

の前提となる筋生検手法に関してレビューを行うとともに、質量分析計を用いた測定手法や骨格筋のMRIによる評価など現在試行的に実施されている手法についても議論を行っている。その上で現状の測定手法に関するバリデーション状況や定量性・再現性についての課題、並びにDMDに関連したタンパクの測定手法の進歩に向けた取り組みについて、論点をまとめるものであった。このWSの開催は規制当局が求めるジストロフィン測定手法の水準と、開発側及びアカデミアが科学的に達成可能と考える水準のギャップを解消する取り組みとして重要な役割を果たしたものと考えられる。

2. 欧州の動向

欧州医薬品庁（EMA）においては2014年に drisapersen及びeteplirsenを含むエクソン・スキップ医薬品に関して特筆すべき動きは認められなかったが、ストップコドン・リードスルーを機序とするPTC therapeutics社のDMD治療薬ataluren（販売名translarna）が、2014年7月に条件付き承認（conditional marketing authorization）を受けたことがトピックとして挙げられる。欧州医薬品委員会 CHMP（Committee for Medicinal Products for Human Use）が同年5月に公表した欧州委員会に対する答申内容によると、承認の枠組みとして採用されたconditional marketing authorization（またはconditional approval）は、重篤疾病に対するアンメットメディカルニーズに適応を有する医薬品であれば、完全なデータセットが揃う以前に承認を行うという制度である⁶⁾。

TranslarnaはDMDという希少性・重篤性疾患に適応を有する点で条件を満たしており、当初2014年1月にPTC社が提出したデータではCHMPは承認を見送ったが、その後の再評価により今般の決定に至ったとしている。また同答申ではPTC社に対する支援として、同社がRecommendation 2003/361/ECに定義される中小零細企業 small- or medium-sized- enterprise

(SME)に該当するために、EMAの担当部局からの支援を受けられること、またTranslarnaはオーファン指定を受けているために、プロトコル作成及び薬事相談の過程において無償相談をEMAから受けることが可能であることなどにも触れている。またTranslarnaに関する承認医薬品情報（European public assessment report）には承認の理由として「入手可能なデータは限定されており、かつ80 mg/kg/日以上の用量での有効性が明らかでないものの、40 mg/kg/日の投与により病状の進行を抑制し、安全性についても重大な懸念が認められないため、DMDの重篤性を考慮してベネフィットがリスクを上回った」ことを承認の理由としてあげている⁷⁾。なお条件付き承認は1年毎に更新されるため、PTC社は新たなデータを入手次第CHMPへ提供することが求められている。

3. 国内の動向

特に本薬の開発に影響すると考えられる国内の薬事動向としては、(i)医薬品医療機器総合機構（PMDA）における「プラセボ対照試験に関する専門部会」の設置⁸⁾、及び(ii)厚生労働省による「先駆け審査指定制度」の発足⁹⁾が挙げられる。(i)の背景については、エクソン・スキップを始めとしたDMD治療薬の開発においては、対象が希少疾患であり重篤度が高く、また現在のところ発症機序に作用する治療法が存在しないことが認識されている。このような状況を鑑み、海外で実施されているDMD治療薬の検証的試験でも従来のようなプラセボ投与群ではなく、疾患自然歴をプラセボとするデザインを採用する例が増えつつある。これは患者数の少なさ、及び現在治療法がなく致死性の経過を辿るといった倫理的側面が重視されつつあることの反映と考えられる。このような中、PMDAでは2014年10月、科学委員会の下に「プラセボ対照試験に関する専門部会」を設置した。本部会における検討課題として表1が示されている。本部会では具体的に希少難病や小児領域の治験に

についても議論の対象としていることから、DMD 治療薬の今後の試験デザインに影響を及ぼすことが想定されるため、その動向を注視していく必要がある。

表 1. 「プラセボ対照試験に関する専門部会」の検討課題

一般に、新薬の有効性検証はプラセボと比較することが原則と考えられるが、致死性疾患であって標準的治療法が確立している場合等ではプラセボ群（無治療群）を対照として比較試験を実施することは倫理的に困難。実際にどのような場合にプラセボ投与が必要かつ可能なのか。開発段階、審査・相談段階におけるプラセボ対照試験の要否等の判断に際し、実態を踏まえた科学的妥当性について議論する。

具体的には、プラセボ対照試験実施の要否について、現場の実態等を踏まえて一般的な考え方を整理する。なお、PMDAとしてはその結果を審査・相談の場で活用させていただきたいと考えている。

また 2014 年 6 月に厚生労働省から「先駆けパッケージ戦略」が公表された。これは我が国の大学、研究機関等の基礎研究の成果を迅速に実用化につなげるよう、医薬品等の基礎研究から臨床研究・治験、承認審査、保険適用、国際展開までの対策を一貫して取り組むものであり、具体的には世界に先駆けて日本で開発され、早期の治験段階で著明な有効性が見込まれる革新的な医薬品について優先審査し、早期の承認を目指す「先駆け審査指定制度」の運用を開始するものである。これを受けて 2015 年 3 月に開催された薬事・食品衛生審議会薬事分科会では、制度の具体的内容が議論され、指定基準の案として表 2 に示す 4 項目があげられた。さらに本制度に指定された場合は、同表の措置が適用されることとしている。本研究で開発を進める NS-065/NCNP-01 は上記の指定要件によく適

合しており、本制度の活用について積極的に対応していくことが必要と考えられる。迅速承認制度の一類型として運用が開始される本制度は、我が国発の DMD 治療薬の実用化を大きく後押しする可能性を有している。

表 2. 先駆け審査指定制度の概要

| |
|---|
| <p>指定基準（案）</p> <p>①治療方法の画期性について 原則として、既承認薬と異なる新作用機序であること（既承認と同じ作用機序であっても開発対象とする疾患に適応するのは初めてであるもの、革新的な薬物送達システムを用いているものなどで、その結果、大幅な改善が見込まれるものも含む。）</p> <p>②一刻も早い実用化が求められている疾患について 以下のいずれかの疾患に該当するもの ・生命に重大な影響がある重篤な疾患 ・根治療法がなく症状（社会生活が困難な状態）が継続している疾患</p> <p>③対象疾患に係る著明な有効性について 既承認薬が存在しない又は既存の治療薬若しくは治療法に比べて有効性の大幅な改善が見込まれること（著しい安全性の向上が見込まれる場合も含む）</p> <p>④世界に先駆けて日本で早期開発・申請されるものについて 日本における早期からの開発を重視し、世界に先駆けて日本で申請される（同時申請も含む）予定のもの。なお、国内での開発が着実に進んでいることが確認できる以下のいずれか若しくは両方に該当する治療薬であることが望ましい。 ・FIH 試験が日本で行われたもの、 ・POC 試験が日本で行われたもの</p> |
| <p>適用措置</p> <p>①優先相談 [2 か月 → 1 か月] ⇒優先対面助言として、搬入資料を用意した上で随時募集対応とすることで、事実上 1 ヶ月で実施する（資料搬入は 4 週</p> |

間前)。

②事前評価の充実〔実質的な審査の前倒し〕

⇒半期に1回募集し、選択しているところ、先駆け審査指定を受けた品目は原則として、全て事前評価可能とする。
⇒精度の高い相談資料及び確定的な相談記録の要求は時間と負荷が増加するため、相談資料・相談結果記録をより簡便なものとする新たな相談枠を設定する。

③優先審査〔12か月→6か月〕

⇒審査、GMP調査、信頼性調査のスケジュールを厳密に管理することで、総査期間の目標を6か月に短縮する。

④審査パートナー制度〔PMDA版コンシェルジュ〕

⇒専任の担当部長級職員をコンシェルジュとして指定し、節目毎に進捗確認の面会、督促指示等を行い、必要な部署との連絡調整を行うことにより、円滑な開発を促進する。

⑤製造販売後の安全対策充実〔再審査期間の延長〕

⇒法律の範囲内で合理的に設定。

出していることが伺える。その前向きの取り組みの一つとして、FDAが主催したジストロフィン測定に関するワークショップの開催などがあり、DMD治療薬の開発に対して規制当局が積極的な形で関与している状況が理解できる。このように規制当局と患者団体のやり取りが可視化されつつ医薬品の開発が進展する米国の状況は、患者やその家族が医薬品開発におけるレギュラトリーサイエンスにどのように関与していくべきかという観点から見て興味深い。一方欧州では世界に先駆けてDMDの発症機序に作用する医薬品として translarna が承認されるなど、DMD治療薬開発の方向性を先取りした動きが見られた。特にFDAとEMAともに対照群に自然経過歴を採用する流れが定着しつつあることは、希少性疾患の医薬品開発に関する今後の方向性を示唆しているものと考えられた。日本国内でもプラセボ対照群をめぐる議論、また欧米を参考とした迅速審査の枠組みづくりが開始されるなど、エクソン・スキップ薬を始めとして希少疾患医薬品の開発めぐる環境の整備が進みつつあり、今後の開発においてはこれらの動きに十分留意していく必要があると思われる。

D. 考察

DMD治療薬に関する米国の薬事動向を整理すると、患者団体を主体とするステークホルダーが米国の政策決定過程においては極めて重要な役割を担っており、特に上記MD CARE Actの発効は患者団体のロビー活動の成果であることが理解できる。その結果FDAが担うべき重点事項の一つとしてDMD治療薬の開発が明記されるなど、米国における医療政策上の重要事項として位置づけられていることが理解できる。さらにSarepta社のeteplirsen承認が後退する可能性が示唆されると、これに対する患者団体の反発に対して迅速にFDAが回答するなど、患者、企業、規制当局の働きかけが前向きの相互作用を生み

E. 結論

DMD治療薬の開発に関わる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。

参考文献

- 1) Muscular Dystrophy Association. MD CARE Act Update (2014).
http://www.mda.org/advocacy/md_care_act
- 2) FDA. Budgets - 2016 FDA Justification of Estimates for Appropriations Committees.
<http://www.fda.gov/AboutFDA/ReportsManualsForms/Reports/BudgetReports/ucm437416.htm>
- 3) Center for Drug Evaluation Research FDA. Drug Safety and Availability - Duchenne Muscular Dystrophy Statement.
<http://www.fda.gov/drugs/drugsafety/ucm421270.htm>
- 4) Sarepta Therapeutics. Announces Regulatory Update on Eteplirsen.
<http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=1981569>
- 5) Center for Drug Evaluation Research FDA. Measuring Dystrophin in Dystrophinopathy Patients and Interpreting the Data.
<http://www.fda.gov/Drugs/NewsEvents/ucm432429.htm>
- 6) Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency - News and Events - European Medicines Agency recommends first-in-class medicine for treatment of Duchenne muscular dystrophy.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2014/05/news_detail_002110.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1
- 7) European Medicines Agency. - Find medicine - Translarna.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002720/human_med_001742.jsp&mid=WC0b01a

c058001d124

- 8) 医薬品医療機器総合機構. プラセボ対照試験に関する専門部会.
<http://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/subcomm-2nd/placebo/0004.html>
- 9) 厚生労働省. 先駆けパッケージ戦略～革新的医薬品等の実用化促進～.
http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iyakuhin/topics/tp140729-01.html

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

I 論文発表

1. Nishioka K, Oyama G, Yoshino H, Li Y, Matsushima T, Takeuchi C, Mochizuki Y, Mori-Yoshimura M, Murata M, Yamasita C, Nakamura N, Konishi Y, Ohi K, Ichikawa K, Terada T, Obi T, Funayama M, Saiki S, Hattori N. High frequency of beta-propeller protein-associated neurodegeneration(BPAN) among patients with intellectual disability and young-onset parkinsonism. Neurobiol Aging. 2015 Jan 30[Epub ahead of print]
2. Saitoh Y, Fujikake N, Okamoto Y, Popiel HA, Hatanaka Y, Ueyama M, Suzuki M, Gaumer S, Murata M, Wada K, Nagai Y. P62 Plays a Protective Role in the Autophagic Degradation of Polyglutamine Protein Oligomers in Polyglutamine Disease Model Flies. J Biol Chem. 2015;290:1442-1453
3. Mizuno Y, Nomoto M, Hasegawa K, Hattori N, Kondo T, Murata M, Takeuchi M, Takahashi M, Tomida T; on behalf of the

- Rotigotine Trial Group. Rotigotine vs ropinirole in advanced stage Parkinson's disease: A double-blind study. *Parkinsonism Relat Disord.* 2014;20(12):1388-1393.
4. Kashihara K, Kondo T, Mizuno Y, Kikuchi S, Kuno S, Hasegawa K, Hattori N, Mochizuki H, Mori H, Murata M, Nomoto M, Takahashi R, Takeda A, Tsuboi Y, Ugawa Y, Yamamoto M, Yokochi F, Yoshii F, Stebbins GT, Tilley BC, Luo S, Wang L, Lapelle NR, Goetz CG, MDS-UPDRS Japanese Validation Study Group. Official Japanese Version of the Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale: validation against the original English version. *Mov. Disord Clin Pract(Hoboken)*.2014; 1(3):200-212.
 5. 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.* 2014Oct.11;9:150
 6. Uruha A, Hayashi K.Y, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kanai M, Murata M, Kawamura M, Ogata K, Matsumura T, Suzuki S, Takahashi Y, Kondo T, Kawarabayashi T, Ishii Y, Kokubun N, Yokoi S, Yasuda R, Kira JI, Mitsuhashi S, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I. Necklace cytoplasmic bodies in hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014 Sep 24[Epub ahead of print]
 7. Mori-Yoshimura M, Oya Y, Yajima H, Yonemoto N, Kobayashi Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M. GNE myopathy: A prospective natural history study of disease progression. *Neuromuscul Disord.* 2014 ; 24(5) : 380-386.
 8. Nomoto M, Mizuno Y, Kondo T, Hasegawa K, Murata M, Takeuchi M, Ikeda J, Tomida T, Hattori N. Transdermal rotigotine in advanced Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Neurol.* 2014;261(10):1887-93.
 9. Araki M, Matsuoka T, Miyamoto K, Kusunoki S, Okamoto T, Murata M, Miyake S, Aranami T, Yamamura T. Efficacy of the anti-IL-6 receptor antibody tocilizumab in neuromyelitis optica: a pilot study. *Neurology.* 2014;82(15):1302-1306.
 10. Nakamura M, Matsuoka T, Chihara N, Miyake S, Sato W, Araki M, Okamoto T, Lin Y, Ogawa M, Murata M, Aranami T, Yamamura T. Differential effects of fingolimod on B-cell populations in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2014;20(10):137-80.
 11. Ishiura H, Takahashi Y, Hayashi T, Saito K, Furuya H, Watanabe M, Murata M, Suzuki M, Sugiura A, Sawai S, Shibuya K, Ueda N, Ichikawa Y, Kanazawa I, Goto J, Tsuji S. Molecular epidemiology and clinical spectrum of hereditary spastic paraplegia in the Japanese population based on comprehensive mutational analyses. *J Hum Genet.* 2014;59(3):163-172.
- II 学会発表
<国外>
1. Mukai Y, Furusawa Y, Sano T, Mitsuhashi K, Nishikawa A, Taminato T, Sakamoto T, Murata M. Long-term effect of the combination therapy of lidocaine injection and neck corset for drop head in Parkinson's disease. 4th Asian and Oceanian Parkinson's

Disease and Movement Disorders Congress
Pattaya, Thailand, November 28-30,2014

2. Furusawa Y, Isobe T, Komatsu K, Wakasugi N, Mizuno Y, Kanai M, Mukai Y, Sakamoto T, Murata M. Lidocaine therapy for lateral truncal deviation in Parkinson's disease. 4th Asian and Oceanian Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress Pattaya, Thailand, November 28-30,2014
3. Murata M. Management of autonomic dysfunction in parkinsonism 4th Asian and Oceanian Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress Pattaya, Thailand, November 28-30,201
4. Murata M, Murahashi Y, Shimazu R, Nakamura M. Zonisamide's effects in Parkinson's disease patients with tremor; a meta-analysis of three placebo-controlled studies. 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Stockholm, Sweden, June 8-12;2014

<国内>

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 に対するエクソン・スキップ医薬品の開発動向調査

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

研究要旨

エクソン 51 スキップによる DMD 治療薬に関しては、2'-OMe 製剤である drisapersen、及び PMO 製剤である eteplirsen の治験が進行中である。2014 年から 2015 年にかけて両剤ともに承認申請に向けた進捗があり、これらの動向は我々が開発中の NS-065/NCNP-01 にとっても参考となることから、左記の開発動向について調査した。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である。

A. 研究目的

エクソン 51 を対象とした DMD 治療薬の開発に関しては、オランダの Prosensa Therapeutics 社が 2006 年より 20-mer の 2'-OMe (PRO051, drisapersen)、米国の AVI BioPharma 社 (現 Sarepta therapeutics 社) が 2008 年より 30-mer の PMO (AVI-4658, eteplirsen) の臨床試験に着手している。本研究において開発中の NS-065/NCNP-01 は平成 23 年 (2011 年) に正式に開発を決定しているが、当時 drisapersen は第 3 相、eteplirsen は第 2b 相試験を実施中であった。我々が開発を進めるエクソン 53 スキップ薬 NS-065/NCNP-01 は対象エクソン

が異なるもの、その薬理作用、安全性等については先行する drisapersen, eteplirsen と極めて類似する点が多く、開発戦略をたてる上でこの 2 つの動向を把握することは、効率的な開発を進める上で重要である。このような観点から、本研究では海外を中心としたエクソン・スキップ治療薬の開発状況について、特に 2014 年から 2015 年にかけての動きを概観して報告する。

B. 研究方法

主に製薬企業による発表資料等、また海外で

の学術集会における意見交換等を中心に情報収集を行った。

C. 研究成果

1. Drisapersen の開発状況

Drisapersen は、EU、米国、オーストラリア、日本においてオーファンドラッグ指定を、また 2013 年 6 月には FDA より Breakthrough Therapy Designation を受けている¹⁾。皮下投与による長期投与と無作為化二重盲検比較を目的とした第 3 相試験 (DMD114044, DEMAND III) は 2010 年 12 月に開始され、結果は 2013 年 9 月に公表されたが primary endpoint である 48 週投与時点での 6 分間歩行テスト (6MWT) で有意な改善を示すことができなかった²⁾。この時点で延長投与されていた Drisapersen の投与は中止され、2014 年 1 月に GlaxoSmithKline (GSK) 社と Prosensa 社は開発に関する一切の権利を GSK 社から Prosensa 社に返還することに合意し、2009 年に開始した両者の共同開発が終了することを発表した³⁾。しかし DEMAND III に関しては、その後以下のようなサブグループ解析による有効性が確認された⁴⁾。

- 96 週延長投与試験の暫定解析結果では、プラセボ 48 週投与後に実薬 48 週を投与されたプラセボ／遅延投与群 (n=31) に対して、実薬を 96 週投与された継続投与群 (n=52) は、6MWT において 49m の歩行距離延長作用を認めた。
- 被験者の平均年齢は実薬群 8 歳、プラセボ群 8.3 歳であったところ、先行した第 2 相試験である DEMAND II ではそれぞれ 7.2 歳、6.9 歳と、先行試験よりも年齢が上昇していたことが明らかとなった。その結果 DEMAND III では DEMAND II と比較してより症状が進行しており、一例として 6 分間歩行

距離は実薬群 337m、プラセボ群 348m であったところ、DEMAND II ではそれぞれ 428m、403m であった。

- DEMAND III では 19 カ国、44 施設もの施設が参加し、その中には DMD の治験に初めて参加する医療機関も含まれており、評価手技の熟練度に差があったことが結果の不均一性をもたらした可能性も指摘されている。

以上のような DEMAND III に関する再評価に加え、プラセボ対照・用量比較試験である DMD114876 (DEMAND V) 試験の結果が 2014 年 3 月に公表された⁵⁾。本試験では 24 週の実薬またはプラセボ投与に引き続いて全例で 24 週の休薬を行うが、プラセボ群に比較して高用量投与群 (6 mg/kg) では、統計的有意差はないものの筋機能と 6 分間歩行距離の安定・改善が 24 週投与終了の時点で認められ、その後 24 週の経過観察期間にもこの改善は維持された。さらに 2014 年 4 月に公表されたオープンラベル延長投与試験 DMD114349 (DEMAND IV) では、より若年での投与開始、より長期間の投与が、臨床症状の進行抑制効果をもたらすことが示された⁶⁾。本試験では、実薬の継続投与群が、プラセボから途中で実薬に切り替えた遅延投与開始群と比較して 6MWT における延長効果を認めた。被験者の平均年齢は 8.8 歳、症状出現からの平均経過期間は 80 ヶ月、確定診断からの平均経過期間は 67.1 ヶ月であった。48 週間の延長投与の経過後 (先行試験からは 96 週経過後)、先行試験からの実薬継続投与群と延長試験からの実薬遅延投与群の間における 6MWT の差は 46.1m であった。またベースライン時の症状が軽い被験者は約 2 年間の投与により、症状はより緩徐に進行、あるいは改善する例が見られたという。特に 7 歳未満の被験者に限ると、6 分間歩行距離において、全期間を通じた実薬投与群はベースライン時よりも

8.4m の延長を認め、延長試験からの実薬遅延投与群は 28.7m 短縮し、その差は 37.1m となった。これらの結果を受け、2014 年 6 月に FDA は Prosensa 社にガイダンスレターを発出し、既存のデータに基づき、accelerated approval を前提した NDA が可能であることを明らかにした⁷⁾。この中で FDA は Prosensa 社に求める検証試験として、(i)ヒストリカル対照を用いたオープンラベル試験、(ii)エクソン 44 スキップによる治験薬 PRO044 またはエクソン 45 スキップによる治験薬 PRO045 のプラセボ対照比較試験を指定した。この趣旨として(i)及び(ii)に対して、それぞれ以下のような注釈が付されている。

- (i) ヒストリカル対照試験は迅速承認後の臨床的ベネフィットを確認するために有用である可能性がある。ただし、疾患の自然経過歴に基づく知見に照らして合理的に予測されるよりも、drisapersen 治療群における運動機能が明らかに上回っている程度に drisapersen の効果が大きい場合にのみ、ヒストリカル対照試験は解釈可能な有効性のエビデンスを提供できるものであることに留意されたい。
- (ii) もし承認が代理エンドポイントに基づく場合、他のエクソンを標的として同様の機序で作用するエクソン・スキップ医薬品についての無作為割付プラセボ対照試験において、ジストロフィン産生と 6 分間歩行などの臨床的有用性の関連を呈示できる場合、これらは drisapersen の臨床的有用性の確証となりうる。

Prosensa 社はこれに対し、250 名程度を組み入れるヒストリカル対照試験を開始することと、また 2013 年 9 月以降投与が中止された被験者に対し速やかに投与を再開したい意向を明らかにした。これを受けて 2014 年 9 月に、まず北米、カナダにおいて DEMAND V, DEMAND III に参加

していた被験者に対し、続いて欧州において DMD114673 (オープンラベル、延長投与試験)に参加していた被験者に対し drisapersen の投与を再開した⁸⁾。同年 10 月には FDA に対する NDA 手続きに着手し、段階的審査 (rolling review) が開始されることを明らかにした⁹⁾。ここでは accelerated approval regulatory pathway が念頭におかれており、具体的には代理エンドポイントまたは中間的な臨床的エンドポイントで承認された後に、市販後試験で臨床的有用性を証明する流れとなる。2014 年度末現在、FDA に対する NDA の完了は発表されていないが、2015 年内には完了するものと見られており、Prosensa 社は同年中には EMA に対し conditional approval を前提とした申請を開始する予定としている。なお Prosensa 社は 2014 年 11 月に BioMarin Pharmaceutical 社に買収された¹⁰⁾。BioMarin 社は酵素補充療法剤など希少疾患に対する医薬品開発に強みを有しており、drisapersen を始めとした核酸医薬品が同社のポートフォリオに適合するとの判断のもと、今回の決定に至ったものと推測される。

2. Eteplirsen の開発状況

2012 年に開始された第 2b 相試験 (201 試験) は、30 mg/kg/週 投与群 (4 例)、50 mg/kg/週 投与群 (4 例)、及びプラセボ投与群 (4 例) 間における 24 週間の無作為化二重盲検試験を実施し、その後 202 試験として、プラセボ群は 2 例ずつ、30 または 50 mg/kg/週投与群に移行し、全例がオープンラベルでの長期安全性・有効性観察試験として投与を継続するというデザインで実施された。201 試験は本稿執筆時においても進行中であるが、Sarepta 社はこれまでに 48 週時点の結果¹¹⁾に基づく NDA の可能性を 2013 年 11 月に FDA に打診した。しかし症例数の少なさ、代理エンドポイントとしてのジストロフィン定量方法についての不備、自然経過歴を踏まえた有効性解

積の困難さ等から、FDA はこの時期の NDA については時期尚早との判断を下している¹²⁾。このような経過を経て 2014 年 4 月に Sarepta 社は新薬承認申請を行うにあたっての条件について FAD と合意に至り、新たなガイダンスレターを受領した¹³⁾。具体的には次のような試験の追加を表明している。(i)ヒストリカルコントロールを用いたオープンラベルでの検証的試験、(ii)7～16 歳の歩行可能患者を対象とした試験、(iii)7 歳未満の患者、及び歩行不能など病状の進行した患者に対する安全性とバイオマーカーの探索試験。さらに FDA は、エクソン 51 以外の 53、45 などを標的とするその他のエクソン・スキップによる DMD 治療薬 (follow-on DMD drugs; 具体的には SRP-4045, SRP-4053) について二重盲検化プラセボ対照試験を実施した場合、それらの結果は eteplirsen の有効性を確認するための重要なデータとして考慮することも明らかにした。Sarepta 社はこれらに対応するための試験計画を作成し、その一つとして Eteplirsen について以下のような検証試験を開始した。

表. Eteplirsen の検証試験

| | |
|--------|---|
| 実施国 | アメリカ |
| 施設数 | 39 施設 |
| 開発相 | 第 3 相 |
| 治験デザイン | 試験の構成：並行群間比較 盲検化の水準：オープンラベル 被験者の割付：非ランダム化 |
| 対象者 | 歩行可能な DMD 患者 ベースライン時の歩行距離が 300 メートル以上の患者 実薬群：エクソン 51 スキップが適応となる DMD 患者 対照群：エクソン 51 スキップが適応とならない DMD 患者 |
| 用法・用量 | 実薬群：30 mg/kg を週 1 回 48 週間静脈内投与 対照群：投薬なし |
| 目標症例数 | 160 例 (実薬群 80 例, 対照群 80 例) |
| 主要評価項目 | 6 分間歩行距離 |
| 副次評価項目 | ジストロフィン陽性線維の |

| | |
|--------|---------------------------------|
| | 変化 最大吸気圧 (MIP) 及び最大呼気圧 (MEP) |
| 試験開始時期 | 2014 年 9 月 |
| 試験終了時期 | 2016 年 8 月 |
| 登録番号 | NCT02255552 |

上記試験が開始された直後の 2014 年 10 月に、Sarepta 社は追加のガイダンスレターを受領した¹⁴⁾。この内容は当初 2014 年内と予定していた新薬承認申請にはまだ不足するデータがあることから、FDA が追加試験の実施を求めるものであった。具体的には、ジストロフィン免疫染色画像の個別解析結果、202 試験における 168 週投与の臨床データ、新たに投与が開始された被験者の投与開始後の安全性データ、入手可能な個々の被験者レベルでの疾患自然歴及び MRI 画像などを含んでいた。特にジストロフィン免疫染色に対しては「2014 年 5 月に実施した 201/202 試験の実地査察の結果、免疫組織染色手法についての著しい不一致とデータの再現性に係る懸念が明らかとなった。信頼性のあるジストロフィン測定が査察において確認できなかったことから、NDA では 201/202 試験におけるジストロフィン陽性線維と 168 週投与の有効性データについて個別の考察が求められる」と述べており、代理エンドポイントとしてのジストロフィン定量方法について重視している姿勢が伺える。なお Sarepta 社は 5 月に実施された査察の結果を受けて、同年 8 月にデジタル病理画像解析を専門とする Flagship Biosciences 社と提携し、ジストロフィン画像解析の自動化・定量化に向けた技術開発を強化していくことを発表している¹⁵⁾。以上のように Sarepta 社の NDA については度重なる当局からの指摘を受け、周囲の予測よりは遅いペースで進捗しているものの、2014 年 11 月には上記の検証的試験における第 1 例への投与を開始したことを発表している¹⁶⁾。また継続投与が続いている 202 試験については 168 週のデータが公表された¹⁷⁾。144 週時点と比較すると全例で 6WMT における歩行距離が短縮したものの、継続投与群はプラセボ/遅延投与群に

対して+65.4m の歩行距離延長効果を維持し、また呼吸機能においても維持されているとしている。

3. エクソン 51 以外を標的とする治療薬の開発状況

現在本剤以外に Prosensa 社, Sarepta 社がいず

れもエクソン 53 スキップ薬の開発を進めている。Sarepta 社は欧州で開始した第 1/2 相試験において、2015 年 1 月に第 1 例目への投与を開始したことを発表しており¹⁸⁾、我々を含めた 3 社が同時に治験を進める状況となった。2 剤についての概要については以下のとおりである

表. エクソン 53 スキップ薬の開発状況

| 薬剤名 | PRO053 | SRP-4053 |
|--------|--|--|
| 企業 | Prosensa Therapeutics | Sarepta therapeutics |
| 実施国 | ベルギー, フランス, イタリア, オランダ, イギリス | フランス, イタリア, イギリス |
| 施設数 | 6 施設 | 4 施設 |
| 開発相 | 第 1/2 相 | 第 1/2 相 |
| 治験デザイン | 試験の構成: 並行群間比較 盲検化の水準: オープンラベル 被験者の割付: 非ランダム化 | 試験の構成: 並行群間比較 盲検化の水準: 二重盲検 被験者の割付: ランダム化 (Part 1), オープンラベル (Part 2) |
| 対象疾患 | 自立歩行可能な DMD 患者 (ベースライン時の歩行距離が 230 メートル以上の患者) | 6 分間歩行可能な DMD 患者 (ベースライン時の歩行距離の規定なし) |
| 用法・用量 | コホート 1 (1 及び 6mg/kg) コホート 2 (3 及び 9mg/kg) 3 例の患者に各コホートの用量を一週間の間隔で皮下, 及び静脈内単回投与する。患者 1 名につき 4 回投与する。 48 週間投与 コホート 1 で安全性に問題がなければ, 6mg/kg 皮下注で 48 週間投与する。3 例の患者を新たに追加し計 6 例とする。 コホート 2 で安全性に問題がなければ, 9mg/kg 皮下注で 48 週間投与する。 12 例の患者に 12 週間投与した結果に基づいて用量を選択し, 選択された用量で 30 例の患者を新たに追加する。12 例の患者も選択された用量に変更できる。 | Part 1: 8 例の患者に 4 用量の漸増投与を 12 週間かけて行う。4 例の患者には 12 週間プラセボを投与する。 Part 2: Part 1 の患者 12 例 (プラセボ含む) 及び新たな 12 例の患者に Part 1 で選択された用量で実薬を 48 週間投与し, エクソン 53 スキップが適応とならない患者 24 例 (自然歴対照群) を比較する |
| 目標症例数 | 42 例 | 48 例 |
| 主要評価項目 | 6 分間歩行距離 | 有害事象発現率, 6 分間歩行距離, ジストロフィン陽性線維の変化 |
| 試験開始時期 | 2013 年 6 月 | 2014 年 12 月 |
| 試験終了時期 | 2016 年 11 月 | 2016 年 12 月 |
| 登録番号 | NCT01957059 | NCT02310906 |

D. 考 察

2014年～2015年にかけては、エクソン・スキップ医薬品の開発において承認に向けた動きの具体化が目立つ時期であった。特に Drisapersen に関しては accelerated approval を前提としたスケジュールが当局より提示されたことで、早ければ2015年内の承認も視野に入りつつある。第3相試験で主要エンドポイントを達成できず、一時は今後の開発が危ぶまれた drisapersen であったが、詳細なサブグループ解析により改めて有効性が確認されたことは、DMDのような疾患に対してはプラセボ対照を用いて被験者数を増やすだけの試験デザインでは、正しい有効性を評価できない可能性を示唆している。組み入れ被験者の特性や、臨床機能評価を行う医療機関の診療レベルなどを考慮した緻密な試験計画が重要と考えられた。また eteplirsen については、2013年、2014年の2年に渡って新薬承認申請の見直しを求められており、その要因としては代理エンドポイントであるジストロフィン発現解析、及びDMD患者の自然経過歴を踏まえた被験者の評価という点について、さらに詳細な検討が求められていることにあると考えられた。特にヒストリカルコントロールを活用しようとする動きは、難治性・希少性疾患の薬剤開発における申請データパッケージにおいて、二重盲検ランダム化比較試験を原則とする従来のあり方が転換する可能性を示唆しており、今後この流れはさらに一般化していくことが予想される。またエクソン53スキップについても、本研究で開発を進める NS-065/NCNP-01 よりも先行する形で Prosensa 社、Sarepta 社の第1/2相試験が40名程度の被験者で開始されつつある状況を踏まえると、グローバル開発の視点から遅れをとることなく本剤の開発を進めていく必要があると考えられた。

E. 結 論

海外を中心に先行しているエクソン51ス

キップ医薬品の開発においては、2014年～2015年にかけて承認に向けたスケジュールが具体化した。先行薬の開発から得られる教訓としては、有効性を適切に評価するためにより緻密な試験デザインを構築することであり、エクソン53スキップ薬の開発においても先行薬の開発動向を注視し、今後の開発戦略立案に活用していくことが必要である。

参考文献

- (1) GlaxoSmithKline. GlaxoSmithKline's drisapersen (previously GSK2402968/PRO051) to receive Food and Drug Administration Breakthrough Therapy designation for potential treatment of patients with Duchenne Muscular Dystrophy. <http://www.gsk.com/en-gb/media/press-releases/2013/glaxosmithkline-s-drisapersen-previously-gsk2402968pro051-to-receive-food-and-drug-administration-breakthrough-therapy-designation/>
- (2) グラクソ・スミスクライン株式会社. GSKとProsensa社、デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者を対象にした drisapersen のフェーズIII臨床試験が主要評価項目を達成しなかったことを発表. http://glaxosmithkline.co.jp/press/press/2013_07/P1000809.html
- (3) Prosensa Therapeutics. Prosensa to Provide Corporate Update to Key Stakeholders (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=819012>
- (4) Prosensa Therapeutics. Prosensa Reports Initial Findings from the Further Clinical Data Analyses of Drisapersen for the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=819800>

- (5) Prosensa Therapeutics. Prosensa Announces 48-Week Data from a U.S. Phase II Placebo-Controlled Study of Drisapersen in 51 DMD Boys (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=833402>
- (6) Prosensa Therapeutics. Prosensa Provides Update on Drisapersen (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=844414>
- (7) Prosensa Therapeutics. Prosensa Announces Regulatory Path Forward for Drisapersen as a Potential Treatment for DMD (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=852049>
- (8) Prosensa Therapeutics. Prosensa announces commencement of re-dosing of drisapersen in North America in patients with Duchenne muscular dystrophy (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=871392>
- (9) Prosensa Therapeutics. Prosensa begins NDA submission to the FDA for exon-skipping drug drisapersen to treat Duchenne muscular dystrophy (NASDAQ:RNA). <http://ir.prosensa.eu/releasedetail.cfm?ReleaseID=875633>
- (10) Prosensa Therapeutics. BioMarin and Prosensa Holding N.V. Reach Agreement on Intended Public Offer for 100% of Prosensa's Outstanding Stock; Will Add Duchenne Muscular Dystrophy Products to Rare-Disease Portfolio. http://files.shareholder.com/downloads/AMDA-1XHW7X/4042687138x0x796317/D7E5B3B1-DEE8-44F9-A0EF-01D92700413B/Prosensa_PR_Final_11-24-14.pdf
- (11) Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z, et al. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2013;74:637-47
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23907995>
- (12) Sarepta Therapeutics. Sarepta Therapeutics Announces FDA Considers NDA Filing for Eteplirsen Premature in Light of Recent Competitive Drug Failure and Recent DMD Natural History Data. <http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=1875187>
- (13) Sarepta Therapeutics. Sarepta Therapeutics Announces Plans to Submit New Drug Application to FDA for Eteplirsen for the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy by Year End 2014. <http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=1920025>
- (14) Sarepta Therapeutics. Therapeutics Announces Regulatory Update on Eteplirsen. <http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=1981569>
- (15) Sarepta Therapeutics. Sarepta Enters into Partnership with Flagship Biosciences to Digitally Automate the Measurement of Dystrophin, a Key Therapeutic Efficacy Marker for Muscular Dystrophy. <http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=1960128>
- (16) Sarepta Therapeutics. Sarepta Therapeutics Announces First Patient Dosed in Confirmatory Study of Eteplirsen in Ambulant Patients with Duchenne Muscular Dystrophy. <http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=1990698>
- (17) Sarepta Therapeutics. Sarepta Therapeutics Reports Long-Term Outcomes through 168

Weeks from Phase IIb Study of Eteplirsen in Duchenne Muscular Dystrophy.

<http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=2006709>

- (18) Sarepta Therapeutics. Sarepta Therapeutics Announces First Patient Dosed in European Phase I/II Study of SRP-4053 in Duchenne Muscular Dystrophy Patients.

<http://investorrelations.sarepta.com/phoenix.zhtml?c=64231&p=irol-newsArticle&ID=2007537>

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Re DB, Le Verche V, Yu C, Amoroso MW, Politi KA, Phani S, Ikiz B, Hoffmann L, Koolen M, Nagata T, Papadimitriou D, NagyP, Mitsumoto H, Kariya S, Wichterle H, Henderson CE, Przedborski S. Necroptosis drives motor neuron death in models of both sporadic and familial ALS. *Neuron*. 2014;81(5):1001-1008.
2. Echigoya Y, Aoki Y, Miskew B, Panesar D, Touznic A, Nagata T, Tanihata J, Nakamura A, Nagaraju K, Yokota T. Long-term efficacy of systemic multiexon skipping targeting dystrophin exons 45-55 with a cocktail of vivo-morpholinos in mdx52 mice. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2015;4:e225.

2. 学会発表

1. Assessment of the Dystrophin Gene Exon 53 Skipping Using DMD Patient-Derived Fibroblasts for Exploratory Clinical Trial of Antisense Drug NS-065/NCNP-01. 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, American society of gene & cell therapy 17th Annual meeting, 5.21, 2014

2. 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 Ca²⁺ to the cytosol. Tanihata J, Nagata T, Saito T, Ito N, Aoki Y, Nakamura A, Takeda S, 9th International Congress of the World Muscle Society, 10.8, 2014
3. 永田哲也, 齊藤 崇, 清水玲子, 青木吉嗣, 小牧宏文, 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
4. 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Ca²⁺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

研究成果の刊行に関する一覧表

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|--------------------------------|----|-----------|------|
| 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 | 臨床神経学 | 54 | 1071-73 | 2014 |
| 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 | <i>BRAIN and NERVE</i> | 66 | 1396-1402 | 2014 |
| 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. | <i>Orphanet J Rare Dis.</i> | 9 | 150 | 2014 |
| Echigoya Y, Aoki Y, Miskew B, Panesar D, Touznic A, Nagata T, Tanihata J, Nakamura A, Nagaraju K, Yokota T. | Long-term efficacy of systemic multiexon skipping targeting dystrophin exons 45-55 with a cocktail of vivo-morpholinos in mdx52 mice. | <i>Mol Ther Nucleic Acids.</i> | 4 | e225 | 2015 |

< Symposium 14-2 > 今開かれる筋ジストロフィー治療の扉

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

武田 伸一¹⁾

要旨：重篤な遺伝性筋疾患であるデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）に対しては、アンチセンス・オリゴヌクレオチド（AON）をもちいたエクソン・スキップ治療の実用化が期待されている。われわれはこれまでモルフオリノ核酸をもちいて、マウスおよびイヌの DMD モデル、ならびに患者由来細胞における同手法の proof-of-concept study を報告してきた。これらの成果をもとに国内製薬企業との共同研究を進め、DMD 遺伝子のエクソン 53 スキップ治療薬の開発に着手し、2013 年より同薬の医師主導治験を開始するにいたった。また福山型先天性筋ジストロフィーへの応用、AON の取り込み機構などについても研究を進め、AON の応用可能性を探索する試みについても取り組んでいる。

（臨床神経 2014;54:1071-1073）

Key words：デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ジストロフィン、エクソン・スキップ、アンチセンス・オリゴヌクレオチド

はじめに

Duchenne 型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy; DMD）はジストロフィン遺伝子（DMD 遺伝子）の異常によりジストロフィンが欠損する X 連鎖性の遺伝性筋疾患であり、進行性の筋線維変性・壊死により致死的な経過を辿る。現状では原因療法が存在せず、遺伝子治療や幹細胞移植治療が検討されてきたが、現在もっとも実用化に近いとされているのがアンチセンス・オリゴヌクレオチド（AON）をもちいたエクソン・スキップ治療である。

筋ジストロフィーモデル動物における proof-of-concept study

DMD 遺伝子は 79 エクソンから成り、遺伝子変異がフレームシフトをきたすばあいはジストロフィンが欠損するが、インフレームのばあいは構造の一部を欠くものの機能するジストロフィンが発現する。これはジストロフィンが省略可能なくりかえし構造を有するためである。そのため表現型は一般的にフレームシフトで重症、インフレームで軽症となり、臨床的にはそれぞれが DMD および軽症型の Becker 型筋ジストロフィーに相当する。そのため mRNA をインフレームに誘導することが治療戦略となり、例としてエクソン 52 欠失に対しては、エクソン 53（または 51）も欠失させることでインフレームとなる（Fig. 1）。これを実現するのが AON によるスプライシングへの介入であり、標的エクソンの pre-mRNA にある exonic splicing enhancer 領域に相補的な AON の存在下では、標的エクソンは前後のイントロンとともに切り出される。AON は核内移行性とヌクレアーゼ耐性を獲得するための

修飾が施されており、われわれはおもに phosphorodiamidate morpholino oligomer（PMO）をもちいた検討をおこなってきた。とくにエクソン 51 スキップはもっとも多くの DMD 患者に適応となるが、われわれはエクソン 52 欠失モデルマウス *mdx52* をもちいることで、本手法の有効性を *in vivo* ではじめて示した¹⁾。また中型動物での有効性、および複数エクソンを標的とするマルチエクソン・スキップについて、エクソン 7 欠失モデルイヌ（*CXMD₇*）においてその有効性を報告するとともに²⁾³⁾、エクソン 7 欠失 DMD 患者細胞でもイヌモデルと同じ手法でジストロフィンの回復を示し、動物モデルで有効な AON を直接ヒトへ応用できる可能性を示した⁴⁾。さらにマルチエクソン・スキップの可能性を追求し、適応症例の拡大と治療効果の向上が期待できるエクソン 45-55 スキップの有効性についても報告している⁵⁾。

エクソン 53 スキップ治療薬の開発

以上のような状況を背景に本手法の臨床応用への期待が高まったことから、先行してエクソン 51 スキップを誘導する AON の治験が欧米を中心に開始された。しかし DMD 患者の変異形式は多様なため、最多となるエクソン 51 スキップ対象患者でも全体の 13% 程度であり、他の変異形式の患者に対しては別のエクソンを標的とする治療薬の開発が必要となる。そのためわれわれはエクソン 51 に次いで対象患者数が多いとされる、エクソン 53 を標的とした治療薬の開発に着手することとした。エクソン 53 スキップの対象患者は海外および日本国内で 8~9% と試算されており、また当時、国内外のアカデミアおよび製薬企業において同エクソンを対象とした治療薬の開発は着手されていない状況であった。国立精神・神経

¹⁾ 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 [〒187-8551 東京都小平市小川東町 4-1-1] (受付日：2014 年 5 月 23 日)

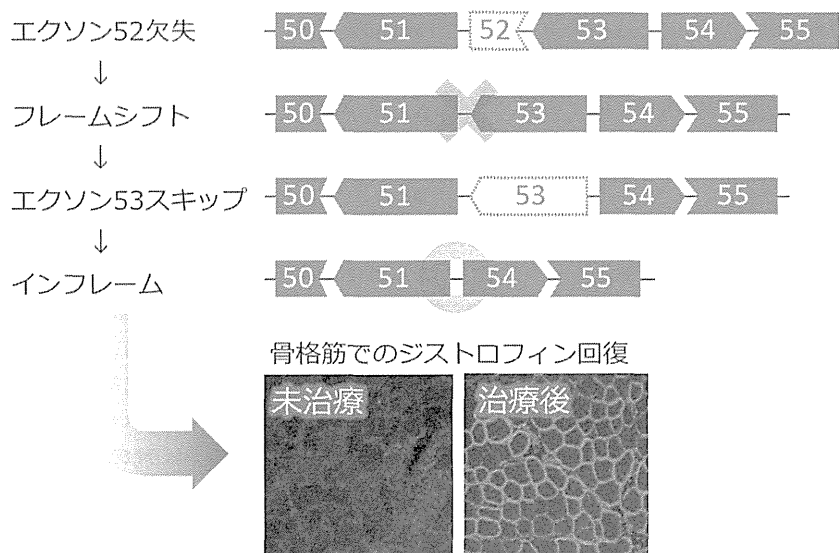


Fig. 1 DMD に対するエクソン 53 スキップの治療戦略.

エクソン 52 を欠失した DMD 遺伝子ではエクソン 51 とエクソン 53 が接続した mRNA が生成され、フレームシフトによりジストロフィンが発現しない。エクソン 53 を標的とするアンチセンス・オリゴヌクレオチドの存在下では、エクソン 53 が前後のイントロンとともに切りだされ（スキップされ）、エクソン 51 とエクソン 54 の接続によりインフレームに修正される。その結果構造の一部を欠くものの機能するジストロフィンが骨格筋に発現する。

医療研究センターは日本新薬株式会社と 2009 年よりエクソン・スキップに関する共同研究を開始しており、エクソン 53 スキップ治療薬の薬事承認に向けた開発について 2011 年に基本合意し、2013 年のファースト・イン・ヒューマン試験開始を目標とした。実際の開発過程においてはヒト細胞株をもちいて有効配列を探索後、患者細胞をもちいて当該配列によるエクソン 53 スキップとジストロフィン発現を確認した。並行して非臨床試験を実施し薬効・薬理、薬物動態、毒性について解析をおこない、医薬品医療機器総合機構との薬事戦略相談制度を活用して臨床試験プロトコルを確定させ、2013 年よりエクソン 53 スキップ治療薬 NS-065/NCNP-01 の早期探索的臨床試験を医師主導治験として開始した。

AON の応用可能性拡大に向けて

われわれは DMD 以外の遺伝性筋疾患に対しても AON の応用を可能とするための基盤的研究についても取り組んできており、その一例が福山型先天性筋ジストロフィー (Fukuyama congenital muscular dystrophy; FCMD) への応用である。FCMD の原因はフクチン遺伝子 (FKTN) への SVA (Sine-VNTR-Alu) 型レトロトランスポゾンの挿入変異であり、挿入された SVA レトロトランスポゾンは、最終エクソンに存在する潜在的スプライス供与部位を活性化させ、同配列内にあるスプライス受容部位との間でスプライシングを生じ、mRNA の末端部にはエクソン・トラッピングと呼ばれる SVA レトロトランスポゾン配列の付加が生じ異常フクチンが産生される。われわれ

と神戸大学戸田達史教授のグループは、マウスモデルおよび患者細胞において、潜在的スプライス供与部位および受容部位を標的とした AON を適用することで、SVA トランスポゾンの付加を抑制して正常フクチンの産生を誘導できたことを報告している⁶⁾。また DMD における PMO の筋線維への取り込み機構は、ジストロフィン欠損に起因する筋形質膜の透過性亢進に由来するとの仮説が提唱されていたが、このことは DMD 以外の筋疾患に PMO を応用する際、筋線維への取り込み効率を向上させるうえでの課題になると考えられていた。われわれは筋分化の過程にある幼弱な再生筋線維が PMO を取り込みやすいとの仮説を立て、カルジオトキシンによる同期的筋再生を誘導した正常マウスで検証したところ、ジストロフィン陽性であっても初期再生筋線維では効率的に PMO が取り込まれることをみいだした。そこで DMD 以外の遺伝性筋疾患への応用として、メロシン欠損型先天性筋ジストロフィーモデルマウスにエクソン・スキップを試みたところ、標的エクソンのスキップとメロシンの回復がみとめられ、筋再生が活発な病態に対し PMO をもちいた治療法が応用できる可能性が示唆された⁷⁾。

おわりに

本稿ではわれわれがおこなってきた DMD に対するエクソン・スキップ研究の進展について概説した。ジストロフィン遺伝子の発見以来 DMD に対する多くの治療法が提唱されてきたが、近年エクソン・スキップの臨床試験が多数開始され

るにいたり原因療法が現実のものとなってきた。長期的な有効性、安全性についてはこれからの評価を待つ必要があるものの今後の進展が期待される。

※本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業・組織や団体
受託研究・共同研究費：日本新薬株式会社

文 献

- 1) Aoki Y, Nakamura A, Yokota T, et al. In-frame dystrophin following exon 51-skipping improves muscle pathology and function in the exon 52-deficient mdx mouse. *Mol Ther* 2010;18:1995-2005.
- 2) Yokota T, Lu QL, Partridge T, et al. Efficacy of systemic morpholino exon-skipping in Duchenne dystrophy dogs. *Ann Neurol* 2009;65:667-676.
- 3) Yokota T, Nakamura A, Nagata T, et al. Extensive and prolonged restoration of dystrophin expression with vivo-morpholino-mediated multiple exon skipping in dystrophic dogs. *Nucleic Acid Ther* 2012;22:306-315.
- 4) Saito T, Nakamura A, Aoki Y, et al. Antisense PMO found in dystrophic dog model was effective in cells from exon 7-deleted DMD patient. *PLoS One* 2010;5:e12239.
- 5) Aoki Y, Yokota T, Nagata T, et al. Bodywide skipping of exons 45-55 in dystrophic mdx52 mice by systemic antisense delivery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:13763-13768.
- 6) Taniguchi-Ikeda M, Kobayashi K, Kanagawa M, et al. Pathogenic exon-trapping by SVA retrotransposon and rescue in Fukuyama muscular dystrophy. *Nature* 2011;478:127-131.
- 7) Aoki Y, Nagata T, Yokota T, et al. Highly efficient in vivo delivery of PMO into regenerating myotubes and rescue in laminin- α 2 chain-null congenital muscular dystrophy mice. *Hum Mol Genet* 2013;22:4914-4928.

Abstract

Exon Skipping Approach to Duchenne Muscular Dystrophy

Shin'ichi Takeda, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Translational Medical Center, National Center of Neurology and Psychiatry

Exon skipping therapy by antisense oligonucleotide is a promising approach to Duchenne muscular dystrophy (DMD). We have reported the proof-of-concept studies using morpholino on mice or dog DMD model and on patient derived cells. Based on these results, we had promoted collaborative research with a Japanese pharmaceutical company and encouraged development of DMD gene exon 53 skipping drug, then finally started an investigator-initiated clinical trial from 2013. Furthermore, we are addressing exploratory researches to expand the possibility of AON; such as, an application of AON to Fukuyama congenital muscular dystrophy, and an elucidation of AON uptake mechanism.

(*Clin Neurol* 2014;54:1071-1073)

Key words: Duchenne muscular dystrophy, dystrophin, exon skipping, antisense-oligonucleotides

連載 病態解明・新規治療を目指した

第3回

筋ジストロフィー：Remudy

木村 円^{1)*} 中村 治雅¹⁾ 西野 一三^{1,2)}

はじめに

「一日も早く」は、今年51年目を迎えた日本筋ジストロフィー協会会誌のタイトルであり、1日も早く難治性疾患で苦しむ患者・家族に、根治的な治療法を届けることは、難病医療に携わる者、すべての願いである。

筋ジストロフィーの治療研究は、近年の基礎医学研究の進歩により病態の解明とモデル動物を用いた治療研究がめざましく進展したことで、すみやかな臨床応用が期待されてきた。特に、開発中のエクソスキッピング薬、リードスルー薬などの遺伝子標的治療薬は病態の根本に対する治療法であり、その開発には大きな期待が集まっている。しかしながら、創薬のスキームに沿った開発を行うためには、その過程で円滑に実施されるべき臨床試験に多くの困難が想定されてきた。疾患の罹患患者数やその実態把握、臨床試験の対象となる患者数、試験参加者のリクルートなどの臨床試験の実行可能性の問題、また試験計画策定時の臨床試験デザイン、エンドポイント設定の問題など、多くの課題が挙げられている。

すなわち、目の前の患者に治療を届けるためには、希少な患者情報をできるだけ多く収集し、疫学、自然歴、介入によって改善することが予想される臨床的な指標、さらには診断や病態を反映し臨床試験のサロゲートマーカーとなり得るバイオマーカーの探索のために、臨床研究基盤を整備する必要があり、そのうえでグローバル臨床開発研究を推進することの重要性が議論されてきた。

国際共同による臨床研究基盤整備の流れ

2007年、TREAT-NMD (Translational Research in Europe - Assessment and Treatment of Neuromuscular Diseases, network of excellence for neuromuscular diseases) が構築され、欧州を中心に神経筋疾患の診断、患者のケア、新たな治療法の開発を目的に、患者および支援団体、医療者やヘルスケアに携わる職種、研究者、製薬企業そして規制当局が協調した活動を続けている。欧州連合 (European Union : EU) からの研究資金を受け、基礎研究から臨床開発研究の一連の流れの中でさまざまな活動を支援しているが、特徴的なのは、個々の研究のサポートではなく、治療薬開発や診療ケアの普及を含む神経・筋疾患克服のための大規模な臨床研究の基盤整備を推進する点にある。

米国国立衛生研究所 (National Institutes of Health : NIH) ほか、欧州以外 (アジア・オセアニアなど) の研究機関も加わり、世界的規模のネットワークとして発展し、2012年1月からは世界的な TREAT-NMD alliance として活動している。この重要なパートと位置づけられているのが臨床試験を前提とした国際的な患者登録データベースの構築である。これまでに存在していた各国や各地域もしくは小規模なネットワークで構築されていた患者登録データベースを、登録項目を統一して統合し、より大きな規模での TREAT-NMD Global Database の構築を提案した。

具体的にはデュシェンヌ型筋ジストロフィー

1) 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 (〒187-8502 東京都小平市小川東町4-1-1)

2) 同 研究センター神経研究所疾病研究第一部

*[連絡先] remudy@ncnp.go.jp

神経疾患の患者レジストリシステム

(DMD)/ベッカー型筋ジストロフィー (BMD) と脊髄性筋萎縮症 (SMA) の世界規模の患者登録をスタートし、2007 年以降、欧州や北米だけでなく日本を含めたアジア地域の各国にも、新たな患者登録データベース構築を促してきた。この仕組みは、原則として各国に存在する患者登録データベースの運営を基本とし、憲章 (Charter for TREAT-NMD patient database/registry) に則った運営、各国のデータベースの代表者の選出 (TREAT-NMD Global Database Oversight Committee: TGDOC) と代表者会議の開催、登録項目の統一 (tool kit)、各国のデータベース関係者を一同に集めたトレーニング (TREAT-NMD Curator's Training Course) の開催などを通じ、世界に浸透している。これらの情報は、医薬品開発に携わる研究者や製薬企業も利用することができ、既にいくつかの企業および研究者によって、臨床試験の計画や参加者のリクルートのために利用されている。

2014 年現在、DMD や SMA のみならず筋強直性ジストロフィー (DM)、先天性筋ジストロフィー (CMD)、先天性筋無力症候群 (CMS)、シャルコー・マリー・トゥース病 (CMT)、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD)、GNE ミオパチー (GNE/hIBM)、肢帯型筋ジストロフィー (LGMD)、脊髄性筋萎縮症 (SMA)、ミオチューブラー/中心核ミオパチー (MTM/CNM)、ジスファリノパチー (DYSF)、フクチン関連疾患 (FKRP; fukutin-related protein) などの神経筋疾患のレジストリが始まっており、今後さらに拡充されていく方向である。

日本におけるナショナルレジストリである Remudy (Registry of Muscular Dystrophy) は、TREAT-NMD のデータベース発足当初から、その一員として協調した活動を行ってきた。代表者会議、関係者を一同に集めたトレーニングへも、Remudy の研究組織から毎年参加し、国際協調に重要な役割を果たしている。

Remudy のなりたち

わが国の筋ジストロフィー研究は、厚生労働省精神・

神経疾患研究委託費 (現在は国立精神・神経医療研究センター研究開発費) のもと、50 年近くの歴史がある筋ジストロフィー研究班が中心となって世界的にも重要な研究が実施されてきた。その中では、これまでも国内における筋ジストロフィー患者データベースは存在していた。

1 つは、全国の筋ジストロフィー病棟を中心とした筋ジストロフィー患者入院施設でのカルテ記載法を統一化し、各施設での定期的な記載をもとに全国的なデータベースを構築し、病状の経過と治療効果の正確な判定を目指した研究である¹⁾。もう 1 つは筋ジストロフィー病棟入院中患者のデータベースを構築し、神経・筋疾患政策医療ネットワークの実態把握からの政策医療推進に必要な情報を提供、基本的病態 (心機能、呼吸機能など) と死亡のデータ収集により標準的治療やケアの確立に必要な情報を提供、共同研究推進のためのリサーチリソースを目指すデータベース研究である²⁾。さらに、筋ジストロフィー病棟を持つ施設における患者データベース³⁾、ジストロフィノパチー遺伝子診断実施施設における、日本人患者の遺伝子変異情報を収集したデータベース研究⁴⁾ も進められており、日本人におけるジストロフィノパチーを含む筋ジストロフィーにおける死亡年齢や死亡原因を含む実態、遺伝子変異情報などの貴重な情報を提供してきた。

このような、臨床試験実施が現実のものとなった状況を踏まえ、TREAT-NMD による世界で統一した登録項目を用い、専門家による正確な臨床情報と遺伝子変異情報の双方を兼ね備え、臨床試験実施を進めるための新たなナショナルレジストリ構築が求められた。これを受けて、2007 年 4 月より、筋ジストロフィーの臨床試験実施体制構築に関する臨床研究班 (川井班) において国内における新たな患者登録の構築が検討され、国立精神・神経センター (現・独立行政法人国立精神・神経医療研究センター) 倫理委員会の承認を得て、2009 年 8 月より国内におけるジストロフィノパチー (DMD/BMD) 患者登録が Remudy として開始された⁵⁾。

対象は、遺伝子変異が判明しているジストロフィノパ