

「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 太田 成男 日本医科大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

本研究では希少難病ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対する再発抑制治療薬としてタウリン療法の医師指導型臨床実験を実施し、国内薬事承認を目指す。その根拠となる基礎実験を行い、MELAS の病因となる変異ミトコンドリア DNA をもつ細胞に対して、タウリンの効果を調べ、ミトコンドリアの活性が上昇することを示した。

A. 研究目的

ミトコンドリア病の MELAS はミトコンドリア DNA の点変異によって発症する。この点変異によって、ミトコンドリア tRNA のアンチコドン部のタウリン結合が失われ、タンパク質合成が行われなために発症することを私たちは示した。

MELAS にはモデル動物がないので、培養細胞を用いてタウリンの効果を判定した。

B. 研究方法

培養細胞は、患者由来の線維芽細胞からミトコンドリア DNA をミトコンドリア DNA が存在しない HeLa 細胞に移植した。

タウリンの効果は、呼吸鎖による消費酸素の定量、ミトコンドリアの形態、ミトコンドリアの膜電位、酸化ストレス状態によって判定した。

タウリンの効果を顕著にするため、メチオニンを除去してタウリンが合成できない状態でも測定した。

（倫理面への配慮）

培養細胞を用いるので倫理的問題はない。

C. 研究結果

タウリンを 40 mM の高濃度で 2-4 日処理すると、酸素消費量、ミトコンドリアの膜電位が上昇し、ミトコンドリアの形態も正常形に移行した。

メチオニンを除去した培養液で前処理をした場合は、タウリンを 0.3mM 添加しただけでも、酸素消費が増加し、膜電位

が上昇した。

D. 考察

以上の結果から、MELAS のミトコンドリア変異を持つ細胞には高濃度のタウリンを添加すれば、ある程度の改善が認められる。

なお、実験に用いたタウリン濃度は、患者に対して大量の経口投与した量に対応する。

E. 結論

ミトコンドリア脳筋症 MELAS に大量のタウリンを経口投与することによって、ミトコンドリアが改善する可能性が示唆された。

モデル動物が存在しないことから、モデル動物の実験を経ないで臨床試験をすることが望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hayashida K, Sano M, Kamimura N, Yokota T, Suzuki M, Maekawa Y, Kawamura A, Abe T, Ohta S, Fukuda K, Hori S. H<sub>2</sub> gas improves functional outcome after cardiac arrest to an extent comparable to therapeutic hypothermia. *J. Am. Heart Assoc.* 1(5):e003459, 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

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. *Internal Medicine* 51(24):3351-7, 2012

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

## 2. 学会発表

Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine. *International symposium of Mitochondrial biomedicine* China, 4.8, 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, 2013

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

特許番号:5028639 取得年月日:2012.7.6  
特許名称:ミトコンドリア病の予防又は治療薬

特許番号:5106110 取得年月日:2012.10.12 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

2. 実用新案登録  
なし

3. その他

- 1) NHK ゆうどきネットワーク  
2012. 6. 13. 出演
- 2) 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  
2012. 9. 25 出演
- 3) TBS はなまるマーケット若さを保  
つ！水素パワー 2012. 9. 3 出演
- 4) チバテレビ 達人道「水素の達人」  
2012. 12. 9 出演

「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 萩原 宏毅

帝京科学大学 医療科学部・教授

研究要旨

ミトコンドリア脳筋症 MELASはミトコンドリア病で最も頻度の高い病型で、脳卒中様発作を繰り返す進行性の経過をとるため、発作の再発を抑制する治療法の確立が急務である。本疾患では、ミトコンドリア DNAの tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子一塩基置換が同定され、変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 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が発見された。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の改善が認められた。われわれは、こうした基礎研究に基づき2例のMELAS患者にタウリン経口投与を行ったところ、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たことを報告した。これらに基づき、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を実施し、その有効性と安全性を検証する目的で本研究を開始した。本年度は、本研究を厚生労働省難治性疾患克服研究事業・医師主導治験として実施するための、治験プロトコルの作成、関連書類の準備、PMDAとの対応などを実施し、治験開始に向けたインフラの整備を進めた。

A. 研究目的

MELAS (Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic-acidosis and Stroke-like episodes)はミトコンドリア病で最も頻度の高い病型である。脳卒中様発作を繰り返す進行性の経過をとるため、発作の再発を抑制する治療法の確立が急務である。本疾患では、ミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子一塩基置換が同定され、変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾欠損が発見された。こうした基礎研究に基づき、2例の MELAS 患者にタウリン経口投与を行ったところ、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た (Rikimaru M, et al. *Intern Med.* 51, 3351-3357, 2012)。これらより、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を実施し、その有効性と安全性を検証する目的で本研究を開始した。本年度は、医師主導治験として実施するための、プロトコル・同意説明文書作成、治験薬概要書作成、PMDA 対面助言に向けた準備、IRB 審査に向けた準備に着手し、治験開始に向けたインフラの整備を

施した。

B. 研究方法

- ①治験プロトコル・同意説明文書作成  
医師主導治験ワーキンググループを立ち上げ、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。その議論を反映させ、プロトコルを確立する。合わせて同意説明文書を作成する。
- ②治験薬概要書作成  
治験薬提供企業と協議し、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。
- ③PMDA 対面助言に向けた準備  
治験実施の承認を受けるため、PMDA 対面助言に向けての治験実施計画・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の書類一式をまとめる。
- ④IRB 審査に向けた準備  
PMDA 対面助言後に、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

請し審査を受ける計画である。このための準備を進める。

(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・同意説明文書作成  
医師主導治験ワーキンググループを立ち上げ(平成24年10月開始)、治験プロトコル原案を作成しPMDA事前面談を受けた(平成24年12月10日)。PMDAから、(i)対象患者年齢制限の必要性の有無(当初は成人のみ)、(ii)治験症例数の設定根拠(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)を示すよう助言を受けた。これを受けて、神経内科、小児科においてMELAS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、プロトコルの確定作業を行った。また、プロトコルに準拠した患者同意説明文書を作成中である。

#### ②治験薬概要書作成

治験薬を提供する大正製薬の協力を得て、心不全・高ビリルビン血症承認時の薬事データと非臨床試験成績のPOCデータを収集し治験薬概要書を作成した。PMDA事前審査(平成24年12月10日)では特に問題点は指摘されなかった。

#### ③PMDA対面助言に向けた準備

PMDA事前面談を受け、対面助言へと進む許可を得た。プロトコルを確定し、症例報告書・同意説明文書・治験薬概要書・治験実施の科学的妥当性についての書類一式を準備しており、平成25年4月1日対面助言の申し込み予定である。

#### ④IRB審査に向けた準備

PMDA対面助言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計画である(平成25年6月予定)。現在関連文書を準備中である。

### D. 考察

治験プロトコルの確定、関連書類の準備、PMDAとの対応などを実施し治験開始に向けたインフラの整備を十分に行うことは、MELASの脳卒中様発作に対するタウリン療法を医師主導治験として実施する基盤として重要である。

### E. 結論

タウリン療法を医師主導治験として実施するため、治験プロトコル、治験薬概要書の作成、PMDA事前面談を受けた。現在、対面助言に向けて準備中である。

### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
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

「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 西松伸一郎 川崎医科大学 分子生物学 1・講師

研究要旨

本研究は、「ミトコンドリア脳筋症 (MELAS) に対するタウリン療法」の薬効を判定する評価法の開発を最終目的とする。現時点で MELAS を含むミトコンドリア病に対して有効な臨床指標 (バイオマーカー) は皆無であり、タウリンの用量に依存して体内で変動するサロゲートマーカーも存在しない。再現性があり用量依存的に変動するバイオマーカーを見つけ出すことが、タウリンの治験を成功に導く鍵となる。多数あるバイオマーカーの候補の中から、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率、および呼吸酵素複合体 I の ND6 タンパク質量が指標となるか、被験者由来の白血球を用いて検討する準備を行っている。またモデル細胞を用いて、用量依存性と再現性を検証するとともに、ミトコンドリア遺伝子の変異率 (重症度) との相関について解析する予定である。

A. 研究目的

ミトコンドリア tRNA は、核内の tRNA と比べアンチコドン 3 番目の塩基の認識が甘く、1 種類の tRNA で複数のコドンに対応することが古くから知られている。これは、真核細胞の進化の過程でミトコンドリアが tRNA のアンチコドン 3 番目の塩基を修飾する能力を獲得し、1 種類の tRNA で複数のコドンに対応することにより必要最小限の DNA でミトコンドリアの機能を賄うことに成功した証と考えられている。

ミトコンドリア脳筋症 (MELAS) は、ミトコンドリア DNA がコードする tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> 遺伝子の点変異により発症する。太田らは、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のアンチコドン 3 番目の塩基がタウリンで修飾されていること、さらに MELAS の変異 tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> ではこのタウリン修飾が欠損していることを発見した。タウリン修飾が欠損した変異 tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> は、複数のコードに対応できなくなる。その結果、ミトコンドリアの中で最も Lys 含量が多いタンパク質で、呼吸酵素複合体 I を構成するタンパク質 (ND6) の合成が抑制され、ミトコンドリアの呼吸機能が低下する。我々は、MELAS のモデル細胞の培養液にタウリンを添加するとミト

コンドリアの呼吸機能が改善すること、さらに MELAS 患者 2 名にタウリンを投与すると脳卒中用発作が抑制されることを明らかにし、MELAS の基本病態は RNA 修飾異常症であることを提唱した。

これまでの研究により、タウリンを添加するとモデル細胞のミトコンドリアの呼吸機能が改善することは明らかとしているが、tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のタウリン修飾が回復しているかどうか未解決のまま残されている。タウリン投与により、MELAS 患者由来の細胞のミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のタウリン修飾がどの程度改善しているかも不明である。タウリン修飾の検出感度の高いアッセイ系を確立することが、科学的にも臨床に応用する上でも急務である。

B. 研究方法

本研究では以下の 2 つの試験を実施する。  
① プライマー延長法によるタウリン tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 修飾率の解析：ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のアンチコドンの 3' 側上流の塩基配列に相補的なプライマーを作製し、ジデオキシグアノシン (ddGTP) と 3 種のデオキヌクレオチド (dATP, dCTP, dTTP) 存在下で逆転写酵素により cDNA を合成する。タ

ウリンで修飾されているtRNA<sup>Leu(UUR)</sup>を鋳型とした場合、アンチコドンの3番目の塩基「U」が「G」と水素結合を形成するため、その場でddGTPが取り込まれcDNA合成が停止する。一方、タウリンで修飾されていない場合、「U」が「A」と水素結合しcDNA合成が継続され、ミトコンドリアtRNAの「G」に相当する塩基が出現したところで停止する。合成したcDNAの長さの違いを比較定量することで、tRNA<sup>Leu(UUA)</sup>のタウリン修飾率を算出することができる。②ウエスタン法によるミトコンドリア呼吸酵素複合体IのND6タンパク質の定量:被験者検体の組織を用いて細胞抽出液を作製し、ウエスタンブロッティングを行い、抗ND6抗体によりタンパク質量を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究(侵襲なし)に相当し、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実施する。

### C. 研究結果

現在解析中で、タウリンの治療効果を定量的に評価できるか、できるだけ速やかに検証するとともに、再現性を確認する。

### D. 考察

一連の臨床試験は、GLP、GCPに準拠して実施する。用量依存性の評価法を開発しておくことは、治験実施中に有害事象が生じた際の判断材料を提供する上でも重要である。

### E. 結論

評価法が確立次第、典型的な症例において血漿中のタウリン濃度とtRNA<sup>Leu(UUA)</sup>タウリン修飾の改善度合いを解析する必要がある。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S, Ohta S, Sunada Y. Taurine ameliorates impaired mitochondrial

function and prevents stroke-like episodes in patients with MELAS. *Intern Med.* 51(24) : 3351-3357, 2012

Shimizu-Nishikawa K, Nishimatsu S, Nishikawa A. Strategies to detect interdigital cell death in the frog, *Xenopus laevis*: T3 acceleration, BMP application, and mesenchymal cell cultivation. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 48 (5) : 313-325, 2012

#### 2. 学会発表

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

### 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

「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 村上 龍文 川崎医科大学 神経内科学・准教授

研究要旨

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効果を判定するため、MELAS 患者の再発を症状ならびに頭部 MRI 上どう定義するかを、過去に報告されている研究をもとに検討した。MELAS の脳卒中様発作は頭部 MRI で拡散強調画像ないし FLAIR 画像での高信号で新たな病変の出現で判定するのが良く、脳卒中様症状として頭痛と嘔吐、痙攣、片麻痺、同名半盲、皮質盲、失語症の出現と組み合わせることにより脳卒中発作は確実となる。MRA による病巣周囲の血管拡張は発作の再発を支持する根拠となる。

A. 研究目的

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効果を判定するためのプロトコルを作成するためには、発作の再発をどう判定するかが重要なポイントとなる。再発には臨床的症状の再発と頭部 MRI 上の病巣の再発に分類される。本研究では MELAS 患者の再発を症状ならびに頭部 MRI 上どう定義するかを、過去に報告されている文献をもとにコンセンサスが得られる判定法をさぐっていく。

B. 研究方法

自験例とともに MELAS の頭部画像診断について記載のある過去 5 年の最近の文献を抽出し、MELAS の脳卒中様発作を画像上どう定義するかを検討する。

（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

MRI 上頭頂葉、後頭葉に必ずしも血管支配域に一致しない梗塞様病変が MELAS の特徴である。T2 強調画像や FLAIR 画像で高信号の病巣を呈する。大脳皮質と隣接する白質病変を主体に病巣があり深部白質病変までおよばない場合が多い。経過中 MRI で病変が消失、再出現、あらたな病変が出現する場合がある。

急性期には拡散強調画像で高信号を呈する。MELAS では急性期病巣の ADC 値は正常ないし増加しており血管原性浮腫を反映していると思われる。一方 ADC 値が減少する例もあり細胞内浮腫が原因だと考えられている。さらに同一症例で両者の混在例も報告されている。

血流の亢進も報告されており、MRA で大動脈径は正常であるが、病巣近傍の中小動脈、静脈、毛細血管の拡張の報告がある。MRS は有用で病変部位に乳酸のピークがみられる。拡散像が正常にも関わらず、MRS で乳酸のピークがみられる例も報告されている。

頭部 CT でも MRI と同様に低吸収域の梗塞様病変が検出できる。その他に脳卒中様発作前から両側大脳基底核の石灰化を認める場合がある。



厚生労働科学研究で古賀班 2005 年 3 月作成の MELAS の診断基準では、脳卒中様発作症状として頭痛と嘔吐、痙攣、片麻痺、同名半盲、皮質盲の 5 項目が挙げられているが、大人の MELAS の患者の場合これに加えて、失語が好発症状として重要だと思われる。最近われわれが経験した自験例は感覚失語症を呈しており側頭葉上側頭回の病巣が責任病巣であった。意識障害も MELAS の脳卒中様発作症状の一つであるが種々の原因で出現するので判定の際注意を要する。その他の神経症状が出現する可能性があるが病巣部位とあわせて総合的に脳卒中様発作と判定するのが妥当と思われる。

#### D. 考察

MELAS の脳卒中様発作は頭部 MRI で拡散強調画像ないし FLAIR 画像での高信号で新たな病変の出現で判定するのが最も感度が高い。臨床症状の出現と組み合わせるとさらに確実となる。

MRA の血管の拡張は発作を支持する補助項目である。MRS での病変部位で乳酸値のピークは鋭敏な方法であるがその意義はさらに検討の必要がある。ADC 値は脳梗塞との鑑別の参考にはなるが、MELAS では増加する場合と減少する場合があり診断基準としては不適當である。

脳卒中様発作症状の臨床症状としては診断基準の 5 項目の他に、失語症を加えるのがよいと思われる。

#### E. 結論

タウリン療法の効果を判定するためのプロトコルでは、脳卒中様発作を頭部 MRI で拡散強調画像ないし FLAIR 画像での高信号病変の出現で定義するのが妥当で、さらに臨床症状の巣症状出現と組み合わせると確実となる。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし

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

「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 大澤 裕 川崎医科大学 神経内科学・講師

研究要旨

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。本研究では厳密な治験プロトコルによってタウリンの MELAS 脳卒中様発作の再発予防効果を証明して薬事承認を得ることを目的とする。われわれは、本年度患者登録・実施医療機関選定のために、まず本邦の MELAS 疫学を調査するため、小児神経学会専門医と日本神経学会専門医の所属する全国 911 認定施設の診療部長宛てに、患者アンケート票を郵送した。これまで回答のあった 487 施設（約 59.5%）の集計では、本邦には 297 名の MELAS 患者（小児科 69 名/神経内科 228 名）が存在し、このうち、本タウリン治験の患者登録の候補となる過去 2 年間に 2 回以上の脳卒中様発作に該当する患者は、85 名（小児科 33 名/神経内科 52 名）であった。現在、個々の症例について併用薬等の二次調査を行い、患者登録・施設選定を進めている。

A. 研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の点変異 (A43243G) を同定し (Goto Y, et al. *Nature* 348, 651-651, 1990)、変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾欠損が発見された (Yasukawa T, Ohta S, et al. *JBC* 275, 4251-4257, 2000)、タウリン大量投与によって 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た (Rikimaru M, et al. *Intern Med.* 51, 3351-3357, 2012)。

しかし、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ため、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と懸念される。

そこで、本研究では、タウリン医師主導治験における患者登録のためまず本邦 MELAS の疫学調査を行った。MELAS 総患者数と、このうち脳卒中様発作の頻回再発患者数、タウリン保険外使用の有無についての全国アンケートを実施した。

B. 研究方法

まず MELAS 疫学調査について、厚生労働省ミトコンドリア病研究（後藤）班、日本小児神経学会、日本神経学会に共同研究を依頼し調査協力体制を構築した。次いで、日本小児神経学会専門医 1,083 名、日本神経学会専門医 4,887 名が所属する認定施設（小児科 141 施設、神経内科 770 施設）の診療部長宛に、はがきによる一次アンケート票を送付した（小児科：平成 25 年 2 月 7 日、神経内科：平成 25 年 1 月 25 日）。

（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

平成 25 年 3 月 31 日時点でのアンケート集計では、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、の結果となった。

#### D. 考察

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  
回明らかとなった本邦の MELAS 患者数は、  
これまでの報告と比較し最大であった。  
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  
いう従来の報告と一致するものと考えら  
れた。

#### E. 結論

日本小児神経学会・日本神経学会専門医  
が所属する認定施設を対象に、タウリン  
治験の患者登録を目指す MELAS アンケー  
ト調査をおこなった。

#### 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):1100-1114  
, 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

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表(1)

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
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	東京	2012	999-1005
古賀靖敏	ミトコンドリア病の治療, 薬物治療		Clinical Neuroscience 別冊			2012	1058-1063
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			2012	1653-1656
古賀靖敏	ミトコンドリア脳筋症		神経・筋疾患			2012	638-639
古賀靖敏	ミトコンドリア病		小児内科 第4版			2012	724-727
古賀靖敏	ミトコンドリア病の治療		生体の科学			2012	442-443
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	
太田成男	ミトコンドリア DNA構造と発現制御	水澤英洋、宇川義一、小林 靖、鈴木則宏、斎藤延人、北澤 茂	Clinical Neuroscience	中外医学社		2012	988-991
太田成男	酸化ストレス制御とアンチエイジング	滝本茉莉江、横田久長	SURGERY FRONTIER	メディカルレビュー社		2012	80-83
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	日本薬学会		2012	767-771

## 研究成果の刊行に関する一覧表(2)

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S-i, Ohta S, Sunada Y	Taurine Ameliorates Impaired the Mitochondrial Function and Prevents Stroke-like Episodes in Patients with MELAS	Intern Med	51(24)	3351-3357	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 caveolin3-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 $\alpha$ 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
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

## 研究成果の刊行に関する一覧表(3)

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
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)	2015-2023	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)	1141-1149	2012

## 研究成果の刊行に関する一覧表(4)

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimizu-Nishikawa K, Nishimatsu S, Nishikawa A	Strategies to detect interdigital cell death in the frog, <i>Xenopus</i> <i>laevis</i> : T3 accerelation, BMP application, and mesenchymal cell cultivation	In Vitro Cell Dev Biol Anim	48(5)	313-325	2012



#### IV. 研究成果の刊行物・別刷

# 薬物治療

古賀 靖敏

## はじめに

ミトコンドリアミオパチーの根本治療は、ミトコンドリア機能障害を正常化することである。しかし、医学研究が進んだ今日においても、本症の特効薬的な治療法は残念ながら存在しない。本稿では、ミトコンドリアミオパチーの治療として現在行われている薬物治療に関し解説し、日本での治療薬開発の現状についても紹介する。

細胞内小器官であるミトコンドリアに存在する代謝経路と使用されている薬剤の関係を図1に示す。本稿では、主に電子伝達系機能障害に起因する種々の症状に対する処方例について以下に解説する(久留米大学医学部小児科ホームページのミトコンドリア病パンフレット：<http://www.ped-kurume.com/pdf/mitochondria.pdf>)。

## 急性増悪期治療

常時、高乳酸、ピルビン酸血症が存在するが、感染や嘔吐・下痢などの発熱性炎症性疾患、脱水症を契機として、急性期には重症な代謝性アシドーシスを来す。そのため、それらに対する救急対応が必要になる。同時に合併する腎尿細管性アシドーシス(I型およびII型)が存在する場合、腹膜透析、血液透析を併用する場合もある。ミトコンドリア異常症の急性期にしばしば合併するNa 130 mEq/L以下の低Na血症は、腎尿細管におけるエネルギー不全のためのNa再吸収障害や、SIADHの合併のいずれの可能性も考えられる。前者であれば、ADH分泌が高値でないにもかかわらず、尿中Na排泄は100 mEq/L以上になることが多い。後者の場合、水分制限を中心に治療するが、両者の鑑別が難しいことも経験する。急性期治療のフロー

こが やすとし 久留米大学教授/小児科

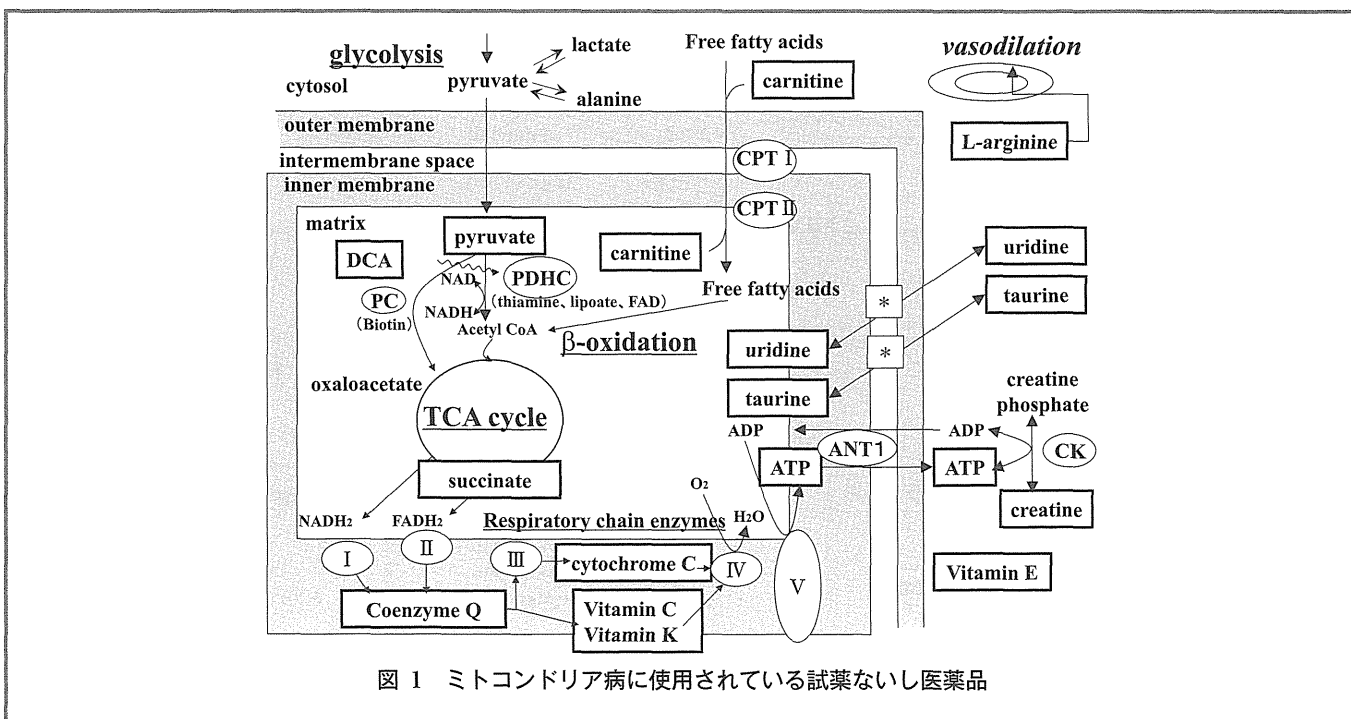


図1 ミトコンドリア病に使用されている試薬ないし医薬品

チャートを図2に示す。

### 1. 注射剤

A. ビカーボン注(500 mL) 1回500~1,000 mL 静注  
 心不全、腎不全がない場合、ビカーボン500 mLに50%ブドウ糖20 mL 1Aを混ぜ点滴静注する。ビカーボンはNa 135 mEq/L, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 25 mEq/Lと細胞外液の組成に近く、代謝性アシドーシス発作時に併ししやすい低Na血症と代謝性アシドーシスの補正に、ミトコンドリア異常症の救急治療でもっとも有用な輸液製剤と考えられる。輸液スピードは脱水の重症度に応じて増減する。初期輸液としては体重あたり20 mL/kg/hour程度とし、1時間の経過のちに血清Naおよび血液ガスを参考にしながら輸液量を調整し、緩速輸液、維持輸液とする。腎不全、心不全がある場合、ナトリウム負荷は避けなければならない、他の基剤を

選択する。また、脳浮腫が予測される場合、水分の過剰投与を避け、マンニトールなどの脳圧降下剤や利尿剤を選択する。

B. アルギU注(200 mL:10%アルギニン塩酸塩)  
 1回5 mL/kg/hour 静注

MELASの脳卒中様発作であれば、脳卒中様発作発現から6時間以内にアルギU 5 mL/kg/one shootの急性期治療が有効である<sup>1)</sup>。図3にアルギニン投与後の血漿中のパラメーターを示す。アルギニンのピークは投与後15分で9.5 mM程度まで上昇する。一方、シトルリン、cGMP、NO<sub>x</sub>のピークは30分となる。脳卒中様発作発現後2時間でアルギニンを投与し、その後継時的に観察したMRI画像を図4に示す。発作後12時間でのMRI画像は、DWI高信号、ADC低信号、T2WIで変化なく、超急性期画像を示している。しかし、7日後、1ヵ月後および42日後のMRI

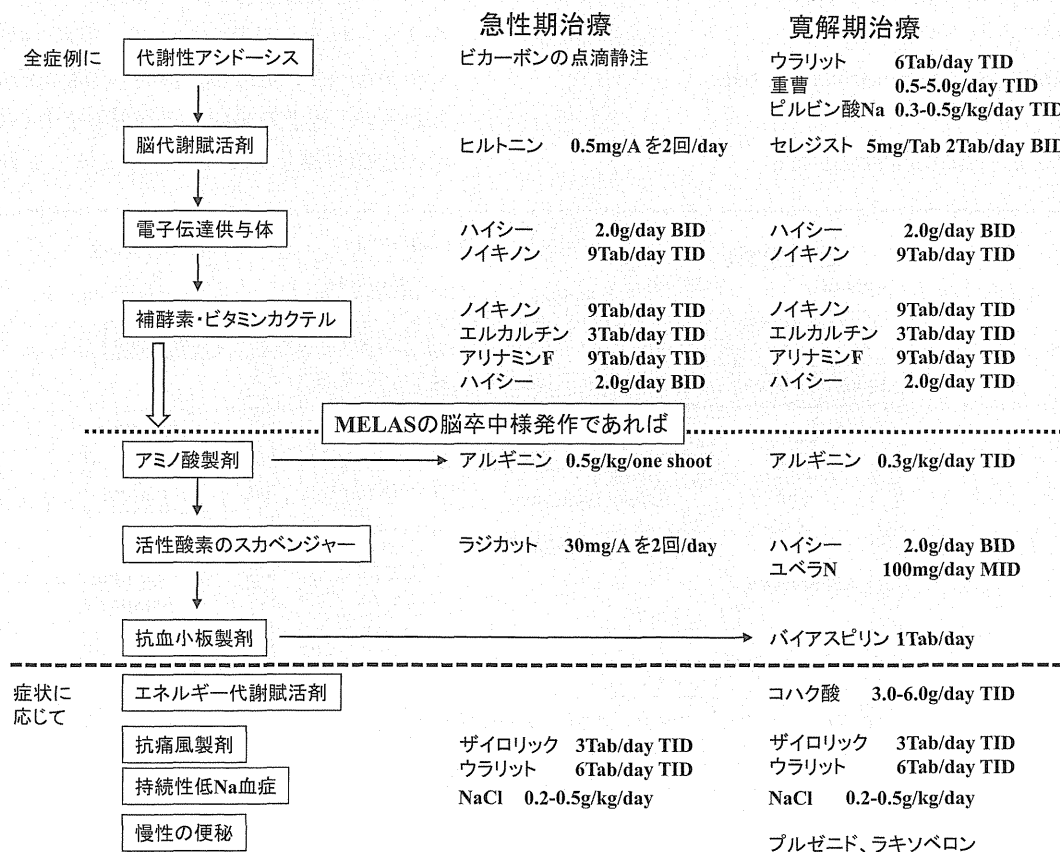


図2 ミトコンドリア異常症に対する治療法選択のフローチャート

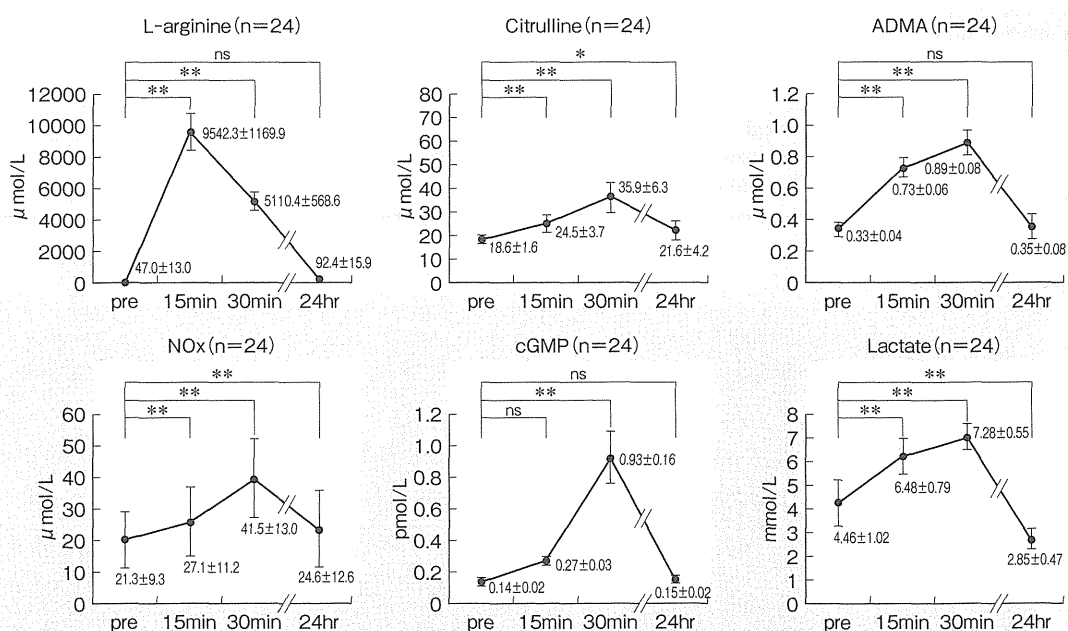


図 3 アルギニン静注後の各種パラメーター

アルギ U 5 mL/kg/one shoot の急性期治療後、アルギニンのピークは投与後 15 分で 9.5 mM 程度まで上昇する。一方、シトルリン、cGMP、NOx のピークは 30 分となる。したがって、アルギニンの血管拡張能は投与後 30 分でピークとなると考えられる。

画像では、全く異常像は消失した。このように、発作後超早期(2 時間以内)にアルギニンを静注することで、臨床症状のみならず MRI 画像上も異常が全く消失した。この治療は、日本医師会治験促進センターの医師主導治験として 2 年間の治験が終了し、現在 PMDA に申請準備中である。アルギ U の急性期効果は、MELAS に合併する血管内皮機能不全に対する効果と考えられているが、投与開始時期が早ければ早いほどその効果がよいと考えられる<sup>2)</sup>。

#### C. ラジカット注(30 mg/A)

1 回 1A, 1 日 2 回 静注

脳梗塞急性期治療薬であり、フリーラジカルを消去し過酸化脂質産生を抑制し、脳細胞の酸化的障害を抑制するといわれている。発作開始後 24 時間以内に開始し、最大 2 週間使用する。

#### D. ヒルトニン注(0.5 mg/A)

1 回 1A, 1 日 2 回 静注

遷延性の意識障害が続く場合は脳代謝賦活剤として使用する。

#### E. ソルメドロール注(500 mg/A)

1 回 30 mg/kg/日, 3 日連続 静注

種々の治療に効果がみられない場合、ステロイドパルス

療法を行うが、効果に関しては不明である。回復期には急速な脳萎縮がおこることが多い。

## 2. 内服薬

### A. ザイロリック錠(100 mg) 3 錠 分 3 食後

高乳酸血症(血漿中乳酸値が 40 mg/dL 以上の場合)では、腎尿細管での尿酸排泄が競合阻害を受けるため、高尿酸血症を生じる。

### B. ウラリット錠(100 mg) 6 錠 分 3 食後

尿をアルカリ化し尿酸排泄を促す。

### C. ハイシー細粒(250 mg/包) 2,000 mg 分 2

フリーラジカルのスカベンジャー。

### D. ノイキノン錠(10 mg) 9 錠 分 3 食後

電子伝達系供与体。リンパ管を経て吸収され、細胞内ミトコンドリアに取り込まれる。抗酸化作用を有し、酸素利用効率を改善する。日常生活動作の改善、血中乳酸・ピルビン酸値の低下を認める報告がある。中枢神経系の乳酸・ピルビン酸も低下させるが、外因性 CoQ10 は脳の血液脳関門を通過しないので、外因性 CoQ10 は中枢神経系に対して間接的に関与していると考えられている。副作用に発疹、胃部不快感、食欲減退などがある。イデベノン は CoQ10 と