとミトコンドリア機能が改善することも示した (分担研究者太田らの候参照)。この独創的な基礎研究に基づき、われわれは 2002 年から 2 例の MELAS 患者にタウリン経口投与をおこなったところ、反

復していた脳卒中様発作が抑制されることを報告して、タウリン治療の可能性を示した (Rikimaru, et al. *Int Med.* 51, 2012)。

そこで、2012 年 10 月から、研究代表者として、市販薬タウリン投与による MELAS 脳卒中様発作の再発予防効果を証明し薬事承認獲得を目標とする本研究に着手した。

B. 研究方法

①先行臨床研究：アミノ酸タウリンは既に 1987 年に大正製薬から、高ビリルビン血症およびうっ血性心不全を対象として薬事承認されている (3g/日)。これまで、高ビリルビン血症で用いられた最大量 12g/日 (鎌田ら. 含硫アミノ酸 3, 223-235, 1980) を、脳卒中様発作を繰り返す 2 名の MELAS 患者 (29 歳女性、21 歳男性) に 2002 年 2 月からタウリン経口投与を開始し、臨床症状・血中乳酸・ビリルビン酸値を測定した (川崎医科大学倫理委員会承認臨床研究 : UMIN ID:000005592 : <https://upload.umin.ac.jp> : 試験名: ミトコンドリア脳筋症 (MELAS) 脳卒中様発作に対するタウリン経口投与療法の開発)。

②タウリン医師主導治験: ①の成果をもと

に、タウリンの MELAS 脳卒中様発作に対する薬事承認を目指し治験計画を作成した。平成 24 年 3 月 30 日 文部科学省・厚生労働省発令の臨床研究・治験活性化 5 ヶ年計画 2012 のうち、(i) 日本の国民に医療上必要な医薬品・医療機器を迅速に届ける。(ii) 日本発のシーズによるイノベーションの進展・実用化に繋げる。(iii) 市販後の医薬品・医療機器の組み合わせにより、最適な治療法等を見出すためのエビデンスの構築を進める、のいずれにも合致するため、厚生労働科研費補助金に申請し採択された。直ちに本年度に治験インフラ整備・来年度から 2 ヶ年で治験実施を骨子とする医師主導治験を開始し研究を総括した。

(倫理面への配慮)

本治験は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究(侵襲なし)に相当し、2008年版ソウル版ヘルシンキ宣言に基づく”ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”を遵守して施行する。

C. 研究結果

①先行臨床研究：タウリン 12g/日分 3 経口投与によって脳卒中様発作を繰り返す 2 名の MELAS 患者(29 歳女性、21 歳男性)は 2002 年 2 月から現在に至るまで、脳卒中様発作が完全抑制されている。高乳酸血症は改善し、血中タウリン濃度は、29 歳女性で、481.3 μ M, 21 歳男性で 996.0 μ M と正常(39.5-93.2 μ M)の x 5-10 倍に上昇した。

②タウリン医師主導治験では、企業(大正製薬)との治験薬供与契約の締結・治験薬概要書作成・治験患者登録と実施医療機関選定・治験プロトコル作成・患者登録のためのアンケート調査を主導し、PMDA 事前審査で本審査の許可を受けた。

D. 考察

難治性疾患ミトコンドリア病に対し保険適応を獲得した薬剤は世界的に皆無である。厚生労働省ミトコンドリア病(分担研究者後藤ら)調査研究班のバックアップと、MELAS 脳卒中様発作に対する先行治験 L-Arginine(分担研究者古賀ら)で得られたノウハウを結集し、安価なアミノ酸製剤タウリンによる難病治療が期待される。成功すれば厚生労働行政の課題である希

少難病対策の一翼を担えると考えられる。

E. 結論

MELAS 発症の基本病態が RNA 修飾異常症であるとする独創的な基礎研究の成果をもとに、経口タウリン治療の先行臨床研究について報告し、医師主導治験を開始した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S-i, Ohta S, Sunada Y. Taurine ameliorates impaired mitochondrial function and prevents stroke-like episodes in patients with MELAS. *Intern Med.* 51(24): 3351-7, 2012

Ohsawa Y, Okada T, Nishimatsu S, Ishizaki M, Suga T, Fujino M, Murakami T, Uchino M, Tsuchida K, Noji S, Hinohara A, Shimizu T, Shimizu K, Sunada Y. An inhibitor of transforming growth factor beta type I receptor ameliorates muscle atrophy in a mouse model of caveolin 3-deficient muscular dystrophy. *Lab Invest.* 92(8), 2012

2. 学会発表

大澤 裕, 力丸満恵, 西松伸一郎, 萩原宏毅, 砂田芳秀. タウリンによる MELAS のミトコンドリア機能異常改善効果. 第 7 回筋ジストロフィー治療研究合同発表会、神奈川、11.3, 2012

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得	なし
2. 実用新案登録	なし
3. その他	なし

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

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 後藤雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所
疾病研究第2部・部長

研究要旨

研究代表者らによってタウリン投与による MELAS モデル細胞機能障害の改善と 2 例の MELAS 患者の脳卒中様発作の再発予防効果について論文が発表された。タウリンは既に 1987 年に高ビリルビン血症とうっ血性心不全を対象として薬事承認をうけているため、今後は MELAS 担当医師の自由裁量によってタウリンの保険適応外使用が行われることが懸念された。そこで、われわれは、研究代表者に対し、厳密な医師主導治験により、タウリンの MELAS 脳卒中様発作再発予防の薬事承認を獲得するよう勧告した。本年度は、われわれ厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究」班（H23-難治-一般-016）と日本小児神経学会がバックアップして、本邦の MELAS 疫学研究のための全国アンケート調査を実施した。今後は本研究の MELAS 疫学二次調査に協力し、タウリン治験患者登録と実施医療機関を選定する。

A. 研究目的

MELAS は、ミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子領域の点変異（A43243G）がその 80% の患者で見られる希少性疾患である（Goto Y, et al. *Nature* 348 : 651-651, 1990）。この遺伝子変異から発症に至る分子メカニズムの全容は解明されていない。

太田らは、MELAS の変異 tRNA^{Leu(UUR)} のアンチコドンにおけるウオブルの位置の塩基である U34 で、正常で認められるタウリン修飾の欠損を発見し（Yasukawa T, Ohta S, et al. *JBC* 275 : 4251-4257, 2000）、このタウリン修飾欠損と MELAS 臨床症状との相関を示した（Kirino Y, et al. *PNAS* 102 : 7127-7132, 2005）。さらに本年度、研究代表者らによってタウリンを大量投与することにより MELAS モデル細胞のミトコンドリア機能異常が改善し、2 名の MELAS 患者の脳卒中様発作が 9 年以上抑制されることが報告され、タウリン治療の可能性が示された（Rikimaru M, et al. *Intern Med.* 51, 3351-3357, 2012）。

タウリンはうっ血性心不全と高ビリルビン血症に対し既に薬事承認されているアミ

ノ酸である。したがって、今後は MELAS 担当医師の自由裁量によって、MELAS 患者へのタウリン保険適応外投与が行われ、この薬剤の脳卒中様発作に対する予防効果についての厳密な判定ができにくくなることが懸念される。

そこで、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究」班（H23-難治-一般-016）では、研究代表者にタウリンの MELAS 脳卒中様発作再発予防の薬事承認を目的とする医師主導治験を開始するよう勧告し、協力を行った。

B. 研究方法

①MELAS 全国調査：研究代表者に協力し、平成 25 年 1 月下旬から本邦 MELAS 患者の疫学・自然歴を把握するためのアンケート調査を実施した。

②患者登録・実施医療機関選定：①の結果を基盤として、平成 25 年 3 月のタウリン治験キックオフミーティングに参加し、二次調査から患者登録・実施医療機関選定のためのパネル討論に加わった。

（倫理面への配慮）

本治験は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究（侵襲なし）に相当し、2008年版ソウル版ヘルシンキ宣言に基づく”ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”を遵守して施行する。

C. 研究結果

①MELAS 全国アンケート調査：われわれは研究代表者が作成した MELAS 疫学研究を改訂して、日本小児神経学会に共同研究申請をおこなった。この申請が採択され、小児神経学会認定施設(141 施設)へ MELAS 患者に対する疫学アンケート票を郵送し調査協力を依頼した。現在までに 87 施設/61.7%の解答を得て、本邦の小児科医の診療する MELAS 患者疫学について最新情報が得られた(詳細は分担研究者大澤の稿参照)。

②患者登録・実施医療機関選定：①の結果をうけ、平成 25 年 3 月のタウリン治験キックオフミーティングに参加した。われわれがこれまでに得た、小児 MELAS と成人 MELAS 患者のミトコンドリア変異率(ヘテロプラスミー)、および臨床症状の差異について情報提供し、小児のタウリン投与量決定について検討を加えた。さらに、われわれミトコンドリア班の分担研究者である小牧宏文が希少難病である MELAS の本邦患者登録の現状と問題点を紹介し、本治験の患者・実施施設登録への協力体制の構築に着手した。

D. 考察

本邦で遺伝子変異が発見され、疾患概念が確立した MELAS は特定疾患に認定され、とりわけ予後を決する脳卒中様発作の再発予防治療が待望されている。既に多疾患で薬事承認を受け市販されている安価なアミノ酸製剤タウリンの医師主導治験に取り組む本研究は平成 24 年 3 月厚生労働省・文部科学省発令の臨床研究・治験活性化 5 ヶ年計画 2012 の目的に合致する。これまでに本研究で得られた MELAS 疫学情報は、将来予定される、ピルビン酸・EPI 治験について重要なデータベースとなるものと考えられる。

E. 結論

われわれミトコンドリア病調査研究班(H23-難治-一般-016)と日本小児神経学

会が協力し、本治験の基盤となる MELAS 患者全国アンケート調査に参加して本邦 MELAS 患者の実態について最新情報を得た。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

(著書)

後藤雄一. 「ミトコンドリア病」希少疾患/難病の診断・治療と製品開発. (株)技術情報協会, 999-1005, 2012

(総説)

なし

2. 学会発表

(国際学会)

Goto Y, “Mitochondrial diseases”. Joint Congress of 12th International Child Neurology Congress and 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, 5.28, 2012

Goto Y, “Reversible infantile respiratory chain deficiency: a clinical and molecular study”. The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian Oceanian Myology Center, Kyoto, Japan, 6.7, 2012

Sato Y, Goto Y. Furnishing with appropriate information on mitochondrial diseases to patients and their families. The 62nd Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, San Francisco, USA, 11.6-11.10, 2012

(国内学会)

後藤雄一. ミトコンドリアと老化. ART FORUM 2012, 大阪, 8.30, 2012

後藤雄一. ヒトミトコンドリアの特性～ヒト疾患の病態基盤, 第 12 回日本ミトコンドリア学会、公開講座、筑波, 12.21, 2012

末岡浩、佐藤卓、水口雄貴、泉陽子、高橋

香織、佐藤健二、中林章、吉村泰典、後藤雄一. ミトコンドリア遺伝病における着床前遺伝子診断の不効率例に対する新たな対策の必要性. 第57回日本人類遺伝学会大会、東京、10.24-27, 2012

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 古賀 靖敏 久留米大学医学部小児科・教授

研究要旨

これまでに、分担研究者は MELAS 脳卒中様発作を対象とした血管拡張薬 L-Arginine 治療の 2 年間の医師主導治験を実施し、本年度中に薬事承認の申請を行う予定である。この先行治験で得られた、本邦 MELAS 患者の疫学・自然歴調査の結果と、治験実施における様々な問題点について、本タウリン治験ワーキンググループ（川崎医科大学・帝京科学大学）に全面的に情報提供をおこなった。また、タウリン治験プロトコル作成・治験患者登録・実施医療機関選定についての治験インフラ整備に協力した。L-Arginine とは薬効が異なるタウリンによっても、難治病態である MELAS の脳卒中様発作の予防効果を立証すべく、現在、ワーキンググループとともに治験実施の準備をおこなっている。

A. 研究目的

われわれは、難治希少疾患で MELAS についての、本邦初のコホート研究を実施し、その自然歴を明らかとした (Yatsuga S, et al. *BBA* 1820, 619-624, 2012)。この疫学・自然歴研究によって脳卒中様発作が MELAS 患者の重症度と予後を規定する因子であることが明確となった。そこで、われわれはこれまでに、血管拡張作用を有する L-Arginine を、急性発作頓挫、及び慢性再発予防薬として投与する医師主導治験（日本医師会治療推進センター・治療研究推進事業）に取り組んで、この薬剤の有効性について立証してきた (Koga Y, et al. *BBA* 1820, 608-614, 2012)。

一方、本研究はミトコンドリア変異 tRNA^{Leu(UUR)} のアンチコドンのタウリン修飾欠損の是正により MELAS のミトコンドリア蛋白質の合成障害の軽減を目指す。即ち、L-Arginine と全く異なった薬理機構による MELAS 再発抑制効果を立証する医師主導治験である。

そこで、現時点で世界的に有効性が証明され保険適応を獲得した薬剤が皆無である MELAS 脳卒中様発作に対する再発抑制治療として、われわれも、新たにタウリン療法の医師主導治験に参加し、その

国内薬事承認を目指す。

B. 研究方法

①治験プロトコル作成：先行研究である L-Arginine 治験は、治験後の症例検討会および薬効評価をする過程で、プロトコルおよび評価方法につき、様々な問題点が判明した。この経験を通して、川崎医科大学タウリン治験ワーキンググループが作成した治験プロトコルの原案についても、同様な問題点があることを踏まえ、より良い治験を構築すべく、検討を加えた。この検討結果をもとに、新たに治験受託会社を交え、平成24年12月に久留米大学小児科でそれぞれのプロトコル案の改訂へ向けて討議を重ね、PMDAの事前面談に臨んだ。②治験患者登録・実施医療機関選定：希少疾患 MELAS について、われわれが平成14年から5年間実施した世界初のコホート研究（病床数50床以上の医療施設へのアンケート調査）を下敷きに、タウリン治験ワーキンググループと MELAS 患者アンケート調査票を作成し、全国アンケート調査を実施した。この結果をもとに、平成25年3月のキックオフミーティングで、医療機関の臨床医とパネル討論をおこない、治験患者登録・実施医療機関選定について意見交換をおこなった。

(倫理面への配慮)

本治験は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究(侵襲なし)に相当し、2008年版ソウル版ヘルシンキ宣言に基づく”ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”を遵守して施行する。

C. 研究結果

①治験プロトコルの改訂とPMDA対面助言(本審査)への申請許可:タウリン治療薬概要書と治験プロトコルについて、それぞれ、(i)治験患者数、(ii)投与期間、(iii)投与量の3点について改訂を行い、2013年12月のPMDA事前面談をうけ、対面助言(本審査)を許可された(分担研究者萩原の稿を参照)。

②治験患者登録・実施医療機関の選定:(i)全国患者アンケート調査:日本小児神経学会認定施設(144施設)及び日本神経学会認定施設(770施設)に独自に作成したMELAS患者全国アンケート調査票を発送した。現時点で約60%の施設から解答があり、われわれの先行研究を超える約300名のMELAS患者と約85名の脳卒中様発作頻発患者が存在することが明らかとなった(分担研究者大澤の稿を参照)。(ii)患者登録・実施医療機関の選定:約85名の脳卒中様発作頻発患者に対して、二次アンケート調査を実施中である。この結果をもとに、患者登録・実施医療機関の選定を行う予定としている。

D. 考察

平成25年3月のタウリン治験キックオフミーティングのパネル討論の結果からは、本邦の脳卒中様発作頻発患者の多くが、既にわれわれのL-Arginineによる脳卒中様発作再発予防療法を実施していることが予想される。そこで現在、L-Arginine併用も可能とする、本タウリン治験プロトコルの改訂を行い、PMDA本審査に進む予定とする。L-Arginineとタウリンの全く異なる薬理機序を鑑みる(Rikimaru M, et al. *Intern Med.* 51, 3351-3357, 2012), 併用療法による相加的、ないしは相補的有効性は十分に期待できると考えられる。

E. 結論

われわれはL-Arginine治療の医師主導治験で得たノウハウを、本治験に提供し、L-Arginineと薬理機構が異なるタウリン

によるMELAS脳卒中様発作予防効果の立証に取り組んでいる。本年度は治験インフラ整備に全面的に協力した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Kakuma T, Koga Y. MELAS: a nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *BBA*, 1820(5):619-624, 2012

Koga Y, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Yatsuga S, Matsuishi T. Molecular pathology of MELAS and L-arginine effects. *BBA*, 1820(5):608-614, 2012

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 \cdot gene. *Brain & Dev.* 34(2):87-91, 2012

Koga Y, Tanaka M, Ohta S, Wei YH. Biochemistry of mitochondria, life and intervention 2010. *BBA*. 1820(5):551-2, 2012

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし