

201409009A

厚生労働科学研究費補助金

(医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業))

デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する  
エクソン53スキップ治療薬による  
早期探索的臨床試験

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 武田 伸一

平成27(2015)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

(医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業))

デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する  
エクソン53スキップ治療薬による  
早期探索的臨床試験

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 武田伸一

平成27(2015)年 3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
デュシエンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン 53 スキップ治療薬による早期探索的臨床試験	----- 1
— 平成26年度の進捗状況の総括 — 武田 伸一	
II. 分担研究報告	
1. 医師主導治験の支援に関する研究	----- 11
中村 治雅、鈴木 麻衣子	
2. DMD患者の症例集積性向上とoutcome measureに 関する検討	----- 13
小牧 宏文	
3. DMD 治療薬の開発に対する規制当局の動向について	----- 17
村田 美穂	
4. DMDに対するエクソン・スキップ医薬品の開発動向調査	----- 25
永田 哲也	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 33
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 35

厚生労働科学研究費補助金  
(医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業))  
平成 26 年度 総括研究報告書

デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する  
エクソン 53 スキップ治療薬による早期探索的臨床試験  
— 平成 26 年度の進捗状況の総括 —

研究代表者	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
研究分担者	永田 哲也	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 客員研究員
	小牧 宏文	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 病院 小児神経診療部 医長
	中村 治雅	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 臨床研究支援室 室長
	村田 美穂	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 病院 神経内科診療部 部長

#### 研究要旨

本研究は世界初のモルフォリノで合成されたエクソン 53 スキップによる Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 治療薬 NS-065/NCNP-01 の first-in-human 試験を医師主導型の早期探索的臨床試験として実施し、最終年度までに企業導出と後期相試験に必要な proof-of-concept を得ることを目的として平成 24 年度に採択されている。また、未だ十分な知見の集積がない核酸医薬品及び希少疾病医薬品の開発に際しての課題の検討を行い、本領域の医薬品開発を加速するための知見を取りまとめることも目的としている。平成 26 年度は本研究の 3 年度目であり、昨年度より開始した被験者への投与を継続し、本年度内に全ての被験者への投与と観察を終了した。安全性及び有効性についての速報データからは、本剤の安全性に関して重大な問題はなく、DMD 治療薬としての治療効果も示唆される結果が得られた。以上より本研究課題の 3 年度目においてもその進捗は概ね順調と考えられる。全被験者への投与及び観察が終了したことから以降は総括報告書の完成を目標としつつ、また DMD 治療薬開発における臨床機能評価に活用可能な新たな outcome measure の探索など、次相試験の開始に向けた検討についても取り組んでいくこととしている。

#### A. 研究目的

重篤な遺伝性筋疾患である Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) については長らく根治的な治療法の開発が待ち望まれ

てきた。アンチセンス核酸を用いたエクソン・スキップ治療は、DMD に対する新規治療法として開発が進む治療法である。我々は筋ジストロフィーモデルイヌに対

して、モルフォリノ核酸の全身投与を行い、エクソン・スキップが筋ジストロフィーに対して有効な治療となり得ることを示した (Yokota et al. Ann Neurol, 2009)。次に、対象となる患者数が全 DMD 患者の約 13%と最も多いエクソン 51 スキップについて、エクソン 52 を欠失した mdx52 マウスを用いてモルフォリノ核酸の全身投与を行い、エクソン 51 スキップの有用性を報告した (Aoki et al. Mol Ther, 2010)。エクソン 51 スキップの対象者の割合は DMD 患者の中で最も多く同薬の治療は欧米を中心に進行しており、Prosensa Therapeutics 社が開発中の drisapersen については承認申請を目前としている。エクソン 51 について対象患者が多いとされるのは、エクソン 45、53、44 などがあるが、我々は国内で DMD 患者の 9%を占めるとされているエクソン 53 に注目し、エクソン 53 スキップによる DMD 治療薬の開発を進めている。国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）と日本新薬株式会社は、エクソン・スキップ医薬品の開発を念頭においた共同研究を平成 21 年に開始し、有効配列の探索、ヒト細胞を用いた検証などを行ってきた。共同研究の結果見出された配列は、ヒト筋細胞において DMD 遺伝子のエクソン 53 スキップを誘導し、また DMD 患者由来細胞では同エクソンのスキップとジストロフィンタンパク質の産生を誘導した。我々は本配列 (NS-065/NCNP-01) を開発対象配列として確定し、本配列に係る特許について平成 23 年に共同出願するとともに、同年にモルフォリノ製剤で合成したエクソン 53 スキップによる DMD 治療薬の開発を進めることについて合意した。また医薬品医療機器総合機構 (PMDA) との薬事戦略相談制度を活用し、非臨床試験の内容、及び被験物質の品質、並びに早期探索的

臨床試験のプロトコール及び開発戦略について議論を行ってきた。本厚生労働科学研究は平成 24 年度に採択され、世界初のモルフォリノで合成されたエクソン 53 スキップ治療薬の first-in-human 試験を医師主導型の早期探索的臨床試験として実施し、最終年度までに企業導出と後期相試験に必要な proof-of-concept を得ることを目的として実施されている。また、未だ十分な知見の集積がない核酸医薬品及び希少疾病医薬品の開発に際しての課題の検討を行い、本領域の医薬品開発を加速するための知見を取りまとめることも目的としている。平成 26 年度は本研究の 3 年度目であり、本稿では当該年度における本臨床試験の進捗状況について報告する。

## B. 研究方法

本臨床試験「デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者を対象とした NS-065 /NCNP-01 の早期探索的臨床試験」は GCP 準拠で計画され、国立精神・神経医療研究センター治験審査委員会の承認を受け、PMDA に対する治験届出を行い実施されている。確定したプロトコールについては大学病院医療情報ネットワーク (UMIN) の臨床試験登録システムに、また米国国立医学図書館が運営する臨床試験登録サイト [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) に登録し、それぞれ UMIN000010964, NCT02081625 として公開されている。

## C. 研究成果

### 1. 早期探索的臨床試験の継続実施

本臨床試験は平成 25 年 5 月に国立精神・神経医療研究センター治験審査委員会の承認を受け、同月に PMDA に対し治験計画届出を行い 30 日調査終

了後の同年6月に被験者組み入れを開始した。被験者の組み入れに際しては同センターが運営する神経筋疾患患者レジストリー（Remudy）と筋疾患に特化した治験ネットワークである筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク MDCTN の支援を受けた。また本試験のプロトコールでは、組み入れ基準のひとつとして「被験者由来細胞における NS-065/NCNP-01 の *in vitro* アッセイの結果、ジストロフィン mRNA でのエクソン 53 スキップ及びジストロフィタンパク質の発現が確認されている患者」を設定している。組み入れ予定の10名については、平成25年7月より適格性スクリーニング検査を開始し、投与前スクリーニング時に骨格筋生検と皮膚から線維芽細胞の採取を行った。その後採取した線維芽細胞を用いて、コホート1の被験者より投与スケジュールに従って順次 *in vitro* アッセイを実施し、全被験者において *in vitro* でのエクソン 53 スキップとジストロフィタンパク質の発現を確認した。平成25年10月よりコホート1の第1例目に対する投与を開始し、平成25年度内にコホート1から2の移行について、平成26年度内にコホート2から3への移行について、安全性評価委員会を開催して検討を行った。いずれもコホート移行上問題となる事象は認めなかった。治験の実施にあたっては、当センタートランスレーショナル・メディカルセンターに所属するプロジェクトマネージャーが進捗管理、薬事、外部機関との契約、治験薬提供者との連携等の業務を担当した。特に治験薬提供者である日本新薬株式会社（以下、日本新薬）とは定期的なミーティングを開催し、進捗状況や解析結果について、

戦略的・実務的な観点から議論並びに情報共有を行った。平成26年度内に全ての被験者に対する投与と観察を終了し、治験で得られた安全性及び有効性についての速報データが得られたことから、平成27年3月に日本新薬と共同で治験実施終了に関するプレスリリースを行った。その内容をまとめると、初期解析の結果いずれの群においても、エクソン 53 がスキップしてアミノ酸読み取り枠のずれが修正されたジストロフィンのメッセンジャーRNA が検出された。さらに、高用量群の一部の被験者においては、このメッセンジャーRNA から翻訳されたと考えられるジストロフィタンパク質の発現が確認された。これらの結果から NS-065/NCNP-01 の DMD に対する治療効果が期待される。また本治験を通じて重篤な有害事象の発生はなく、投与を中止した例はなかった。一般的な有害事象としては、腎機能への軽度の影響や貧血が見られた。現在は必須文書の整理等を実施し、総括報告書の完成に向けた準備を進めている。

## 2. 次相試験に向けたDMD症例集積性の検討とoutcome measureに関する検討

NS-065/NCNP-01 の早期探索的臨床試験の結果を受け、次相試験を計画するにあたり、今回の早期探索的臨床試験における被験者のプロフィールを検討するとともに、患者レジストリーを用いた症例集積性の向上に関する方策を検討した。その結果 NCNP に通院中の293名のうち33名がエクソン 53 スキップ対象者であった。内訳はエクソン 45-52 欠失：10名、48-52 欠失：8名、49-52 欠失：6名、50-52 欠失：4名、52 欠失5名であった。患者

の年齢は 0-5 歳：4 名、6-10 歳：10 名、11-15 歳：8 名、16-20 歳：8 名、20 歳以上：3 名であった。歩行可能患者は 15 名（平均 7.4 歳）、歩行不能患者は 18 名（平均 16.5 歳）であった。33 名のなかで 10 名が今回の治験に参加し、その大半は当院ですでに把握していた患者と Remudy の活用により、約 2 ヶ月で患者の組み入れが終了した。組み入れられた症例の年齢は 6-16 歳（平均 11.2 歳、欠失エクソンは 45-52 欠失：5 名、48-52 欠失：4 名、49-52 欠失：1 名）であった。歩行不能／可能患者は 7/3 名、ステロイド使用患者は 6 名であった。Remudy に登録されているジストロフィンパチー患者は 1300 名以上、MDCTN で把握されている DMD 患者数は約 1500 名であり、それぞれを有効に活用することによって、今回のような遺伝子変異に特定された希少疾病の臨床試験における症例組み入れを効率よく行うことが期待できる。実際に今回の早期探索的臨床試験では約 2 ヶ月で 10 名の患者を組み入れることができたが、本試験の適格患者が約 100 名程度と推測されることを考えると、患者レジストリーを用いた症例集積性向上策は希少疾病の臨床試験においては重要であると考えられた。また DMD 治療薬の開発における運動機能評価について、現在までにその妥当性が検証されたものは少なく、主要評価項目の多くは 6 分間歩行テストである。しかしエクソン 51 スキップ薬 drisapersen の第 3 相試験においては、主要評価項目である 6 分間歩行テストでは有意差が検出されないなど、臨床試験の評価手法としての同テストの有効性について再検討が必要と認識されつつある。6 分間歩行テストと 2 分間歩行テストとの比較検討の臨床研究、上肢機能に関する評価方法の研究など各国で行われ始めており、本邦でも治験推進策の一環として outcome

measure に関する臨床研究を検討する時期にきており、本研究でも平成 27 年度よこれらの課題に取り組むための outcome measure 研究を開始する予定としている。

### 3. DMD 治療薬に係る規制当局の薬事動向と企業における開発動向について

アンチセンスによるエクソン・スキップ医薬品については極めて新規性が高くこれまでに承認例はない。また DMD という希少疾患に対する医薬品についても、疾患の発症機序に直接作用するものについては直近まで承認例はなかった。そのため我々が開発を進めるエクソン 53 スキップによる DMD 治療薬 NS-065/NCNP-01 の臨床開発においては、各国の規制当局の動向を把握しておくことは効率的な開発を進める上で極めて重要である。本研究では 2014 年から 2015 年にかけての規制当局の動向についてその動きを概観した。その結果米国医薬食品局（FDA）や欧州医薬品庁（EMA）などにおいて、条件付き承認制度の活用や疾患自然歴を対照群とする試験デザインの採用など、疾患の重篤性や希少性を重視した現実的かつ柔軟な対応が取られつつあることが把握出来た。また我が国でもプラセボ対照群のあり方の検討や先駆け審査指定制度の発足など、海外の趨勢を踏まえた取り組みが開始されつつあることがわかった。以上のような動向は本薬の開発に大きく影響するものと考えられ、当局の考え方を理解した開発計画の立案が効率的な開発につながるものと考えられた。また海外のエクソン・スキップ医薬品主要 2 社、Prosensa Therapeutics 社、および Sarepta Therapeutics 社の開発動向についても調査した。その結果両社が開発中のエクソン 51 スキップによる DMD 治療薬、2'-OMe 製剤 drisapersen、及び PMO 製剤

eteplirsen については、2014 年から 2015 年にかけて両剤ともに承認申請に向けて大きな進捗を認めた。Drisapersen は 2013 年 9 月に第 3 相試験で優位性を示すことができず、GSK 社が共同開発から撤退するなど、一時開発中止が危惧される状況となったが、その後の再解析や他試験の結果から再評価されるに至り、2014 年 10 月には FDA への新薬承認申請手続きの開始を発表した。一方 eteplirsen は第 2 b 相試験で良好な成績を示しているものの、症例数の少なさなどから 2013 年の段階で FDA から申請は時期尚早と判断され、2014 年に入ってから具体的な追加試験の指示を受け、2015 年内の申請を目指すとしている。このように進捗に若干の差はあるものの、両剤とも承認申請に向けて着実な進展を認めている。またエクソン 53 スキップ薬についても我々を含め 3 社が参入し、同時に治験を実施しているところである。エクソン 51 スキップ医薬品の承認スケジュールが具体化しつつある状況を踏まえ、本治験薬の開発においても先行薬の開発動向を注視し、今後の開発戦略に活用していくことが必要と考えられた。

#### D. 考 察

本研究課題の 3 年度目においてもその進捗は概ね順調と考えられる。全被験者への投与及び観察が終了したことから、以降は総括報告書の作成が中心的業務となる。NCNP にとって医師主導治験の終了に向けた業務・手続きは本試験が初めてとなることもあり、継続的かつ着実な医師主導治験の支援実施が望まれるところである。またセンター全体としての体制整備や今回の医師主導治験を経て得られた知見の蓄積を活用し、今後の展開へつなげることも重要と考えられる。さらに

NS-065/NCNP-01 については有望な結果が得られたことから、次相試験の開始に向けた検討も重要であり、有効性を適切に評価できる試験デザインの構築、既存の臨床評価手法よりも優れた outcome measure の探索など、本剤の承認に向けた取り組みを次年度以降は強化していくこととしている。特に各国の規制当局の動向調査からは、DMD という疾患の重篤性や希少性を重視した現実的かつ柔軟な対応が取られつつあることが把握出来た。このような流れは本薬の開発に大きく影響するものと考えられ、当局の考え方を理解した開発計画の立案が効率的な開発につながるものと考えられた。また先行して開発が進むエクソン 51 スキップ薬については、承認申請に向けて着実な進展を認めている。エクソン 53 スキップ薬についても我々を含め 3 社が参入し、同時に治験を実施しているところであり、エクソン・スキップ医薬品の承認スケジュールが具体化しつつある状況を踏まえ、本治験薬の開発においても先行薬の開発動向を注視し、グローバルでの展開を見据えた開発戦略に活用していくことが必要である。

#### E. 結 論

本研究課題の 3 年度目においてもその進捗は概ね順調と考えられる。全被験者への投与及び観察が終了したことから、以降は総括報告書の作成が中心的業務となる。NCNP にとって医師主導治験の終了に向けた業務・手続きは本試験が初めてとなることもあり、継続的かつ着実な医師主導治験の支援実施が望まれるところである。またセンター全体としての体制整備や今回の医師主導治験を経て得られた知見の蓄積を活用し、今後の展開へつな

げること重要と考えられる。さらに NS-065/NCNP-01 については有望な結果が得られたことから、次相試験の開始に向けた検討も重要であり、有効性を適切に評価できる試験デザインの構築、既存の臨床評価手法よりも優れた outcome measure の探索、及びグローバルでの展開を見据えた開発戦略の立案など、本剤の承認に向けた取り組みを次年度以降は強化していくこととしている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### I. 論文発表

- 1 Arimura S, Okada T, Tezuka T, Chiyo T, Kasahara Y, Yoshimura T, Motomura M, Yoshida N, Beeson D, Takeda S, Yamanashi Y. Neuromuscular disease. DOK7 gene therapy benefits mouse models of diseases characterized by defects in the neuromuscular junction. *Science*. 2014;345(6203):1505-1508.
- 2 Hathout Y, Marathi RL, Rayavarapu S, Zhang A, Brown KJ, Seol H, Gordish-Dressman H, Cirak S, Bello L, Nagaraju K, Partridge T, Hoffman EP, Takeda S, Mah JK, Henricson E, McDonald C. Discovery of serum protein biomarkers in the mdx mouse model and cross-species comparison to Duchenne muscular dystrophy patients. *Hum Mol Genet*. 2014;23(24):6458-6469.
- 3 Matsuzaka Y, Kishi S, Aoki Y, Komaki H, Oya Y, Takeda S, Hashido K. Three novel serum biomarkers, miR-1, miR-133a, and miR-206 for Limb-girdle muscular dystrophy, Facioscapulohumeral muscular dystrophy, and Becker muscular dystrophy. *Environ Health Prev Med*. 2014;19(6):452-458.
- 4 Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, Nakamura H, Murata M, Takeda S, Nishino I, Kimura E. Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:150.
- 5 Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Nishiyama A, Okada H, Takeda S, Okada T. Dystrophic mdx mice develop severe cardiac and respiratory dysfunction following genetic ablation of the anti-inflammatory cytokine IL-10. *Hum Mol Genet*. 2014;23(15):3990-4000.
- 6 Yokota T, Miyagoe-Suzuki Y, Ikemoto T, Matsuda R, Takeda S. alpha1-Syntrophin-deficient mice exhibit impaired muscle force recovery after osmotic shock. *Muscle Nerve*. 2014;49(5):728-735.
- 7 Hayashita-Kinoh H, Yugeta N, Okada H, Nitahara-Kasahara Y, Chiyo T, Okada T, Takeda S. Intra-Amniotic rAAV-Mediated Microdystrophin Gene Transfer Improves Canine X-Linked Muscular Dystrophy and May Induce Immune Tolerance. *Mol Ther*. 2015.
- 8 Hyzewicz J, Tanihata J, Kuraoka M, Ito N, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S. Low intensity training of mdx mice reduces carbonylation and increases expression levels of proteins involved in energy metabolism and muscle contraction. *Free Radic Biol Med*. 2015.

- 9 Ogawa R, Ma Y, Yamaguchi M, Ito T, Watanabe Y, Ohtani T, Murakami S, Uchida S, De Gaspari P, Uezumi A, Nakamura M, Miyagoe-Suzuki Y, Tsujikawa K, Hashimoto N, Braun T, Tanaka T, Takeda S, Yamamoto H, Fukada S. Doublecortin marks a new population of transiently amplifying muscle progenitor cells and is required for myofiber maturation during skeletal muscle regeneration. *Development*. 2015;142(1):51-61.
- 10 Ohtsuka Y, Kanagawa M, Yu CC, Ito C, Chiyo T, Kobayashi K, Okada T, Takeda S, Toda T. Fukutin is prerequisite to ameliorate muscular dystrophic phenotype by myofiber-selective LARGE expression. *Sci Rep*. 2015;5:8316.
- II. 学会発表**
- 1 Takeda S: Gene Therapy in DMD, Updates and Future Prospects. 13th Annual Asean Oceanian Myology Center (AOMC) and 20th Philippine Neurological Association (PNA) Midyear convention, 5.16, 2014
- 2 Takeda S: Molecular mechanism of muscle hypertrophy; our current attempt to do exon skipping clinical trial. Seminar at The Ohio State University College of Medicine, 5.27, 2014
- 3 Takeda S: Making skeletal muscle from induced Pluripotent Stem (iPS) cells. Skeletal Muscle Satellite and Stem Cells FASEB, 7.24, 2014
- 4 Saito T, Nagata T, Masuda S, Tanihata J, Ohata M, Tamaura A, Kanazawa M, Minami N, Goto K, Hayashi Y, Iwasawa K, Tatezawa K, Fukuda K, Mizutani T, Shimizu R, Suzuki M, Yamaguchi K, Tachimori H, Nishino I, Goto Y, Komaki H, Takeda S: Assessment of the Dystrophin Gene Exon 53 Skipping Using DMD Patient-Derived Fibroblasts for Exploratory Clinical Trial of Antisense Drug NS-065/NCNP-01. American society of gene & cell therapy 17th Annual meeting, 5.21, 2014
- 5 Hayashita-Kinoh H, Nitahara-Kasahara Y, Okada H, Chiyo T, Yugeta N, Okada T, Takeda S: Immune Tolerance Induction in Canine X-Linked Muscular Dystrophy With rAAV9-Microdystrophin Transduction. American society of gene & cell therapy 17th Annual meeting, 5.23, 2014
- 6 Kimura E, Nakamura H, Khayashi Y, Mori-Yoshimura M, Shimizu R, Komaki H, Nishino I, Kawai M, Takeda S: DMD/BMD patient registry in Japan: Remudy. 13th International Congress on Neuromuscular Diseases ICNMD, 7.7, 2014
- 7 Hyzewicz J, Tanihata J, Kuraoka M, Ito N, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S: Proteomic analysis shows that low intensity training reduces the carbonylation level and increases the expression of energy metabolism and muscle contraction proteins in mdx skeletal muscle. 43th European Muscle Conference, 9.11, 2014
- 8 Takeuchi F, Nakamura H, Mitsuhashi S, Mori-Yoshimura M, Hayashi Y.K, Shimizu R, Komaki H, Nishino I, Kawai M, Takeda S, Kimura E: National registry of Japanese dystrophinopathy patients:

- Remudy.19th International Congress of the World Muscle Society, 10.9, 2014
- 9 Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, Murata M, Takeda S, Nishino I, Kimura E: Nationwide Patient registry of GNE myopathy in Japan.19th International Congress of the World Muscle Society, 10.9, 2014
  - 10 Tanihata J, Nagata T, Saito T, Ito N, Aoki Y, Nakamura A, Takeda S: Truncated dystrophin with exon 45–55 deletion induced muscle atrophy and fiber type change through the hyper-nitrosylation of the ryanodine receptor type-1 and constant release of Ca<sup>2+</sup> to the cytosol.19th International Congress of the World Muscle Society, 10.8, 2014
  - 11 Takeda S: The molecular mechanisms of skeletal muscle hypertrophy and atrophy -nNOS is a physiological regulator of muscle mass-.11th Meeting of Bone Biology Forum, Fuji Institute of Education and Training, 8.22, 2014
  - 12 武田伸一: デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ誘導療法.第55回日本神経学会学術大会, 5.23, 2014
  - 13 武田伸一: デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するNS-065/NCNP-01の早期探索的臨床試験.アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2014, 9.8, 2014
  - 14 武田伸一: ここまできた難治性筋疾患の治療法.平成26年度 愛知県医師会治療講演会, 9.23, 2014
  - 15 武田伸一: 筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ治療.東邦大学薬学部 第33回生命科学シンポジウム, 10.29, 2014
  - 16 武田伸一: 筋ジストロフィーの新しい治療法の現状.第6回東海神経筋疾患懇話会, 10.31, 2014
  - 17 武田伸一: 筋ジストロフィーに対する新たな治療へ『筋ジストロフィー医療50周年記念シンポジウム「筋ジストロフィー医療の転換点をむかえて」』.第68回国立病院総合医学会, 11.15, 2014
  - 18 武田伸一: 筋ジストロフィーに対するアンチセンス核酸医薬品の開発を目指して.日本DDS学会創立30周年記念シンポジウム, 遺伝子医療・核酸医薬品とDDS, 12.15, 2014
  - 19 武田伸一: 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における医師主導治験の実際.革新的医療研究開発で挑む神経変性疾患—プリオン病治験体制の確立に向けて—, 2.14, 2015
  - 20 永田哲也, 武田伸一: Duchenne 型筋ジストロフィーに対するエクソン53スキップ治療薬の早期探索的臨床試験.第55回日本神経学会学術大会, 5.24, 2014
  - 21 谷端 淳, 永田哲也, 齊藤 崇, 伊藤尚基, 中村昭則, 武田伸一: Exon45-55を欠失した短縮型dystrophinはRyR1をニトロシル化し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇させる.第69回日本体力医学会大会, 9.20, 2014

## 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

厚生労働科学研究費補助金  
(医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業))  
平成 26 年度 分担研究報告書

医師主導治験の支援に関する研究

研究分担者 中村 治雅 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 臨床研究支援室 室長

研究協力者 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 臨床研究支援室 研究員

研究要旨

エクソン 53 スキップによる Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 治療薬 (NS-065/NCNP-01) の早期探索的臨床試験は、被験者に対する投与・観察のすべてが終了し、治験終了に向けた最終段階に入った。円滑に総括報告書の作成までを実施すべく、進捗の管理及び継続的な支援を行っている。

A. 研究目的

平成 25 年度に開始したエクソン 53 スキップによる Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 治療薬 (NS-065/NCNP-01) の早期探索的臨床試験 (以下、「本治験」という。) について、平成 26 年度に全被験者に対し予定していた投与・観察が全て終了した。昨年度に引き続き、治験実施の支援を行い、治験の終了に向けたデータのとりまとめ支援及び総括報告書の作成に向けた準備を行った。

B. 研究方法

本治験は、国立精神・神経医療研究センター (以下 NCNP) が実施する First in Human (FIH) の医師主導治験である。昨年度報告したとおり、本治験実施においては、プロジェクトマネージャーにより進捗管理、薬事、外部機関との契約、治験薬提供者等との連携、安全性評価委員会の運営等、様々な面で継続

的な支援を行っている。今年度は、被験者への投与・観察の終了に伴い、治験終了に向けてモニタリング、監査、データマネジメント等の実施、次相試験の実施について、円滑に進められるよう支援を行った。

C. 研究成果

① 治験薬提供者等との連携

本治験の治験薬提供者である日本新薬株式会社 (以下「日本新薬」という。) とは、定期的に会合を設定し、治験実施状況や進捗、結果について、戦略的・実務的な観点から、議論並びに情報共有を行った。さらに、治験実施により得られた技術、経験等を基に、日本新薬が行う次相試験以降の開発計画に対し医学的、薬事的な観点から助言を行い、検討を進めている。

医師主導治験の結果の公開については、日本新薬とも綿密に話し合い、治験で得られた

成果をプレスリリースや学会発表などで段階的に公開するよう、調整を行っている。

## ② 安全性評価委員会の運営

本治験は、治験の進行及び安全性データを適切な頻度で評価し、コホートの移行の可否等について助言・勧告を行う安全性評価委員会を設置している。

本年度は、昨年度に引き続き1回の委員会開催をしており、コホート3への移行に当たり、それまでに得られた有害事象等の安全性情報を基に評価を行った。

また、コホート3実施中も、委員会に対し定期的に被験者の状況を報告し、安全性の確保に努めた。

## ③ 治験終了に向けた検討

治験から得られたデータのとりまとめ、データマネジメント等を NCNP 内で行っており、各部局間及び関連する委託業者間の連絡調整、進捗の管理を行った。

本治験における全投与が終了し、安全性及び有効性についてのデータの速報が得られたことから、平成27年3月に日本新薬株式会社と共同で、治験実施終了に係るプレスリリースを行った。

その他、必須文書の整理等も実施し、総括報告書の完成に向けて、準備を進めている。

## D. 考察

NCNP において実施した医師主導治験は当初のスケジュール通り投与・観察を終了した。今後、NCNP として初めてとなる医師主導治験の終了に向けた業務、手続きを行っていくこととなる。支援を継続的に行うとともに得られた経験を蓄積し、NCNP における今後の医師主導治験の支援、実施体制について、検討する必要があると考えられる。

## E. 結論

引き続き、薬事規制を遵守しつつ円滑に治験の進行を行うほか、治験の終了に向けて、効率的な支援、進捗管理並びに助言が行えるよう、さらなる体制整備や知見の蓄積を図りたい。次の医師主導治験に向けての体制の振りかえりも、行っていきたい。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### I 論文発表

- 1) 木村円, 中村治雅, 西野一三. 病態解明・新規治療を目指した神経疾患の患者レジストリシステム 筋ジストロフィー. Remudy. BRAIN and NERVE. Vol. 66, 1396-1402, 2014
- 2) Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, Nakamura H, Murata M, Takeda S, Nishino I, Kimura E. Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. Orphanet J Rare Dis. Vol.9, 150, 2014
- 3) 鈴木麻衣子, 永田哲也, 武田伸一. 医薬品関連・薬事戦略相談を受けて. PHARMSTAGE vol.14, No.6, 19-23, 2014

### II 学会発表

なし

## H. 知的所有権の出願・登録状況

特許

なし

実用新案登録

なし

その他、特記事項

なし

厚生労働科学研究費補助金  
(医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業))  
平成 26 年度 分担研究報告書

DMD 患者の症例集積性向上と outcome measure に関する検討

研究分担者 小牧 宏文 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター  
病院 小児神経診療部医長

研究要旨

我々は 2013 年よりデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン 53 スキップ治療薬による早期探索的臨床試験 (ファースト・イン・ヒューマン試験) を実施している。本臨床試験に組み入れられている患者のプロフィール、次相の臨床試験を念頭に当院通院患者におけるエクソン 53 スキップ対象者の頻度や年齢分布、並びに臨床試験における outcome measure の動向について検討を行った。筋ジストロフィーなどの希少疾病に対する治験を行うには、患者登録などを用いた患者集積性の向上、並びに適切な outcome measure の探索が必要である。

A. 研究目的

アンチセンス・オリゴヌクレオチド(AO)を用いたエクソン・スキップ治療は、原因遺伝子が同定されているにもかかわらず治療法のない予後不良の遺伝性筋疾患である Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) に対する新規治療法として注目されている。我々は全 DMD 患者の約 10%が対象となるエクソン 53 をターゲットとしたエクソン・スキップ治療の早期探索的臨床試験を 2013 年より実施している。臨床試験に組み入れられている患者、当院通院患者におけるエクソン 53 スキップ対象者のプロフィールを検討するとともに、患者レジストリーを用いた症例集積性の向上に関する方策を検討した。次相試験のプロトコルを検討するうえで重要な outcome measure に関しては近年実施されている臨床試験での評価項目や文献的な検索を行い今後の方針について検討した。

B. 研究方法

当院小児神経科に受診歴のあるデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者 293 名のカルテを後方視的に検討した。MLPA 法、または multiplex PCR 法を用いたジストロフィン遺伝子解析の結果から、エクソン 53 スキップ対象者 (エクソン 10-52、43-52、45-52、47-52、48-52、49-52、50-52、52 欠失を有する患者) を抽出した。

近年エクソン・スキップをはじめとする Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の臨床試験が開始されている。Prosensa 社と GSK 社により行われた drisapersen によるエクソン 51 スキップ国際共同治験では、第 3 相試験で主要評価項目である 6 分間歩行において、プラセボ群に対し治験薬投与群で有意な改善を認めなかったとの結果が公表された。しかし、年齢層を分けた解析では 6 分間歩行での歩行距離延長効果も示されている。現在 DMD の臨床試験で主要評価項目として用いられてい

る6分間歩行が、治療効果を反映する鋭敏な指標として十分であるかは疑問が残る。今後多くの治療開発が期待される中で、治療効果を的確に反映し多施設で実施可能な均一化された運動機能評価に関するアウトカムメジャーの作成が求められている。

#### (倫理面への配慮)

早期探索的臨床試験の被験者組み入れに係る検討については、国立精神・神経医療研究センター治験審査委員会の承認を受けて実施した。

#### C. 研究成果

293名のうち33名がエクソン53スキップ対象者であった。内訳はエクソン45-52欠失:10名、48-52欠失:8名、49-52欠失:6名、50-52欠失:4名、52欠失5名であった。患者の年齢は0-5歳:4名、6-10歳:10名、11-15歳:8名、16-20歳:8名、20歳以上:3名であった。歩行可能患者は15名(平均7.4歳)、歩行不能患者は18名(平均16.5歳)であった。33名のなかで10名が現在実施している早期探索的臨床試験に参加しているが、その大半は当院ですでに把握していた患者と神経筋疾患患者レジストリー

(Remudy)の活用により、約2ヶ月で患者の組み入れが終了した。組み入れられた症例の年齢は6-16歳(平均11.2歳、欠失エクソンは45-52欠失:5名、48-52欠失:4名、49-52欠失:1名であった。歩行不能/可能患者は7/3名、ステロイド使用患者は6名であった。

#### D. 考察

エクソン53スキップ対象者はDMD患者全体の11.3%であり、従来指摘されている頻度よりはやや高めであったが、これは本臨床試験を当センターで行っているためのバイアスが影響しているものと考えた。次相試験を考えると今回把握できた患者数のみでは次相試験の実施は困難であり、Remudyを用いた患者リクルート、平成24年度に設立した疾病型の

治験ネットワークである筋ジストロフィー臨床試験ネットワークなど様々な手法を用いた症例集積性の向上策を検討する必要がある。Remudyに登録されているジストロフィーパチー患者は1300名以上、筋ジストロフィー臨床試験ネットワークで把握されているDMD患者数は約1500名であり、それぞれを有効に活用することによって、今回のような遺伝子変異に特定された希少疾病の臨床試験における症例組み入れを効率よく行うことが期待できる。実際に今回の早期探索的臨床試験では約2ヶ月で10名の患者を組み入れることができたが、本試験の適格患者が約100名程度と推測されることを考えると、患者レジストリーを用いた症例集積性向上策は希少疾病の臨床試験においては大きな力となっている。運動機能評価について、現在までにその妥当性が検証されたものは少なく、主要評価項目の多くは6分間歩行テストである。エクソン51を対象としたエクソン・スキップ薬の治験がエクソン53に先行して行われているが、最も注目されていたグラクソスミスクライン社が実施した国際共同治験(二重盲検試験)の結果は6分間歩行テストでプラセボと実薬群との間で有意差なしという結果であった。この結果となった理由はさまざまな要因が考えられるが、このような疾患に対する臨床試験の評価として6分間歩行テストが果たして適切なものなのかの再検討が必要と考えられている。6分間歩行テストと2分間歩行テストとの比較検討の臨床研究、上肢機能に関する評価方法の研究など各国で行われ始めており、本邦でも治験推進策の一環としてoutcome measureに関する臨床研究を検討する時期にきている。

そこで我々はDMDの臨床試験における信頼性および妥当性の高い運動機能評価法として、以下の項目の筋ジストロフィーの臨床評価への有用性について検討している。ショートタイムドテストとして①床からの立ち上がり、②10m走行/歩行、③Timed Up & Go テスト、

ロングタイムドテストとして①2分間歩行、②6分間歩行、ハンドヘルドダイナモメーターを使用した定量的筋力評価：①股関節屈曲・伸展、②膝関節屈曲・伸展、③足関節背屈・底屈、などである。

そしてそれぞれの評価項目について、① Test-retest reliability (再テスト信頼性)、② Concurrent validity (併存的妥当性)、③ Minimal clinically important differences; MCIDs (最小変化量)を検討する。今後この項目を用いた臨床研究を実施する予定である。

## E. 結論

希少疾病に対する治験を行うには、患者登録、臨床試験・治験ネットワークなどを通じた症例集積性の向上が必要である。臨床試験の実施体制の整備の一環として、適切な臨床評価項目の設定に関する臨床研究が大きな意味を持つ。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### I 論文発表

- 1) The infrastructure for the clinical research of muscular dystrophies: Remudy and MDCTN. Kimura E, Nakamura H, Mitsuhashi S, Takeuchi F, Mori-Yoshimura M, Shimizu R, Komaki H, Hayashi YK, Nishino I, Kawai M, Takeda S. Rinsho Shinkeigaku. 54: 1069-70.
- 2) Three novel serum biomarkers, miR-1, miR-133a, and miR-206 for Limb-girdle muscular dystrophy, Facioscapulohumeral muscular dystrophy, and Becker muscular dystrophy. Matsuzaka Y, Kishi S, Aoki Y,

Komaki H, Oya Y, Takeda S, Hashido K. Environ Health Prev Med. 19: 452-8.

- 3) A nationwide survey on Marinesco-Sjögren syndrome in Japan. Goto M, Okada M, Komaki H, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I, Hayashi YK. Orphanet J Rare Dis. 23; 9: 58.
- 4) Hypophosphatemia is a common complication in severely disabled individuals with neurological disorders and is caused by infection, refeeding and Fanconi syndrome. Saito Y, Aoki Y, Takeshita E, Saito T, Sugai K, Komaki H, Nakagawa E, Ishiyama A, Takanoha S, Wada S, Sasaki M. Brain Dev. 36: 878-83.

### II 学会発表

1. 小牧宏文. オーフアンドラッグ開発推進に向けた国内、国際連携 筋疾患の医薬品開発に向けた国内、国際連携. 第35回日本臨床薬理学会学術総会. 愛媛 2014.12.14
2. 小牧宏文、永田哲也、齋藤崇、竹下絵里ら. デュシエンヌ型筋ジストロフィーを対象としたエクソン・スキップ (First-in-Human) 試験. 第41回日本小児臨床薬理学会. 大阪 2014.10.3
3. Komaki H, Endo Y, Ishiyama A, Nonaka I, et al. A clinical point of view diagnosing juvenile idiopathic inflammatory myopathies without skin manifestations. The 17th World Muscle Society. Berlin, Germany, 2014.10.9

## H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他、特記事項  
なし

厚生労働科学研究費補助金  
(医療技術実用化総合研究事業 (臨床研究・治験推進研究事業))  
平成 26 年度 分担研究報告書

DMD 治療薬の開発に対する規制当局の動向について

研究分担者 村田 美穂 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター  
病院 神経内科診療部 部長

**研究要旨**

アンチセンスによるエクソン・スキップ医薬品については極めて新規性が高くこれまでに承認例はない。また DMD という希少疾患に対する医薬品についても、疾患特異的な作用機序を有するものについては直近まで承認例はなかった。そのため我々が開発を進めるエクソン 53 スキップによる DMD 治療薬 NS-065/NCNP-01 の薬事承認を目指すにあたっては、各国の規制当局の動向を把握しておくことは効率的な開発を進める上で極めて重要である。本研究では 2014 年から 2015 年にかけての規制当局の動向についてその動きを概観した。その結果、疾患の重篤性や希少性を重視した現実的かつ柔軟な対応が取られつつあることが把握出来た。このような流れは本薬の開発に大きく影響するものと考えられ、当局の考え方を理解した開発計画の立案が適切かつ効率的な開発につながるものと考えられた。

**A. 研究目的**

アンチセンスによるエクソン・スキップ医薬品は極めて新規性が高くこれまでに承認例はない。また DMD という希少疾患に対する医薬品についても、疾患特異的な作用機序を有するものについては直近まで承認例はなかった。そのため我々が開発を進めるエクソン 53 スキップによる DMD 治療薬 NS-065/NCNP-01 の薬事承認を目指すにあたっては、各国の規制当局の動向を把握しておくことは適切かつ効率的な開発を進める上で極めて重要なことから、上記について 2014 年から 2015 年の動向を調査した。

**B. 研究方法**

主に学術文献、規制当局からの発表資料、及び製薬企業による資料等を中心に調査を行っ

た。また海外での学術集会における意見交換等を通して情報収集を行った。

**C. 研究成果**

1. 米国の動向

2014年9月26日にMuscular Dystrophy Community Assistance Research and Education Amendments of 2001; MD CARE Act が大統領署名により発効した<sup>1)</sup>。本法はDMDを始めとする筋ジストロフィーに対する治療法の開発を加速するための研究及びその基盤の充実を図るものである。本法自体は2001年より施行されているが、DMDに対する治療内容の変化や、成人患者の増加を踏まえて所要の改正を行ったものとされている。その成立には Muscular Dystrophy Associationを始めとした患者団体の働きかけが大きい。これを受けた米

政府の対応として、アメリカ医薬食品局 (FDA) が公開している2016会計年度 (2015年10月～2016年9月) 資料 Fiscal Year 2016 Food and Drug Administration, Justification of Estimates for Appropriations Committees によると、米下院予算委員会がFDAに求める重点要望事項として、DMDに対する治療薬開発の推進を求めている<sup>2)</sup>。この要望事項の中では、FDAとDMDコミュニティとの連携を通して、DMD患者に特有なベネフィット/リスクを考慮した規制のあり方を検討し、また医薬品開発における業界へのガイダンスを充実させることが求められている。これに対しFDAは本疾患に対する多大なアンメットメディカルニーズの存在を認識したうえで、開発企業や患者団体と積極的に関わりつつ、迅速承認制度 (accelerated approval) を活用した柔軟な審査の枠組みを用意していくとし、DMD治療薬を開発する企業に対して2015年内にguidance for industryを発出する予定であるとしている。またDMD患者コミュニティとFDAと関わりを示す事例として、2014年10月30日に公表されたFDAの声明文が挙げられる<sup>3)</sup>。これは同年10月27日に、Sarepta therapeutics社が開発中のeteplirsenについて公表したプレスリリースを巡るものである<sup>4)</sup>。プレスリリースに先立つ9月に同社は計画中的新薬承認申請 (New drug application: NDA) の妥当性についてFDAとのミーティングを行ったが、その際に受領したガイダンスレターでは多くの追加データの提出を求められた。これらはジストロフィン免疫染色における個別の解析結果、新たに投与が開始された被験者の投与開始後3ヶ月間の安全性データ、入手可能な個々の被験者レベルでの疾患自然歴などを含んでいた。これらのガイダンスが求める追加データは、当初想定されていたNDAの時期をさらに後退させるものであったため、その内容に落胆した患者団体からFDAに対して多くの意見が寄せられることとなった。この事態に回答するためにFDAが明らかにした声明文では、Sarepta社が提出したジストロフィ

ン発現に関するデータはNDAにおいて求められる頑健性を満たしていなかったこと、進行中の202試験 (第2b相、非盲検長期投与試験、n=10) における被験者が、臨床症状の悪化という評価軸においてDMDの自然経過と比較して緩徐であることを示すこと、さらに202試験以外に新たな被験者を組み入れる試験を速やかに開始することを一貫して求めてきた旨を説明した。一方で段階的審査 (rolling review) の可能性、及び同品目はpriority reviewの対象となりうることに触れ、科学的に必要とされる審査データは厳格に求めていくものの、審査体制については疾患の重篤性を考慮して柔軟に対応する姿勢を打ち出している。しかしながらFDAは受け身だけではなく、主体的にDMD治療薬の開発を加速する取り組みも開始している。そのひとつとして特筆すべきは、ジストロフィン測定法の標準化に向けた働きかけである。エクソン・スキップの原理上、ジストロフィンの発現量は理論的に臨床的有効性に直接結びつくと考えられるため、ジストロフィン代理エンドポイントとして有効性評価の一項目と認識されている。これまで研究レベルで実施されてきたジストロフィンの測定は、免疫染色及びウェスタンブロットによるものであるが、近年DMD治療薬の治験が多く実施されるに伴い、これまでの手法による客観性、定量性及び再現性について規制当局から疑義が呈されるようになった。この問題は先述したSarepta社に対するガイダンスの中で、同社が提出してきたジストロフィン発現データの信頼性に対するFDAの懸念事項であることから理解できる。このような状況に対しFDAは2015年3月20日に、DMD患者におけるジストロフィン測定とその結果の解釈に関する公開ワークショップ Measuring Dystrophin in Dystrophinopathy Patients and Interpreting the Data を開催した<sup>5)</sup>。本WSには現在開発中のDMD治療薬の開発企業、及びアカデミアが参加し、これまでに治験で採用されてきたジストロフィン測定手法、及び測定