

201415014B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等実用化研究事業  
(難治性疾患実用化研究事業)

ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対する  
ピルビン酸ナトリウム治療法の開発に関する研究  
—試薬からの希少疾病治療薬開発の試み—

平成 24 年度～26 年度 総合研究報告書

研究代表者 古賀 靖敏

平成 27 (2015) 年 3 月

## 目 次

### I. 総合研究報告

ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対するピルビン酸ナトリウム治療法の開発  
—試薬からの希少疾病治療薬開発の試み—

古賀 靖敏 ----- 1

- (資料1) 治験薬概要書 (案)
- (資料2) 非臨床試験総括報告書
- (資料3) GMP 原薬製造報告書
- (資料4) Phase1 試験総括報告書
- (資料5) GDF-15 の開発状況 (平成 26 年度分)

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 245

III. 研究成果の刊行物・別冊 ----- 255

總 合 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業）  
総合研究報告書

ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対するピルビン酸ナトリウム治療法の開発  
—試薬からの希少疾病治療薬開発の試み—

研究代表者 古賀 靖敏 久留米大学医学部小児科・教授

**研究要旨**

ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対するピルビン酸ナトリウム（PA）治療法の開発研究を目的として、PAの上市に必要な1）非臨床試験、2）GMP原薬の製造、3）治験薬概要書作成を完成した。また、Phase 1試験を実施し、ステップ2研究への基礎を確立した。被験薬がFirst in manの薬剤となるために、上市に必要な非臨床試験の申請データパッケージについては、PMDAの指導に従って実施し、安全性薬理試験、薬物動態試験、毒性試験を実施した。GMP原薬製造は、原材料を武蔵野化学から購入し、PMDAの指導に従って塩野フィネスで製造した。薬物安定性についても完了した。以上のデータをまとめて、治験薬概要書を作成した。また、平成26年3月には、Phase1試験を開始し、平成26年11月に完了、Phase 1総括報告書を作成した。この研究過程で、ミトコンドリア病の新規バイオマーカー（GDF15）を発見し平成26年1月15日に特許申請した。現在、Phase2前期試験のプロトコール作成のためにPMDAの対面助言を平成27年6月12日に実施予定で準備を進めている。また、ミトコンドリア病の新規バイオマーカー（GDF15）の体外診断薬の開発を本研究のもとで行い、世界初の診断および重症度判定の体外診断薬として開発し、保険収載を目指す。この診断薬開発は、すでに戦略相談を終了し、今後国際展開も視野に開発中である。本研究の概要を、平成27年度の日本医療研究開発機構（AMED）の難治性疾患実用化研究事業に申請中である。

**【研究分担者】**

平成24年度

- |          |                                  |           |                             |
|----------|----------------------------------|-----------|-----------------------------|
| 1. 田中 雅嗣 | 東京都健康長寿医療センター<br>・部長             | 8. 藤井 達哉  | 滋賀県立小児保健医療センター・<br>病院長      |
| 2. 藤井 克則 | 千葉大学大学院医学研究院小児<br>病態学・講師         | 9. 内藤 悦雄  | 徳島赤十字ひのみね総合療育<br>センター・小児科部長 |
| 3. 戸川 雅美 | 鳥取大学医学部脳神経小児科・助教                 | 10. 大竹 明  | 埼玉医科大学小児科・教授                |
| 4. 齋藤 伸治 | 名古屋市立大学大学院医学研究科<br>新生児・小児医学分野・教授 | 11. 山口 清次 | 島根大学医学部小児科・教授               |
| 5. 森 雅人  | 自治医科大学小児科学・講師                    | 12. 佐伯 武頼 | 熊本大学生命資源研究・支援<br>センター・特任教授  |
| 6. 村山 圭  | 千葉県立こども病院代謝科・医長                  | 13. 石崎 義人 | 九州大学病院小児科・助教                |
| 7. 但馬 剛  | 広島大学医歯薬保健学研究院・<br>講師             | 14. 新田 敦美 | 富山大学薬学部薬物治療学・教授             |
|          |                                  | 15. 角間 辰之 | 久留米大学バイオ統計センター・<br>センター長    |

平成25年度

- |          |                                  |            |                                  |
|----------|----------------------------------|------------|----------------------------------|
| 1. 村山 圭  | 千葉県立こども病院代謝科・主任<br>医長            | 6. 藤井 達哉   | 滋賀県立小児保健医療センター・<br>病院長           |
| 2. 齋藤 伸治 | 名古屋市立大学大学院医学研究科<br>新生児・小児医学分野・教授 | 7. 田中 雅嗣   | 東京都健康長寿医療センター<br>臨床検査科・部長        |
| 3. 大竹 明  | 埼玉医科大学小児科・教授                     | 8. 佐伯 武頼   | 熊本大学生命資源研究支援セン<br>ター疾患モデル分野・特任教授 |
| 4. 藤井 克則 | 千葉大学大学院医学研究院小児<br>病態学・講師         | 9. 山口 清次   | 島根大学医学部小児科・教授                    |
| 5. 但馬 剛  | 広島大学医歯薬保健学研究院・<br>助教             | 10. 中田 和人  | 筑波大学生命環境系・教授                     |
|          |                                  | 11. 石井 亜紀子 | 筑波大学医学医療系神経内科・講師                 |

## 平成 26 年度

1. 村山 圭 千葉県立こども病院代謝科・部長
2. 齋藤 伸治 名古屋市立大学大学院医学研究科  
新生児・小児医学分野・教授
3. 大竹 明 埼玉医科大学小児科・教授
4. 藤井 克則 千葉大学大学院医学研究院小児  
病態学・講師
5. 但馬 剛 広島大学大学院医歯薬保健学研究  
院小児科学・講師
6. 藤井 達哉 滋賀県立小児保健医療センター・  
病院長

7. 田中 雅嗣 東京都健康長寿医療センター  
臨床検査科・部長
8. 佐伯 武頼 熊本大学生命資源研究支援セン  
ター山村プロジェクト研究室  
・特任教授
9. 山口 清次 島根大学医学部小児科・教授
10. 中田 和人 筑波大学生命環境系・教授
11. 石井 亜紀子 筑波大学医学医療系神経内科・講師
12. 酒井 規夫 大阪大学大学院医学系研究科小児  
科学・准教授

### A. 研究目的

高乳酸血症の病態を踏まえた治療薬は今だ世界に存在しない。PAは生体内物質であり、1990年代には体質改善のサプリメントとして使用されている (Am J C/In Nutr 1994;59:423-7)。また、心筋梗塞、脳梗塞などの急性期患者にカテーテル先端からの静注療法が臨床研究され、その有効性が報告された (Lancet. 1999;353(9161):1321-3)。PAは、体外循環の組成 (Experimental Biology and Medicine 2005, 230:435-443.) や臓器移植の保存液にも広く使用されている。ミトコンドリア病では、高乳酸血症の程度が高度であるほど臨床的に重症で死亡率も高くなる事が示され (Neurology 2011;77:1965- 1971)、高乳酸血症を治療することがミトコンドリア病の重症度を軽減できると考えられるようになった。また、高乳酸血症を来すミトコンドリア病のモデル動物 (ミトコンドリアDNAの欠失マウス) で、乳酸値を下げる治療をしたところ寿命が延長し運動能力も回復した (Human Molecular Genetics, 2010;19: 3179- 3189)。我々は、PAによるミトコンドリア病の介入研究から、PAが高乳酸血症を軽減するのみでなく、臨床的重症度を軽くするという知見を得た (Mol Genet Metab. 2014;112(2):133-138.、Brain & Development. 2012;34(2):87-91.)。本研究は、先天性高乳酸血症の病態を踏まえた新規治療薬の開発を日本から世界に発信する事が目的である。また、申請者はミトコンドリア病の新規バイオマーカー (GDF15) を発見し平成26年1月15日に特許申請した (特願2014-005391、PCT/JP2015/50833)。この検査法を、診断ガイドラインのトップに据えるべく、体外診断薬の開発を同時に行い、PAの治療薬と合わせてグローバル展開を計画している。

### B. 研究方法

#### (1) 自主臨床研究の発表

高乳酸血症に対するPA治療 (Mitochondrion 2007;7:399- 403) は、ミトコンドリア病の細胞モデルでも細胞死を防ぐ効果がある事が最近のメタボローム解析で証明された (Mitochondrion 2012;12:644-665)。また、臨床研究では、DCA に勝る高乳酸の軽

減効果と臨床的有効性が示された (BBA 2010;1800(3): 313-5、Brain & Dev 2012;34(2)87-91, BBA 2012;1820:632-636)。平成23年4月発足のミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究 (後藤班) と連携し、MELAS に対するアルギニンの医師主導試験の経験を踏まえ、医薬品開発研究に向けて、自主臨床研究として発表した。

#### (2) 治験薬概要書

承認申請までに必須の治験薬概要書について、臨床的意義、過去の臨床報告、非臨床試験データセット、GMP原薬製造、Phase1の総括報告書の内容を網羅集約し、治験薬概要書 (Ver.2.0) として纏めた。

#### (3) 非臨床試験の実施

「first in man」の医薬品を、試薬から開発するために、非臨床試験のデータセットの実施が必要である。このために、戦略薬事相談を行って、上市に必須のデータセットについて、(株)新日本科学に委託し、平成27年3月に完了した。

#### (4) 治験薬GMP 製造・過酷試験結果

PAの製剤は、試験薬GMPにより製造され、CMOへの製造技術移転が完了するまでに原薬および最終製剤の暫定規格、規格設定のための試験方法の確立並びに安定性試験を行わねばならない。この基準をクリアするために、原薬製造メーカーである塩野フィネス (株) とGMP製造委託契約を行った。また、GMP原薬についての第1相試験の必須項目 (原体の予備安定性試験、加速、過酷試験) を完了している。

#### (5) 第1相試験計画・実施

将来の医師主導治験での第2/3相試験を実施する事を念頭に、第1相試験を計画した。これは、戦略薬事相談により指導を経て、プロトコルを確定した。体制整備として、Phase1治験実施専門施設である久留米臨床薬理クリニック (伊藤実院長) と委託契約を結び、Phase1治験の体制整備を行った。同時に治験保険にも加入した。

#### (6) 医薬品・医療機器総合機能への戦略相談

##### ①戦P86相談

平成25年7月26日に事前面談を行い、平成25年11月1日に対面助言を行った。申請までに必要な非臨床試験のデータパッケージについて主に相談を行った。

指導内容に従って、必須の非臨床検査を計画し実施している。

## ②戦P103相談

平成25年11月1日に対面助言の日程調整を行い、平成26年1月27日に対面助言を行った。この相談では、Phase1試験の実施計画書について助言を頂いた。疑義照会と回答での指導の結果、実施計画書を確定した。

## (7) ミトコンドリア病の新規バイオマーカーの開発

ミトコンドリア病モデル細胞 (A3243G変異を有する $\rho$ ゼロサイブリド細胞) を用いて、乳酸存在下とピルビン酸存在下における網羅的遺伝子発現を比較し、乳酸存在下で発現が顕著に上昇する遺伝子群を同定し、その中から、細胞外に分泌される蛋白質を選択した。

## (倫理面への配慮)

研究に先立ち、患者には研究の目的および、主旨、不利益・危険性の排除や説明と同意 (インフォームド・コンセント) を十分に説明し、同意が得られた場合のみ研究を実施する。疫学調査に関しては、国が定めた「疫学研究に関する倫理指針」(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)、遺伝子治療臨床研究に関する指針 (平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号)、臨床研究に関する倫理指針 (平成20年厚生労働省告示第415号) に準拠して行う。また、本研究の計画調書は、すべての協力研究施設の倫理審査会に提出し、承認を得る予定である。多施設共同研究の倫理審査会資料は、基本内容を一致させた上でそれぞれの研究参加施設の倫理委員会の承認を得る。この原案は、すでに国立精神神経医療センター、埼玉医科大学病院、久留米大学病院にてすでに承認されているが、それを基本とし、さらに修正し、新GCP準拠したものとする。また、第2相試験研究に関しては、「医薬品の臨床試験の実施の基準に対する省令」、新GCPに準拠し、患者の利益を最大限配慮しつつ、副作用に充分留意しながら、臨床研究に関する倫理指針 (平成20年厚生労働省告示第415号) に基づき、ヘルシンキ宣言や、人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除や説明と同意に関して、十分な配慮のもとに行う。また、ピルビン酸ナトリウムの非臨床試験を行うに当たっては、動物を用いた短期、長期試験その他において、国が定めた「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知) 及び申請者が所属する久留米大学で定めた倫理規定等を遵守し、動物愛護上の配慮に充分留意した上で行う事とする。

## C. 研究結果

### (1) 当該研究計画に関する自主臨床研究論文

高乳酸血症に対するPA治療 (Mitochondrion 2007;7:399-403) は、ミトコンドリア病の細胞モデルでも細胞死を防ぐ効果がある事が最近のメタボローム解析で証明された (Mitochondrion 2012;12:644-665)。また、臨床研究では、DCAに勝る高乳酸の軽減効果と臨床的有効性が示された (BBA 2010;1800(3):313-5, Brain & Dev 2012;34(2)87-91, BBA 2012;1820:632-636)。平成23年4月発足のミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究 (後藤班) と

連携し、MELASに対するアルギニンの医師主導試験の経験を踏まえ、医薬品開発研究に向けて、自主臨床研究として発表した。また、本研究班として共同研究の一環で、同じIRB資料を提供し、日本国内30施設でもPAの自主臨床研究を行った。対象患者は、臨床的にほとんどの患者がLeigh脳症の病型であったが、中にはMELAS、MELAの症例もあった。投与量は0.25g/kg/dayTIDから2.0g/kg/dayTIDまで幅広いが、ほとんどの症例で0.5g/kg/dayTIDの投与量を使用していた。治療効果は、ほとんどの症例で有効であり、臨床的な改善、生活がしやすくなった、けいれんが止まったなどの報告が多かった。また、主治医の判断でほとんどの症例で有効であった。また、乳酸の低下、アラニン値の改善がみられたが、治療効果のない症例も報告された。副作用としては、用量が多くなるに従い、浮腫や下痢の有害事象が診られたが、医療的治療対象となる投薬は必要なかった。

## (2) 治験薬概要書 (Ver.2.0)

臨床的意義、過去の臨床報告、非臨床試験データセット、GMP原薬製造、Phase1の総括報告書の内容を網羅集約し、治験薬概要書 (Ver.2.0) として纏めた (別添資料1)。

## (3) 非臨床試験の実施

「first in man」の医薬品を、試薬から開発するために、非臨床試験のデータセットの実施が必要であった。このために、戦略薬事相談を行って、必須項目のデータセットについて、(株)新日本科学に委託して非臨床試験を実施した。その結果、被験薬の遺伝毒性、催奇形性、妊娠・幼弱動物における毒性はほとんど観られなかった。元来が生体内物質であるために、ナトリウム負荷による毒性以外は、特記すべき問題はないと考えられる。

## (別添資料2)

## (4) GMP原薬製造総括報告書

特級試薬である武蔵野化学製品のピルビン酸ナトリウムを原材料として、原薬製造メーカーである塩野フィネス(株)とGMP製造委託契約を行った。通常の2工程処理を1工程で高純度の生成物をGMP規制の下に作成する事に成功した。純度は99.9%以上であり、安定性も3年と治験使用に問題ないことが示された (別添資料3)。

## (5) 第1相試験実施・最終報告書

戦略薬事相談を重ねて、詳細な指導を経て、プロトコルを確定した。健康成人男性を対象とした第1相試験としては、単回投与試験、反復投与試験、食事の影響を評価する試験の3試験を実施した。これらの試験では、PA(原薬)を水に溶解して被験者に投与した。単回投与及び反復投与試験ではプラセボ群を設定するが、プラセボには薄い食塩水を用いた。平成27年3月27日に第1相試験の最終包括報告書を完成した (別添資料4)。

## (6) 医薬品・医療機器総合機能への戦略相談

### ①戦P86相談

平成25年7月26日に事前面談を行い、平成25年11月1日に対面助言を行った。申請までに必要な非臨床試験のデータパッケージについて主に相談を行った。指導内容に従って、必須の非臨床検査を計画し実施している。

## ②戦P103相談

平成25年11月1日に対面助言の日程調整を行い、平成26年1月27日に対面助言を行った。この相談では、Phase1試験の実施計画書について助言を頂いた。疑義照会と回答での指導の結果、実施計画書を確定した。

## ③P3591相談（第2相治験前相談）

平成26年12月26日に薬事戦略相談事前面談を行い、平成27年3月3日に対面助言申し込み、平成27年6月12日に第2相前期治験前相談を行う予定である。

(7) ミトコンドリア病の新規バイオマーカー開発  
ミトコンドリア病の診断に有用な新規バイオマーカーとしてGDF15を同定し、特許申請した。また、医学生物学研究所にGDF15のキット開発を依頼した（別添資料5）。

## D. 考察

世界初の高乳酸血症治療薬を開発する目的で、試薬特級品であるPAを出発点として、平成24年から3年間、厚生労働科学研究実用化研究事業（ステップ1）の研究を行っている。PAの上市に必要な非臨床試験のデータセットについては、すべての試験を（株）新日本科学に委託し、PMDAに相談の上で、必要十分な項目の研究が完了した。GMP原薬の製造は、特級試薬として武蔵野化学からの原材料を、塩野フィネス（株）に委託してGMP原薬製造を行い、純度及び安定性に関し、問題なく、Phase1試験の被験薬として準備した。安定性についても過酷試験のデータが終了し、3ロットすべてが、Phase1試験の全期間をカバーしている。自主臨床研究として、全国の実態調査を行ったが、主な対象疾患がLeigh脳症であったが、主治医の印象はほとんどが有効という判断であった。用法用量のまとめと有害事象については、今後のPhase2試験以後に反映する必要があり、プロトコル作成時に考慮する。Phase1試験は平成26年11月にすでに終了し、総括報告書が平成27年3月30日に完成した。今後、第2相治験前相談を実施する。

## ミトコンドリア病の新規バイオマーカーの開発

ミトコンドリア病の診断に有用な新規バイオマーカーとしてGDF15を同定した。既存の抗体を用いてParkin-Elmer社のELISA法を約1000人の高齢者で血清中のGDF15濃度を測定した。さらに、新たにGDF15に対するモノクローナル抗体とポリクローナル抗体を製造し、ELISA法に基づいた体外診断薬キットを試作した。これまでミトコンドリア病の診断には、血中の乳酸・ピルビン酸比（L/P比）、筋組織・培養線維芽細胞におけるミトコンドリア電子伝達系酵素活性の測定、ミトコンドリアDNAおよび核DNAの遺伝子検査などが用いられてきた。GDF15の血中レベルを測定することにより迅速にミトコンドリア病の診断が可能になる。ピルビン酸ナトリウム療法などの適切な治療法を早期に開始することができれば、症状の進行を遅らせることが可能になる。血清中のGDF15を測定する体外診断薬キットを開発し、性能試験を実施している。ピルビン酸投与開始後3ヶ月で、ミトコンドリア病重症度スコア（JMDRS, NMDAS）の改善とともにGDF15レベルの低下が観察されている。ピルビン酸ナトリウムの第II相臨床試験において、症状の改善と同時に

GDF15値の低下が観察されるかどうかを検証する。

## E. 結論

平成24年からの3年間で、上市に必須の非臨床試験データパッケージをほぼ完了した。また、GMP原薬製造も終了し、その品質・過酷試験における安定性も問題なく完了した。Phase1試験も終了し、予定のロードマップに沿って、順調に進んでいる。これらの情報を集約し、治験薬概要書を作成した。また、ミトコンドリア病の診断に有用な新規バイオマーカーとしてGDF15を同定し、特許申請した。今後、キット開発を行い、PAの創薬と共に世界展開する予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yasutoshi Koga, Nataliya Povalko, Koju Katayama, Noriko Kakimoto, Toyojiro Matsuishi, Etsuo Naito, Masashi Tanaka. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 $\alpha$  gene. *Brain & Dev* 2012 ;34; 87-91
- 2) Yasutoshi Koga, Nataliya Povalko, Junko Nishioka, Koju Katayama, Noriko Kakimoto, and Toyojiro Matsuishi. Molecular Pathology of MELAS and L-Arginine Effects. *Biochem Biophys Acta General* 2012;1820:608-614
- 3) Shuichi Yatsuga, Nataliya Povalko, Junko Nishioka, Koju Katayama, Noriko Kakimoto, Toyojiro Matsuishi, Tatsuyuki Kakuma, Yasutoshi Koga. MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochem Biophys Acta General* 2012;1820:619-624
- 4) Yasutoshi Koga. *Biochemistry of Mitochondria, Life and Intervention* 2010. *Biochem Biophys Acta General* 2012;1820:551-552
- 5) Masamichi Ikawa, Kenichiro Arakawa, Tadanori Hamano, Miwako Nagata, Yasunari Nakamoto, Masaru Kuriyama, Yasutoshi Koga, Makoto Yoneda. Evaluation of systemic redox states in patients carrying MELAS A3243G mutation in mitochondrial DNA. *European Neurology* 2012; 67(4):232-7.
- 6) Kami K, Fujita Y, Igarashi S, Koike S,

- Sugawara S, Ikeda S, Sato N, Ito M, Tanaka M, Tomita M, Soga T. Metabolomic profiling rationalized pyruvate efficacy in cybrid cells harboring MELAS mitochondrial DNA mutations. *Mitochondrion* 2012;12(6):644-653.
- 7) Monden Y, Mori M, Kuwajima M, Goto T, Yamagata T, Momoi MY. Late-onset Leigh syndrome with myoclonic epilepsy with ragged-red fibers. *Brain Dev*, 2013;35:582-585
- 8) Yamamoto T, Emoto Y, Murayama K, Tanaka H, Kuriu Y, Ohtake A, Matoba R. Metabolic autopsy with postmortem cultured fibroblasts in sudden unexpected death in infancy: Diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. *Mol Genet Metab*. 2012 Aug;106(4):474-7.
- 9) Wakiya T, Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Yamada N, Okada N, Ushijima K, Otomo S, Sakamoto K, Murayama K, Takayanagi M, Hakamada K, Yasuda Y, Mizuta K. Impact of enzyme activity assay on indication in liver transplantation for ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2012 Mar;105(3):404-7.
- 10) Saito, K. Kimura, N. Oda, N. Shimomura, H. Kumada, T. Miyajima, T. Murayama, K. Tanaka, M. Fujii, T. Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome. *Biochim Biophys Acta* 2012;1820:632-636.
- 11) Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, Ohtake A, Murayama K, Mori M, Miyata R, Hatai Y: Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy. *Brain Dev* 34(2): 115-7, 2012.
- 12) Akamizu T, Sakura N, Shigematsu Y, Tajima G, Ohtake A, Hosoda H, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K: Analysis of plasma ghrelin in patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency and glutaric aciduria type II. *Eur J Endocrinol* 166(2): 235-240, 2012.
- 13) Tanigawa J, Kaneko K, Honda M, Harashima H, Murayama K, Wada T, Takano K, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Aida N, Ohtake A, Osaka H: Two Japanese patients with Leigh syndrome caused by novel SURF1 mutations. *Brain Dev* 34(10): 861-5, 2012.
- 14) Enkai S, Koinuma S, Ito R, Igaki J, Hasegawa Y, Murayama K, Ohtake A: Case of an infant with hepatic cirrhosis caused by mitochondrial respiratory chain disorder. *Pediatr Int* 55 (4): e103-6, 2013.
- 15) Kondo H, Tanda K, Tabata C, Hayashi K, Kihara M, Kizaki Z, Taniguchi-Ikeda M, Mori M, Murayama K, Ohtake A: Leigh syndrome with Fukuyama congenital muscular dystrophy: A case report. *Brain Dev* 36(8): 730-3, 2014.
- 16) Yamazaki T, Murayama K, Compton AG, Sugiana C, Harashima H, Amemiya S, Ajima M, Tsuruoka T, Fujinami A, Kawachi E, Kurashige Y, Matsushita K, Wakiguchi H, Mori M, Iwasa H, Okazaki Y, Thorburn DR, Ohtake A: Molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: Focusing on mitochondrial DNA depletion syndrome. *Pediatr Int* 56 (2):180-187, 2014
- 17) Ohtake A, Murayama, K, Mori M, Harashima H, Yamazaki T, Tamaru S, Yamashita Y, Kishita Y, Nakachi Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Moriyama Y, Kato H, Okazaki Y: Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders: exome sequencing for disease gene identification. *Biochim Biophys Acta* 1840(4):1355-1359, 2014.
- 18) Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui S-P, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, Ohtake A, Miida T: Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children during the first year of life. *Clin Chim Acta* 433:1-4, 2014.
- 19) Saito H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Tsurusaki Y, Miyake N, Goto Y, Nishino I, Ohtake A, King M-C, Matsumoto N: A girl with West syndrome and



- autistic features harboring a de novo TBL1XR1 mutation. *J Hum Genet* 59(10):581-3, 2014.
- 20) Uehara N, Mori M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Tamaru S, Kohda M, Moriyama Y, Nakachi Y, Matoba N, Sakai T, Yamazaki T, Harashima H, Murayama K, Hattori K, Hayashi J, Yamagata T, Fujita Y, Ito M, Tanaka M, Nibu K, Ohtake A, Okazaki Y: New MT-ND6 and NDUFA1 mutations in mitochondrial respiratory chain disorders. *Ann Clin Transl Neurol* 1(5):361-9, 2014.
- 21) Kopajtich R, Nicholls TJ, Rorbach J, Metodiev MD, Freisinger P, Mandel H, Vanlander A, Ghezzi D, Carrozzo R, Taylor RW, Marquard K, Murayama K, Wieland T, Schwarzmayr T, Mayr JA, Pearce SF, Powell CA, Saada A, Ohtake A, Invernizzi F, Lamantea E, Sommerville EW, Pyle A, Chinnery PF, Crushell E, Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Assouline Z, Rio M, Feillet F, de Camaret BM, Chretien D, Munnich A, Menten B, Sante T, Smet J, Régál L, Lorber A, Khoury A, Zeviani M, Strom TM, Meitinger T, Bertini ES, Van Coster R, Klopstock T, Rötig A, Haack TB, Minczuk M, Prokisch H: Mutations in GTPBP3 cause a mitochondrial translation defect associated with hypertrophic cardiomyopathy, lactic acidosis and encephalopathy. *Am J Hum Genet* 95(6):708-20, 2014.
- 22) Montassir H, Maegaki Y, Murayama K, Yamazaki T, Kohda M, Ohtake A, Iwasa H, Yatsuka Y, Okazaki Y, Sugiura C, Nagata I, Toyoshima M, Saito Y, Itoh M, Nishino I, Ohno K: Myocerebrohepatopathy spectrum disorder due to POLG mutations: A clinicopathological report. *Brain Dev.* 2014 Nov 18. pii: S0387-7604(14)00261-7.
- 23) Fujii T, Nozaki F, Saito K, Hayashi A, Nishigaki Y, Murayama K, Tanaka M, Koga Y, Hiejima I, Kumada T. Efficacy of pyruvate therapy in patients with mitochondrial disease: A semi-quantitative clinical evaluation study. *Mol Genet Metab* 112(2) 133-8, 2014
- 24) Negishi Y, Hattori A, Takeshita E, Sakai C, Ando N, Ito T, Goto Y-I, Saitoh S. Homoplasmy of a mitochondrial 3697G>A mutation causes Leigh syndrome. *J Hum Genet* 59: 405-407, 2014.
- 25) Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugiee H, Shigematsu Y, Tamaoka A: Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electron transfer flavoprotein dehydrogenase (ETFHDH) gene. *Journal of The Neurological Sciences* 346(1-2): 350-352, 2014
- 26) Toshiyuki Imasawa, Masashi Tanaka, Yutaka Yamaguchi, Takashi Nakazato, Hiroshi Kitamura, Motonobu Nishimura. Pathological similarities between low birth weight-related nephropathy and nephropathy associated with mitochondrialcytopathy. *Diagnostic Pathology* 9:9, 2014
- 27) Toshiyuki Imasawa, Masashi Tanaka, Yutaka Yamaguchi, Takashi Nakazato, Hiroshi Kitamura, Motonobu Nishimura. 7501 T > A mitochondrial DNA variant in a patient with glomerulosclerosis. *Renal Failure* 36(9) :1461-1465, 2014
- 28) Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto YI: ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Human Mutation.* 2015 ;36(2):232-9.
- 29) Fujita Y, Ito M, Kojima T, Yatsuga S, Koga Y, Tanaka M. GDF15 is a novel biomarker to evaluate efficacy of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. *Mitochondrion* 2034-42, 2015
- 30) Wei F-Y, Zhou B, Suzuki T, Miyata K, Ujihara Y, Horiguchi H, Takahashi N, Xie P, Michiue H, Fujimura A, Kaitsuka T, Matsui H, Koga Y, Mohri S, Suzuki T, Oike Y, Tomizawa K. Cdk5rap 1 mediated 2-methylthio modification of mitochondrial tRNAs governs protein translation and contributes to myopathy in mice and humans. *Cell Metabolism* 2015;21(3):428-42.

- 31) Brea-Calvo G, Haack TB, Karall D, Ohtake A, Invernizzi F, Carrozzo R, Kremer L, Dusi S, Fauth C, Scholl-Bürgi S, Graf E, Ahting U, Resta N, Laforgia N, Verri gni D, Okazaki Y, Kohda M, Martinelli D, Freisinger P, Strom TM, Meitinger T, Lamperti C, Lacson A, Navas P, Mayr J A, Bertini E, Murayama K, Zeviani M, Prokisch H, Ghezzi D. COQ4 Mutations Cause a Broad Spectrum of Mitochondrial Disorders Associated with CoQ10 Deficiency. *Am J Hum Genet.* 2015 Feb 5;96(2):30-17.
- 32) Kopajtich R, Nicholls TJ, Rorbach J, Metodieva MD, Freisinger P, Mandel H, Vanderschuer A, Ghezzi D, Carrozzo R, Taylor RW, Marquard K, Murayama K, Wieland T, Schwarzmayr T, Mayr JA, Pearce SF, Powell CA, Saada A, Ohtake A, Invernizzi F, Lamantea E, Sommerville EW, Pyle A, Chinnery PF, Crushell E, Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Assouline Z, Rio M, Feillet F, Mousson de Camaret B, Chretien D, Munnich A, Menten B, Sante T, Smet J, Régal L, Lorber A, Khoury A, Zeviani M, Strom TM, Meitinger T, Bertini ES, Van Coster R, Klopstock T, Rötig A, Haack TB, Minczuk M, Prokisch H. Mutations in GTPBP3 Cause a Mitochondrial Translation Defect Associated with Hypertrophic Cardiomyopathy, Lactic Acidosis, and Encephalopathy. *Am J Hum Genet.* 2014 Dec 4;95(6):708-20.
- 33) Shimbo H, Takagi M, Okuda M, Tsuyusaki Y, Takano K, Iai M, Yamashita S, Murayama K, Ohtake A, Goto Y, Aida N, Osaka H: A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome. *Mol Genet Metab* in press, 2015.
- 34) Takehiro Takahashi, Masashi Yamamoto, Kazutoshi Amikura, Kozue Kato, Takashi Serizawa, Kanako Serizawa, Daisuke Akazawa, Takumi Aoki, Koji Kawai, Emi Ogasawara, Jun-Ichi Hayashi, Kazuto Nakada, and Mie Kainoh. A Novel MitoNEET Ligand, TT01001, Improves Diabetes and Ameliorates Mitochondrial Function in db/db Mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 352: 338 - 345, 2015 (査読あり)
- 35) Takayuki Mito, Hikari Ishizaki, Michiko Suzuki, Hitomi Morishima, Azusa Ota, Kaori Ishikawa, Kazuto Nakada, Akiteru Maeno, Toshihiko Shiroishi, and Jun-Ichi Hayashi. Transmitochondrial mito-mice $\Delta$  and mtDNA mutator mice, but not aged mice, share the same spectrum of musculoskeletal disorders. *BBRC*, 456: 933-973, 2015 (査読あり)
- 36) Akinori Shimizu, Takayuki Mito, Osamu Hashizume, Hiromichi Yonekawa, Kaori Ishikawa, Kazuto Nakada, and Jun-Ichi Hayashi. G7731A mutation in mouse mitochondrial tRNA(Lys) regulates late-onset disorders in transmitochondrial mice. *BBRC*, 459: 66-70, 2015.
- 37) Osamu Hashizume, Haruka Yamanashi, Makoto M. Taketo, Kazuto Nakada, and Jun-Ichi Hayashi. A Specific Nuclear DNA Background Is Required for High Frequency Lymphoma Development in Transmitochondrial Mice with G13997A mtDNA. *PLoS ONE* 10: e0118561. doi:10.1371/journal.pone.0118561, 2015 (査読あり)
- 38) 古賀靖敏. ミトコンドリア脳筋症. 今日の神経疾患治療指針第2版. 791-797. 2013.
- 39) 古賀靖敏. ミトコンドリア脳筋症治療の現状と展望. *日本臨床* 72巻1号. 175-184. 2013
- 40) 森雅人, 村山圭, 大竹明. ミトコンドリア病. *小児科診療*. 76(1). 11-19, 2013
- 41) 古賀靖敏. 希少難病:ミトコンドリア病の治療が可能となる時代に巡り合って(アルギニン療法、ビルビン酸ナトリウム療法の開発). *福岡県小児科医報* 第51号. 91-98. 2013
- 42) 古賀靖敏. 総論 2.検査(2)特殊検査 d) ミトコンドリア機能の臨床生化学的評価. *代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach*. 診断と治療社. 22-27. 2014
- 43) 古賀靖敏. 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 1. ミトコンドリア代謝異常症の進歩とトピックス. *代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach*. 診断と治療社. 142-152. 2014
- 44) 古賀靖敏. 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 2. ミトコンドリアにおける代謝. *代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach* 診断と治療社. 153-159. 2014
- 45) 古賀靖敏. 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 3. 診断の進め方. *代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach*. 診断と治療社. 160-167. 2014

- 46) 古賀靖敏. 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (1) ミトコンドリア代謝異常症の臨床的病型による分類 a) MELAS. 代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach. 診断と治療社. 168-174. 2014
- 47) 古賀靖敏. 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (1) ミトコンドリア代謝異常症の臨床的病型による分類 b) Leber 病. 代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach. 診断と治療社. 181-184. 2014
- 48) 古賀靖敏. L-アルギニン (MELAS). 引いて調べる 先天代謝異常症. 136-137. 2014
- 49) 古賀靖敏. ミトコンドリア心筋症・心合併症. 心エコーハンドブック 心筋・心膜疾患. 金芳堂. 100-105. 2014
- 50) 坊岡美奈, 比嘉明日美, 津野嘉伸, 熊谷健, 奥谷貴弘, 吉川徳茂, 城道久, 太田菜美, 八木重孝, 南佐和子, 井篁一彦, 山田健治, 山口清次: 胎児心不全で発症したミトコンドリア三頭酵素欠損症の 1 例. 日本周産期・新生児医学学会雑誌 50(3): 1015-1021, 2014 (9 月)
- 51) 村山 圭 テーマ: IV 消化器疾患 ミトコンドリア肝症 小児疾患診療のための病態生理 1 改訂第5版 「小児内科」「小児外科」編集委員会共編 東京医学社 692-696
- 52) 村山 圭 各論: 肝胆道疾患、II胆汁うっ滞 ミトコンドリア肝疾患 小児栄養消化器肝臓病学 日本小児栄養消化器肝臓学会編集 診断と治療社 432-434, 2014
- 53) 村山 圭 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (2) ミトコンドリア呼吸鎖異常症 a) Complex I (ミトコンドリア呼吸鎖複合体I) 欠損症 代謝性ミオパチー 診断と治療社 201-204, 2014
- 54) 村山 圭 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (2) ミトコンドリア呼吸鎖異常症 b) Complex II (ミトコンドリア呼吸鎖複合体II) 欠損症 代謝性ミオパチー 診断と治療社 205-208, 2014
- 55) 村山 圭 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (2) ミトコンドリア呼吸鎖異常症 c) Complex III (ミトコンドリア呼吸鎖複合体III) 欠損症 代謝性ミオパチー 診断と治療社 209-212, 2014
- 56) 村山 圭 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (2) ミトコンドリア呼吸鎖異常症 d) Complex IV (ミトコンドリア呼吸鎖複合体IV) 欠損症 代謝性ミオパチー 診断と治療社 213-216, 2014
- 57) 村山 圭 各論 III ミトコンドリア代謝異常症・Mitochondrial Disease 4. 各疾患について (2) ミトコンドリア呼吸鎖異常症 e) Complex V (ミトコンドリア呼吸鎖複合体V) 欠損症 代謝性ミオパチー 診断と治療社 217-220, 2014
- 58) 古賀靖敏, 小児科におけるミトコンドリア病. 神経眼科. 31 (4) 457-463, 2015.
2. 学会発表
- 1) 戸川雅美、ミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム療法、第 54 回日本先天代謝異常学会総会 (2012 年 11 月 15 日～17 日)
- 2) 森雅人、上原奈津美、水野洋介、村山圭、岡崎康司、大竹明: ミトコンドリア呼吸鎖異常症 (MRCD) のミトコンドリア DNA 変異の検索、第 54 回日本小児神経学会総会、平成 24 年 5 月 17-19 日
- 3) 藤田真祐子、水落弘美、須山麻衣子、内川英紀、森雅人ほか: ミトコンドリア遺伝子変異 m.5537A>G at tRNA(Trp) を認めた 1 女児例、第 54 回日本小児神経学会総会、平成 24 年 5 月 17-19 日
- 4) 奥主朋子、藤井克則、須山麻衣子、水落弘美、内川英紀、森雅人ほか: ミトコンドリア遺伝子変異 m.3236A>G at tRNA(Leu) を認めた 1 男児例、第 54 回日本小児神経学会総会、平成 24 年 5 月 17-19 日
- 5) 川内恵美、村山圭、伏見拓矢、市本景子、鶴岡智子、森雅人ほか: 本邦におけるミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(MRCD) 5 年間のまとめ、第 115 回日本小児科学会学術集会、平成 24 年 4 月 20-22 日
- 6) Kazuto Nakada “Model mouse studies: Regulation of threshold effects on pathogenesis of mitochondrial DNA-based diseases” Euromit 2014, Tampere, Finland, 15th June, 2014
- 7) Koga Y. Pharmacologic therapy for mitochondrial myopathies. The Joint 13th AOMC Annual Scientific Meeting and 20th PNA Midyear Convention. 2014.5.14-17 (Manila, Philippines)

- 8) Koga Y, Nakamura H, Yatsuga S, Tanaka M. Development of therapeutic drug of Sodium Pyruvate (SP) for lactic acidosis associated with mitochondrial disorders. Mitochondrial Medicine 2014 –Pittsburgh. 2014.6.4-7 (Pittsburgh, USA)
- 9) Yatsuga S, Koga Y. Growth differentiation factor 15 and fibroblast growth factor 21: novel biomarkers for mitochondrial diseases. Mitochondrial Medicine 2014 –Pittsburgh. 2014.6.4-7 (Pittsburgh, USA)
- 10) Yatsuga S, Koga Y. Growth differentiation factor 15 and fibroblast growth factor 21: novel biomarkers for mitochondrial diseases. International Meeting on Mitochondrial Pathology 2014. 2014.6.15-19 (Tampere, Finland)
- 11) Yatsuga S, Koga Y. Growth differentiation factor 15 and fibroblast growth factor 21: novel biomarkers for mitochondrial diseases. 53rd Annual European Society for Paediatric Endocrinology Meeting. 2014.9.18-20 (Dublin, Ireland)
- 12) Koga Y. Development of therapeutic drug of sodium pyruvate (SP) for lactic acidosis associated with mitochondrial disorders. 11th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research & Medicine. 2014.11.13-16 (Taipei, Taiwan)
- 13) M. Tanaka, Y Fujita, M Ito, T Kojima, S Yatsuga, Y Koga: GDF15 is a novel biomarker to evaluate efficacy of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. Mitochondrial and Fetal Medicine 9th International Symposium of Genomic Medicine 2014, Changhua Christian Hospital, Taiwan, November 15-16, 2014
- 14) Murayama K et al. Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: Exome sequencing for disease genes identification 欧州先天代謝異常学会 2014.9.5 インズブルック
- 15) 古賀 靖敏、ピルビン酸ナトリウム治療法開発チーム. ミトコンドリア脳筋症に合併する高乳酸血症に対するピルビン酸ナトリウム治療法の開発. 第 117 回日本小児科学会学術集会. 2014.4.11-13 (名古屋)
- 16) 金城さおり、豊浦麻記子、吉年俊文、喜久山至、小濱守安、閑野将行、源川隆一、八ツ賀秀一、古賀靖敏. ピルビン酸ナトリウムを開始したミトコンドリア呼吸鎖異常症の 6 か月男児. 第 87 回日本内分泌学会学術総会. 2014.4.24-26 (福岡)
- 17) 八ツ賀秀一、古賀靖敏. 血漿 FGF21 は筋症状を伴うミトコンドリア病のバイオマーカーになる. 第 56 回日本小児神経学会学術集会. 2014.5.29-31 (浜松)
- 18) 八ツ賀秀一、佐々木孝子、古賀靖敏. 健康日本人の血漿 FGF21 値の検討. 第 48 回日本小児内分泌学会学術集会. 2014.9.25-27 (浜松)
- 19) Yatsuga S, Koga Y. Growth differentiation factor-15 (GDF-15): a most reliable biomarker for mitochondrial disorders. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 2014.11.13-15
- 20) 八ツ賀秀一、石井亜紀子、藤田泰典、小島俊男、伊藤雅史、田中雅嗣、角間辰之、古賀靖敏. GDF-15&FGF-21 : ミトコンドリア病の新規バイオマーカー. 第 14 回日本ミトコンドリア学会年会. 2014.12.3-5 (福岡)
- 21) 深澤元晶, 臼田信光, 厚沢季美江, 古居みどり, 橋本隆, 山口清次: ラット初代培養線維芽細胞におけるミトコンドリア脂肪酸β酸化系酵素の局在とβ酸化能の評価. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014年11月
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得  
ミトコンドリア病診断用バイオマーカーとしてのGDF-15  
国内特許：特願2014-005391、  
国際特許：PCT/JP2015/50833
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし
- 15) 古賀 靖敏、ピルビン酸ナトリウム治療法開発チーム. ミトコンドリア脳筋症に合併する高乳酸血症に対するピルビン酸ナトリウム治療法の

資料 1

厚生労働科学研究 難治性疾患等実用化研究事業  
重点領域研究

# ピルビン酸ナトリウム

## 治験薬概要書(案)

研究代表者

久留米大学医学部小児科

教授 古賀靖敏

版番号 : 2.0 版

作成日 : 2015 年 3 月 19 日

- この治験薬概要書に記載された情報は、治験に参加いただく医療機関の方々、医療機関の長、治験責任医師、治験分担医師、治験協力者、治験薬管理者、治験審査委員会（治験審査委員会の外部委員を含む）に限定して提供するものです。
- 治験への参加を予定する患者さんから同意を取得する目的で必要事項を開示するなど、治験の実施上必要な場合を除き、本治験薬概要書に記載された情報を第三者に開示することはできません。

略語一覧:

略語	省略していない表現
ADH	alcohol dehydrogenase
ADP	アデノシン二リン酸 (adenosine diphosphate)
ALDH	acetaldehyde dehydrogenase
ATP	アデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate)
BPG	1,3-bisphosphoglycerate
CT	コンピュータ断層撮影 (computed tomography)
DCA	ジクロロ酢酸 (dichloroacetate)
eGFR	推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate)
FGF21	fibroblast growth factor 21
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
LDH	乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase)
L/P	乳酸/ピルビン酸 (lactate/pyruvate)
MCT	monocarboxylate transporter
MELA	mitochondrial myopathy, encephalopathy, and lactic acidosis
MELAS	mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes
MERRF	myoclonus epilepsy and ragged red fibers
MRI	磁気共鳴画像 (magnetic resonance imaging)
MRS	磁気共鳴分光法 (magnetic resonance spectroscopy)
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
NPMDS	Newcastle Pediatric Mitochondrial Disease Scale
PDHC	ピルビン酸脱水素酵素複合体 (pyruvate dehydrogenase complex)
PDHE	ピルビン酸脱水素酵素 (pyruvate dehydrogenase)
PDK	pyruvate dehydrogenase kinase
PGK	phosphoglycerate kinase
SSV	strongly SDH positive blood vessels
TCA	トリカルボン酸回路 (tricarboxylic acid)
<sup>99m</sup> Tc-ECD-SPECT	Technetium-99m Electronic Circular Dichroism Single Photon Emission Computed Tomography

## 目次

1. 序文 .....	- 1 -
1 の文献.....	- 1 -
2. 物理的、化学的及び薬剤学的性質並びに製剤組成.....	- 3 -
2.1 原薬.....	- 3 -
2.1.1 名称及び化学構造 .....	- 3 -
2.1.2 原薬の物理的・化学的性質.....	- 3 -
2.1.3 原薬の安定性及び貯法.....	- 4 -
2.2 製剤.....	- 4 -
3. 薬理試験 .....	- 5 -
3.1 効力を裏付ける薬理試験.....	- 5 -
3.1.1 過酸化水素の除去 .....	- 5 -
3.1.2 解糖系の活性化.....	- 5 -
3.1.3 細胞死の防止 .....	- 5 -
3.1.4 PDHCの賦活化 .....	- 6 -
3.1.5 アルコールの酸化 .....	- 6 -
3.1.6 尿素の合成.....	- 6 -
3.1.7 ミトコンドリア病の細胞モデルを用いた薬理試験 .....	- 7 -
3.2 安全性薬理試験 .....	- 7 -
3.2.1 要約.....	- 7 -
3.2.2 安全性薬理試験の成績一覧表.....	- 7 -
3.2.3 hERG 導入 CHO 細胞のカリウム電流に対する安全性薬理試験 .....	- 8 -
3.2.4 ラットの呼吸系に対する安全性薬理試験.....	- 8 -
3.2.5 覚醒下イヌの心血管系に対する安全性薬理試験.....	- 8 -
3 の文献.....	- 8 -
4. 薬物動態試験 .....	- 10 -
4.1 吸収.....	- 10 -
4.2 分布.....	- 11 -
4.3 代謝.....	- 13 -
4.4 排泄.....	- 13 -
4 の文献.....	- 14 -



5. 毒性試験 .....	- 15 -
5.1 要約.....	- 15 -
5.2 単回投与毒性試験.....	- 19 -
5.3 反復投与毒性試験.....	- 20 -
5.3.1 ラットを用いた2週間反復経口投与予備毒性試験.....	- 20 -
5.3.2 ラットを用いた4週間反復経口投与毒性及び4週間回復性試験.....	- 22 -
5.3.3 ラットを用いた13週間反復経口投与毒性及び4週間回復性試験.....	- 26 -
5.3.4 ラットを用いた塩化ナトリウムの4週間反復経口投与毒性試験.....	- 32 -
5.3.5 イヌ2週間反復経口投与毒性試験.....	- 34 -
5.3.6 イヌを用いた4週間反復経口投与毒性及び4週間回復性試験.....	- 36 -
5.4 幼若ラットを用いた7週間反復経口投与毒性及び4週間回復性試験.....	- 38 -
5.5 生殖毒性試験.....	- 41 -
5.5.1 ラットにおける経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験.....	- 41 -
5.5.2 ウサギにおける経口投与による胚・胎児発生への影響に関する予備試験.....	- 43 -
5.6 遺伝毒性試験.....	- 46 -
5.6.1 細菌を用いた復帰突然変異試験.....	- 46 -
5.6.2 <i>In vitro</i> 染色体異常試験.....	- 46 -
5.7 考察.....	- 47 -
5.7 局所刺激性試験.....	- 49 -
5.8 その他の毒性試験.....	- 49 -
5.9 毒性試験の報告書.....	- 49 -
6. 臨床試験成績.....	- 51 -
6.1 これまでの臨床研究.....	- 51 -
6.1.1 MELAS患者を対象としたコホート研究.....	- 51 -
6.1.2 ミトコンドリアDNA欠乏症によるLeigh脳症患者に対する有効性.....	- 51 -
6.1.3 ピルビン酸脱水素酵素PDHE1 $\alpha$ 欠損症によるLeigh脳症に対する有効性.....	- 52 -
6.1.4 チトクロームC酸化酵素欠損症によるLeigh脳症に対する有効性.....	- 52 -
6.1.5 ミトコンドリア病に伴う高乳酸血症に対する久留米大学の臨床研究.....	- 52 -
6.2 臨床第I相試験.....	- 58 -
6.3 安定同位元素を用いた薬物動態試験.....	- 59 -
6の引用文献.....	- 59 -
7. データの要約及び治験責任医師に対するガイダンス.....	- 60 -

7.1 剤形及び組成 .....	- 60 -
7.2 予定される効能・効果及び用法・用量 .....	- 60 -
7.2.1 予定される効能・効果 .....	- 60 -
7.2.2 予定される用法・用量 .....	- 60 -
7.3 臨床に関する項目 .....	- 60 -
7.3.1 使用上の注意 .....	- 60 -
7.3.2 過量投与 .....	- 60 -
7.3.3 有害事象 .....	- 60 -
7.4 治験薬の安定性 .....	- 61 -
7.5 治験薬の貯法及び取扱い .....	- 61 -

## 1. 序文

ミトコンドリア病は、ミトコンドリアのエネルギー産生系酵素の遺伝的異常により引き起こされる難治性疾患で、平成 14 年の全国調査では 740 名の存在が確認された<sup>1)</sup>。本疾患は、平成 21 年 10 月に特定疾患研究事業の医療援助対象疾患（疾病区分 52）に選定され、平成 23 年度の医療券交付件数は 946 件となっている希少疾病難病である<sup>2)</sup>。ミトコンドリア病の自然歴に関する系統的な疫学研究はほとんど実施されていない。一番多い病型である mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS) では、日本での 5 年間のコホート研究から、MELAS の平均死亡年齢は小児型で 15.3 歳、成人型で 40 歳と判明し、進行性の重篤な疾患であることが示された<sup>1)</sup>。

ミトコンドリア病では、遺伝的な電子伝達系酵素の低下により、細胞内の酸化的リン酸化系が障害される結果、高乳酸血症を併発することが多い<sup>3)</sup>。乳酸濃度の上昇は神経系に悪影響を及ぼすため、臨床症状が重症化する<sup>4)</sup>。実際、MELAS 及び myoclonus epilepsy and ragged red fibers (MERRF) 患者を対象とした臨床研究では、髄液中の乳酸濃度が神経障害の程度と相関することが報告されており、髄液の乳酸値が高い患者では予後が悪いことが示されている<sup>5)</sup>。さらに、高乳酸血症を示すミトコンドリア病の動物モデル（ミトコンドリア DNA の大欠失）では、ジクロロ酢酸（DCA）を用いて高乳酸血症を治療すると、寿命が延びることが報告され<sup>6)</sup>、高乳酸血症を治療することによって疾患の重症度及び進行を予防する可能性が示された。しかし、高乳酸血症の治療法は未だ世界中に存在せず、治療薬の開発が熱望されている。

ピルビン酸は、体内に存在する 3 炭素骨格を持つもので、安定同位元素を用いた研究では、体内では速やかに代謝され（6 時間以内）、炭酸ガスと水に代謝される<sup>7)</sup>。ピルビン酸ナトリウムは、ミトコンドリア脳筋症の細胞モデルで細胞死を防ぐ効果があり<sup>8)</sup>、臨床研究でも使用され、副作用のために現在では使用されなくなった DCA<sup>9)</sup>に勝る乳酸の軽減効果と臨床的有効性があることを報告した<sup>10-12)</sup>。日本では、日本小児科学会の 2 分科学会（日本小児神経学会、日本先天代謝異常学会）及び日本ミトコンドリア学会から開発を要望する薬剤として指定されている。

## 1 の文献

1. Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Kakuma T, Koga Y, Taro Matsuoka for MELAS Study Group in Japan. MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820: 619–624.
2. 難病情報センター: (<http://www.nanbyou.or.jp/entry/1356>) 特定疾患医療受給者証交付件数
3. 古賀靖敏;ミトコンドリア病の診断と治療、*脳と発達* 2010;42:46–51.

4. Kaufmann P, Sano S, Jhung SS, Engelstad K, Mitsis E, Mao X, Shanske S, Hirano H, DiMauro S, De Vivo D.C. Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS. *Neurology* 2004;62:1297–1302.
5. Kaufmann P, Sano S, Jhung SS, Engelstad K, Mitsis E, Mao X, Shanske S, Hirano H, DiMauro S, De Vivo D.C. Natural history of MELAS associated with mitochondrial DNA m.3243A>G genotype. *Neurology* 2011;77:1965–1971.
6. Ogasawara E, Nakada K, and Hayashi J. Lactic acidemia in the pathogenesis of mice carrying mitochondrial DNA with a deletion. *Human Molecular Genetics*, 2010;19: 3179–3189
7. Wu IC, Ohsawa I, Fuku N, and Tanaka M. Metabolic analysis of <sup>13</sup>C-labeled pyruvate for noninvasive assessment of mitochondrial function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010;1201: 111–120.
8. King MP, Koga Y, Davidson M and Schon EA. Defects in Mitochondrial Protein Synthesis and Respiratory Chain Activity Segregate with the tRNALeu(UUR) Mutation Associated with Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Strokeliike Episodes. *Molecular and Cellular Biology*. 1992;10: 480–490.
9. Kaufmann P, Engelstad K, Wei Y, Jhung S, Sano MC, Shungu DC, Millar WS, Hong X, Gooch CL, Mao X, Pascual JM, Hirano M, Stacpoole PW, DiMauro S, De Vivo DC. Dichloroacetate causes toxic neuropathy in MELAS: a randomized, controlled clinical trial. *Neurology*. 2006;66:324–30.
10. Saito K, Kimura N, Oda N, Shimomura H, Kumada T, Miyajima T, Murayama K, Tanaka M, Fujii T. Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome. *Biochim Biophys Acta (genera)l.* 2012;1820:632–636.
11. Koga Y, Povalko N, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Naito E, Tanaka M. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1  $\alpha$  gene. *Brain Dev.* 2012;34:87–91.
12. Komaki H, Nishigaki Y, Fuku N, Hosoya H, Murayama K, Ohtake A, Goto Y, Wakamoto H, Koga Y, Tanaka M. Pyruvate therapy for Leigh syndrome due to cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1800:313–315.