

TRH アナログ経口投与を含めたコンビネーションによる治療指針の確立へ重要な示唆を与えると考えられた。

一方、その効果評価法の問題についても、いくつかの方法を取り組んできたが（山岸ら 2004, Kato et al. 2009）、より客観的で再現性・定量性のある方法として、モーションキャプチャーによる3次元運動解析を行ってきている。今回、新たに治療を開始した2症例について、TRH 静注療法前後での変化を定量的に評価することができたことは、これまで開発されてきた各種運動スケールに加え、重要な outcome measure のひとつとして、今後の大規模試験などにおける可能性を示唆するものと考えられた。

E. 結論

脊髄性筋萎縮症における TRH 療法は、運動機能改善・維持において、寄与できる治療法のひとつとして考慮すべきものと考えられた。また、モーションキャプチャーによる3次元運動解析は、今後、脊髄性筋萎縮症のみならず、他の神経筋疾患の自然歴の評価・治療評価などを含め、多施設共同研究などにおいても、重要な役割を果たすことが期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

バイオマーカーとしての SMN 蛋白質測定法に関する研究
研究分担者 野本明男 公益財団法人微生物化学研究会
微生物化学研究所 所長

研究要旨

脊髄性筋萎縮症(SMA)の原因遺伝子産物である survival of motor neuron (SMN)蛋白質は SMA 治療における効果判定のバイオマーカーとして有用であると考えられている。本研究では、欧米で行われたバルプロ酸ナトリウムによる SMA の臨床研究で用いられた SMN 蛋白質の検出法を検討し、SMA 患者から採取される血液サンプルや皮膚線維芽細胞を用いた抗 SMN 抗体による免疫組織化学染色法を確立した。

共同研究者

荒川正行（公益財団法人微生物化学研究会
微生物化学研究所）

荒川玲子、青木亮子、斎藤加代子（東京女子
医科大学附属遺伝子医療センター）

における薬剤投与前後の SMN 蛋白質検出法について、従来の検出法を見直し、実験行程が少なく高感度で信頼性の高い検出法を確立することを目的とする。

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症(SMA)は脊髄前角細胞の変性による筋萎縮と進行性筋力低下を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患である。本疾患は5番染色体長腕 5q13 に存在する survival of motor neuron 1(SMN1)遺伝子の欠失・変異による SMN 蛋白質の発現低下を生じる。また、SMN 蛋白質は同染色体上の SMN2 遺伝子からも翻訳されることが知られている。近年、SMA の治療戦略の一つとして SMN2 mRNA の発現を上昇させ、機能を有する SMN 蛋白質の発現を誘導する histone deacetylases (HDACs) 阻害剤などの薬剤を用いた臨床研究が試みられている。実際、欧米において HDAC 阻害剤であるバルプロ酸ナトリウムを使用した臨床研究では、薬剤投与前後の SMA 患者から末梢血単核球細胞(PBMC)やリンパ球を採取し、SMN 蛋白質を ELISA 法により検出している。従来の ELISA 法では、細胞より蛋白質抽出液の作製やサンプルの凍結保存など煩雑な実験行程が SMN 蛋白質の検出感度に影響する可能性がある。本研究では、本邦におけるバルプロ酸ナトリウムを使用した SMA に対する医師主導治験に

B. 研究方法

検体として、正常ヒト皮膚線維芽細胞 SMA I 型患者由来皮膚線維芽細胞、正常ヒト PBMC、保因者由来 PBMC、SMA III 型患者由来 PBMC、Epstein-Barr virus (EBV)-transformed 正常ヒト由来リンパ芽球細胞株および SMA I 型患者由来リンパ芽球細胞株を使用した。1) 接着培養系である正常皮膚線維芽細胞および SMA I 型患者由来皮膚線維芽細胞を用いて抗 SMN 抗体(mouse monoclonal anti-SMN antibody 2B1, BD)を用いた免疫組織化学染色法を行った。2) 浮遊細胞系であるヒト PBMC および EBV-transformed リンパ芽球細胞株を用いて細胞浮遊液を調整し Smear Gell (GenoStaff) を塗抹したスライドガラス標本作製し、抗 SMN 抗体による免疫組織化学染色を行った。

(倫理面への配慮)

SMA 患者由来検体の採取および実験は、東京女子医科大学と微生物化学研究所との共同研究として、東京女子医科大学倫理委員会の承認の下、インフォームドコンセントおよび同意書による確認を経て行われた。

C. 研究結果

接着培養系である正常ヒト皮膚線維芽細胞の抗 SMN 抗体による免疫組織化学染色法では、1 次抗体濃度、反応時間を検討した結果、1 次抗体濃度 2.5 μ g/ml, 反応時間は室温 1 時間で SMN 蛋白質を検出した。また、抗 gemin2 抗体と核染色 (Hoechst33342) の 3 重染色において、SMN 蛋白質と gemin2 蛋白質が共局在した核内 gems の存在が確認された。一方、同実験系において SMA I 型患者由来皮膚線維芽細胞では、正常細胞に比して SMN 蛋白質の発現は明らかに低下しており、gemin2 蛋白質との共局在は確認できなかった。

浮遊系細胞である PBMC および EBV-transformed リンパ芽球細胞では、Smear Gell によるスライドガラス上の塗抹標本を作製し、皮膚線維芽細胞で確立した実験系を用いて免疫組織化学染色を行った。その結果、正常 PBMC や保因者 PBMC に比して SMA III 型患者由来 PBMC において SMN 蛋白質の発現が低下していることが確認された。さらに、EBV-transformed 正常リンパ芽球細胞株においても同実験系で SMN 蛋白質が検出されたが、SMAI 型患者由来リンパ芽球細胞株では正常細胞に比して SMN 蛋白質の発現は低下していた。現在、血液由来細胞における gemin2 蛋白質との共染色法を検討している。

D. 考察

本研究では、接着培養系である正常ヒト皮膚線維芽細胞と SMA I 型患者由来線維芽細胞を用いて抗 SMN 抗体による免疫組織染色法を確立した。この結果は、同細胞による ELISA 法やウェスタンブロット法による SMN 蛋白質の検出評価と一致した。この方法を用いて、薬剤投与前後の患者から侵襲が少なく採取できる PBMC やリンパ球などの浮遊系細胞においても、従来の ELISA 法とは異なり、細胞から蛋白質抽出液を作製する行程がなく、Smear Gell システムにより細胞レベルで SMN 蛋白質を検出できる系を確立した。

SMA 治療におけるバイオマーカーとして SMN 蛋白質を用いるためには薬剤投与前後における SMN 蛋白質発現量を定量化する必要がある。これまでの臨床研究では血液由来細胞の蛋白質抽出液を用いた SMN 蛋白質の ELISA 法による定量法が主体であった。一方、我々は本研究で確立した免疫組織化学染色法を基にして、従来の方法とは異なり、実験行程が少なく細胞レベルで SMN 蛋白質が可視化でき、その発現量が定量解析可能な検出系を確立する予定である。

E. 結論

本研究において、SMA 患者から侵襲が少なく採取される血液由来細胞や皮膚線維芽細胞を用いて細胞レベルで SMN 蛋白質が検出できる免疫組織化学検出法を確立した。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

1) 神経変性疾患の治療を目指した外来遺伝子発現ポリオウイルスベクターの開発研究 荒川正行、滝沢直己、藤原俊伸、斎藤加代子、野本明男 第 61 回日本ウイルス学会 学術集会 2013 年 11 月 10 日 神戸

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

PCR-RFLP 法を用いた *SMN1* 遺伝子欠失スクリーニングに関する研究

研究分担者 中野 今治 都立神経病院 脳神経内科

研究要旨

脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy: SMA) が疑われた 94 症例について Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP: 制限酵素断片長多型) を用いて *SMN1* 遺伝子欠失のスクリーニングを行った。SMA I型が疑われた症例では65.4%、II型では93.8%に exon7 及び exon8 を含む欠失を認めた。RFLP 法は古典的な方法であるが簡便で結果が比較的迅速に検出されるため、SMA I型、II型を疑う症例では有用な遺伝子検査の一つであると考えた。

共同研究者

熊田 聡子 (都立神経病院 神経小児科)

星野 愛 (東京大学大学院医学系研究科 発達
医科学、都立神経病院 神経小児科)

齋藤真木子 (東京大学大学院医学系研究科 発達
医科学)

水口 雅 (東京大学大学院医学系研究科 発達
医科学)

はexon8を含む領域のホモ接合性欠失を認め、少数に*SMN1*遺伝子上の点変異や複合ヘテロ接合体変異を認める例がある。

*SMN1*遺伝子のexon7及びexon8のホモ接合性欠失の遺伝子同定法としては、1995年にvan der Steegeらが報告したRestriction Fragment Length Polymorphism (RFLP: 制限酵素断片長多型) を用いた方法が知られている。これは、*SMN1*遺伝及び*SMN2*遺伝のexon7とexon8の領域における塩基配列の5bpの差に着目した方法で、SMA患者の*SMN*遺伝子のexon7とexon8の各々をPCRで増幅し、得られた産物に対して特定の塩基配列に対して作用する制限酵素を用いてDNAを切断し、切断されたDNAの長さで*SMN1*遺伝子と*SMN2*遺伝子の同定と、欠失の有無を評価する方法である。

本研究では、原因遺伝子が同定された後18年間に、SMAが臨床的に疑われた94例についてRFLP法を用いた*SMN*遺伝子解析を行った。

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy: SMA) は脊髄の前角細胞の変性、脱落による筋萎縮と進行性筋力低下を特徴し、多くは常染色体性劣性遺伝形式をとる遺伝性神経変性疾患である。1995年に染色体5q13上に存在するsurvival motor neuron (*SMN*) 遺伝子、neuronal apoptosis inhibitory protein (*NAIP*) 遺伝子などが原因遺伝子として同定された。染色体5q13の領域には500Kbにわたるinverted duplicationが存在し、*NAIP*遺伝子と共に、テロメア側に*SMN1*遺伝子が、セントロメア側に*SMN2*遺伝子が存在する。*SMN1*及び*SMN2*遺伝子の違いはわずか5bpで、そのうち*SMN2*遺伝子のexon7に存在する一塩基(c. 840T)は同遺伝子のスプライシングに関連するといわれている。

原因遺伝子が同定されて以降、SMAの確定診断は遺伝子学的診断が主流である。これまでの報告では約95%のSMA患者に*SMN1*遺伝子のexon7また

B. 研究方法

臨床症状から脊髄性筋萎縮症 (SMA) が疑われた 94 例 (I 型 52 例、II 型 16 例、IIIa 型 11 例、IIIb 型 10 例、IV 型 5 例) を対象とした。明らかな知覚障害、著しい顔面筋罹患例など除外基準を満たす症例は対象外とした。患者または患者家族に説明と文書による同意を得た後、末梢血より DNA を抽出した。*SMN* 遺伝子の exon7

及び exon8 について PCR で得られる産物がそれぞれに特異的な制限酵素が認識する部位が含まれるように primer を用い【表 1】、PCR を行った。PCR の条件は初期変性 (95°C 9min) 後、95°C 30sec, 52°C 30sec, 72°C 60sec を 35 サイクル行い、最終伸長を 72°C 7min とした。制限酵素は exon7 の検出に *Hinf1*, exon8 の検出に *Dde1* を用い、増幅産物にそれぞれの制限酵素を添加し 37°C 2 時間でインキュベーションした。その後、ポリアクリルアミドゲルで電気泳動を行い ethidium bromide で染色した。

【表 1】 PCR に用いた primer と制限酵素

	Primer	制限酵素
Exon7	sense: 5' -CTTCCTTTTATTTTCCTTACAGGGATT- 3	<i>Hinf1</i>
	antisense: 5' -TCCACAACCCATAAAGTTTAC- 3	
Exon8	Sense: 5' GTAATACCAAATGCAATGTGAA- 3	<i>Dde1</i>
	antisense: 5' CTACAACACCCCTTCACAG- 3	

泳動後の結果は【図 1】のように示される。

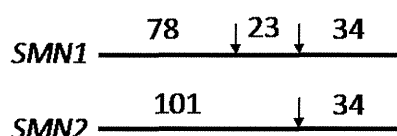
SMN1 exon7 は *Hinf1* により 78bp, 23bp, 34bp の 3 つに切断され、*SMN2* exon7 は 101bp, 34bp の 2 つに切断されるため、正常例では泳動により 4 つのバンドを認めるが、*SMN1* exon7 の欠失例は *SMN2* のみを有するため、101bp と 34bp の 2 つのバンドのみを認める【図 1-A】。このように泳動によるバンドの検出の違いにより欠失例をスクリーニングすることができる。exon8 については exon 上に *Dde1* の切断部位を持たない *SMN1* 遺伝子が欠失すると、188bp に位置するバンドが消失するため、正常例と欠失例が区別できる【図 1-B】。

(倫理面への配慮)

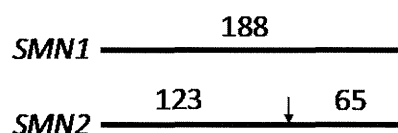
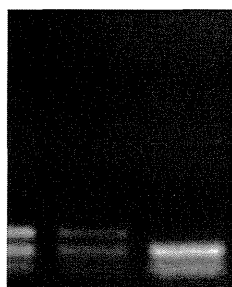
本研究は、厚生労働省労働省の医学研究に関する指針を遵守し実施した。遺伝子解析については、東京大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得た。本研究に利益相反は存在しない。

【図 1】 PCR-RFLP 法を用いた遺伝子欠失の同定

A. *SMN1* exon7



B. *SMN1* exon8



C. 研究結果 【表 2】

解析を行った 94 例中 54 例 (57.4%) に exon7 の欠失を認めた。新生児期からの呼吸障害や floppy infant の臨床経過及び症状から SMA I 型が疑われた症例では、52 例中 34 例 (65.4%) に exon7 または exon8 を含む欠失を認めた。筋力低下を認めるも座位まで獲得した SMAII 型疑いの症例では 16 例中 15 例 (93.8%) に欠失を認めた。SMAIII 型を疑われた症例では 21 例中 5

例（23.8%）に欠失を認めた。IV型は全例に欠失は検出されなかった。SMN1 遺伝子 exon7 及び exon8 の欠失は認めなかった症例のうち、4例でその後別の疾患が診断されている。これらは、2例が先天性ミオパチー、1例は Dejerine-Sottas 症候群、1例は Prader-Willi 病であった。

【表2】SMAの病型による欠失の検出率

	症例数 (人)	exon7 and 8 欠失あり	exon7のみ 欠失あり	欠失を有する 症例数(検出率)
Type I	52	33	1	34 (65.4%)
Type II	16	13	2	15 (93.8%)
Type IIIa	11	3	1	4 (36.4%)
Type IIIb	10	1	0	1 (10.0%)
Type IV	5	0	0	0 (0%)
Total	94	46	3	54 (57.4%)

D. 考察

PCR-RFLP法は特殊な実験設備を必要とせず簡便であることから、SMAを疑われる症例のSMN1遺伝子欠失スクリーニングとして用いられている。90%以上のSMA患者はSMN1遺伝子のexon7を含む領域のホモ接合性欠失を認めるため、SMAの多くの症例はRFLP法で診断が可能である。しかし、約5%に同遺伝子上の点変異や複合ヘテロ接合体変異が存在することから、この方法で欠失が検出されなくてもSMAは否定できず、SMN1遺伝子の全長解析が必要である。

今回の解析結果から、SMA I型を疑われた症例は65.4%にexon7及びexon8を含む欠失が同定された。特にSMA I型は、乳児期に進行性の重度呼吸障害を認め、人工呼吸補助器の使用の判断を必要とする症例が少なくない。そのような症例では迅速な確定診断が求められることから、PCR-RFLP法は迅速なスクリーニングの一つとして有用と考える。今回遺伝子解析を行ったSMA I型群には、新生児および乳児早期の発症で、重度の筋緊張低下があるが、経過や他の臨床症状は典型例でなく、確定診断よりは除外診断のた

め検査を依頼された症例が含まれている。そのため、SMN1遺伝子欠失の頻度が70%を下回ったものと思われる。II型が疑われる症例は90%以上と高率に欠失が同定された。II型では新生児、乳児早期の筋緊張低下症例と比較し、神経学的所見がとりやすく、知的な評価や神経伝導検査など他のSMAとの鑑別が必要な疾患の除外診断をすすめやすい。他の疾患を除外した上で遺伝子検査を依頼される症例が多かったため、II型のSMN1遺伝子欠失の頻度はI型より高かったと考えられる。またIII型が疑われた症例の検出率はIII a型で約35%、III b型で10%と既存の報告と比較し低く、SMA以外の症例が混在していた可能性が考えられた。

E. 結論

RFLP法を用いたSMN1遺伝子欠失スクリーニングはSMA I、II型を疑う症例の確定診断、および他疾患との鑑別疾患に簡便であり比較的迅速に結果が検出されるため、有用な遺伝子解析法の一つと再認識された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

小児の医師主導治験に関する治験デザインと説明と同意に関する研究

研究分担者 中島孝 国立病院機構新潟病院

研究要旨

医師主導治験は2003年7月30日の改正薬事法で可能になった。今回の医師主導治験計画の策定に際して、小児の治験デザイン（統計解析モデルを含む）の特徴、探索試験か検証試験かの検討、治験における仮説設定とその検証戦略、小児のアセントのあり方と方法についての研究を行った。小児治験では小児の発達の視点と小児を保護するための倫理的な視点を満たす治験を行う必要があり、小児治験について学会がまとめたガイダンス（Pediatrics. 2010, 25(4):850-60）を参照すると同時に、規制当局がまとめたICH-E11の邦訳である「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて（医薬審第134号平成12年12月15日）」を遵守して治験実施計画書を研究・立案・実施する必要がある。医師主導治験ではこの課題に対する研究は企業が行うよりも促進させることができる。

共同研究者

遠藤寿子（国立病院機構新潟病院神経内科）、
池田哲彦（同上）、猪爪陽子（国立病院機構新潟病院リハビリテーション科）

A. 研究目的

医師主導治験は2003年7月30日の改正薬事法で可能になった。企業主導治験では希少難病などの分野で企業が消極的であることなど、企業から未承認の薬物・機械器具の提供を受けて臨床試験を行うことが可能になった。大学、研究所、企業で生まれたシーズを患者さんが真に望む形に発展させ、有効性を評価検証し、薬事の承認申請に必要な臨床データを完成させことが、疾患専門医でも可能になった。自ら治験を実施する者、すなわち治験責任医師が業務として各種手順書の作成、治験実施計画書の作成、院内の治験審査委員会に諮る（医療機関の長に承認を求めることを通じて実施）。治験の安全性およびデータの信頼性の確保のためGCPを遵守し治験を届けることが業務だが、多施設共同治験の場合は、治験調整医師（coordinating investigator）が治験実施計画書の作成などほとんどの部分を行い代表として届け出を行う。

本研究では、今回の小児治験に必要な治験デザインを作成する際に、統計解析モデル、仮説

検証の戦略、臨床評価指標の考え方、小児に対する説明同意文書についての考え方を研究した。

B. 研究方法

今回の小児治験を適切に進める目的で、ICH（International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米EU医薬品規制調和国際会議）の作成したICH-E6の邦訳対応といえる、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令のガイダンスについて（薬食審査発1228第7号平成24年12月28日）」および小児用のガイダンスであるICH-E11：「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて（医薬審第1334号平成12年12月15日）」、「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスに関する質疑応答集(Q&A)について（事務連絡平成13年6月22日）」およびICH-E9：「臨床試験のための統計的原則（医薬審第1047号平成10年11月30日）」および小児領域の学会ガイドラインである、Shaddy R. E., Denne S. C., Committee on Drugs, Committee on Pediatric Research. Clinical report—guidelines for the ethical conduct of studies to evaluate drugs in pediatric populations. Pediatrics. 2010 Apr;125(4):850-60. PubMed PMID: 20351010.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20351010>
を参照し、検討を行った。

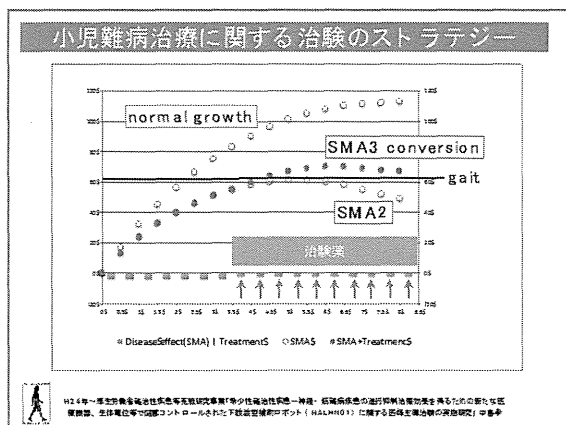
（倫理面への配慮）

臨床試験の倫理指針（厚生労働省 H20 年 7 月 31 日版）および、薬事法、GCP 省令にしたがった。

C. 研究結果

1. 治験デザイン、小児統計解析モデル

発達期の小児を対象とした場合の治験の特徴は、発達曲線を考慮する必要がある。無対照のベースラインコントロールにすると、発達曲線の上昇部分では治療によらなくても、改善が認められる。発達曲線のピーク時期は一時期のプラトーといえ、発達曲線のピークを過ぎた時期は、悪化時期となり、発達曲線に依存した結果になってしまう（図）。このため、プラセボ対照群を設け、治療群とプラセボ群は同じ年齢とするだけでなく、病型としての SMA1, SMA2, SMA3 を十分に鑑別して、別個の治験を行うか、または層別に均等に組み入れる必要がある（図）。時間経過によらなければ鑑別できない場合もある。



比較評価においては、評価尺度（MHFMS: MODIFIED HAMMERSMITH FUNCTIONAL MOTOR SCALE FOR CHILDREN WITH SPINAL MUSCULAR ATROPHY など）のスコアを使い、群間比較をする方法がある。その他に、SMA1, 2, 3 の自然歴による特徴を end point とする方法がある。たとえ

ば、SMA1 では呼吸器使用時間の短縮、SMA2 では立位の安定性（時間）や歩行機能（距離）、SMA3 では歩行距離や歩行スピードなどのエンドポイントを設定することも可能と思われる。

2. 小児科治験の位置づけ

通常、小児治験は成人の治験データの外挿を試みるが、今回は、有効性は、成人において検証されておらず、まったく新規の治験が必要である。この様な小児領域の治験の実施の妥当性については、有効性評価に関連して、SMA が生命の危険がある疾患であることで必要性を満たし、さらに、安全性については、すでに、バルプロ酸は小児で安全に使用されていることから、十分性を満たしていると考えられる。しかし、乳児から小児期を対象とするため発達生物学 (developmental biology) 及び発達薬理学 (developmental pharmacology) を考慮する必要がある。

3. 仮説の設定とその検証戦略

バルプロ酸の SMA に対する改善効果という治験の最終仮説は仮説 1, 2 に分けることができる。仮説 1 「バルプロ酸は SMA 患者において SMN 蛋白の発現を高める。」仮説 2 「SMA 患者は SMN 蛋白が発現することで症状が改善する」、治験としてはフェーズ IIA として、まず、仮説 1 を証明する試験 1 を行う。

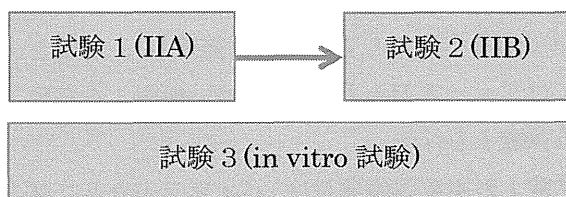
試験 1 の主要評価項目は、バイオマーカーとして SMNmRNA を白血球や線維芽細胞での測定、SMN 蛋白を髄液で測定し、副次評価項目として探索的に、複数の臨床評価指標を検討すると良いと考えられる。

仮説 2 の検証は試験 2（フェーズ IIB）で行うが、試験 1 でバルプロ酸が SMN を発現することを証明してから行うため、本研究の最終仮説の「バルプロ酸は SMN 蛋白を発現させることを介して SMA の臨床症状の改善を行う」を証明することになり、検証試験としての位置づけになる。試験 2 での主要評価項目は臨床評価指標とすべ

きである。この様なフェーズ IIB をすることで、規模の拡大した検証試験（フェーズ III）を希少性難病領域では行わないことがある。

もう一つ、*in vitro* 試験として、試験 3 を行うと良い。患者白血球または線維芽細胞に対して、バルプロ酸を添加して、実際に SMNmRNA（又は蛋白）が上昇することを証明する。これは、試験 1 または試験 2 と平行して行うことが可能である。平行することで、仮説 1 のメカニズムをさらに検証することができるし、濃度を変化させることができ、もし、試験 1 が成功しない場合の原因を分析できる。

試験 3 の臨床的な位置づけは、バルプロ酸で SMN 蛋白が上昇するレスポンドーとノンレスポンドーを被験者に投与する前に鑑別できるという仮説の検証である。この検証ができれば、レスポンドーに対してのみ治験を行うことも考えられる。その場合は、バルプロ酸とプラセボの二群による IIB 治験ではなく、IIB をレスポンドーとノンレスポンドーの二群にわけ全部バルプロ酸投与した比較対照試験を行うことで、仮説 2 を理論的に証明可能することもできる。



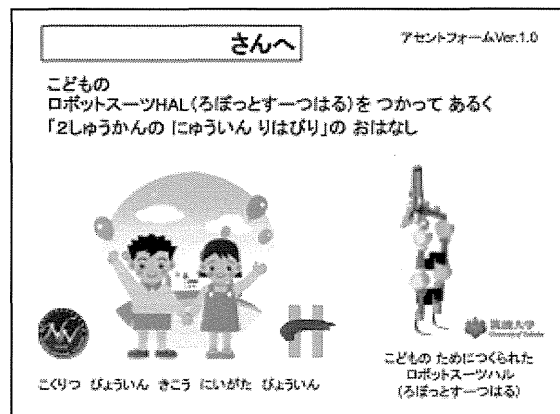
4. 小児のアセントのあり方と方法

ICH-E11 の日本語訳である医薬審第 1334 号では「インフォームドコンセント及びインフォームドアセント（両親/法的保護者及び小児被験者からの同意）原則として、小児の被験者から法的に定められた同意を得ることは出来ない。それゆえ被験者が、臨床試験に参加することに対して両親もしくは法的保護者が責任を負うことを前提にしている。」さらに、「アセント（法的規制を受けない小児被験者からの同意）

を取得すべきである（年齢は IRB/IEC や適合する国の法的要求により決定される）。治験への参加を理解できる知的レベルにある被験者は両親/法的保護者とは別に作成されたアセント文書あるいはコンセント文書に本人が署名、年月日を記入すべきである。」とされており、また下記の表の様に、アセントに関係する対象年齢層が想定されている。しかし、今回のバルプロ酸治験においては 7 才未満の被験者が組み入れられる可能性が高い。

	対象	根拠
同意文書(コンセント)	代諾者(親権者、法的保護者)	GCP省令50条
アセント文書	小児被験者(概ね中学生以上)	医薬審第1334号ICH-E11
アセント	小児被験者(概ね7才以上)	医薬審第1334号ICH-E11

このため、本研究では 7 才未満の未就学児に対するアセントの方法を検討した。以下の図はひらがなを中心に別の研究の臨床試験（非薬事法下で、臨床研究の倫理指針に基づくもの）において実際に使用したものである。



事前の両親からの情報ではひらがなはよめるということだったが、実際には、ほとんど、被験者は読まなかった。しかし、文書中にある写真や図には理解をしめしたため、写真と図を口答説明することで、主体的に試験に参加できるようにした。実際に役立ったのは、以下のスケジュール表である。本人の好きなキャラクターを利用することで、臨床試験に対する関心を途切れないようにした。

さらに、日々の試験参加に対して、シールをはることで、モチベーションが下がらないように配慮したことは有効だった。薬物療法においては両親の協力があることで可能であるが、運動機能を測定するなどの臨床評価においては、本人の主體的な参加が必要であるため、以下のシールを貼る台紙は有用と考えられた。

D. 考察

小児治験における治験実施計画書作成は、小児の発達の問題と小児を保護するための両者の視点を重視し、主要仮説を証明するため難しい。これは成人の治験には無い課題であり、十分な研究を行う必要がある。このため、本研究では、小児治験に必要な治験デザイン(統計モデルを含む)、仮説の設定と戦略、小児のアセントなどに関する本研究は極めて重要であると考えた。医師主導治験であるからこそこれらの課題に対しても良い研究ができると考えられ

た。

E. 結論

小児治験は発達の問題、小児を保護するための倫理的な視点を満たす治験を行う必要がある。その際に、小児治験では必ず、Pediatrics. 2010, 25(4):850-60を参照し、ICH-E11:「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて(医薬審第134号平成12年12月15日)」を遵守して治験実施計画書を研究立案し、実施する必要がある。医師主導治験ではこの課題に対する研究を促進することができる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 中島孝, 遠藤寿子, 池田哲彦, 装着型ロボット応用の現状と展望, 治療, Vol. 95, No. 12, 2013, 2088-2093
2. 中島孝, 遠藤寿子, 池田哲彦, 12. ロボットスーツ HAL, JOURNAL OF CLINICAL REHABILITATION, Vol. 22No. 8(8), 2013, 792-797
3. 中島孝, ロボットスーツHALの医療応用神経・筋難病患者や高齢障害患者に新たな医療モデルを提供する, CLINIC magazine, No. 529, 2013, July7 9-12

2. 学会発表

1. 日本医工学治療学会第29回学術大会、「シンポジウム1 医工連携によるイノベーションの実現—薬事承認・保健医療化の実例と課題」(パシフィコ横浜 2013年4月20日)
2. 福岡 脳・神経HAL研究会、「ロボットスーツHAL 医療機器モデルにむけて:神経筋難病に対する治験準備の経験から」(福岡大学医学部本館 2013年6

月13日)

3. 東京女子医科大学医学部人間関係教育 医学教養
講義、「ロボットスーツHALの医療への応用」(東京女子医科大学 2013年7月3日)
4. 第2回筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク
ワークショップ、「ロボットスーツHAL-HN01 治
験と今後—plasticityと発達」(横浜ワールドポー
ターズ 2013年7月27)
5. 第6回HTLV-1研究会、「HAMの歩行障害に対
するロボットスーツHALの治験準備研究と戦略」
(東京大学医科学研究所 2013年8月25日)
6. 患者会対象説明講演会 com-pass の会、「ロボッ
トスーツHALの治験参加について」(品川インター
シティ 2013年9月14日)
7. 柏崎特別支援学校PTA主催講演会、「難病におけ
るロボットスーツの医療応用」(柏崎特別支援学校
2013年11月9日)
8. 第25回日本生命倫理学会、「新しい医療機器として
のロボットスーツHAL—治験プロトコールにお
ける新たな治験概念とエンハンスメント」(東京大
学本郷キャンパス 2013年12月1日)
9. HAM 患者会シンポジウム、「ロボットスーツHAL
について」(熱海アカオリゾート ロイヤルウイン
グ 2013年12月8日)
10. 第2回日本脳神経HAL研究会、「神経難病とロボ
ットスーツ」(福大メディカルホール 2013年12
月21日)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

「医薬品の医師主導治験の計画及び実施等に係る対応」に関する研究

研究分担者 武田伸一 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター
トランスレーショナル・メディカルセンター
センター長

研究要旨

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター（NCNP）は、病院、研究所及びトランスレーショナル・メディカルセンター（TMC）が一体となり、精神疾患、神経疾患、筋疾患及び発達障害の克服を目指した研究開発を行い、その成果をもとに高度先駆的医療を提供するとともに、全国への普及を図ることを使命としている。本研究では、TMCにおけるシーズ探索から医師主導治験の実施までの支援体制、医師主導治験の実施状況並びに独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）が行う薬事戦略相談について、当センターで実施中の2つの医師主導治験における具体的経験をもとに、医師主導治験の実施支援のポイントを抽出するとともに、今後どのように実施支援を進めていくべきかを考察した。

共同研究者

福田昂一（独立行政法人国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナル・メディカルセンター臨床研究支援部[※]）

鈴木麻衣子（独立行政法人国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナル・メディカルセンター臨床研究支援部）

※2013年12月以降は独立行政法人 医薬品医療機器総合機構に所属

A. 研究目的

本研究班においては、脊髄性筋萎縮症（SMA）のⅠ、Ⅱ型の乳幼児患者（7歳未満）を対象としたバルプロ酸ナトリウムの経口投与に係る医師主導治験を行う予定であり、それに必要な実施体制の整備が必要である。

医師主導治験については、企業が行う治験における経験が必ずしも適用できるわけではなく、医師主導治験独自のノウハウが必須である。

TMCがこれまで複数の医師主導治験の支援を行ってきた経験をもとに、医師主導治験の計画や実施にあたり考慮すべきポイント、PMDA薬事戦略相談のポイント等について報告する。

B. 研究方法

NCNPが実施している医師主導治験のうち、NS-065/NCNP-01（エクソン53スキップによるDuchenne型筋ジストロフィー治療薬として開発中）及びOCH-NCNP1（多発性硬化症治療薬として開発中）は、First in Human（FIH）の医師主導治験である。これらの2つの治験における支援を例とし、以下の点を中心に、医師主導治験実施の準備体制整備に向けた検討を行った。

(1) 医師主導治験 実施体制について

(2) PMDA 薬事戦略相談について

また、本研究班の第一回班会議・キックオフミーティングを踏まえ、計画中の医師主導治験に対し、TMCが考える重要な検討ポイントについて見解を示した。

C. 研究結果

(1) 医師主導治験 実施から見る体制構築について

①NS-065/NCNP-01

A) 非臨床段階

非臨床早期より治験薬提供者（日本新薬株式会社）と連携し、非臨床データパッケージの構築、

PMDA 対面助言における各専門領域への指摘に対応した。

B) 治験準備段階

被験者組み入れへの対応に際しては、「神経・筋疾患登録システム（Remudy）」及び NCNP 内の筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク事務局との連携を活用した。

C) 治験実施中

治験において、被験者細胞を用いたスクリーニングを行っており、治験責任医師を中心として、病院・TMC・研究所のチームワークが不可欠であった。

また、次相以降の開発戦略の検討については、治験薬提供者と結果をタイムリーに共有し、迅速な意思決定に繋げている。

②OCH-NCNP1

A) 非臨床段階

OCH-NCNP1 は NCNP で見出された新規化合物であり、通常、治験薬提供者（製薬企業等）が実施する非臨床試験、治験薬製造・品質試験等の計画・実施（一部外注）を、NCNP が実施及びマネジメントを行っている。

B) 治験準備段階

センター初の FIH 試験の実施をするための安全管理体制整備として、以下の点を行った。

- 1) 医師、看護師及びコメディカル部門への教育
- 2) 緊急時対応手順書及び緊急連絡網作成と周知徹底
- 3) 治験専任の病棟看護師及び CRC の配置、救急対応及び緊急搬送の訓練実施

C) 治験実施中

本治験は用量漸増デザインであることから、治験を進めるに当たり、治験薬の増量可否の妥当性や被験者に発生した副作用等の評価を安全性検討委員会において行っている。

また、STEP1（健常成人）において得られた結果をもとに、STEP2（多発性硬化症患者）の試験

計画の変更を行っているところであるが、NCNP 内で治験に関わる担当者が連携して速やかに検討し、試験計画にフィードバックを行うとともに、PMDA 薬事戦略相談も活用し、計画の確定を行っている。

②PMDA 薬事戦略相談について

A) 事前面談

1) 各品目の背景（対象疾患、海外での使用・承認状況、治験環境など）を踏まえ、実施可能な試験等の範囲を明確にし、相談者側の前提条件を PMDA と適切に共有することが重要であった。

2) P II 以降の試験計画の場合、審査報告書等を用いて背景が類似した既承認品目の申請データパッケージについて情報収集しておくことが試験計画を立てる上で参考になると考えられる。

B) 相談時の資料作成

1) 相談内容の構成例として、1. プロトコール骨子、2. 申請データパッケージ、3. その他が挙げられる。各項目については、設定根拠を併せて記載することが必要である。

C) PMDA 対応時

1) 回答期限が比較的短いため、非臨床・臨床等、各分野の担当者で連携して、迅速に検討・回答作成を行う体制を構築する必要があった。

2) 議論の前提が両方で共有できていないと、双方の意見がかみ合わない場合があり、そうした時は、申請者が主張する背景と前提条件から、どのように検討をし、どのような結論を導いたのか、改めて PMDA に説明し、認識を共有する必要がある。

D) 相談記録作成

PMDA 戦略相談の相談記録の作成は、申請者と PMDA との最後の意見確認の場となる。相談当日に保留となった議論が、記録を作成する中で合意に至ることもある。

このようなプロセスを経て、PMDA からは、NCNP

の主張に対する受入可否だけでなく、新たな選択肢や方向性、また今後注意が必要な箇所について、積極的な見解提示・コメントを受けることができた。

D. 考察

本研究では、FIHの医師主導治験2試験を対象として、治験実施の準備及び実施に向けて必要な支援のポイント、PMDA薬事戦略相談をより有効に活用するためのポイントについて、抽出を行った。

こうした経験に照らし、現在計画中の本研究班の医師主導治験の計画等について、本研究班の第一回班会議・キックオフミーティングを踏まえ、より円滑で有効な治験が行えるよう、以下のような見解を示した。

- ・承認申請データパッケージについて

今後どのような検証試験を実施すべきかを見据えた上で、検証治験に繋がるような臨床評価方法、試験デザイン等の情報を得られるよう、PII試験計画を検討する必要がある。

- ・研究スケジュールについて

PMDAにおける事前面談の位置づけからすると、事前面談から対面助言までの期間をどれだけ設定し、その間に何を実施すべきかを検討する必要がある。

- ・計画中の治験のプロトコールについて

対象患者、臨床評価項目、選択・除外基準について、過去の知見等をもとに、バルプロ酸ナトリウムの有効性及び安全性を適切に評価できる状況を整えることが重要である。また、試験目的、非臨床データ、デザイン、用法・用量、評価方法（評価者間の統一含め）、対象集団（病型、バルプロ酸ナトリウムに対する反応性含め）や症例数の妥当性等について十分な説明が必要である。なお、選択・除外基準に対する適格性の有無や今後の検証試験実施等を考慮すれば、登録システム外の患者等も含めて広く組み入れの実施可能性を

検討しておくことも重要である。

E. 結論

国立精神・神経医療研究センターにおいて行われた2つの医師主導治験について、非臨床～治験実施までの各段階で行われた事項及びその中のポイントを抽出した。治験に対して行った支援及び経験した事項は、今後新たに医師主導治験を実施するに当たっても必要なノウハウであり、今後の医師主導治験の実施準備に当たっても、より効率的な支援や助言が可能な体制が構築できたと考える。引き続き、より円滑な医師主導治験実施に向けた支援等ができるよう、さらなる検討を行っていきたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

守秘内容を含むため未定

2. 学会発表

守秘内容を含むため未定

H. 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

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
斎藤加代子	遺伝カウンセリング		小児神経学の進歩	診断と治療社	東京	2013	13-21
斎藤加代子、久保祐二	脊髄性筋萎縮症	専門編集：祖父江元、総編集：辻省次	すべてがわかるALS・運動ニューロン疾患	中山書店	東京	2013	116-124
斎藤加代子	第23章神経筋疾患	監修：内山聖郎、編集：原寿郎・高橋孝雄・細井創	標準小児科学第8版	医学書院	東京	2013	671-689

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
伊藤万由里、斎藤加代子、大澤眞木子	日本における脊髄性筋萎縮症の臨床実態調査	東女医大誌	83(臨時増刊)	E52-E57	2013
浦野真理、斎藤加代子	脊髄性筋萎縮症の遺伝カウンセリング	東女医大誌	83(臨時増刊)	E651-E655	2013
斎藤加代子、浦野真理	神経筋疾患における小児医療から成人医療への移行：遺伝子診断および遺伝カウンセリングを通じた介入	診断と治療	101(12)	1887-1890	2013
斎藤加代子、久保祐二	Ⅲ変性疾患 運動ニューロン疾患 脊髄性筋萎縮症 5番染色体性劣性遺伝性脊髄性筋萎縮症 脊髄性筋萎縮症0型	別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズNO.27	530-532	530-532	2014
Toyota K, Ogino D, Hayashi M, Taki M, Saito K, Abe A, Hashimoto T, Umetsu K, Tsukaguchi H, Hayasaka K.	INF2 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease complicated with focal segmental glomerulosclerosis	J Peripher Nerv Syst	18(1)	97-98	2013
Sato Y, Yamauchi A, Urano M, Kondo E, Saito K	Corticosteroid therapy for duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function	Pediatr Neurol	50	31-37	2014
Nurputra DK, Lai PS, Harahap NI, Morikawa S, Yamamoto T, Nishimura N, Kubo Y, Takeuchi A, Saito T, Takeshima Y, Tohyama Y, Tay SK, Low PS, Saito K, Nishio H.	Spinal Muscular Atrophy: From Gene Discovery to Clinical Trials	Ann Hum Genet	77(5)	435-463	2013

Nishio H.	PLS3 expression and SMA phenotype: a commentary on correlation of PLS3 expression with disease severity in children with spinal muscular atrophy	J Hum Genet			in press
Yamamoto T, Sato H, Lai PS, Nurputra DK, Harahap NI, Morikawa S, Nishimura N, Kurashige T, Ohshita T, Nakajima H, Yamada H, Nishida Y, Toda S, Takanashi JI, Takeuchi A, Tohyama Y, Kubo Y, Saito K, Takeshima Y, Matsuo M, Nishio H.	Intragenic mutations in SMN1 may contribute more significantly to clinical severity than SMN2 copy numbers in some spinal muscular atrophy (SMA) patients	Brain Dev			in press
齊藤利雄	神経筋疾患による脊柱変形に対する脊椎外科治療アンケート調査	J Spine Res	5(1)		2014
中島孝, 遠藤寿子, 池田哲彦	装着型ロボット応用の現状と展望	治療	95(12)	2088-2093	2013
中島孝, 遠藤寿子, 池田哲彦	12. ロボットスーツHAL	J Clin Rehabil	22(8)	792-797	2013
中島孝	ロボットスーツHALの医療応用 神経・筋難病患者や高齢障害患者に新たな医療モデルを提供する	CLINIC magazine	529	9-12	2013

IV. 研究成果の刊行物・別刷

<小児神経疾患と遺伝子>

遺伝カウンセリング

さいとう かよ こ
齋藤加代子

東京女子医科大学附属遺伝子医療センター／
東京女子医科大学大学院先端生命医科学系専攻遺伝子医学分野

はじめに

大量の DNA 断片の並列シーケンスによる革新的な遺伝子解析技術である次世代シーケンサーの開発により、個人ゲノム解析が格段にハイスループット化され、臨床応用される時代となりつつある¹⁾。確定診断としての遺伝子検査がなされるようになり、発症リスクを有する人々における発症前診断、保因者診断、さらに出生前診断も可能な時代となった。遺伝子情報は個人と血縁者で共通性があり、診断結果が血縁者に影響を及ぼす場合がある。遺伝子情報漏洩の危険性、遺伝的差別への危惧など倫理的法的社会的問題が生じる可能性もある。このような背景の下に、診療の現場において、遺伝カウンセリング実施体制の構築と遺伝子情報の管理が重要である。また、個人ゲノム解析が臨床応用される時代となり、わが国の医療事情や倫理的問題に対処でき、オーダーメイド医療にも対応できる人材の育成が求められている。

I 遺伝カウンセリングとは

National Society of Genetic Counselors は、2006 年に遺伝カウンセリングを次のように定義している²⁾。

人々が遺伝性疾患における医学的、心理学的、家族的影響について理解し、それに適応できるように支援するプロセスである。このプロセス

は、以下を統合したものである。

- ・疾患の発生または再発の可能性を評価するための家族歴や病歴の解釈
- ・遺伝、検査、管理、予防、資源、および研究に関する教育
- ・リスクまたは状況に対するインフォームドチョイスや適応を促すためのカウンセリング

遺伝カウンセリングは、遺伝に関する不安に対してメンデル遺伝の法則、経験的再発率、Bayes 分析などにより確率的回答をする時代から、遺伝子検査を行い、同定された遺伝子変異から疾患の確定診断・治療方針の決定を行い、本人および血縁者の発症前診断、保因者診断、出生前診断がなされる時代になってきた。主治医、臨床遺伝の専門家、臨床心理専門職、遺伝看護師、ソーシャルワーカーなどが協力をしてチーム医療を行い、遺伝学に関する正しい知識と情報を共有し、本人・家族への医療、心理、社会的支援を行うことが遺伝カウンセリングである。

「遺伝カウンセリング」について、UNESCO の「ヒト遺伝情報に関する国際宣言 (2003)」³⁾ 第 11 条では「健康に関わる重要な意味を持つ可能性がある遺伝学的検査を行おうとする場合、当事者が遺伝カウンセリングを適切な方法で受けられるようにすべきである。遺伝カウンセリングは非指示的であり、文化的に適合したものであり、かつ当事者の最大の利益と一致したものであるべきである」と述べている。

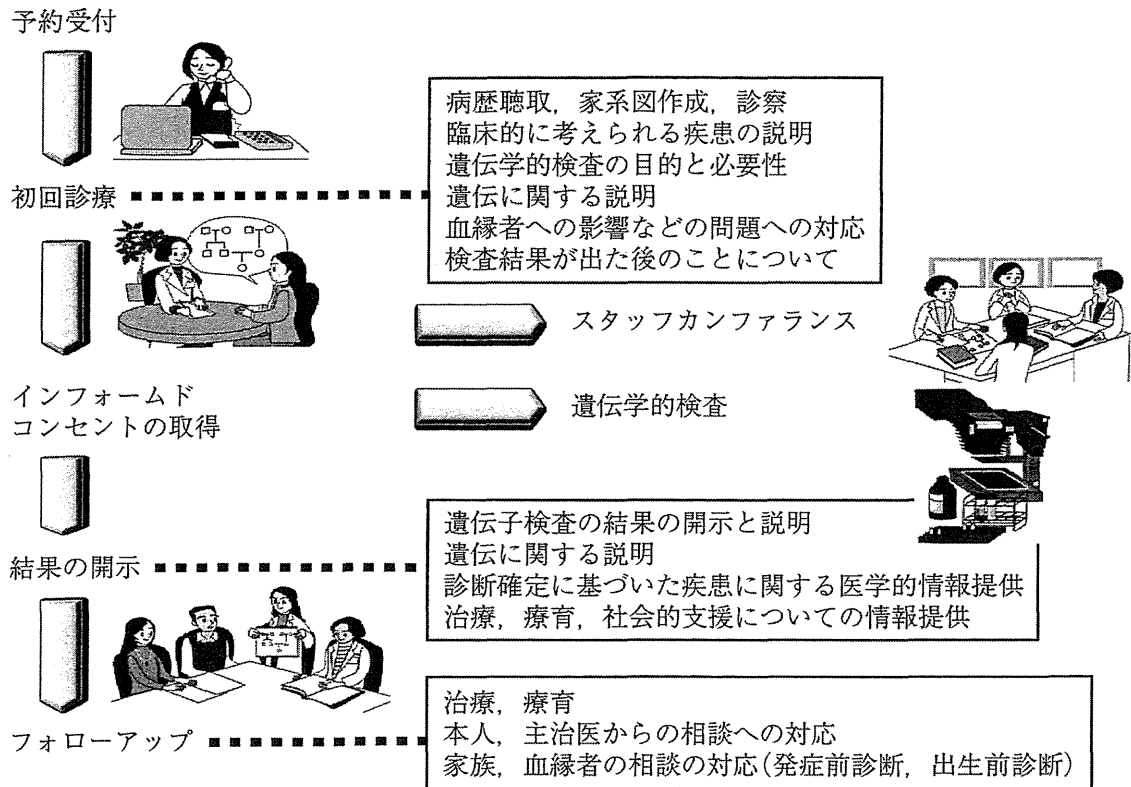


図1 遺伝カウンセリングの流れ

遺伝カウンセリング(図1)では、①当事者が情報に基づいて決定できるように、個人やカップルに対し、選択肢や医学知識について理解を深めるために援助し、②当事者がよく理解した上で、その遺伝的問題に対処していくように援助する。また、③罪の意識を取り除き、④個人やカップルが親となることへの目標を到達できるように援助する。したがって、遺伝カウンセリングに当たる者としては、疾患に対する正しい知識と情報の入手に努めなければならない。近年の分子生物学の進歩によって、遺伝医学はめざましく発展し、疾患の原因遺伝子や原因蛋白質が明らかになってきた。このような進歩によって、患者とその家族の遺伝に関する疑問にかなり正確に答えられるようになってきている。

遺伝医学関連学会による「遺伝学的検査に関するガイドライン(2003)」⁴⁾は、遺伝学的検査が医療全域にわたって広く有効に利用される時代に対応して、2011年に日本医学会「医療にお

ける遺伝学的検査・診断に関するガイドライン⁵⁾として改訂がなされた。この改訂では、すでに発症している患者の診断目的として行われる遺伝学的検査において、各診療科の医師自身が遺伝に関する十分な理解と知識および経験をもつことが重要であり、検査の意義や目的の説明と共に、結果が得られた後の状況や検査結果が血縁者に影響を与える可能性があることなどについて十分に説明し、被験者が理解して自己決定できるように支援する体制を整えることを述べている。それは、いわゆる広義の遺伝カウンセリングである。医療機関は、遺伝医学の基本的事項および個人の遺伝情報の取扱いに関する啓発や教育を行い、適切な遺伝医療を実施できる体制を整備することが望まれる。

自分が発症するか(発症前診断)、自分は発症しないが保因者であるか(保因者診断)、妊娠中の胎児がある疾患に罹患しているか(出生前診断)などに関する遺伝カウンセリングは、臨床遺伝学の専門的知識・経験をもち、遺伝カウ