

表 5-10 ラット胚・胎児発生試験の成績

項目		ラット [CrI:CD (SD)]、投与開始時 12~14 週齢、雌				
動物種 (系統)、週齢、性別		ラット [CrI:CD (SD)]、投与開始時 12~14 週齢、雌				
投与方法		1 日 1 回、妊娠 6~17 日、経口投与、10 mL/kg				
投与量 (mg/kg/日)		0*1	1000	2500	6250	
妊娠動物数		20	19	19	20	
トキシコキネティクス*2	GD6	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-	442	431	536
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-	26.7	23.8	29.5
		T _{max} (h)	-	0.75	3.0	2.0
	GD17	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	-	407	426	442
		C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-	17.8	21.4	21.9
		T _{max} (h)	-	3.0	2.8	3.0
母動物						
死亡動物		0/0	0/0	0/0	0/0	
一般状態		-	-	-	-	
体重		-	-	-	-	
体重増加量		-	-	-	-	
摂餌量		-	-	↓	-	
剖検		-	-	-	-	
黄体数、着床数、着床率		-	-	-	-	
胎児						
生存胎児数、死亡胚・胎児数、胎児生存率、胚・胎児死亡率		-	-	-	-	
胎児体重		-	-	-	-	
胎盤重量		-	-	-	-	
胎盤所見		-	-	-	-	
胎児外表所見		-	-	-	-	
胎児内臓所見		-	-	-	-	
胎児骨格所見		-	-	-	-	

*1: 注射用水

*2: 各ポイント 3 例

- : 特記すべき所見なし

↓ : 有意な変化 (p<0.05 または p<0.01)

NA : Not applicable

GD : 妊娠日

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

[SBL743-028, GLP 非適用]

[目的]

ピルビン酸ナトリウムを胚の着床から胎児硬口蓋の閉鎖までの期間(妊娠 6 日から 18 日)

に妊娠ウサギに経口投与し、妊娠動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を調べる。また、そのときの全身的曝露についても評価する。

[方法]

ピルビン酸ナトリウムを妊娠Kbl:NZW ウサギ(各群雌6匹)に1000、2500及び6250(4000) mg/kg/日の用量で、胚の着床から胎児硬口蓋の閉鎖までの期間(妊娠6日から18日)1日1回経口投与し、母動物の一般状態観察、体重測定、摂餌量測定を行い、妊娠28日に剖検を行って胎児を摘出した。胎児は生死、性別、胎児体重を調べ、外表、内臓、骨格検査を実施した。なお、対照群には注射用水を被験物質群と同様の方法で投与した。

なお、6250 mg/kg 群では、妊娠6日に2例に対して1回投与を行ったところ1例が死亡し、他の1例は横臥位がみられたため瀕死と判断した。よって、6250 mg/kg 群の投与量を4000 mg/kg/日に変更して、残りの4例に投与を実施した。

[成績]

試験成績の概要を表5-11に示した。6250 mg/kg の用量で妊娠6日に投与を実施した2例について、投与後3~5時間の間に1例で死亡が確認され、他の1例では横臥位が観察された。横臥位が観察された動物は瀕死と判断し、剖検を行った。剖検では2例ともに胃に赤色巣がみられ、瀕死動物では肺に退縮不全がみられた。

4000 mg/kg 群では、投与開始以降、全例で摂餌量の減少がみられ、4例中1例で妊娠28日に流産が確認された。同群では上記以外に一般状態に異常はみられず、体重、体重増加量、剖検所見、黄体数、着床数及び着床率に被験物質投与の影響はみられなかった。

2500 mg/kg 群では、投与開始以降、全例で摂餌量の減少傾向がみられた。同群では一般状態、体重、体重増加量、剖検所見、黄体数、着床数及び着床率に被験物質投与の影響はみられなかった。

1000 mg/kg 群では、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、剖検所見、黄体数、着床数及び着床率に被験物質投与の影響はみられなかった。

胎児については、4000、2500及び1000 mg/kg のいずれの群においても、生存胎児数、胎児生存率、死亡胚・胎児数、胚・胎児死亡率、性比、胎児体重ならびに胎盤、胎児外表、内臓及び骨格所見に被験物質投与の影響はみられなかった。

トキシコキネティクスでは、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は、投与量の増加に伴って増加したが、用量比例性はみられず、反復投与の影響もほぼみられなかった。

[結論]

ピルビン酸ナトリウムの妊娠動物に対する一般毒性学的無毒性量は1000 mg/kg/日、妊娠動物の生殖機能に対する無毒性量は2500 mg/kg/日及び胚・胎児発生に対する無毒性量は

4000 mg/kg/日であると考えられた。

表 5-11 ウサギ胚・胎児発生予備試験の成績

項目		ウサギ (Kbl:NZW)、投与開始時 18 週齢、雌				
動物種 (系統)、週齢、性別		ウサギ (Kbl:NZW)、投与開始時 18 週齢、雌				
投与方法		1 日 1 回、妊娠 6~18 日、経口投与、10 mL/kg				
投与量 (mg/kg/日)		0* ¹	1000	2500	4000	6250
妊娠動物数		6	6	6	4	2
トキシコキネテ イクス* ² (GD6)	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	NA	326	512	766	NA
	C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	NA	60.0	114	158	NA
	T _{max} (h)	NA	0.25	0.25	0.50	NA
母動物						
死亡動物		0	0	0	0	1 (GD6)
瀕死動物		0	0	0	0	1 (GD6)
流産動物		0	0	0	1 (GD28)	0
一般状態		-	-	-	-	横臥位 1 (GD6)
体重		-	-	-	-	NA
体重増加量		-	-	-	-	NA
摂餌量測定		-	-	↓ (GD6~28)	↓ (GD6~28)	NA
剖検		-	-	-	-	胃: 赤色巢 2 肺: 退縮不全 1
黄体数、着床数、着床率		-	-	-	-	NA
胎児						
生存胎児数、死亡胚・胎児数、胎児生存率、胚・胎児死亡率		-	-	-	-	NA
胎児体重		-	-	-	-	NA
胎盤所見		-	-	-	-	NA
胎児外表所見		-	-	-	-	NA
胎児内臓所見		-	-	-	-	NA
胎児骨格所見		-	-	-	-	NA

*¹: 注射用水

*²: 各ポイント 3 例

-: 特記すべき所見なし

↓: 有意な変化 ($p < 0.05$ または $p < 0.01$)

NA: Not applicable

GD: 妊娠日

5.6 遺伝毒性試験

5.6.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

[SBL743-007]

[目的]

ピルビン酸ナトリウムの遺伝子突然変異誘発性の有無を評価する。

[方法]

細菌を用いる復帰突然変異試験をネズミチフス菌 (*S. typhimurium*) TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び大腸菌 (*E. coli*) WP2*uvrA* の計 5 菌株を用いて、代謝活性化系 (S9 mix) の存在下及び非存在下のプレインキュベーション法により実施した。

[成績]

78.1-5000 µg/plate の用量で、ピルビン酸ナトリウムは、代謝活性化系の有無に関わらず、いずれの菌株においても、陰性対照 (注射用水処理群) の 2 倍以上、かつ用量依存的に復帰変異コロニー数を増加させなかった。

[結論]

ピルビン酸ナトリウムは、細菌に対して遺伝子突然変異誘発性を示さないと結論した。

5.6.2 *In vitro* 染色体異常試験

[SBL743-008]

[目的]

ピルビン酸ナトリウムの染色体異常誘発性の有無を評価する。

[方法]

CHL/IU 細胞 (新生チャイニーズ・ハムスター雌肺由来線維芽細胞株) を用いる染色体異常試験を、代謝活性化系 (S9 mix) の存在下及び非存在下の短時間 (6 時間) 処理法、代謝活性化系の非存在下の 24 時間連続処理法の 2 つの処理条件で実施した。染色体異常試験の処理用量はすべての処理条件で 125、250 及び 500 µg/mL の 3 段階を設定し、観察用量としてすべての用量を選択した。

[成績]

いずれの処理条件においても、ピルビン酸ナトリウムは、陰性対照 (注射用水処理群) と比較し、染色体の構造異常及び数的異常を有する細胞の出現数を有意に増加させなかった。

〔結論〕

ピルビン酸ナトリウムは、CHL/IU 細胞に対して染色体異常誘発性を示さないと結論した。

5.7 考察

ラット及びイヌにおいて、ピルビン酸ナトリウムの急性毒性を評価した結果、いずれの動物種においても死亡はみられず、一般状態の変化もみられなかった。このことから、ラット及びイヌにおける概略の致死量は 6250 mg/kg を上回る量と判断した。

ラットにピルビン酸ナトリウムの 1000、2500 及び 6250 mg/kg/日を 2 週間 (GLP 非適用)、4 または 13 週間反復経口投与した試験では、一般状態、一般症状及び行動 (4 週試験のみ)、眼検査及び血液学的検査ではピルビン酸ナトリウム投与の影響と考えられる所見はいずれの群にもみられなかった。体重、摂餌量、尿検査、血液生化学的検査及び器官重量において種々の変化が被験物質投与各群で散見されたが、被験物質の大量投与または被験物質投与により引き起こされた飲水量及び尿量の増加に伴い発生した二次的変化であると判断した。剖検及び病理組織学的検査において、胃局所の変化が被験物質投与各群でみられたが、被験物質の刺激性による変化あるいは刺激に対する反応性の変化であると考えられた。いずれの検査においても全身性の変化はみられなかった。投与期間の延長に伴う、全身毒性の発現は認められなかった。また、投与期間中にみられた変化は、4 週間の休薬により回復するか回復傾向がみられた。

GLP 非適用にて、ナトリウム換算でピルビン酸ナトリウム (1000、2500、6250 mg/kg/日) と同量の塩化ナトリウム (540、1350、3375 mg/kg/日) をラットに 4 週間反復経口投与した試験では、一般状態及び血液学的検査では、塩化ナトリウムの影響と考えられる所見はいずれの群にもみられなかった。体重、摂餌量、尿検査及び血液生化学的検査における種々の変化及び剖検、病理組織学的検査における腎臓の変化が散見されたが、塩化ナトリウムの大量投与または塩化ナトリウム投与により引き起こされた飲水量及び尿量の増加に伴い発生した二次的変化であると判断した。剖検及び病理組織学的検査において、胃局所の変化がみられたが、被験物質の刺激性による変化あるいは刺激に対する反応性の変化であると考えられ、ピルビン酸ナトリウム投与時と比較して、塩化ナトリウム投与のほうが症状が強い傾向がみられた。

ピルビン酸ナトリウムの 13 週間試験内にて、塩化ナトリウムの 13 週間投与試験を実施したところ、3375 mg/kg/日の投与によって、呼吸音の異常などがみられ、投与 33 日目以降に死亡が発現した。病理組織学的検査では気管の粘膜の水腫がみられていることから、被験物質の刺激に伴う変化の可能性が考えられた。その他の胃の変化については死亡例では

変化が増強しているものの、その他の動物では投与期間の延長に伴う明らかな違いはみられなかった。

イヌにピルビン酸ナトリウムの 1000、2500 及び 6250 mg/kg/日を 2 または 4 週間反復経口投与した試験では、一般状態、体重、摂餌量、眼検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量では、ピルビン酸ナトリウム投与の影響と考えられる所見はいずれの群にもみられなかった。尿検査及び血液生化学的検査では、被験物質投与各群でナトリウムの高値が散見されたが、ナトリウム塩である被験物質の大量投与による変化であると考えられ、毒性学的な意義は少ないと判断した。剖検及び病理組織学的検査では、胃または十二指腸、空腸、回腸での変化がみられたが、被験物質の刺激性による変化あるいは刺激に対する反応性の変化であると考えられた。また、投与期間中にみられた変化は、4 週間の休薬により回復した。

TK パラメータでは、ラット及びイヌにおいて C_{max} 及び AUC_{0-24h} は雌雄共に投与量の増加に伴い増加する傾向がみられたが、用量比より小さな増加であり、雌雄差はみられなかった。また、 T_{max} では用量及び雌雄差による明らかな変化はみられなかった。また、いずれのパラメータにも反復投与による蓄積の傾向はみられなかった。

ピルビン酸ナトリウムを幼若ラットに生後 4 日から 7 週間、1000、2000 及び 4000 mg/kg/日の用量で投与した試験では、4000 mg/kg/日群で投与開始翌々日（生後 6 日）までにほとんどの動物の死亡が確認された。2000 及び 1000 mg/kg/日群では一般状態、一般分化、機能発達、生殖器の形態分化、血液学的検査及び骨長ではピルビン酸ナトリウム投与の影響はみられなかった。体重、摂餌量、血液生化学的検査及び器官重量において種々の変化が散見されたが、被験物質の大量投与または被験物質投与により引き起こされた飲水量及び尿量の増加に伴い発生した二次的変化であると判断した。剖検及び病理組織学的検査において、胃局所の変化がみられたが、被験物質の刺激性による変化あるいは刺激に対する反応性の変化であると考えられた。いずれの検査においても全身性の変化はみられなかった。また、投与期間中にみられた変化は、4 週間の休薬により回復するか回復傾向がみられた。なお、4000 mg/kg/日群の死亡は、胃内に乳汁しか存在しない状態でナトリウムが大量投与されたために起こった変化であり、乳児期に特異的な変化と考えられた。

TK パラメータでは、 C_{max} において生後 4 日の雌雄で用量比以上の増加がみられたが、生後 4 日の AUC_{0-24h} ならびに生後 52 日の C_{max} 及び AUC_{0-24h} では投与量による明確な差はみられなかった。また、雌雄による差はみられず、7 週間反復経口投与による蓄積の傾向はみられなかった。 T_{max} には用量差及び雌雄差はみられなかった。

ラットにおける胚・胎児発生に関する試験では、6250 mg/kg/日群で投与期間中に摂餌量の減少がみられたが、一般状態、体重、体重増加量、剖検ではピルビン酸ナトリウム投与の影響はみられなかった。2500 及び 1000 mg/kg/日群では母動物のいずれの検査でもピルビン酸ナトリウム投与の影響はみられなかった。また、いずれの群においても胎児の生存性、性別、胎児体重、胎盤重量、外表、内臓、骨格に影響はみられなかった。TK パラメータでは、 C_{max} 及び AUC_{0-24h} は、投与量の増加に伴う変化はみられず、反復投与の影響もほぼみられなかった。

遺伝毒性については *in vitro* の CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験、ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験で検討した。ピルビン酸ナトリウムの遺伝子突然変異誘発性及び染色体異常誘発性は認められなかった。

以上から、ラット及びイヌにおける反復投与試験ではピルビン酸ナトリウムの刺激性による胃局所での変化が 1000 mg/kg/日群からみられたため、無毒性量は 1000 mg/kg/日を下回る用量となったが、全身毒性は 6250 mg/kg/日群でもみられなかった。投与期間中にみられた変化はいずれも休薬により回復するまたは回復傾向がみられるものであった。また、ラットにおける塩化ナトリウムの反復投与試験ではこれらの症状と同様の変化が散見され、程度は塩化ナトリウム投与時のほうが強い傾向がみられた。このことから、ピルビン酸ナトリウムでみられた変化については、ピルビン酸ナトリウムに特有な毒性ではなく、ナトリウムによって引き起こされた変化であると考えられた。

5.7 局所刺激性試験

該当せず。

5.8 その他の毒性試験

該当せず。

5.9 毒性試験の報告書

- [SBL743-003] 岡谷 秀明. ピルビン酸ナトリウムのラットにおける 2 週間反復経口投与予備毒性試験. (株)新日本科学. 最終報告書. 2013 年
- [SBL743-004] 楠元 正吾. ピルビン酸ナトリウムのビーグルにおける 2 週間反復経口投与予備毒性試験. (株)新日本科学. 最終報告書. 2013 年
- [SBL743-009] 岡谷 秀明. ピルビン酸ナトリウムのラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験. (株)新日本科学. 最終報告書. 2013 年
- [SBL743-031] 岡谷 秀明. ピルビン酸ナトリウムのラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試

験及び4週間回復性試験。(株)新日本科学。最終報告書。2014年[SBL743-022] 岡谷秀明。塩化ナトリウムのラットにおける4週間反復経口投与毒性試験。(株)新日本科学。最終報告書。2013年

[SBL743-010] 楠元 正吾。ピルビン酸ナトリウムのビーグルにおける4週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験。(株)新日本科学。最終報告書。2013年

[SBL743-025] 立石 大志。ピルビン酸ナトリウムの幼若ラットにおける7週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験。(株)新日本科学。最終報告書。2014年

[SBL743-026] 立石 大志。ピルビン酸ナトリウムの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。(株)新日本科学。最終報告書。2014年

[SBL743-028] 立石 大志。ピルビン酸ナトリウムの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。(株)新日本科学。最終報告書。2013年

[SBL743-007] 林 亜耶。ピルビン酸ナトリウムの細菌を用いる復帰突然変異試験。(株)新日本科学。最終報告書。2013年

[SBL743-008] 林 亜耶。ピルビン酸ナトリウムのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験。(株)新日本科学。最終報告書。2013年

6. 臨床試験成績

6.1 これまでの臨床研究

6.1.1 MELAS 患者を対象としたコホート研究

MELAS 患者では、重症度と髄液中の乳酸濃度との関係が報告されている¹⁾。この研究では、慢性的に高乳酸血症を来している A3243G 変異を有する MELAS 患者 34 家系の 91 名及び A8344G 変異を有する MERRF の 2 家系 15 名を対象とした。対象となった患者は、第 1 群：父系家系に属する人 (control)、第 2 群：母系家系に属し、何ら神経学的に異常を認めない人 (asymptomatic)、第 3 群：神経学的症状を有するものの、MELAS または MERRF の診断を満たす症状が揃っていない人 (oligosymptomatic)、第 4 群：MELAS または MERRF の診断を満たす人 (symptomatic) の 4 群に分け、神経心理学的検査、MRS、白血球の遺伝子の含量を測定した。

その結果、症状を呈する MELAS の家系では、診断基準を満たす典型的な患者ほど、髄液中の乳酸値が高値で、その程度は、第 4 群 > 第 3 群 > 第 2 群 = 第 1 群の順で高かった。このことから、臨床症状の重症度は髄液中の乳酸値と相関すると考えられた。

続いて、A3243G を有し、少なくとも 2 回の受診を行った 35 家系 85 名の患者を対象とした前向きのコホート研究が実施された²⁾。対象となった患者のうち、31 名は MELAS の診断基準を満たし、54 名はそのキャリアーであった。その結果、MELAS 患者では、診察所見、神経精神科的検査、日常生活のスコアのいずれも時間経過とともに悪化したが、キャリアーの親族ではそうした傾向が診られなかった。また、側脳室の髄液中の乳酸値は MELAS の病気の進行とともに蓄積し、髄液中の乳酸値が高値である患者の平均余命は 8.65 年と、MELAS 患者全体の余命 16.9 年の約半分であった。

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

ミトコンドリア DNA 欠乏症により Leigh 脳症と診断された患者を対象として、胃管チューブからピルビン酸ナトリウムを 0.5 g/kg/day (1 日 3 分割) の用法・用量で投与し、臨床的効果を検討した³⁾。患者の臨床的評価は、Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale (NPMDS) と徒手筋力テストで行った。ただし、この患者は重度の発達遅滞を来しているため、NPMDS だけでなく、舌の突出、ウインク、楽器をスティックでたたく回数なども評価した。同時に血中の乳酸、ピルビン酸値もモニターした。

その結果、ピルビン酸ナトリウムを 1 ヶ月間投与した時点で NPMDS のセクション IV の QOL は 17 から 13 へ改善した。さらに、患者は前腕、下肢を上げることができるようになり、指示に従って行う動作も回数も増して力強くなった。ただし、血中の乳酸濃度、ピルビン酸濃度、L/P 比には変化がなかった。

6.1.3 ピルビン酸脱水素酵素 PDHE1 α 欠損症による Leigh 脳症に対する有効性

ピルビン酸脱水素酵素 E1 α 欠損による Leigh 脳症で新生児期から入院した患者にジクロロ酢酸 25 mg/kg/day を投与した後、ジクロロ酢酸を中止して、ピルビン酸 Na として 0.5 g/kg/day を 1 日 3 回に分けて投与した⁴⁾。経過観察中は、臨床的所見（痙攣の回数等）及び生化学的所見（血漿及び髄液中の乳酸・ピルビン酸濃度等）を評価した。

その結果、ジクロロ酢酸投与中は血漿中の乳酸及びピルビン酸濃度が軽度に低下したものの、髄液中の乳酸及びピルビン酸濃度には低下が認められなかった。臨床的には痙攣が頻発し、1 日の痙攣回数は 10 回以上であった。これに対して、ピルビン酸 Na の投与後は痙攣が数ヶ月に 1 回となり、脳波も著明に改善した。さらに、患者はお座りができるようになり、呼びかけに対する表情も豊かになり、歌が歌え、自分で食事ができるようになった（それまではチューブ栄養が主体であった）。また、血漿中の乳酸・ピルビン酸・アラニン濃度がいずれも低下し、髄液中の乳酸及びピルビン酸濃度も低下した。

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

チトクローム C 酸化酵素欠損症による Leigh 脳症を来した患者にピルビン酸 Na を投与し、有効性を検討した⁵⁾。患者は 11 歳の女児で、歩行時の転倒と徒競走が遅いことを主訴に受診し、磁気共鳴画像（MRI）の結果から Leigh 脳症と診断された。

本患者には 8 歳時からコエンザイム Q10 が経口投与されていたが、運動発達退行が進行し、10 歳時には心機能が低下した。血漿中の乳酸及びピルビン酸濃度はそれぞれ 20.5, 1.13 mg/dL で、乳酸/ピルビン酸比（L/P 比）は 18.1 となった。しかし、11 歳からピルビン酸 Na を 0.5 g/kg/day の用量で 1 日 3 回に分けて経口投与した結果、血漿中の乳酸及びピルビン酸濃度はそれぞれ 10.3, 0.88 mg/dL に低下し、L/P 比も 11.7 に低下した。さらに、体育の授業に参加できるようになり、神経学的徴候は改善しなかったものの、1 年後には心機能が正常化した。

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

目的

ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対してピルビン酸ナトリウムを投与し、高乳酸血症の低減に関する有効性を評価する。

対象集団

久留米大学小児科でミトコンドリア病の治療を受けている外来患者のうち、以下の基準を満たす患者を対象とした。

- 1) 臨床筋病理学的に明らかなミトコンドリア病と診断された患者
- 2) 既知の遺伝子異常が判明している患者

- 3) 高乳酸血症（乳酸値が 2.5 mmol/L 以上）の患者
- 4) 定期的な採血と臨床的評価スケールが聴取出来る患者

ただし、以下のいずれかに該当する患者は対象から除外した。

- 1) 糖尿病を合併している患者
- 2) 敗血症を合併している患者
- 3) 重篤な肝機能、腎機能、心機能障害を有する患者
- 4) 薬物過敏症の患者
- 5) 妊娠中、授乳中または妊娠の可能性のある患者
- 6) 他の臨床試験の終了後 6 ヶ月以内の患者
- 7) その他、担当医師が対象として不相当と判断した患者

投与方法

ピルビン酸ナトリウムの試験開始時の投与量は 0.25 g/kg/日とし、1 日 3 回に分割して経口投与した。用時には、水またはジュース等で溶解して服薬することとした。その後、2 倍量の 0.5 g/kg/日（3 分割）に増量し、さらに、安全性上問題がない場合には 1.0 g/kg/日（3 分割）に増量した。

評価方法

血液生化学的には、血中の乳酸及びピルビン酸の濃度を測定した。また、臨床症状の改善は、ミトコンドリア病重症度スコア (JMDRS) 及び New Catscle Mitochondrial Disease Adult Scale (NMDAS) を用いて評価した。

結果

本研究には 13 名の患者が組み入れられた。これら 13 名の患背景を表 6-1 に示す。

表 6-1 患者背景

患者番号	年齢 発症時/現在	研究参 加時の 年齢	性別	診断名
1	1m/8y	2	M	Leigh
2	38y/56y	52	M	cardiomyopathy
3	14y/22y	18	M	MELAS/cardio
4	45y/50y	48	M	myopathy
5	58y/64y	62	M	myopathy
6	14y/24y	22	F	MELAS terminal
7	12y/22y	20	F	MELAS terminal
8	3y/9y	6	M	MELAS/Leigh
9	52y/61y	58	M	myopathy
10	18y/26y	22	F	MELAS
11	13y/19y	16	F	MELAS
12	28y/35y	32	M	KSS
13	15y/22y	21	F	KSS

試験開始前及びピルビン酸ナトリウム 0.5 g/kg/日投与開始後 3 ヶ月の JMDRS の変化を表 6-2 に示す。セクション 1 及び 2 の合計スコアの中央値は、投与前 21.0 (範囲 2-53) から 3 ヶ月後 15.0 (範囲 1-46) へと改善した。

表 6-2 ピルビン酸ナトリウム 0.5 g/kg/日投与後の JMDRS の変化

項目	測定時期	n	最小値	最大値	平均値	標準偏差	中央値
セクション 1,2 の合計	投与前	13	2	53	24.2	18.33	21.0
	3 ヶ月後	13	1	46	21.2	18.11	15.0
	変化量	13	-12	0	-3.0	4.00	-1.0
全セクションの合計	投与前	13	5	70	34.1	24.96	27.0
	3 ヶ月後	13	1	70	30.7	25.41	24.0
	変化量	13	-14	0	-3.4	4.37	-1.0

試験開始前及びピルビン酸ナトリウム 0.5 g/kg/日投与開始後 3 ヶ月の NMDAS の変化を表 6-3 に示す。セクション 1~3 のうち、投与後に大きく変化したのはセクション 2 で、その合計の中央値は、投与前 12.0 (範囲 2-41) から 3 ヶ月後 8.0 (範囲 2-41) へと改善した。

表 6-3 ピルビン酸ナトリウム 0.5 g/kg/日投与後の NMDAS の変化

項目	測定時期	n	最小値	最大値	平均値	標準偏差	中央値
セクション1の合計	投与前	13	2	50	22.3	18.00	16.0
	3ヶ月後	13	2	50	20.8	18.32	16.0
	変化量	13	-9	0	-1.5	2.67	0.0
セクション2の合計	投与前	13	2	41	15.0	11.73	12.0
	3ヶ月後	13	2	41	13.8	12.50	8.0
	変化量	13	-7	1	-1.2	2.45	0.0
セクション3の合計	投与前	13	2	50	19.9	16.36	13.0
	3ヶ月後	13	1	50	19.6	16.63	13.0
	変化量	13	-1	0	-0.3	0.48	0.0
全セクションの合計	投与前	13	8	141	57.2	43.76	41.0
	3ヶ月後	13	8	141	54.2	45.27	30.0
	変化量	13	-17	1	-3.1	5.27	0.0

試験開始前及びピルビン酸ナトリウム 0.5 g/kg/日投与開始後 3 ヶ月の血中の乳酸及びピルビン酸濃度の変化を表 6-4 に示す。乳酸濃度の平均値は投与前 50.65 (SD 12.082) から 3 ヶ月後 35.51 (SD 11.102) ng/mL、ピルビン酸濃度の平均値は投与前 2.142 (SD 1.0152) から 3 ヶ月後 1.402 (SD 0.7499) ng/mL へといずれも低下した。

表 6-4 ピルビン酸ナトリウム 0.5 g/kg/日投与後の乳酸及びピルビン酸の変化

項目	測定時期	n	最小値	最大値	平均値	標準偏差	中央値
乳酸 (ng/mL)	投与前	13	31.8	69.6	50.65	12.082	47.20
	3ヶ月後	13	15.2	51.2	35.51	11.102	37.90
	変化量	13	-26.6	-0.8	-15.14	8.574	-17.80
ピルビン酸 (ng/mL)	投与前	13	1.03	5.18	2.142	1.0152	1.990
	3ヶ月後	13	0.79	3.80	1.402	0.7499	1.250
	変化量	13	-1.38	0.09	-0.740	0.5106	-0.740

安全性

ピルビン酸ナトリウムが最初の8名に投与された段階での有害事象及び処置を表6-5に示す。本試験では6名に1.0 g/kg/dayが投与され、その結果、6名すべてに下痢、四肢又は顔面のむくみといった有害事象が発現した。このうち、被験者No.2ではむくみがひどく、投与後3日で脛が開かないくらいに腫れ、指もグローブのようになった。この被験者は肥大型心筋

症を合併しており、心機能の低下が原因で高度のむくみが発現したものと考えられた。この他の被験者では有害事象が軽度であった。

表 6-5 有害事象の一覧（8名を組み入れた時点での集計）

No.	投与量	投与期間	有害事象	処置
1	0.25	1ヶ月	重度の発達遅滞児で、味に関しては不明	なし
	0.5	56ヶ月	特記すべき所見なし	なし
	1	1ヶ月	投与後2週間で嘔、四肢の軽度のむくみが発現。投与は1ヶ月継続	なし・経過観察
2	0.25	1ヶ月	味が悪い。それ以外は特になし	なし
	0.5	23ヶ月	苦みのある塩味。飲みだして軽い軟便があったが、3日で自然回復	なし
	1	7日	投与後3日で嘔が開かないくらい浮腫状に腫れ、四肢末端の指もグローブのようになり、把握できなくなった。便性がやや泥状から水様下痢となる回数が増加した。	0.5 g/kg/day に減量。 浮腫はラシックス、アルダクトンの使用で消失。 下痢にはタンナルビン、ビオフェルミンを処方。
3	0.25	1ヶ月	味が悪いのみ	なし
	0.5	23ヶ月	服薬後の軽い胸焼け	なし
	1	3日	四肢・顔面のむくみが3日目から出現、泥状から水様下痢である。内服量の嵩高と四肢のむくみのため、3日で減量した。	0.5 g/kg/day に減量。 ラシックス、アルダクトン、タンナルビン、ビオフェルミン使用。
4	0.25	1ヶ月	なし	なし
	0.5	22ヶ月	なし	なし
	1	1ヶ月	服薬後1ヶ月して、顔面の軽度のむくみ、便性がやや泥状から水様下痢となる回数が増加した。	むくみや下痢のために被験薬は1ヶ月で中止。経過観察
5	0.25	1ヶ月	なし	なし
	0.5	22ヶ月	なし	なし
	1	1ヶ月	服薬後1ヶ月して、顔面の軽度のむくみ、便性がやや泥状から水様下痢となる回数が増加した	むくみや下痢のために被験薬は1ヶ月で中止。経過観察
6	0.25	1ヶ月	なし	なし

	0.5	17ヶ月	なし	なし
	1	使用せず	-	-
7	0.25	1ヶ月	なし	なし
	0.5	17ヶ月	なし	なし
	1	使用せず	-	-
8	0.25	1ヶ月	なし	なし
	0.5	16ヶ月	なし	なし
	1	1ヶ月	服薬後約3週間で、四肢、顔面の軽度のむくみと軟便傾向あり	被験薬は1ヶ月で中止。ラシックス、アルダクトン、タンナルビン、ビオフィルミン使用。

投与量の単位：g/kg/day

6.2 臨床第 I 相試験

6.3 安定同位元素を用いた薬物動態試験

ピルビン酸の1位の炭素を放射性同位元素 [$1-^{13}\text{C}$] で標識した後、ヒトにピルビン酸ナトリウムとして100 mgを50 mLの水に溶解して絶食下で投与すると、呼気中に CO_2 として回収される [$1-^{13}\text{C}$] の割合は投与後約20分でピークに達した⁶⁾。一方、50 gのブドウ糖摂取後60分にピルビン酸ナトリウム100 mgを50 mLの水に溶解して投与すると、呼気中に回収される [$1-^{13}\text{C}$] の割合は投与後60分でピークとなる。ピルビン酸はピルビン酸脱水素酵素によってアセチルCoAへと代謝されるが、このときに1位の炭素は CO_2 となり、呼気中に排出される。このことから、糖負荷時にはピルビン酸脱水素酵素の活性が阻害されると考えられた。

一方、ピルビン酸の2位及び3位の炭素は、ピルビン酸脱水素酵素複合体によってそれぞれアセチルCoAの1位及び2位の炭素へと変換される。アセチルCoAはクエン酸サイクル内でオキサロ酢酸へと変換され、その際に、これらの炭素は CO_2 として呼気中に排出される。したがって、ピルビン酸の2位及び3位の炭素は1位の炭素よりも緩徐に呼気中に排出され、2位及び3位の炭素（ [$2-^{13}\text{C}$] 及び [$3-^{13}\text{C}$] ）の回収率はそれぞれ投与後30分及び60分にピークとなった。

6 の引用文献

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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 α gene. *Brain Dev.* 2012;34:87–91.
5. 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.
6. Wu IC, Ohsawa I, Fuku N, Tanaka M. Metabolic analysis of ^{13}C -labeled pyruvate for noninvasive assessment of mitochondrial function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010;1201: 111–120.

7. データの要約及び治験責任医師に対するガイダンス

7.1 剤形及び組成

治験薬はピルビン酸ナトリウム（分子量：110.04）であり、添加剤等は含まれていない。本剤は白色～微黄色の結晶性の粉末であり、水への溶解度（20℃）は 32%で、苦みのある塩味を呈する。治験では、塩野フィネス株式会社にて治験薬 GMP に従って製造された原薬を用いる。

7.2 予定される効能・効果及び用法・用量

7.2.1 予定される効能・効果

ミトコンドリア病に伴う高乳酸血症の改善

7.2.2 予定される用法・用量

ピルビン酸ナトリウムとして、1回に 0.08 または 0.17 g/kg を水約 100 mL に用時溶解して、食後に 1日3回服用する。なお、年齢、症状により適宜増減する。

7.3 臨床に関する項目

7.3.1 使用上の注意

本薬の水溶液は苦みのある塩辛さを呈し、服薬時に嘔気・嘔吐や胸焼けなどの消化器症状を来すことがある。また、ナトリウム塩であることから、ナトリウム負荷による浸透圧性下痢が投与初期にみられる場合もある。さらに、長期に連用すると、ナトリウム負荷が主な原因で、むくみ、浮腫など循環器系・腎臓系への影響が生じることがある。このため、基礎疾患に心不全や腎不全がある場合には、使用にあたって注意が必要である。

7.3.2 過量投与

予想されるピルビン酸ナトリウムの1日量は、0.5 g/kg（1日3回に分割して投与）である。複数の Leigh 脳症患者では、1日量として 1.8 g/kg 以上が 2～4 年間にわたって使用した経験があるものの、その患者数は少なく、0.5 g/kg を超える用量の安全性は確立していない。

7.3.3 有害事象

日本人の MELAS 及び Leigh 脳症の 64 名を対象として、ピルビン酸ナトリウムの 0.25～1.8 g/kg/日を使用した際に報告された有害事象を表 7-1 に示す（久留米大学小児科自主研究、ピルビン酸ナトリウム古賀班成績）。死亡した 2 名は原疾患が重篤で、合併した肥大型心筋症による死亡と考えられる。

表 7-1 有害事象

有害事象	ピルビン酸ナトリウムの1日用量				
	0.25 g/kg (n=8)	0.5 g/kg (n=36)	0.5 g/kg* (n=29)	1 g/kg (n=9)	1.6-1.8g/kg* (n=3)
服薬時の苦み	2	1	2		
服薬時の嘔気・嘔吐		2		3	
四肢末梢のむくみ		4		3	
軟便		8		1	1
水様下痢		12	4	4	
腹痛		1	1		
臉の腫れ		2		1	
四肢末梢の腫れ				1	
胸焼け		1			
顔面のむくみ		3		4	
高 Na 血症			2		
死亡			2		

*胃管チューブによる投与

7.4 治験薬の安定性

本品をチャック付のポリエチレン袋に入れ、40℃/75%RH に1ヶ月保存したとき、水分を吸収して徐々に分解、着色した。

本品を二重のポリエチレン袋（シリカゲル入り）に入れ、更にこれをアルミラミネート袋に入れて加速試験（40℃、75%RH）で6ヶ月及び長期保存試験（25℃/60%RH）で12ヶ月保存した結果、いずれの試験項目（性状、確認試験、類縁物質、乾燥減量、含量）においても変化は認められず安定であった。なお、長期保存試験は継続中である。

7.5 治験薬の貯法及び取扱い

遮光した気密容器にて、室温で保管する。

ヒト投与時に水に溶解する場合は、溶解後ただちに投与する。

資料 2

ピルビン酸ナトリウムの非臨床試験の総括報告書

DRAFT

署名 _____ 印 年 月 日

株式会社新日本科学 安全性研究所

本報告書は表紙を含む***頁