

12.6. 安全性の結論

(1) 単回投与パート

軽度の一つ以上の有害事象を発現した被験者の人数は、ステップ1 (PYRNA 0.08g/kg) では4名66.7% (下痢1名、硬便1名、消化管運動過剰3名、異常感1名、血中ブドウ糖増加1名、血中尿酸増加1名、発疹1名)、ステップ2 (PYRNA 0.17g/kg) では2名33.3% (下痢1名、血中尿酸増加1名)、ステップ3 (PYRNA 0.33g/kg) では6名100% (腹痛1名、下痢5名、嘔吐1名、消化管運動過剰1名、頭痛2名、緊張性頭痛1名)、ステップ4 (PYRNA 0.66g/kg) では6名100% (下痢6名、倦怠感1名、食欲減退1名、感覚鈍麻1名)であった。中等度あるいは重度の有害事象に分類した有害事象は発現しなかった。これら軽度と評価された有害事象は全て、投与終了後に回復したものの、治験薬との因果関係を否定できないことから副作用とされた。

副作用のうち、ステップ1 (PYRNA 0.08g/kg) とステップ2 (PYRNA 0.17g/kg) では下痢1名 (16.7%) であった。これに対して、ステップ3 (PYRNA 0.33g/kg) 及びステップ4 (PYRNA 0.66g/kg) においては被験者6名全員の一つ以上の胃腸障害の副作用が発現し、ステップ3では下痢が5名 (83.3%)、ステップ4では下痢が6名 (100.0%) 発現したことから、器官別大分類の胃腸障害はPYRNAの用量依存的に発現増加する傾向があると考えられた。重篤な有害事象及び死亡例は報告されなかった。また、有害事象による試験中止はなかった。

以上より、PYRNAの用量をステップ1の0.08g/kgから公比2で4段階、ステップ4の0.66g/kgまで漸増させた場合、副作用の胃腸障害発生を基準にして、最大耐用量はステップ2のPYRNA 0.17g/kg、無毒性量はステップ1の0.08g/kgより下と考えられた。

(2) 食事の影響の評価パート

軽度の一つ以上の有害事象を発現した被験者の人数は、空腹時投与 (PYRNA 0.17g/kg) が3名50.0% (下痢3名)、食後投与 (PYRNA 0.17g/kg) は4名66.7% (下痢1名、消化管運動過剰2名、血中ビリルビン増加1名、尿中ケトン体陽性1名) であった。食後投与の1名に発現した血中ビリルビン増加、尿中ケトン体陽性は、治験薬投与との因果関係なしと評価された。その他に発現しなかった有害事象も投与終了後に回復したが、治験薬との因果関係を否定できないことから副作用とされた。中等度あるいは重度に分類した有害事象は、空腹時投与ならびに食後投与ともに無かった。

副作用のうち、器官別大分類の胃腸障害が空腹時投与及び食後投与ともに3名 (50.0%) で発現したが、両群間でその他には顕著な差は認められなかった。重篤な有害事象及び死亡例は報告されなかった。また、有害事象による試験中止はなかった。

(3) 反復投与パート

ステップ1で軽度の一つ以上の有害事象を発現した被験者の人数は、PYRNA 0.5g/kg/day 投与群が2名33.3% (事象PTの内容は下痢1名、アラニンアミノトランスフェラーゼ増加1名)、PYRNA 1.0g/kg/day 投与群は6名100.0% (事象の内容は眼瞼浮腫2名、下痢6名、末梢性浮腫1名、ヘモグロビン減少1名) であった。いずれも投与終了後に回復したが、治験薬との因果関係を否定できないことから副作用とされた。中等度あるいは重度に分類した有害事象は発現しなかった。

検査項目	ステップ	投与群	Day	N	Mean	SD	Min	Median	Max
	ステップ2	PYRNA 2.0g/kg/Day	Day8	6	67.08	3.20	62.0	67.55	70.7
			Day-1	6	67.40	4.17	61.3	68.40	71.8
			中止時	6	66.70	6.33	58.6	65.10	77.4
FS	ステップ1	対照薬	Day-1	3	35.83	2.25	34.2	34.90	38.4
			Day4	3	38.10	2.71	35.0	39.30	40.0
			Day8	3	36.07	0.55	35.5	36.10	36.6
		PYRNA 0.5g/kg/Day	Day-1	6	35.25	2.31	32.5	35.45	38.4
			Day4	6	36.22	2.37	33.3	36.30	40.0
			Day8	6	34.98	2.30	32.2	34.55	37.8
		PYRNA 1.0g/kg/Day	Day-1	6	35.13	1.91	32.7	35.70	37.6
			Day4	6	39.12	2.42	34.9	39.60	41.2
			Day8	6	37.28	2.62	33.2	37.65	40.4
		PYRNA 2.0g/kg/Day	Day-1	6	37.68	3.20	33.0	38.60	41.1
			中止時	6	37.22	5.14	31.1	35.85	46.2

ステップ1の各被験者に安全性上問題となる所見は認められないと評価されたことから、治験実施計画の手順に従い、ステップ2のPYRNA 2.0g/kg/day投与を実施した。その結果、Day-1投与終了後に有害事象器官別大分類の胃腸障害が6名(100.0%)、一般・全身障害及び投与部位の状態が3名(50.0%)、神経系障害が3名(50.0%)認められ、治験薬との因果関係を否定できないことから副作用と評価された。そのため、被験者の安全性上問題ありと判断し、全6名の治験が中止された。なお、発現したいずれの事象も投与終了後に回復した。

PYRNA用量と副作用発現の評価では、ステップ1のPYRNA 0.5g/kg/day投与群では下痢の発現が1名(16.7%)であったが、PYRNA 1.0g/kg/day投与群では被験者6名全員(100.0%)に下痢が発現した。加えて、引き続き実施したステップ2 PYRNA 2.0g/kg/day投与群では、Day-1投与終了後に6名全員(100.0%)に下痢が発現したことから、器官別大分類の胃腸障害はPYRNAの用量依存的に発現増加する傾向があると考えられた。

以上より、反復投与における最大耐用量はPYRNA 0.5g/kg/dayと考えられた。

- 4) 臨床検査値に関しては、各パートで検査項目の各測定時点での記述統計量を算出した。また、検査項目ごとに、個々の被験者のDay1投与前の値をX軸、投与終了翌日の値をY軸にプロットした散布図を作成した。その結果、本治験において発現した臨床検査値異常は、全て軽微な変動であり臨床上意義がないものと判断された。
- 5) バイタルサイン、体重推移(反復投与パート)、12誘導心電図、心エコー(反復投与パート)の記述統計量を評価した結果、各血圧、脈拍数、体温、体重(反復投与パート)、12誘導心電図及び心エコー(反復投与パート)において特記すべき変動は認められなかった。

13. 考察と全般的結論

13.1. 薬物動態に関して

(1) 単回投与パート

1群の被験薬投与6名、対照薬投与2名で、PYRNAの用量をステップ1(0.08g/kg)、ステップ2(0.17g/kg)、ステップ3(0.33g/kg)、ステップ4(0.66g/kg)、用量公比2の漸増法で空腹時単回投与した。血漿中薬物濃度の薬物動態パラメータは、ステップ1では $AUC_{0-4} = 0.911 \text{ hr} \cdot \text{mg/dL}$ 、 $C_{\max} = 0.422 \text{ mg/dL}$ 、 $T_{\max} = 0.653 \text{ hr}$ 。ステップ2では $AUC_{0-4} = 0.560 \text{ hr} \cdot \text{mg/dL}$ 、 $C_{\max} = 0.765 \text{ mg/dL}$ 、 $t_{\max} = 0.833 \text{ hr}$ 。ステップ3では $AUC_{0-4} = 0.651 \text{ hr} \cdot \text{mg/dL}$ 、 $C_{\max} = 0.752 \text{ mg/dL}$ 、 $t_{\max} = 0.833 \text{ hr}$ 。ステップ4では $AUC_{0-4} = 3.210 \text{ hr} \cdot \text{mg/dL}$ 、 $C_{\max} = 1.883 \text{ mg/dL}$ 、 $t_{\max} = 0.611 \text{ hr}$ であった。

次に、PYRNA投与量を漸増した場合の血漿中PYRNA濃度と投与量との関係の評価する目的で求めた散布図ならびに線形回帰分析では、 AUC_{0-4} に関して、 $\alpha = -2.589$ 、 $\beta = 0.827$ (両側90%信頼区間 0.423-1.232)、相関係数 $r = 0.5993$ で正の相関であった。 AUC_{0-4} に関しては $n=9$ となってしまうが、 $\alpha = 0.918$ 、 $\beta = 0.086$ (両側90%信頼区間 -0.818-0.989)、相関係数 $r = -0.0676$ であった。 C_{\max} に関しては、 $\alpha = -1.970$ 、 $\beta = 0.599$ (両側90%信頼区間 0.336-0.862)、相関係数 $r = 0.6403$ で正の相関を認めた。

以上より、PYRNAの単回投与により投与量を0.08g/kgから0.66g/kgまで公比2の4段階で漸増させた場合に、 AUC_{0-4} と C_{\max} は用量依存的な増加傾向が認められたが、相関は強くなかった。これは、内因性のピルビン酸血中濃度が高く、またその変動も大きいため、測定値を投与前値で補正した血漿中PYRNA濃度が、低投与量群では血漿中PYRNA濃度を正確に反映していないためと考えられる。

また、ステップ2(PYRNA 0.17g/kg)で治験薬投与後の尿中・糞中薬物濃度の記述統計量を求めた結果では、投与前 $A_e = 4.016 \text{ mg}$ 、 $A_e \% = 0.0378 \%$ 、 $CL_R = 0.4748 \text{ dL/hr}$ 、 $A_f = 0.027 \text{ mg}$ 、 $A_f \% = 0.0003 \%$ となり、投与後 $A_e = 2.635 \text{ mg}$ 、 $A_e \% = 0.0253 \%$ 、 $CL_R = 0.3211 \text{ dL/hr}$ 、 $A_f = 0.050 \text{ mg}$ 、 $A_f \% = 0.0005 \%$ であった。PYRNAの尿中及び糞中への排泄は極めて少ないことが認められた。したがって、経口投与されたPYRNAはほぼ全量が吸収されることが示唆された。

(2) 食事の影響の評価パート

空腹時先行投与群と食後先行投与群の2群各3名のクロスオーバー法で、食事の影響の評価を行った。その結果、空腹時投与群の血漿中濃度は緩やかに上昇し、 $AUC_{0-4} = 0.518 \text{ hr} \cdot \text{mg/dL}$ 、 $C_{\max} = 0.283 \text{ mg/dL}$ 、 $t_{\max} = 2.167 \text{ hr}$ であった。食後投与群では、血漿中濃度は投与後直ちに上昇して、 $AUC_{0-4} = 2.294 \text{ hr} \cdot \text{mg/dL}$ 、 $C_{\max} = 0.845 \text{ mg/dL}$ 、 $t_{\max} = 0.083 \text{ hr}$ であった。

一方、食事条件間での各パラメータの比(空腹時投与/食後投与)は、 $AUC_{0-4} = 1.75046$ 、 $C_{\max} = 0.53604$ 、 $T_{\max} = 26.00000$ であった。各パラメータの平均値から求めた食事の影響の結果と異なり、 AUC_{0-4} は食事により減少するが、 C_{\max} は増大している。個々の薬物動態パラメータ(表11.4.1.2-3)によると、 AUC_{0-4} と C_{\max} の食事による影響が逆転しているケースが6例中2例あり、その差が大きいため、平均値をも逆転していることが認められる。このことも内因性のピルビン酸の濃度が高く、変動も大きいことが原因していると考えられる。また、 AUC_{0-4} の大きな上昇は、ピルビン酸の吸収促進か、食事時のピルビン酸の影響かが考察されることであるが、糞中ピルビン酸排泄量は少ないことから、空腹時においてもPYRNAのほとんどは吸収さ

れていることが示唆されていることから、食事中のピルビン酸の影響であることが推察される。

以上を総合して、PYRNAの血漿中薬物動態は食事の影響を受け、空腹時投与に比べ、食後投与でAUC_{0-t}及びC_{max}は増大、t_{max}は短縮することが確認された。

(3) 反復投与パート

ステップ1の対照薬投与3名、PYRNA 0.5 g/kg/day投与6名、PYRNA 1.0 g/kg/day投与6名で、1日3回食後7日間反復投与を行った。その結果、PYRNA 0.5 g/kg/day投与群Day-1のAUC_{0-t}=1.596 hr*mg/dL、C_{max}=1.320 mg/dL、t_{max}=0.306 hr、Day-7のAUC_{0-t}=1.816 hr*mg/dL、C_{max}=1.135 mg/dL、t_{max}=0.306 hrであった。一方、PYRNA 1.0 g/kg/day投与群では、Day-1のAUC_{0-t}=1.682 hr*mg/dL、C_{max}=0.918 mg/dL、t_{max}=0.333 hr、Day-7のAUC_{0-t}=1.777 hr*mg/dL、C_{max}=0.857 mg/dL、t_{max}=0.333 hrであった。

また、血漿中PYRNA濃度のトラフ値(C_{min})について、被験者ごとにDay7とDay1~Day6との比を算出(表11.4.1.3-4)し、その記述統計量を算出(表11.4.1.3-5)したが、バラツキも大きく一定の傾向は見られなかった。

さらに、PYRNA反復投与による体内蓄積性に関しては、血漿中PYRNA濃度のトラフ値(C_{min})を確認し、さらに血漿中PYRNA濃度のC_{max}及びAUC_{0-t}について、被験者ごとにDay7とDay1との比(Day7/Day1)を算出し、蓄積係数を求めた。その結果、トラフ値(C_{min})の増加は認められず、さらにPYRNA 0.5 g/kg/day投与群ではC_{max}の比は平均0.85317、AUC_{0-t}の比は平均1.10922、PYRNA 1.0 g/kg/day投与群ではC_{max}の比は平均0.93910、AUC_{0-t}の比は平均1.06795となった。

以上より、1日3回食後投与の7日間反復投与において、ステップ1の両投与量群で、血漿中のPYRNAが蓄積されるかどうかを、C_{max}、AUC_{0-t}を比較した結果、PYRNAの蓄積は認められなかった。

なお、ステップ1投与終了後に実施したステップ2のPYRNA 2.0 g/kg/day投与群では、Day-1投与後24時間目に6名全員が治験中止となったため、薬物動態パラメータについては、Day-1についてのみ算出した。その結果、AUC_{0-t}=3.115 hr*mg/dL、C_{max}=1.323 mg/dL、T_{max}=0.569 hrであった。

13.2. 臨床薬理に関して

(1) 単回投与パート

血漿中乳酸濃度の平均値推移は、ステップ1(PYRNA 0.08g/kg)、ステップ2(PYRNA 0.17g/kg)、ステップ3(PYRNA 0.33g/kg)およびステップ4(PYRNA 0.66g/kg)の各群で、PYRNA投与後1hrから1.5hrにかけて上昇して最高値を示し、2hr以降は減少し始めて、24hr値ではPre値に近い値に回復した。しかしながら、各ステップの対照薬投与群においても、投与後2hr以降に血漿中乳酸濃度が上昇して最高値を示す傾向がみられたことから、被験薬投与群の血漿中乳酸濃度の推移がPYRNAに影響したのかどうか明確にはならなかった。

血漿中乳酸濃度と血漿中PYRNA濃度の比であるL/P比の推移に関しては、各ステップともにPYRNA投与後4hrから8hrにかけて最大値を示す傾向であった。しかしながら、各ステップの対照薬投与群においても、投与後2hr以降に上昇して最高値を示す傾向がみられたことから、被験薬投与群の血漿中乳酸濃度の推移がPYRNAに影響したのかどうか明確にはならなかった。

血漿中ケトン体比に関しては、各ステップともにPYRNA投与群と対照薬投与群の両群ともに、投与後8hrに上昇して最高値を示したことから、血漿中ケトン体濃度がPYRNA投与の影響によるものかどうかは明確にはならなかった。Na濃度、K濃度、Cl濃度に関しては、各ステップともに临床上重要な変動は認められなかった。

(2) 反復投与パート

血漿中乳酸濃度の平均値推移ならびにL/P比は、ステップ1(PYRNA 0.5g/kg/day)及びステップ1(PYRNA 1.0g/kg/day)の両群で、7日間の連続投与期間をとおして重要な変動は認められなかった。ステップ2においても、治験中止になるDay-2のpre値測定までの期間で、重要な変動は認められなかった。このことから、健常被験者においては、PYRNA投与による解糖系賦活化の影響で血漿中乳酸濃度が異常変動することはなかった。ケトン体比、Na濃度、K濃度、Cl濃度に関しては各ステップともに临床上重要な変動は認められなかった。

13.3. 安全性に関して

(1) 単回投与パート

ステップ1(PYRNA 0.08g/kg)とステップ2(PYRNA 0.17g/kg)では、副作用と評価された下痢の発現がそれぞれ1名(16.7%)であった。これに対して、ステップ3(PYRNA 0.33g/kg)及びステップ4(PYRNA 0.66g/kg)においては被験者6名全員に一つ以上の胃腸障害の副作用が発現し、ステップ3では下痢が5名(83.3%)、ステップ4では下痢が6名(100.0%)発現した。この結果から、器官別大分類の胃腸障害はPYRNAの用量依存的に発現増加する傾向があると考えられた。重篤な有害事象及び死亡例は報告されなかった。また、有害事象による試験中止はなかった。

以上より、PYRNA用量を公比2の4段階漸増法で、ステップ1の0.08g/kgからステップ4の0.66g/kgまで投与したところ、副作用の胃腸障害発生を基準にして、最大耐用量はステップ2のPYRNA 0.17g/kg、無毒性量はステップ1の0.08g/kgより下と考えられた。

(2) 食事の影響の評価パート

副作用としては器官別大分類の胃腸障害が、空腹時投与及び食後投与ともに3名(50.0%)で発現したが、両群間でその他には顕著な差は認められなかった。重篤な有害事象及び死亡例は報告されなかった。また、有害事象による試験中止はなかった。

(3) 反復投与パート

PYRNA用量と副作用発現の評価では、ステップ1(PYRNA 0.5g/kg/day)投与群では下痢の発現が1名(16.7%)であったが、ステップ1(PYRNA 1.0g/kg/day)投与群では被験者6名全員(100.0%)に下痢が発現した。その結果、器官別大分類の胃腸障害はPYRNAの用量依存的に発現増加する傾向があると考えられた。

一方、ステップ1の各被験者に安全性上問題となる所見は認められないと評価されたことから実施したステップ2(PYRNA 2.0g/kg/day)投与群では、Day-1投与終了後に有害事象器官別大分類の胃腸障害が6名(100.0%)、一般・全身障害及び投与部位の状態が3名(50.0%)、神経系障害が3名(50.0%)発現した。これらの有害事象は、治験薬との因果関係を否定できないことから副作用と評価された。そのため、被験者の安全性上問題ありと判断し、全6名

の治験が中止された。なお、発現したいずれの事象も投与終了後に回復した。

以上より、反復投与における最大耐用量はPYRNA 0.5g/kg/dayと考えられた。

- 4) 臨床検査値に関しては、各パートで検査項目の各測定時点での記述統計量を算出した。また、検査項目ごとに、個々の被験者のDay1投与前の値をX軸、投与終了翌日の値をY軸にプロットした散布図を作成した。その結果、本治験において発現した臨床検査値異常は、全て軽微な変動であり臨床上意義がないものと判断された。
- 5) バイタルサイン、体重推移（反復投与パート）、12誘導心電図、心エコー（反復投与パート）の記述統計量を評価した結果、各血圧、脈拍数、体温、体重（反復投与パート）、12誘導心電図及び心エコー（反復投与パート）において特記すべき変動は認められなかった。

13.4. 全般的結論

本治験は新規な製剤であるPYRNAの単回投与、食事の影響の評価、および反復投与時の薬物動態、臨床薬理ならびに安全性を確認することを目的に計画した。

薬物動態評価の単回投与では、用量0.08g/kg、0.17g/kg、0.33g/kg、0.66g/kgの公比2の4群で漸増、空腹時投与を実施した結果、 AUC_{0-t} と C_{max} は用量依存的に増加することを確認した。

食事の影響の評価では、0.17g/kg用量を空腹時及び食後に単回投与した結果、空腹時投与に比べ食後投与で AUC_{0-t} 及び C_{max} は増大、 T_{max} は短縮した。

反復投与では、0.5g/kg/day及び1.0g/kg/dayの分3、1日3回食後7日間投与した結果、両投与量群で、トラブ値の増加及び血漿中のビルビン酸の蓄積は認められなかった。

安全性では、胃腸障害（下痢）の発現が、PYRNAの用量に依存して増加する傾向が認められた。単回投与では、副作用（下痢）発現の頻度を基に、最大耐用量はステップ2のPYRNA 0.17g/kg、無毒量はステップ1の0.08g/kgより下と考えられた。食事の影響の評価では、PYRNA 0.17g/kgの空腹時単回投与及び食後単回投与ともに3名（50.0%）の胃腸障害（下痢）が発現したが、両群間でその他副作用発現には臨床的に問題となる重要な差は認められなかった。反復投与では、胃腸障害（下痢）が用量依存的に発現増加する傾向が認められた。従って、薬物動態評価で血漿中PYRNAの蓄積は認められない点を考慮して、反復投与における最大耐用量はPYRNA 0.5g/kg/dayと考えられた。

臨床検査値及びバイタルサインに関しては、臨床上で重要な変動は認められなかった。

14. 本文中には含めないが、引用する表、図及びグラフ

本治験で取得したデータのうち、統計解析計画書に基づき作成した人口統計学的データ、有効性データ、安全性データおよび有害事象の表示に関する図表ならびにグラフは、全て10章、11章、12章に記載し、生データ一覧表を16章に付録として記載した。また、本治験では死亡例を含む重篤な有害事象、重要な有害事象は認められなかったため、安全性に関する図表、グラフ、一覧表、叙述事項、被験者ごとの臨床検査異常値一覧表は全て12章に記載し、生データ一覧表を16章に付録として記載した。

14.1. 人口統計学的データ

14.2. 有効性データ

14.3. 安全性データ

14.3.1. 有害事象の表示

14.3.2. 死亡、その他の重篤な有害事象及び他の重要な有害事象の一覧表

14.3.3. 死亡、その他の重篤な有害事象及び他の特に重要な有害事象の叙述

14.3.4. 被験者ごとの個々の臨床検査異常値の一覧表

15. 引用文献の一覧表

- 1) 厚生労働科学研究費小児疾患臨床研究事業（小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびジクロロ酢酸療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究）研究班。ミトコンドリア病パンフレット。2005年3月。
- 2) Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, et al. MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan. *Biochim Biophys Acta-general* 2012;1820:619–24.
- 3) 埜中征哉。臨床のための筋病理。第3版増補。日本医事新報社；2005。
- 4) Kaufmann P, Shungu DC, Sano MC, et al. Cerebral lactic acidosis correlates with neurological impairment in MELAS. *Neurology* 2004;62:1297–302.
- 5) Kaufmann P, Engelstad K, Wei Y, et al. Natural history of MELAS associated with mitochondrial DNA m.3243A>G genotype. *Neurology* 2011;77:1965–71.
- 6) Luft FC. Lactic acidosis update for critical care clinicians. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:S15–9.
- 7) Kaufmann P, Engelstad K, Wei Y, et al. Dichloroacetate causes toxic neuropathy in MELAS: a randomized, controlled clinical trial. *Neurology* 2006;66:324–30.
- 8) Tanaka M, Nishigaki Y, Fuku N, Ibi T, Sahashi K, Koga Y. Therapeutic potential of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. *Mitochondrion* 2007;7:399–401.
- 9) Saito K, Kimura N, Oda N, et al. Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome. *Biochim Biophys Acta-general* 2012;1820:632–6.
- 10) Koga Y, Povalko N, Katayama K, et al. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 α gene. *Brain Dev* 2012;34:87–91.
- 11) Komaki H, Nishigaki Y, Fuku N, et al. Pyruvate therapy for Leigh syndrome due to cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta* 2010;1800:313–5.
- 12) Wu IC, Ohsawa I, Fuku N, Tanaka M. Metabolic analysis of ¹³C-labeled pyruvate for noninvasive assessment of mitochondrial function. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1201:111–20.
- 13) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知。医薬品の臨床薬物動態試験。平成13年6月1日付け医薬審発第796号。
- 14) Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. Clinical Review Template. Attachment B: Clinical Safety Review of an NDA or BLA. (<http://www.fda.gov/cder/guidance>)
- 15) Ioannidis JPA, Evans SJW, Gøtzsche PC, et al. Better reporting of harms in randomized trials: An extension of the CONSORT statement. *Ann Intern Med* 2004;141:781–8.
- 16) Friedman LM, Furberg CD, DeMets DL. *Fundamentals of clinical trials*. 4th ed. New York: Springer;2010.

16. 付録

16.1. 治験に関する情報

- 16.1.1. 治験実施計画書及びその検討
- 16.1.2. 症例記録用紙の見本
- 16.1.3. 治験審査委員会の一覧表（確認が行われた年月日、並びに医院の氏名及び職名）、被験者への説明文書及び同意書の見本
- 16.1.4. 治験責任医師及び他の重要な治験参加者の一覧表及び説明
- 16.1.5. 治験総括（調整）医師又は治験依頼者の医学責任者の署名
- 16.1.6. 治験に用いられたロットごとの薬剤を投与された被験者の一覧表
- 16.1.7. 無作為化の方法及びコード（被験者の識別及び割り付けられた治療）
- 16.1.8. 監査手順に関する資料、監査証明書
- 16.1.9. 統計手法に関する文書
- 16.1.10. 臨床検査に関して施設間の標準化及び品質保証を行った方法と手順に関する文書
- 16.1.11. 治験に基づく公表文献
- 16.1.12. 総括報告書で引用された重要な公表文献

16.2. 被験者データ一覧表

- (1) 被験者背景一覧
- (2) 中止一覧
- (3) 血中ピルビン酸濃度一覧
- (4) 薬物動態パラメーター一覧
- (5) 臨床薬理評価項目血中濃度一覧
- (6) 有害事象一覧
- (7) 重篤な有害事象一覧
- (8) 臨床検査値一覧
- (9) 臨床検査値異常変動一覧
- (10) バイタルサイン一覧
- (11) 12誘導心電図一覧
- (12) 心エコー一覧

16.2.1. 中止症例

- 16.2.2. 治験実施計画書から逸脱した症例
- 16.2.3. 有効性の解析から除外された症例
- 16.2.4. 人口統計学的データ
- 16.2.5. 服薬遵守及び薬物濃度データ
- 16.2.6. 個々の有効性反応データ
- 16.2.7. 被験者ごとの有害事象一覧表

16.3. 症例報告書

- 16.3.1. 死亡、その他の重篤な有害事象発現例及び有害事象による投与中止例の症例報告書
- 16.3.2. 提出された他の症例報告書

資料 5

ヒト GDF-15 測定系構築 作業報告書

(株) 医学生物学研究所
基礎試薬開発部

<目的>

ヒト GDF-15(mature form)を測定するために、抗ヒト GDF15 抗体を用いたサンドイッチ ELISA の構築を行なった。

<作業概要>

①ヒト GDF15 (mature form) のリコンビナントタンパク質の作製

大腸菌並びに動物細胞を宿主として使用し、両宿主に関して目的とするタンパク質を得た。(大腸菌由来リコンビナント ; 3.5mg、動物細胞由来リコンビナント ; 400 μ g)

②抗 GDF15 抗体の作製並びに評価

リコンビナント GDF15 (R&D 社) をマウスに免疫し、抗 GDF15 抗体を産生するハイブリドーマを取得した。取得した抗体の特異性は、免疫原として使用したリコンビナント GDF15 を用いた免疫沈降により確認した。尚、ハイブリドーマ由来の抗体については、大量培養・精製作業を実施し、精製抗体を複数得た。

また、リコンビナント GDF15 (MBL 製) をウサギに免疫し、GDF15 に対する抗体を作製した。

③抗ヒト GDF15 抗体を用いたサンドイッチ ELISA 系の構築

②で取得した複数の抗体を用いてサンドイッチ ELISA 系のプロトタイプキットを構築した。結果、31.25pg/mL~2000 pg/mL の感度を持つ測定系が構築できた。

構築したプロトタイプキットを用いて血清中 GDF15 の測定可否について検討した。10 検体の健常人血清を測定した結果、100pg/mL~1000 pg/mL の GDF-15 を検出できたことから、複数の組み合わせ群において血清中の GDF15 を検出可能と考えられる結果が確認された。

以上

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
大竹 明	ミトコンドリア病:概論.	遠藤文夫	別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No. 20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下-病因・病態研究、診断・治療の進歩-	日本臨床社	大阪	2012	623-630
大竹 明	ミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体I欠損症.	遠藤文夫	別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No. 20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下-病因・病態研究、診断・治療の進歩-	日本臨床社	大阪	2012	631-637
古賀 靖敏	ミトコンドリア病の治療. 薬物治療.	水澤英洋	Clinical Neuroscience別冊	中外医学社	東京	2012	1058-1063
古賀 靖敏	一クローズアップ ここまで治せるようになった先天代謝異常症- ミトコンドリア病-アルギニン療法, ピルビン酸ナトリウム療法など		小児内科	東京医学社	東京	2012	1653-1656
古賀 靖敏	(18) 神経・筋疾患 ミトコンドリア脳筋症	大関武彦、古川漸、横田俊一郎、水口雅	今日の小児治療指針 第15版	医学書院	東京	2012	638-639
古賀 靖敏	ミトコンドリア病		小児内科 小児疾患の診断治療基準 第4版	東京医学社	東京	2012	724-727
古賀 靖敏	ミトコンドリア病の治療		生体の科学	医学書院	東京	2012	442-443
古賀 靖敏	ミトコンドリア脳筋症	水澤英洋、梶龍兒、吉良潤一、齊藤延人、神田隆、鈴木則宏	今日の神経疾患治療指針第2版	医学書院	東京	2013	791-797

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
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いる時代(アルギニン療法、ピルビン酸ナトリウム療法の開発)	福岡県小児科会 科会長	福岡県小児科医報2013年版	福岡医師会	福岡	2013	91-98
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	日本臨床社	東京	2013	175-184
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	杉江秀夫、 福田冬季 子、西野一 三、古賀靖 敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	22-27
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	杉江秀夫、 福田冬季 子、西野一 三、古賀靖 敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	142-152
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	杉江秀夫、 福田冬季 子、西野一 三、古賀靖 敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	153-159
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	杉江秀夫、 福田冬季 子、西野一 三、古賀靖 敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	160-167
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	杉江秀夫、 福田冬季 子、西野一 三、古賀靖 敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	168-174
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	杉江秀夫、 福田冬季 子、西野一 三、古賀靖 敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	181-184

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
古賀 靖敏	L-アルギニン (MELAS)	遠藤文夫、井田博幸、山口清次、高柳正樹、深尾敏幸	引いて調べる 先天代謝異常症	診断と治療社	東京	2014	136-137
古賀 靖敏 工藤 嘉公	ミトコンドリア心筋症・心合併症	竹中克、戸出浩之	心エコーハンドブック 心筋・心膜疾患	金芳堂	京都	2014	100-105
村山 圭	ミトコンドリア肝疾患	日本小児栄養消化器肝臓学会	小児栄養消化器肝臓病学	診断と治療社	東京都	2014	432-434
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	杉江秀夫、福田冬季子、西野一三、古賀靖敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	201-204
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 I (ミトコンドリア呼吸鎖複合体II) 欠損症	杉江秀夫、福田冬季子、西野一三、古賀靖敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	205-208
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 II (ミトコンドリア呼吸鎖複合体III) 欠損症	杉江秀夫、福田冬季子、西野一三、古賀靖敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	209-212
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	杉江秀夫、福田冬季子、西野一三、古賀靖敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	213-216
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	杉江秀夫、福田冬季子、西野一三、古賀靖敏	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京都	2014	217-220

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Koga Y</u> , Povalko N, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Naito E, <u>Tanaka M</u>	Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 α gene	Brain Dev.	34	87-91	2012
<u>Koga Y</u> , Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Yatsuga S, Matsuishi T	Molecular pathology of MELAS and l-arginine effects	Biochim Biophys Acta.	1820	608-14	2012
Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Kakuma T, <u>Koga Y</u> , Taro Matsuoka for MELAS Study Group in Japan	MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan	Biochim Biophys Acta.	1820	619-24	2012
<u>Koga Y</u> , <u>Tanaka M</u> , Ohta S, Wei YH	Biochemistry of mitochondria, life and intervention 2010	Biochim Biophys Acta.	1820	551-552	2012
Ikawa M, Arakawa K, Hamano T, Nagata M, Nakamoto Y, Kuriyama M, <u>Koga Y</u> , Yoneda M	Evaluation of systemic redox states in patients carrying the MELAS A3243G mutation in mitochondrial DNA	European Neurology	67(4)	232-237	2012
Kami K, Fujita Y, Igarashi S, Koike S, Sugawara S, Ikeda S, Sato N, Ito M, <u>Tanaka M</u> , Tomita M, Soga T	Metabolomic profiling rationalized pyruvate efficacy in cybrid cells harboring MELAS mitochondrial DNA mutations	Mitochondrion	12(6)	644-653	2012
Monden Y, <u>Mori M</u> , Kuwajima M, Goto T, Yamagata T, Momoi MY	Late-onset Leigh syndrome with myoclonic epilepsy with ragged-red fibers	Brain Dev.	35	582-585	2013
Yamamoto T, Emoto Y, <u>Murayama K</u> , Tanaka H, Kuriu Y, <u>Ohtake A</u> , Matoba R	Metabolic autopsy with postmortem cultured fibroblasts in sudden unexpected death in infancy: Diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders	Mol. Genet. Metab.	106(4)	474-477	2012
Saito K, Kimura N, Oda N, Shimomura H, Kumada T, Miyajima T, <u>Murayama K</u> , <u>Tanaka M</u> , <u>Fujii T</u> .	Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome	Biochim Biophys Acta	1820	632-636	2012
Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, <u>Ohtake A</u> , <u>Murayama K</u> , <u>Mori M</u> , Miyata R, Hatai Y	Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy	Brain Dev.	34(2)	115-7	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanigawa J, Kaneko K, Honda M, Harashima H, <u>Murayama K</u> , Wada T, Takano K, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Aida N, <u>Ohtake A</u> , Osaka H	Two Japanese patients with Leigh syndrome caused by novel <i>SURF1</i> mutations	Brain Dev	34(10)	861-5	2012
Enkai S, Koinuma S, Ito R, Igaki J, Hasegawa Y, <u>Murayama K</u> , <u>Ohtake A</u>	Case of an infant with hepatic cirrhosis caused by mitochondrial respiratory chain disorder	Pediatr Int.	55(4)	e103-6	2013
Takibuchi G, Imanishi H, Morimoto M, Ishikawa K, <u>Nakada K</u> , Toyama-Sorimachi N, Kikkawa Y, Takenaga K, Hayashi JI.	Polymorphic mutations in mouse mitochondrial DNA regulate a tumor phenotype	Mitochondrion	13(6)	881-887	2013
Katada S, Mito T, Ogasawara E, Hayashi J, <u>Nakada K</u> .	Mitochondrial DNA with a large-scale deletion causes two distinct mitochondrial disease phenotypes in mice	G3 (Bethesda)	3(9)	1545-52	2013
Mito T, Kikkawa Y, Shimizu A, Hashizume O, Katada S, Imanishi H, Ota A, Kato Y, <u>Nakada K</u> , Hayashi JI	Mitochondrial DNA mutations in mutator mice confer respiration defects and B-cell lymphoma development	PLoS One	8(2)	e55789	2013
川内恵美、 <u>村山 圭</u> 、伏見拓矢、市本景子、鶴岡智子、高柳正樹、 <u>大竹 明</u>	ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における消化器症状についての検討	日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌	27(2)	148-154	2013
齋藤朋子、大山牧子、川滝元良、猪谷泰史、 <u>村山 圭</u>	出生直後から代謝性アシドーシス、肝機能障害をきたした新生児期発症のミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症の1例	日未熟児新生児会誌	26(1)	131-137	2014
Enoki S, Shimizu A, Hayashi C, Imanishi H, Hashizume O, Mekada K, Suzuki H, Hashimoto T, <u>Nakada K</u> , Hayashi JI.	Selection of Rodent Species Appropriate for mtDNA Transfer to Generate Transgenic Mitochondrial Mice Expressing Mitochondrial Respiration Defects	Exp Anim	63(1)	21-30	2014
Shimizu A, Mito T, Hayashi C, Ogasawara E, Kobayashi R, Negishi I, Takenaga K, <u>Nakada K</u> , Hayashi JI.	Transmitochondrial mice as models for primary prevention of diseases caused by mutation in the <i>tRNA^{Lys}</i> gene	Proc Natl Acad Sci USA.	111(8)	3104-9	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujita Y, Ito M, Kojima T, Yatsuga S, <u>Koga Y</u> , <u>Tanaka M</u>	GDF15 is a novel biomarker to evaluate efficacy of pyruvate therapy for mitochondrial diseases	Mitochondrion	20	34-42	2015
<u>Fujii T</u> , Nozaki F, Saito K, Hayashi A, Nishigaki Y, <u>Murayama K</u> , <u>Tanaka M</u> , <u>Koga Y</u> , 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
Wei FY, Zhou B, Suzuki T, Miyata K, Ujihara Y, Horiguchi H, Takahashi N, Xie P, Michiue H, Fujimura A, Kaitsuka T, Matsui H, <u>Koga Y</u> , Mohri S, Suzuki T, Oike Y, Tomizawa K.	Cdk5rap1-Mediated 2-Methylthio Modification of Mitochondrial tRNAs Governs Protein Translation and Contributes to Myopathy in Mice and Humans	Cell Metab	21(3)	428-42	2015
Montassir H, Maegaki Y, <u>Murayama K</u> , Yamazaki T, Kohda M, <u>Ohtake A</u> , 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 <i>POLG</i> mutations: A clinicopathological report.	Brain Dev.		Epub ahead of print	2015
Brea-Calvo G, Haack TB, Karall D, <u>Ohtake A</u> , Invernizzi F, Carrozzo R, Kremer L, Dusi S, Fauth C, Scholl-Bürgi S, Graf E, Ahting U, Resta N, Laforgia N, Verrigni D, Okazaki Y, Kohda M, Martinelli D, Freisinger P, Strom TM, Meitinger T, Lamperti C, Lacson A, Navas P, Mayr JA, Bertini E, <u>Murayama K</u> , Zeviani M, Prokisch H, Ghezzi D.	COQ4 Mutations Cause a Broad Spectrum of Mitochondrial Disorders Associated with CoQ10 Deficiency.	Am J Hum Genet.	96(2)	309-17	2015
Uehara N, Mori M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Tamaru S, Kohda M, Moriyama Y, Nakachi Y, Matoba N, Sakai T, Yamazaki T, Harashima H, <u>Murayama K</u> , Hattori K, Hayashi J, Yamagata T, Fujita Y, Ito M, <u>Tanaka M</u> , Nibu K, <u>Ohtake A</u> , Okazaki Y	New <i>MT-ND6</i> and <i>NDUFA1</i> mutations in mitochondrial respiratory chain disorders.	Ann Clin Transl Neurol.	1(5)	361-9	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kopajtich R, Nicholls TJ, Rorbach J, Metodiev MD, Freisinger P, Mandel H, Vanlander A, Ghezzi D, Carrozzo R, Taylor RW, Marquard K, <u>Murayama K</u> , Wieland T, Schwarzmayr T, Mayr JA, Pearce SF, Powell CA, Saada A, <u>Ohtake A</u> , 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 <i>GTPBP3</i> Cause a Mitochondrial Translation Defect Associated with Hypertrophic Cardiomyopathy, Lactic Acidosis, and Encephalopathy.	Am J Hum Genet.	95(6)	708-20	2014
<u>Ohtake A</u> , <u>Murayama K</u> , Mori M, Harashima H, Yamazaki T, Tamaru S, Yamashita I, Kishita Y, Kohda, 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)	1355-9	2014
Negishi Y, Hattori A, Takeshita E, Sakai C, Ando N, Ito T, Goto T, <u>Saitoh S</u>	Homoplasmy of a mitochondrial 3697G>A mutation causes Leigh syndrome.	J Hum Genet	59	405-407	2014
Kondo H, Tanda K, Tabata C, Hayashi K, Kihara M, Kizaki Z, Taniguchi-Ikeda M, Mori M, <u>Murayama K</u> , <u>Ohtake A</u>	Leigh syndrome with Fukuyama congenital muscular dystrophy: A case report.	Brain Dev	36(8)	730-3	2014
Yamazaki T, <u>Murayama K</u> , 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, <u>Ohtake A</u>	Molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: Focusing on mitochondrial DNA depletion syndrome.	Pediatr Int	56(2)	180-187	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimbo H, Takagi, M, Okuda M, Tsuyusaki Y, Takano K, Iai M, Yamashita S, <u>Murayama K</u> , <u>Ohtake A</u> , 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
Haack T, Jackson C, <u>Murayama K</u> , Kremer L, Schaller A, Kotzaeridou U, de Vries M, Schottmann G, Santra S, Büchner B, Wieland T, Graf E, Freisinger P, Eggimann S, <u>Ohtake A</u> , Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Sauer S, Memari Y, Kolb-Kokocinski A, Durbin R, Hasselmann O, Cremer K, Albrecht B, Wiczorek D, Engels H, Hahn D, Zink A, Alston C, Taylor R, Rodenburg R, Trollmann R, Sperl W, Strom T, Hoffmann G, Mayr J, Meitinger T, Bolognini R, Schuelke M, Nuoffer J-M, Kölker S, Prokisch H, Klopstock T	Deficiency of ECHS1 causes mitochondrial encephalopathy with cardiac involvement	Ann Clin Transl Neurol		in press DOI: 10.1002/actn.189	2015
Toshiyuki Imasawa, <u>Masashi Tanaka</u> , Yutaka Yamaguchi, Takashi Nakazato, Hiroshi Kitamura, Motonobu Nishimura	Pathological similarities between low birth weight-related nephropathy and nephropathy associated with mitochondrial cytopathy.	Diagnostic Pathology	9(1)	9	2014
Toshiyuki Imasawa, <u>Masashi Tanaka</u> , 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
Yasuhiro Kitazoe, <u>Masashi Tanaka</u>	Evolution of mitochondrial power in vertebrate metazoans.	PloS One	9(6)	e98188	2014
Shioya A, Takuma H, <u>Yamaguchi S</u> , Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugiee H, Shigematsu Y, Tamaka 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 (ETFDH) gene	Journal of The Neurological Sciences	346(1-2)	350-352	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakai C, <u>Yamaguchi S</u> , Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto Y	ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome	Human Mutation	36(2)	232-239	2015
Haruka Yamanashi, Osamu Hashizume, Hiromichi Yonekawa, <u>Kazuto Nakada</u> , and Jun-Ichi Hayashi.	Administration of an Antioxidant Prevents Lymphoma Development in Transgenic Mitochondrial Mice Overproducing Reactive Oxygen Species.	Exp. Anim.	63(4)	459-466	2014
Takehiro Takahashi, Masashi Yamamoto, Kazutoshi Amikura, Kozue Kato, Takashi Serizawa, Kanako Serizawa, Daisuke Akazawa, Takumi Aoki, Koji Kawai, Emi Ogasawara, Jun-Ichi Hayashi, <u>Kazuto Nakada</u> , and Mie Kaino.	A Novel MitoNEET Ligand, TT01001, Improves Diabetes and Ameliorates Mitochondrial Function in db/db Mice.	J. Pharmacol. Exp. Ther.	352	338-345	2015
Takayuki Mito, Hikari Ishizaki, Michiko Suzuki, Hitomi Morishima, Azusa Ota, Kaori Ishikawa, <u>Kazuto Nakada</u> , Akiteru Maeno, Toshihiko Shiroishi, and Jun-Ichi Hayashi.	Transmitochondrial mitochondrial mtDNA mutation mice, but not aged mice, share the same spectrum of musculoskeletal disorders.	BBRC	456	933-937	2015
Akinori Shimizu, Takayuki Mito, Osamu Hashizume, Hiromichi Yonekawa, Kaori Ishikawa, <u>Kazuto Nakada</u> , and Jun-Ichi Hayashi.	G7731A mutation in mouse mitochondrial tRNA(Lys) regulates late-onset disorders in transmitochondrial mice.	BBRC	459	66-70	2015
Osamu Hashizume, Haruka Yamanashi, Makoto M. Taketo, <u>Kazuto Nakada</u> , and Jun-Ichi Hayashi.	A Specific Nuclear DNA Background Is Required for High Frequency Lymphoma Development in Transgenic Mitochondrial Mice with G13997A mtDNA.	PLoS ONE	10	e0118561	2015
八ツ賀 秀一、 <u>古賀 靖敏</u>	ミトコンドリア病の新しいバイオマーカーFGF21	Clinical Neuroscience 偏桃体— up to date	32(6)	704-5	2014
古賀 靖敏	特集：ミトコンドリア病 小児科におけるミトコンドリア病	神経眼科	31(4)	457-463	2015
村山 圭	テーマ：IV消化器疾患 ミトコンドリア肝症	小児内科	46 (増刊号)	692-696	2014

研究成果の刊行物・別刷

XIII ミトコンドリア病

ミトコンドリア病：概論

The overview of mitochondrial respiratory chain disorders

Key words : ATP, ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(MRCD), 致死型乳児ミトコンドリア病(LIMD), 次世代シーケンサー, エキソーム解析

大竹 明

はじめに

ミトコンドリアの役割は多数あるが、最も大切なのはエネルギー(ATP)の生合成であり、その役割を担うのが呼吸鎖複合体である。したがって、‘ミトコンドリア病はミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)である’と考え、その成因・病態、更には診断・治療に対する解釈が飛躍的に深まる(図1)。

1. ミトコンドリア呼吸鎖¹⁾

ラポアジェが‘生命は燃焼により支えられて

いる’という概念を提唱し、やがてミトコンドリアが‘powerhouse of the cell(細胞内の発電所)’として脚光を浴びた。真核生物は、主に炭水化物を酸素を用いて燃焼させ、それにより莫大なエネルギーを得ている。その反応は細胞内のミトコンドリアで起こる。このメカニズムの発見におけるブレークポイントが、‘エネルギーの通貨’といわれるATPと他の高エネルギーリン化合物の発見であった。実に1日で体重の半分の重量にもなるATPが生成され消費されている計算になる。

生体内におけるATP生成反応は下記の2つである。

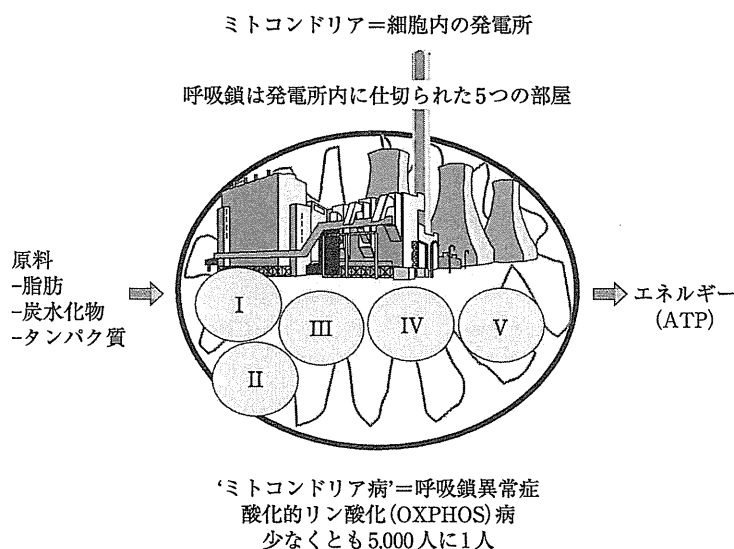


図1 ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)としてのミトコンドリア病

Akira Ohtake: Department of Pediatrics, Saitama Medical University 埼玉医科大学 小児科

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

XIII

ミトコンドリア病

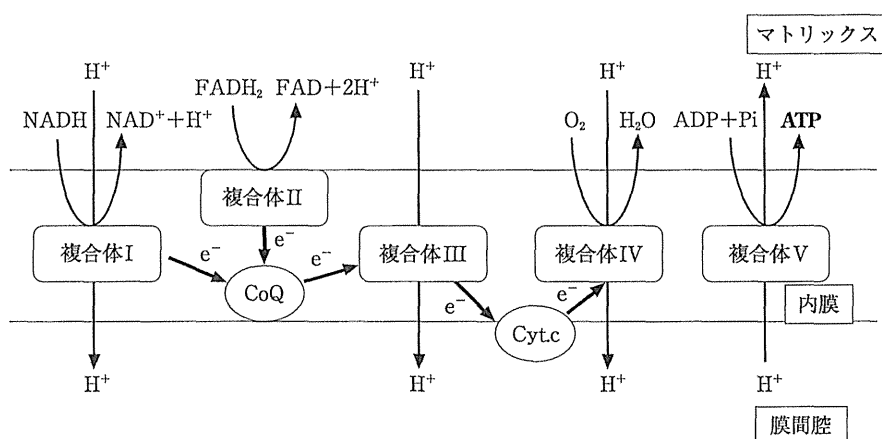


図2 ミトコンドリア呼吸鎖複合体
CoQ: コエンザイム Q, Cyt. c: シトクローム C.

表1 電子伝達系(呼吸鎖複合体 I-IV)の反応

呼吸鎖複合体 I: $\text{NADH} + \text{Q} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{QH}_2$
呼吸鎖複合体 II: $\text{succinate} + \text{Q} \rightarrow \text{fumarate} + \text{QH}_2$
呼吸鎖複合体 III: $\text{QH}_2 + 2\text{cyt c}(\text{Fe}^{3+}) \rightarrow \text{Q} + 2\text{cyt c}(\text{Fe}^{2+}) + 2\text{H}^+$
呼吸鎖複合体 IV: $4\text{cyt c}(\text{Fe}^{2+}) + 4\text{H}^+ + \text{O}_2 \rightarrow 4\text{cyt c}(\text{Fe}^{3+}) + 2\text{H}_2\text{O}$

Q: コエンザイム Q, QH_2 : 還元型コエンザイム Q, $\text{cyt c}(\text{Fe}^{3+})$: 酸化型シトクローム C, $\text{cyt c}(\text{Fe}^{2+})$: 還元型シトクローム C.

1) 解糖

1分子のブドウ糖が2分子の乳酸に転換される間に2分子のATPを生成する。迅速な反応でアロステリック効果で速度の調節も可能であり、初期の筋肉運動で利用されている。その反面、非効率で乳酸がすぐに蓄積し長時間の維持は不可能である。

2) 酸化的リン酸化

ブドウ糖の炭酸ガスへの完全なる酸化で、1分子のブドウ糖から35-36分子のATP(臓器により異なる)を生成する。このATP産生とそれに伴い生成されたNADH, FADH_2 の NAD^+ , FADへの再酸化を行うのが呼吸鎖複合体である(図2)。電子伝達系は複合体I~IVまでを指し、呼吸鎖はI~IVの電子伝達系複合体にATP合成酵素(複合体V)を加えた総称である。各複合体の生体内での存在比率はウシ心臓ミトコンドリアで調べられており、I:II:III:IV:V=[1.1±0.2]:[1.3±0.1]:[3]:[6.7±0.8]:[3.5

±0.2]と報告されている²⁾。

呼吸鎖は2つの部分に分けて考える。前半は複合体I~IVまでで、その連動した働きで電子(e^-)伝達が行われるが、これはミトコンドリアマトリックスから膜間腔へのプロトン(H^+)の汲み出しを伴う。この電子伝達がスムーズにいくように各複合体は互いに寄り添い、更なる大分子複合体である超複合体を形成する。その詳細はまだ不明の点が多いが、哺乳類においては少なくともI, III, IVが超複合体を形成していることが知られている²⁾。

以上4つの反応をまとめると表1のようになる。

後半は、逆にこの膜間腔に蓄積したプロトン(H^+)をマトリックスへ汲み上げる力を利用し、分子モーターである呼吸鎖複合体V(ATPase)がATPを生成する。

表2 ミトコンドリア病の臨床症状
 <The A to Z of mitochondrial neuromuscular disease symptoms>

Adult-onset myopathy	Neuropathy
Basal ganglia signs	Ophthalmoplegia
Cardiomyopathy	Poor head control
Dystonia	Questionable diagnosis
Exercise intolerance	Rhabdomyolysis
Failure to thrive	Spastic paraplegia
Gut dysmotility	Tremor
Hypotonia	Unexplained association of symptoms
Infantile encephalomyopathy	Valproate intolerance
Juvenile-onset strokes	Wasting
Kyphosis	Xertional myoglobinuria
Leukodystrophy	Yo-yo-ing clinical course
Myoclonic epilepsy	Zestlessness

David R Thorburn 氏 (Murdoch Childrens Research Institute, Melbourne, Australia) からの私信.

いかなる症状, いかなる臓器・組織, 何歳でも, いかなる遺伝形式でも

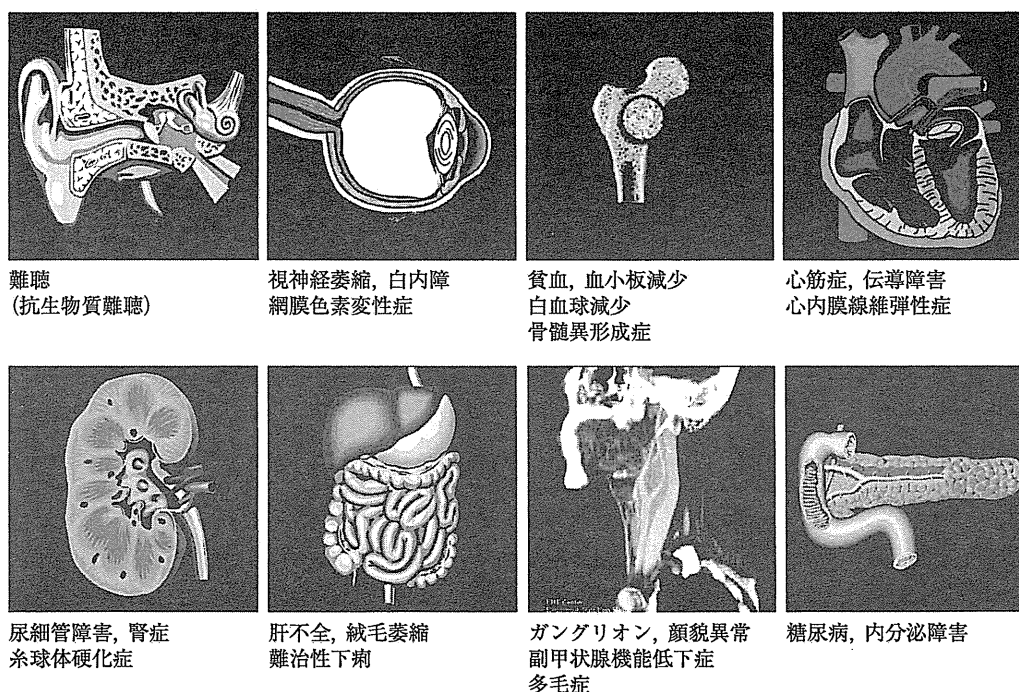


図3 ミトコンドリア病の発症形態
 (Munnich A, Rustin P (Am J Med Genet 106: 4-17, 2001)ほかを改変)

2. ミトコンドリア病の臨床

いかなる症状, いかなる臓器・組織, 何歳で

も, そしていかなる遺伝形式でも発病しうるのがミトコンドリア病である(表2, 図3). 従来神経・筋肉の病気と考えられていたが, ミトコ