

201409059A

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

医師主導治験による酵素製剤を利用したムコ多糖症II型の
中枢神経症状に対する新規治療法の開発

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 奥山 虎之

平成 27 (2015) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業
(国際水準臨床研究分野)

医師主導治験による酵素製剤を利用したムコ多糖症II型の
中枢神経症状に対する新規治療法の開発

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 奥山 虎之

平成 27 (2015) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

医師主導治験による酵素製剤を利用したムコ多糖症II型の中樞神経症状に対する新規治療法の開発	1
奥山 虎之 ((独)国立成育医療研究センター 臨床検査部)	

II. 分担研究報告

1. 医師主導治験の有効性と安全性評価(非臨床試験)	4
藤本 純一郎 ((独)国立成育医療研究センター)	
2. ムコ多糖症II型脳室内酵素補充療法医師主導治験プロトコールの作成	8
田中 あけみ (大阪市立大学大学院医学研究科)	
3. ムコ多糖症II型脳室内酵素補充療法医師主導治験プロトコールの作成 (主要評価項目の検討)	10
奥山 虎之 ((独)国立成育医療研究センター ライソゾーム病センター)	
4. 医師主導治験のプロトコール作成・実施の支援と開発アドバイス	13
中村 文秀 ((独)国立成育医療研究センター 臨床研究開発センター)	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

15

VI. 研究成果の刊行物・別刷り

20

総括研究報告

医師主導治験による酵素製剤を利用したムコ多糖症Ⅱ型の 中枢神経症状に対する新規治療法の開発

研究代表者 奥山 虎之 (独)国立成育医療研究センターライソゾーム病センター

研究要旨

本研究は、酵素製剤イデュルスルファーズβの脳室内投与によるムコ多糖症Ⅱ型の中
枢神経病変の進行抑制治療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的としている。
本年度は、前臨床試験としてサルを用いた安全性試験を実施するとともに、治験プロトコル
の検討を行った。薬事戦略相談を2014年9月に行い、主要評価項目を生化学的指標とする
ために達成すべき課題が明らかになった。また、真のエンドポイントともいえる発達試験による
評価の可能性を追求するために酵素製剤の静脈内投与を行っているムコ多糖症Ⅱ型患者の
発達試験の推移についての調査を開始した。

研究分担者

田中 あけみ (大阪市立大学大学院医学研究科)
藤本 純一郎 ((独)国立成育医療研究センター)
中村 秀文 ((独)国立成育医療研究センター)

A. 研究目的

本研究の目的は、酵素製剤イデュルスルファーズβ(以下、IDS-β、商品名ハンタラーゼ)の脳室
内投与によるムコ多糖症Ⅱ型の中枢神経病変の進行抑制治療法の有効性と安全性を医師主導治験に
より明らかにすることである。

ムコ多糖症Ⅱ型は、ライソゾーム酵素イデュルスルファーズの先天性欠損により全身性にムコ多
糖のデルマタン硫酸(以下、DS)とヘパラン硫酸(以下、HS)が蓄積するX連鎖劣性遺伝性疾患で、
大多数の患者は男性である。確認されている日本人患者は、150名程度であり、その70%の患者が、
重症型と呼ばれる中枢神経症状(精神運動発達遅滞、神経退行症状など)を呈する進行性の疾患で
ある。

2009年に酵素補充療法製剤イデュルスルファーズα(商品名エラプレース)が承認された。週1
回の静脈投与により、6分間歩行距離の延長、肝臓、脾臓サイズの縮小、関節可動域の拡大、呼吸機能
の改善などの全身症状の改善を認める。しかし、

高分子である酵素製剤が、血液脳関門(BBB)を
通過する可能性は低く、脳内に酵素を供給できな
いことから、中枢神経症状の進行抑制には効果が
期待できないと考えられている。

本研究では、(1)本治験に必要な十分な前臨床試
験を実施する、(2)本治験の主要評価項目を生化
学的な指標で行うために必要な課題を明らかにし
実行する、(3)発達試験による評価の可能性を探
るために酵素製剤の静脈内投与を行っているムコ多
糖症Ⅱ型患者の発達試験の推移について検討する、
の3項目について検討した。

B. 研究方法

1. サルを用いた IDS-β 側脳室内投与時の安全性評価

薬事戦略相談で、医師主導治験に必要な前臨
床試験について PMDA との合意を得た後、側
脳室内投与によるサル単回投与薬物動態試験
(信頼性基準)及び反復投与毒性試験(医薬品
GLP)を開始した。単回投与薬物動態試験では、
IDS-β をサルの側脳室内に単回投与した後、脳

脊髄液（以下、CSF）及び血清中 IDS- β 濃度を経時的に測定する。反復投与毒性試験では、安全性薬理試験コアバッテリー（中枢神経系、呼吸器系及び心血管系）の評価を含む、月 1 回側脳室内投与、6 ヶ月毒性試験及び 4 週間回復試験として実施する。IDS- β をサルの前脳室内に 4 週間間隔で 7 回投与したときの毒性変化を調べるとともに、認められた所見の可逆性を検討するため、4 週間の回復試験を行う。

これらの試験は、株式会社新日本科学への委託により実施する。

2. 本試験の主要評価項目を生化学的な指標で行うための課題

薬事戦略相談において「CSF 中のグリコサミノグリカン（以下、GAG）および HS を主要評価項目とするためには、この指標がムコ多糖症 II 型の中枢神経症状と関連することを明らかにすることが前提となる」という PMDA の見解を得たので、モデルマウスを用いての検討を開始した。

その過程で、マウス 1 個体から得られる髄液量は 2-3 μ L 微量であることから、GAG や HS の微量測定系が必要であることが判明し、本年度はタンデム質量分析計（LCM/MS）を用いた測定系の開発を重点的に行った。

3. 酵素製剤の静脈内投与を行っているムコ多糖症 II 型患者の発達評価

酵素補充療法中のムコ多糖症 II 型重症型患者 24 例の DQ を経時的に調べ、退行が始まる時期を求めた。ムコ多糖症 II 型重症型患者は、ミスセンス変異を持つ群（タイプ C、11 例）とヌル変異を持つ群（タイプ D、13 例）とに分け、分析した。

(倫理面への配慮)

ムコ多糖症 II 型患者の発達評価は、酵素の静脈内投与による中枢神経への効果に関する研究におい

て学研究的指針に準拠して実施した。また、前臨床試験では、サルを用いた脳室内投与実験を JLP 基準に準拠指定実施し、委託先である新日本科学の動物実験に関する規定に従い行われた。

C. 研究結果

1. サルを用いた IDS- β 側脳室内投与時の安全性評価：

薬事戦略相談において、計画中の側脳室内投与によるサル単回投与薬物動態試験及び反復投与毒性試験は、実施済みの静脈内投与試験に加えて実施する前臨床試験として「受入れ可能と考える」との回答を得た。また、提示した反復投与毒性試験の試験デザイン（4 週間間隔で 7 回投与の投与デザイン、最高投与量設定の妥当性、抗薬物抗体測定の必要性、脳室内単独投与の妥当性など）についても、「現時点で大きな問題はないと考える」との回答を得た。これらの回答を得て本年度は単回投与薬物動態試験と反復投与毒性試験を開始した。

2. タンデム質量分析計（LCM/MS）を用いた測定系の開発

メタノリシス処理した CFS 内の GAG をウロン酸-N-アセチルヘキソサミン二量体に分解し HS と DS から分解された特定の二量体を LC により分離し、それぞれの反応モニタリングと内部標準を用いてエレクトロスプレーイオン化 MS/MS によって定量した。標準品を測定し検量線の作成を行ったところ、HS 及び DS ともに 0.2-12.0 μ g/mL の範囲で良好な直線性が得られた、0.2 μ g/mL におけるピーク高さが十分あることにより定量可能と判断した。

3. 酵素製剤の静脈内投与を行っているムコ多糖症 II 型患者の発達評価

タイプ C 群では、40 ヶ月齢までは遅れはあるものの知的発達を遂げ、その後横ばいとなり、80 ヶ月齢より退行が始まった。タイプ D 群でも、40 ヶ月齢までは知的発達があるものの、その後わずかな横ばい期間ののち急激に退行した。さらに、発

達が止まる時期および退行が始まる時期は、酵素補充療法開始時期とは関係なく、早期治療を行っていても同じであった。

D. 考察

ムコ多糖症Ⅱ型酵素製剤が承認され約6年になる。全身症状の改善により、患者とその家族の生活の質(QOL)は著しく改善したが、この治療法は、中枢神経症状には効果がないことが予想されていた。今回の検討で、実際に酵素補充療法を受けている患者のDQ/IQテストにより、これは実証された。しかし、DQ/IQテストを主要評価項目として本治験を実施することは問題がある。発達試験で統計学的に有意な結論を見出すためには相当数の患者を対象とした長期間の臨床試験が必要となり、有効な治療法を求める患者家族にとっては大きな負担となるからである。本治験の主要評価項目が脳脊髄液のGAG/HS濃度のような生化学指標で可能となれば、今後の希少疾患の臨床開発の推進につながるものと考えられる。

E. 結論

ムコ多糖症Ⅱ型の中枢神経病変の進行抑制治療法の一つとして、酵素製剤イデュルスルファーズβ(商品名ハンタラーゼ)の脳室内投与を医師主導治験として進めることの準備が進行した。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

各分担研究報告書に記載

H. 知的所有権の取得状況(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。

分 担 研 究 報 告

医師主導治験の有効性と安全性評価（非臨床試験）

研究分担者 藤本 純一郎

国立成育医療研究センター

研究要旨

本研究は、酵素製剤イデュルスルファーズβの脳室内投与によるムコ多糖症Ⅱ型の中
枢神経病変の進行抑制治療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的としている。

本年度は、医師主導治験に必要な前臨床試験について PMDA との薬事戦略相談で合
意を得た後、側脳室内投与によるサル単回投与薬物動態試験（信頼性基準）及び反復投
与毒性試験（医薬品 GLP）を開始し、これらの試験におけるサル脳脊髄液及び血清中
イデュルスルファーズβ濃度測定に用いる分析法バリデーションについても実施した。
また、治験での用法用量及び評価パラメータの検討のため、ムコ多糖症Ⅱ型モデルマ
ウスを用いた脳室内投与による薬効試験（信頼性基準）を開始した。

A. 研究目的

本研究は、酵素製剤イデュルスルファーズβ（以
下、IDS-β、商品名：ハンタラーゼ）の脳室内投与
によるムコ多糖症Ⅱ型の中枢神経病変の進行抑制
治療法の有効性と安全性を明らかにすることを最
終到達目標としている。本分担研究では、医師主導
治験に必要な前臨床試験を立案し実行する。

IDS-βの静脈内投与による前臨床試験は、すでに
韓国での静注用製剤の承認申請において実施され
ていることから、本研究では追加で、側脳室内投
与によるサル単回投与薬物動態試験及び反復投与
毒性試験を実施する。また、治験での用法用量及
び評価パラメータの検討のため、MPSⅡ型モデル
マウスを用いた脳室内投与による薬効試験を実施
する。

これらの前臨床試験は、国内開発予定企業であ
るアンジェス MG 株式会社により、試験施設への
委託試験として実施する。

B. 研究方法

1. 薬事戦略相談での前臨床試験計画の確認：

国内開発予定企業であるアンジェス MG 株式会
社と連携し、9月に PMDA と薬事戦略相談を行っ
た。この相談では、医師主導治験計画に関する相
談と合わせて、治験前に追加実施を予定している

前臨床試験の充足性及び反復投与毒性試験の試験
デザインについて相談した。また、医師主導治験
で使用する脳室内投与用製剤において設定予定の
原薬及び製剤の規格、試験法（暫定）の充足性に
についても助言を依頼した。

2. サルを用いた IDS-β 側脳室内投与時の安全性評価：

前述の薬事戦略相談で、医師主導治験に必要な
前臨床試験について PMDA との合意を得た後、側
脳室内投与によるサル単回投与薬物動態試験（信
頼性基準）及び反復投与毒性試験（医薬品 GLP）
を開始した。

これらの試験は、株式会社新日本科学への委託
により実施する。

① 単回投与薬物動態試験

IDS-βをサルの側脳室内に単回投与した後、
CSF 及び血清中 IDS-β濃度を経時的に測定
する。

② 反復投与毒性試験

安全性薬理試験コアバッテリー（中枢神経
系、呼吸器系及び心血管系）の評価を含む、
月1回側脳室内投与、6ヵ月毒性試験及び
4週間回復試験として実施する。IDS-βを
サルの側脳室内に4週間間隔で7回投与し

たときの毒性変化を調べるとともに、認められた所見の可逆性を検討するため、4週間の回復試験を行う。

3. サルCSF及び血清中IDS-β濃度測定法の分析法バリデーションの実施：

サルの側脳室内にIDS-βを投与した後の脳脊髄液(以下、CSF)及び血清中のIDS-β濃度推移を評価するため、ELISA(Enzyme-linked immuno-sorbent assay)法による分析法の技術移管、分析法バリデーション、採取サンプルの凍結保存時の保存安定性試験を実施する。

これらの試験は、株式会社 LSI メディエンス(旧：三菱化学メディエンス株式会社)への委託により実施する。

4. IDS-βの脳室内投与用製剤の製造：

サルを用いた前臨床試験で使用するIDS-βの脳室内投与用製剤の製造を製造元である韓国 Green Cross 社に委託、製剤の保存安定性データの取得を依頼した。

5. MPS II型モデルマウスを用いたIDS-βの単回脳室内投与時の薬理作用の検討：

治験での用法用量及び評価パラメータの検討のため、イズロン酸-2-スルファターゼの遺伝子をノックアウトしたマウス(以下、IKO マウス)を用いた脳室内投与による薬効試験(信頼性基準)を開始する。この試験では、IKO マウスの脳室内にIDS-βを単回投与した後、経時的(投与から7, 14, 28日後)に脳組織中のグリコサミノグリカン(以下、GAG)濃度及びIDS-β活性、CSFのGAGの構成成分であるヘパラン硫酸/デルマタン硫酸(以下、HS/DS)の濃度を測定し、脳組織中GAG濃度及びIDS-β活性の変化との関連性を検証する。

動物実験(脳組織中GAG濃度及びIDS-β活性の測定を含む)は韓国のSamsung Medical Center、CSF中HS/DS濃度測定は株式会社東レリサーチセンターへの委託により実施する。

C. 研究結果

1. 薬事戦略相談での前臨床試験計画の確認：

相談の結果、計画中の側脳室内投与によるサル単回投与薬物動態試験及び反復投与毒性試験は、実施済みの静脈内投与試験に加えて実施する前臨床試験として「受入れ可能と考える」との回答を得た。また、提示した反復投与毒性試験の試験デザイン(4週間間隔で7回投与の投与デザイン、最高投与量設定の妥当性、抗薬物抗体測定の必要性、脳室内単独投与の妥当性など)についても、「現時点で大きな問題はないと考える」との回答を得た。

使用予定の脳室内投与用製剤に関しては、本製剤の不純物や外来性感染性因子に係る安全性の確保、並びに治験薬の原薬及び製剤の規格について、「現時点で大きな問題はなく、本製剤で治験を開始することは受入れ可能」と考えるとの回答を得た。

2. サルを用いたIDS-β側脳室内投与時の安全性評価：

① 単回投与薬物動態試験

脳室内投与用の留置針及びCSF採取用の大槽内カテーテルの留置手術を実施中であり、投与開始は2016年3月、試験終了は7月の予定。

② 反復投与毒性試験

脳室内投与用の留置針手術を2015年1月に行い、投与を2月から開始した。最終投与は8月、試験終了は2016年1月予定。

3. サルCSF及び血清中IDS-β濃度測定法の分析法バリデーションの実施：

サルCSF及び血清中IDS-β濃度測定法の分析法バリデーションを完了し、準備が整った。現在、採取サンプルの凍結保存時の保存安定性試験を実施中。

4. IDS-βの脳室内投与用製剤の製造：

製造元である韓国 Green Cross 社にて、高濃度(約50 mg/mL)に調整されたIDS-βの脳室内投与

用製剤が製造され、前臨床試験用として供給された。現在、24 箇月までの予備的な保存安定性試験が継続中であり、6 箇月までの安定性が確認されている。

5. MPS II型モデルマウスを用いた IDS-β の単回脳室内投与時の薬理作用の検討：

脳室内投与による薬効試験では、初回投与群の IDS-KO マウスの繁殖が完了し、IDS-β の脳室内投与を開始した。マウス CSF 中 HS/DS 濃度測定に用いる LC-MS/MS 法については、国立成育医療研究センターで確立された分析条件を基にして測定法の技術移管の準備を行っている。

D. 考察

本研究は、酵素製剤 IDS-β の脳室内投与による MPS II 型の中樞神経病変の進行抑制治療法の有効性と安全性を明らかにすることを目的としている。

本年度は、医師主導治験に必要な前臨床試験を本格的に開始した。IDS-β の脳室内投与時の安全性評価のために実施する前臨床試験として、サル単回投与薬物動態試験及び反復投与毒性試験を立案し、PMDA との薬事戦略相談で合意を得て、試験を開始した。また、治験での用法用量及び評価パラメータの検討のため、IKO マウスを用いた脳室内投与による薬効試験を開始した。これらの試験が計画通りに進んだ場合、遅くとも 2016 年 1 月には治験開始に必要なすべての前臨床試験成績が揃う予定である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kiyokawa N, Iijima A, Tomita O, Miharuru M, Hasegawa D, Kobayashi K, Okita H, Kajiwara M, Shimada H, Inukai T, Makimoto A, Fukushima T, Nanmoku T, Koh K, Manabe A, Ikuchi A, Sugita

K, Fujimoto J, Hayashi Y and Ohara A. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Leuk Res. 38:42-8, 2014.

- 2) Enosawa S; Horikawa R; Yamamoto A, Sakamoto S, Shigeta T, Nosaka S, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura K, Umezawa A, Matsubara Y, Matsui A and Kasahara M. Hepatocyte transplantation using the living donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: a novel source for hepatocytes. Liver Transpl. 20:391–393, 2014.
- 3) Tsurusawa M, Mori T, Kikuchi A, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, Takimoto T, Saito A, Watanabe T, Fujimoto J, Nakazawa A, Ohshima K, and Horibe K; for the lymphoma committee of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. Improved treatment results of children with B-cell non-Hodgkin lymphoma: A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group B-NHL03 study. Pediatr Blood Cancer. 61:1215–1221, 2014.
- 4) Suemizu H, Nakamura K, Kawai K, Higuchi Y, Kasahara M, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura M. Hepatocytes buried in the cirrhotic livers of patients with biliary atresia proliferate and function in the livers of uPA-NOG mice. Liver Transpl. 20:1127–1137, 2014.
- 5) Matsuo H, Kajihara M, Tomizawa D, Watanabe T, Saito AM, Fujimoto J, Horibe K, Kodama K, Tokumasu M, Itoh H, Nakayama H, Kinoshita A, Taga T, Tawa A, Taki T, Tanaka S, Adachi S. Prognostic implications of CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia: A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. Blood Cancer J., 4:e226, 2014.
- 6) Matsuo H, Kajihara M, Tomizawa D, Watanabe T, Moriya Saito A, Fujimoto J, Horibe K, Kodama K, Tokumasu M, Itoh H, Nakayama H, Kinoshita A,

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(国際水準臨床研究分野))
分担研究報告書

Taga T, Tawa A, Taki T, Shiba N, Ohki K, Hayashi Y, Yamashita Y, Shimada A, Tanaka S, Adachi S. EVI1 overexpression is a poor prognostic factor in pediatric patients with mixed lineage leukemia-AF9 rearranged acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 99:e225-7, 2014.

- 7) Yang L, Takimoto T, Fujimoto J. Prognostic model for predicting overall survival in children and adolescents with rhabdomyosarcoma. *BMC Cancer*. 14:654-60, 2014.
- 8) Nishimura T, Kawamura T, Sugihara Y, Bando Y, Sakamoto S, Nomura M, Ikeda N, Ohira T, Fujimoto J, Tojo H, Hamakubo T, Kodama T, Andersson R, Fehniger TE, Kato H, Marko-Varga G. Clinical initiatives linking Japanese and Swedish healthcare resources on cancer studies utilizing Biobank Repositories. *Clin Transl Med*. 3:38-42, 2014.
- 9) Tsurusawa M, Gosho M, Mori T, Mitsui T,

Sunami S, Kobayashi R, Fukano R, Tanaka F, Fujita N, Inada H, Koh K, Takimoto T, Saito A, Fujimoto J, Nakazawa A, Horibe K. Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer*.in press.

2. 学会発表

なし。

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。

ムコ多糖症Ⅱ型脳室内酵素補充療法医師主導治験プロトコールの作成

研究分担者 田中あけみ 大阪市立大学大学院医学研究科

研究要旨

ムコ多糖症Ⅱ型重症型に対する脳室内酵素補充療法の医師主導治験プロトコール作成に当たり、治験参加患者の選択基準を静脈内酵素時補充療法患者の知的障害の経過を調べることにより検討した。結果、酵素時補充療法導入開始時期にかかわらず、患者は40か月齢より発達が停止した。このことから、40か月齢以前より脳室内投与を始めることが望ましいと推測された。

A. 研究目的

本邦においてムコ多糖症Ⅱ型はムコ多糖症全体の約6割を占めており、その7割が知的障害を伴う重症型である。2007年にムコ多糖症Ⅱ型に対する酵素補充療法が承認され治療が行われてきたが、脳合併症に対する効果は認められていない。経静脈投与では酵素製剤は脳組織には到達しないことが明らかであることから、米国では酵素製剤の髄液内投与の第Ⅲ相試験がすでに始められようとしている。この試験においては、髄腔内投与のためのデバイスに問題が起きていることから、我々はすでにある脳室内投与のデバイス（オンマイヤーリザーバー）を用いて医師主導型治験を計画した。

本治療は、脳障害が不可逆的状态に進行していない病初期の患者において効果が期待できる。本治験の参加基準および除外基準を定めるために、酵素補充療法中の患者の知的障害の進行経過を分析した。

B. 研究方法

酵素補充療法中のムコ多糖症Ⅱ型重症型患者24例のDQを継続的に調べ、退行が始まる時期を求めた。

ムコ多糖症Ⅱ型重症型患者は、ミスセンス変異を持つ群（タイプC、11例）とヌル変異を持つ群（タイプD、13例）とに分け、分析した。

(倫理面への配慮)

すでに存在する臨床記録を収集するものであり、

新しく検査を施行しない。個人を特定するものではない。

C. 研究結果

タイプC群では、40か月齢までは遅れはあるものの知的発達を遂げ、その後横ばいとなり、80か月齢より退行が始まった。タイプD群でも、40か月齢までは知的発達があるものの、その後わずかな横ばい期間ののち急激に退行した。さらに、発達が止まる時期および退行が始まる時期は、酵素補充療法開始時期とは関係なく、早期治療を行っていても同じであった。

D. 考察

この結果から、発達が止まる時期および退行が始まる時期を脳室内酵素補充療法により遅らせることができるかどうか効果が効果判定のポイントとなると考察された。

E. 結論

以上の結果より、臨床治験参加の候補患者は、ムコ多糖症Ⅱ型重症型タイプCおよびタイプD患者で、発達の停止が起こる以前の40か月齢未満に（できれば3歳までに）治験薬投与の開始ができる患者が1番目の候補と結論された。2番目の候補としては、タイプC患者で退行が始まる80か月齢の6か月以上前に治験薬投与の開始ができる患者が挙げられる。

F. 健康危険情報

カルテ情報の収集と分析のみであり該当しない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yew Sing Choy, Kaustuv Bhattacharya, Shanti Balasubramaniam, Michael Fietz, Antony Fu, Anita Inwood, Dong-Kyu Jin, Ok-Hwa Kim, Motomichi Kosuga, Young Hee Kwun, Hsiang Yu Lin, Shuan-Pei Lin, Nancy J Mendelsohn, Torayuki Okuyama, Hasri Samion, Adeline Tan, Akemi Tanaka, Verasak Thamkunanon, Meow-Keong Thong, Teck-Hock Toh, Albert D Yang, Identifying the need for a multidisciplinary approach for early recognition of mucopolysaccharidosis VI (MPS VI). Mol Genet Metab in press.
- 2) Yamamoto H, Tachibana D, Tajima G, Shigematsu Y, Hamasaki T, Tanaka A, Koyama M. Succesful management of pregnancy with very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. J Obst Gynaec Res, in press.
- 3) Tomatsu S, Luis A. Barrera, Carlos J. Alméciga-Díaz, Adriana M. Montañó, Hiromasa Yabe, Akemi Tanaka, Vu Chi Dung, Roberto Giugliani, Francyne Kubaski, Robert W. Mason, Eriko Yasuda, Kazuki Sawamoto, William Mackenzie, Yasuyuki Suzuki, Kenji E. Orii, William S. Sly, Tadao Orii, Review: Therapies for the bone in mucopolysaccharidoses. Mol Genet Metab, 114, 94-109, 2015.
- 4) Tanjuakio J, Suzuki Y, Patel P, Yasuda E, Kubaski F, Tanaka A, Yabe H, Masaon RW, Montano AM, Orii KE, Orii KO, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation. Mol Genet Metab, 114, 161-169, 2015.

- 5) Pravin Patel, Yasuyuki Suzuki, Akemi Tanaka, Hiromasa Yabe, Shunichi Kato, Tsutomu Shimada, Robert W. Mason, Kenji E. Orii, Toshiyuki Fukao, Tadao Orii, Shunji Tomatsu, Impact of Enzyme Replacement Therapy and Hematopoietic Stem Cell Therapy on Growth in Patients with Hunter Syndrome. Mol Genet Metab Reports 1: 184-196, 2014.
- 6) Kaustuv Bhattacharya, Shanti Balasubramaniam, Yew Sing Choy, Michael Fietz, Antony Fu, Dong Kyu Jin, Ok-Hwa Kim, Motomichi Kosuga, Young Hee Kwun, Anita Inwood, Hsiang-Yu Lin, Jim McGill, Nancy J Mendelsohn, Torayuki Okuyama, Hasri Samion, Adeline Tan, Akemi Tanaka, Verasak Thamkunanon, Teck-Hock Toh, Albert D Yang Shuan-Pei Lin, Overcoming the barriers to diagnosis of Morquio A syndrome. Orphanet J Rare Dis, 9, 192-202, 2014.
- 7) 田中あけみ。ライソゾーム病マススクリーニングのための検査体制のあり方。日本マス・スクリーニング学会誌 24: 15-18, 2014

2. 学会発表

- 1) Tanaka A, Hamazaki T, Okuyama T, et al. Genotype of mucopolysaccharidosisi type II severe form and the efficacy of enzyme replacement therapy or hematopoietic stem cell transplantation on cognitive function. 11th Annual Symposium of Lysosomal Disease Network, Feb. 9-12, 2015 (Orlando, U.S.A.)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

4. 特許取得
なし。
5. 実用新案登録
なし。
6. その他
なし。

ムコ多糖症 II 型脳室内酵素補充療法医師主導治験プロトコルの作成 (主要評価項目の検討)

研究分担者 奥山虎之(独)国立成育医療研究センターライソゾーム病センター長

研究要旨

本研究の目的は、酵素製剤の脳室内投与により神経学的退行が予防可能であることを医師主導治験で明らかにすることである。本治験の主要評価項目を脳脊髄液中のグリコサミノグリカン (GAG)、特にヘパラン硫酸 (HS) 濃度の減少とすることの妥当性を証明するために、タンデム質量分析計 (LC/MSMS) を用いた GAG/HS 微量測定系の開発を試みた。その結果、微量 (1 μ L 相当) の検体で、0.2-12.0 μ g/ml の濃度範囲で HS の測定が可能であることが示された。類似の酵素製剤の脳室内投与を受けたマウスにおいて、マウス学習試験の改善と脳実質の GAG 含量の低下が観察されている。脳脊髄液中の GAG 濃度と脳内の GAG 含有量との相関を示した成績が得られれば、本治験の主要評価項目を脳脊髄液中のグリコサミノグリカン (GAG)、特にヘパラン硫酸 (HS) 濃度の減少とすることの妥当性が示されることになる。然るに、マウスの脳脊髄液は 1 個体から 2-3 μ L しか採取できないので、LC/MSMS を用いた GAG/HS の微量測定系は本研究の推進に必須の技術である。

研究協力者

小須賀 基通 ((独) 国立成育医療研究センター 臨床検査部 高度先進検査室長)

徐 朱玟 ((独) 国立成育医療研究センター 臨床検査部)

田中 美砂 ((独) 国立成育医療研究センター 臨床検査部)

坂井 英里 ((独) 国立成育医療研究センター 臨床検査部)

A. 研究目的

酵素製剤イデュルスルファーズ β (以下、IDS- β 、商品名ハンタラーゼ) の脳室内投与によるムコ多糖症 II 型の中枢神経病変の進行抑制治療法の有効性と安全性を医師主導治験により明らかにすることが最終到達目標である。しかし、ムコ多糖症 II 型は希少疾患で症状も多彩であることから、発達試験などで中枢神経症状の発症予防を科学的に証明することは極めて困難である。そこで、本治験の主要評価項目を生化学的指標とすることの妥当性について、PMDA と協議した。その結果、「脳脊髄液のグリコサミノグリカン

(以下、GAG) およびヘパラン硫酸 (以下、HS) の推移と神経学的退行の進行との間の相関を示すことができれば、脳脊髄液中の GAG および HS 濃度の変化を主要評価項目とすることも可能である」という PMDA の見解が示された。

我々は上記について、疾患モデルマウスを用いた検討を行うこととしたが、マウス 1 個体から得られる脳脊髄液は 2-3 μ L であり、GAG/HS の微量測定系の開発が必要となったことから、タンデム質量分析計 (LC/MSMS) を用いた GAG/HS 微量測定系の開発を目的とした。

B. 研究方法

脳脊髄液試料を蒸発乾固しメタノリシス試薬にてメタノリシス処理を行い、脳脊髄液内の GAG をuron酸-N-アセチルヘキソサミン二量体に分解した。内部標準として、GAG 標準の d4 体 (重水素化メタノリシス) を混合した。HS とデルマタン硫酸 (以下、DS) から分解された特定の二量体を LC により分離し、それぞれの反応モニタリングと内部標準を用いてエレクトロスプレーイオン化 MS/MS によって定量した。

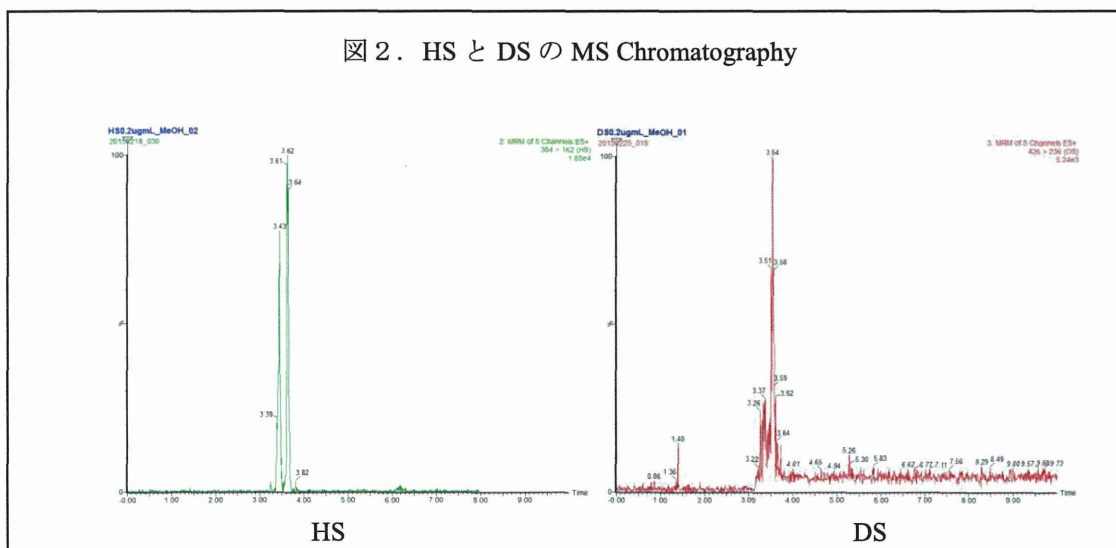
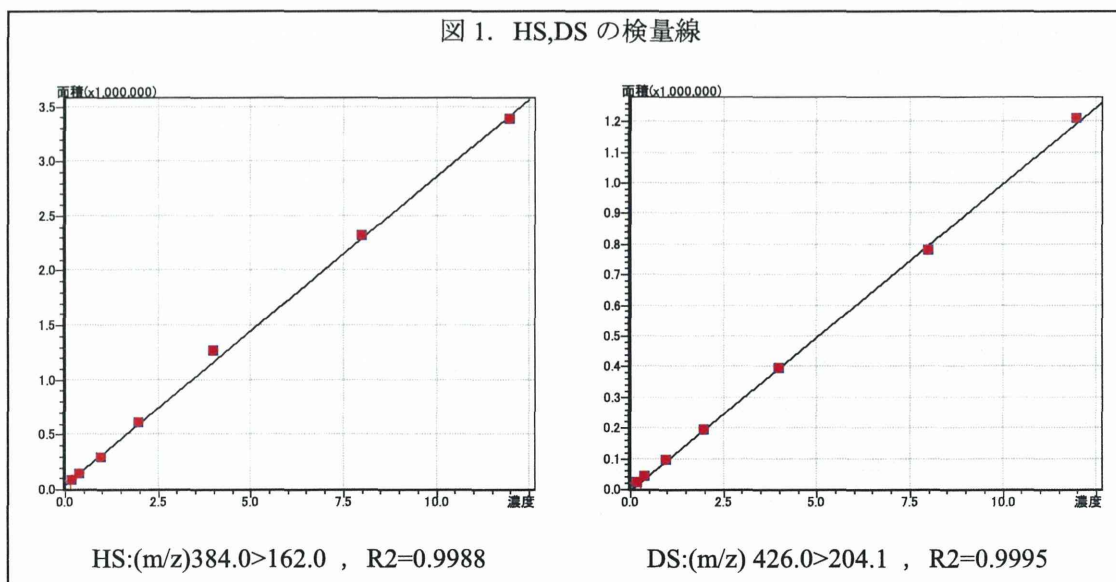
C. 研究結果

HS と DS を定量するため、標準品を測定し検量線の作成を行ったところ、HS 及び DS とともに 0.2-12.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で良好な直線性が得られ (図 1)、

また、0.2 $\mu\text{g/mL}$ におけるピーク高さが十分あることにより定量可能と判断した (図 2)。検量線を用い、脳脊髄液に標準溶液+内標準溶液をスパイクした試料の真度を評価したところ、良好な再現性が得られた。脳脊髄液中に含まれる内因性 DS 及び HS は、それぞれ 0.742 $\mu\text{g/mL}$, 3.21 $\mu\text{g/mL}$ であった。なお、DS+CSA として定量した場合は、9.22 $\mu\text{g/mL}$ であった。

D. 考察

希少疾患の臨床試験において、主要評価項目の設定は極めて重要である。本研究は、酵素製剤の脳室内投与により神経学的退行が予防可能であるかを検討することにあるが、発達試験で統計学的に有意な結論を見出すためには相当数の患者を対象とした長期間の



臨床試験が必要となる。しかし、これは、有効な治療法を求める患者家族にとっては大きな負担となる。本治験の主要評価項目が脳脊髄液のGAG/HS 濃度のような生化学指標で可能となれば、今後の希少疾患の臨床開発の推進につながるものと考えられる。

E. 結論

タンデム質量分析計(LC/MSMS)を用いたGAG/HS 微量測定系を開発し、微量(1uL 相当)の検体で、0.2-12.0ug/ml の濃度範囲で HS の測定が可能であることが示された。より高感度な測定条件を検討するため研究を継続中である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Bhattacharya K, Balasubramaniam S, Choy Y, Fietz M, Fu A, Jin D, Kim OH, Kosuga M, Kwun Y, Inwood A, Lin HY, McGill J, Mendelsohn NJ, Okuyama T, Samion H, Tan A, Tanaka A, Thamkunanon V, Toh TH, Yang AD, Lin SP. Overcoming the barriers to diagnosis of Morquio A syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2014 Nov 30;9(1):192.
- 2) Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Kosaki K, Ogo A, Yamada T, Miyasaka M, Matsuoka K, Hirakiyama A, Okuyama T, Matsuda M, Nakabayashi K, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J. The complete type of pachydermoperiostosis: a novel

nonsense mutation p.E141* of the SLCO2A1 gene. J Dermatol Sci. 2014 Sep;75(3):193-5.

- 3) Morimoto N, Kitamura M, Kosuga M, Okuyama T. CT and endoscopic evaluation of larynx and trachea in mucopolysaccharidoses. Mol Genet Metab. 2014 Jun;112(2):154-9.
- 4) Beck M, Arn P, Giugliani R, Muenzer J, Okuyama T, Taylor J, Fallet S. The natural history of MPS I: global perspectives from the MPS I Registry. Genet Med. 2014 Oct;16(10):759-65.
- 5) Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J. The novel SLCO2A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype. Br J Dermatol. 2014 May;170(5):1187-9.

2. 学会発表

なし。

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。

医師主導治験の Protokol 作成・実施の支援と開発アドバイス

研究分担者 中村 秀文

(独)国立成育医療研究センター 臨床研究開発センター 開発企画主幹

研究要旨

重症型ムコ多糖症 II 型患者の中枢神経症状に対する酵素製剤髄腔内投与について、必要に応じて厚生労働省や PMDA の関係部局との相談にも同行し、非臨床試験、医師主導治験の開発及び進捗についてのアドバイス、作業を行った。

韓国グリーンクロス社、国内開発予定企業との開発戦略についての相談を進めながら、PMDA への薬事戦略相談も行い、平成 26 年 9 月 30 日に PMDA に対する薬事戦略相談を実施し、指摘された内容を踏まえて更なる検討を行った。この相談後は、生物統計家も参加し、患者に対する投与量や評価指標、投与をしない場合の自然経過等に関する情報についても詳細な検討を行い、評価対象年齢、評価期間、評価指標等について大まかなアイデアを固めて Protokol 案が年度内には完成する。全国の症例調査も進めており、非臨床試験が終了次第治験を開始できるよう、さらなるブラッシュアップを進める。

研究協力者

佐古 まゆみ ((独) 国立成育医療研究センター 臨床研究開発センター 臨床試験推進室長)

井上 永介 ((独) 国立成育医療研究センター 臨床検査部 生物統計室長)

A. 研究目的

重症型ムコ多糖症 II 型患者の中枢神経症状に対する酵素製剤髄腔内投与について、日本人小児での適応取得を目指し、非臨床試験から医師主導治験までの開発及び進捗についてのアドバイスを行い、特に、医師主導治験の Protokol 作成・実施の支援を行う。

必要に応じて厚生労働省や PMDA の関係部局との相談にも同行し、検討すべき内容の明確化と解決手段についてのアドバイスを行う。

(倫理面への配慮)

非臨床試験は GLP、医師主導治験は GCP に則り実施する。新投与経路であることから、投与量及び安全性について、非臨床試験及び医師主導治験において特に慎重な検討を行う。医師主導治験期間中はモニタリングを実施し、副作用に十分注意する。重篤な有害事象発生時の対応手順も明確にし、発生時には速やかに対応する。

B. 研究方法

小児希少疾病開発の経験を踏まえて、開発ストラテジーについてアドバイスを行い、進捗管理についても協力する。研究代表者、他の研究分担者、臨床研究開発センター(旧社会・臨床研究センター)の研究協力者、治験薬提供企業、国内開発予定企業と、非臨床試験及び治験の内容(今年度は Protokol 評価指標、治療期間などの詳細)今後の開発戦略について検討し、

C. 研究結果

厚生労働省医政局研究開発振興課に事前の打診を

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(国際水準臨床研究分野))
総括研究報告書

行った上で、すでに韓国で静注用製剤として承認されているグリーンクロス社の製剤を、新投与経路として開発を行うことは可能と判断している。

研究代表者とともに、ロードマップの検討を行い、その方針に基づき、また研究代表者とグリーンクロス社、国内販売予定企業との詳細な相談の上で、毒性試験、PK/PD 試験など、必要な非臨床試験の検討が行われ、開始された。平成 26 年 4 月 23 日には旧社会・臨床研究センター開発薬事部によるヒアリングを行い、社会・臨床研究センター（平成 27 年 2 月以降は臨床研究開発センター）としての支援体制が確認された。平成 26 年 6 月 10 日に PMDA に対する薬事戦略相談事前面談を実施し、疾患の概要、予定している非臨床試験などの概要を説明した。さらに準備を進め、平成 26 年 9 月 30 日には、薬事戦略相談を行い、この際 PMDA と研究者側との質疑内容の調整や補足説明、細く質問等を行い、今後の取り組むべきポイントや論点等を明確化させた。その前後には、グリーンクロス社も含む関係者すべてを交えた打ち合わせを行い、その後の取り組みについての方針の決定のための整理を行った。平成 26 年 10 月以降は、プロトコルの重要部分の検討のために井上生物統計室長及び佐古臨床試験室長も支援に参加し、定期的に会議を行いながら、適切な評価指標（主要評価項目・副次評価項目）、評価期間などについてより詳細な検討を進めた。特に、既存の静注製剤の投与を受けている症例での自然歴（それぞれの評価指標候補の年齢による変化）について、国内の過去の症例について詳細に検討を行い、どの年齢でどの程度の期間評価を行うことが、最も本剤の効果を鋭敏に反映しそうかなど大まかな当たりをつけることが出来、プロトコル案が年度内には確定できそうである。この内容を踏まえて、全国の対象症例の抽出作業等も行っている。

規格及び非臨床についても、医師主導治験の開始に向けて、国内承認申請予定企業、グリーンクロス社によって、検討が進められている。

D. 考察

グリーンクロス社と、国内申請予定企業等と、順調

に作業が進んでいる。症例数が少ないことから、その評価対象年齢、評価指標、評価期間などについては、さらに詳細を詰め、実施可能性も十分に検討した上で、再度 PMDA への相談を行う必要がある。本研究の結果、有効性・安全性が示されれば、これまで治療のなかったわが国の当該患者にとって恩恵となるばかりでなく、他の中樞神経症状を呈する類似疾患に対しても同様の医薬品開発を検討することが可能となる。そのノウハウの蓄積のためにも本研究は大変意義のある研究である。

E. 結論

研究代表者、研究分担者、研究協力者とともにプロトコル及び既存症例の詳細を検討し、またグリーンクロス社、国内販売予定企業等との詳細な相談の上で、必要な非臨床試験も進められた。PMDA の薬事戦略相談を経て、プロトコル案は今年度中に完成し、さらに詳細の検討のうえで、非臨床試験が終了次第、治験開始に向けて再度 PMDA との相談を行う。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

本研究に関連しては、なし

2. 学会発表等

本研究に関連しては、なし

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

研究成果刊行に関する一覧表