

ある。われわれと分担研究者太田らとの共同研究により、タウリン大量投与によってモデル細胞のミトコンドリア機能異常が是正され、2名の MELAS 患者の脳卒中様発作が9年以上抑制されることを報告した (Rikimaru, et al. Intern Med 51, 3351-3357, 2012)。

タウリンは、すでに1987年に高ビリルビン血症と心不全を適応に薬事承認されている既知薬である。本研究は、タウリン大量投与についての、これら先行 POC 研究を基盤に、新規に MELAS 脳卒中様発作の再発予防を対象とした追加薬事承認獲得を目標とする医師主導治験を骨子とする。

本年度は分担研究者として中核医療機関川崎医科大学で、1名の患者を対象に、期間1年間の試験薬タウリン投与を実施し、その脳卒中様発作予防の有効性について検討した。

## B. 研究方法

川崎医科大学タウリン治験ワーキンググループが作成しPMDA本審査を経たプロトコルに従い、附属病院神経内科外来に入院中の1例の40代女性MELAS患者について、その同意を得て登録した。GMP試験薬タウリンの期間1年の投与を実施して、その脳卒中様発作再発予防効果について検証した。治験参加に先立ち、学内治験インフラを整備し(図1)、治験審査会(IRB)に本治験プロトコルを申請し承認を得た。

(倫理面への配慮)

本研究は、2008年「ソウル版ヘルシンキ宣言」に準じ、平成25年「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」及び平成23年版「医療における遺伝子検査・診断に関するガイドライン」を遵守する。治験は、平成24年発令の「臨床研究・治験活性化5か年計画」に基づき、「医薬品の臨床研究の実施に関する省令(GCP)」に該当する医師主導治験として実施する。

## C. 研究結果

被験者：40代女性

高校生のころから頭痛もちで、低身長、感音性難聴があった。[治験同意取得 54週以内]脳卒中様発作①：平成24年10月25日右後頭部に頭痛が出現した。他院を

受診し、左視野に欠損が認められ、頭部MRI上、右後頭葉皮質を中心に拡散強調画像で高信号域が描出されたため緊急入院となった。髄液検査で乳酸、ピルビン酸高値、筋生検でgagged red fiberを認め、ミトコンドリア遺伝子解析の結果、ミトコンドリア遺伝子A3243G変異が認められたため、MELASと診断された。入院時にL-アルギニン静注が静脈投与され頭痛、視野欠損は次第に改善していた。発作②：退院が予定されていた平成24年12月6日突然、左不全片麻痺が出現して左半身の感覚消去も認められた頭部MRIが撮影された。左前頭葉・頭頂葉・側頭葉皮質を中心に拡散強調画像で高信号域が描出され、L-アルギニン静注が静脈投与され症候は徐々に改善した。発作予防としてL-アルギニン経口投与(18g/日)が開始され退院した。発作③：平成25年3月4日昼、急に家族との意思疎通が悪くなり、話しかけても反応しないため、他院救急外来を受診し、翌3月5日当科紹介となった。身長147cm、体重32.8kg、感覚性失語を認め、頭部MRI上、左側頭葉に拡散強調画像で高信号域が認められた。入院のうえ、エダラボン及びL-アルギニン静注が静脈投与された。翌朝一旦、頭痛、軽度意識障害が出現したが、その後は消失し、感覚性失語も次第に改善したため退院となった。L-アルギニン経口投与(18g/日)が継続され川崎医科大学外来に定期通院していた。

以上のように背景調査では、平成24年10月25日、平成24年12月6日、平成25年3月3日に「発作時突発性局所神経徴候」が認められ、本治験の「選択基準による「脳卒中様発作カウント」は3回であった(このうち全発作で局所神経徴候に該当するMRI異常が確認されている)。選択除外基準に照らし、患者登録が可能であると判断され、アルギニン併用例に分類された。[治験同意取得] 治験プロトコルについて説明し、平成25年10月3日に同意を取得した。[治験薬投与量・投与期間] 試験薬 KN01 投与量は、体重区分により規定された9g/日とした。投与期間は平成25年10月3日-平成26年10月2日迄の1年間。[評価期間] 平成25年12月12日-平成26年10月2日までの42週間。[有効性評価] 投与期間・評価期間と

も本治験の「MELAS ストローク判定基準による脳卒中様発作カウント＝発作時突発性局所神経徴候＋頭部 MRI 拡散強調像高信号」は 0 回であった。[安全性評価]投与期間・評価期間とも有害事象はなかった。[FIH(First-in-human)バイオマーカー候補測定]①白血球ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>のタウリン修飾率：(投与前 0 週) 30.97±1.97%→(投与後 52 週) 42.28±4.96% (P<0.05 で有意上昇) ②ミトコンドリア Leu(UUR)-rich ND6 蛋白質量 (内部コントロールβ-actin 比)：(0 週) x 1.0 → (52 週) x 0.96. ③ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー)：(0 週) 28.7%→(52 週) 33.8%.

#### D. 考察

本被験者は、試験薬タウリンの 1 年間の投与によって脳卒中様発作が完全抑制された。FIH で検討した薬効バイオマーカー候補のうち、白血球検体で測定したミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>タウリン修飾率が有意に上昇していた。

#### E. 結論

川崎医科大学の 1 症例は、試験薬タウリン経口投与による脳卒中様発作再発抑制効果の主要評価項目である「100%レスポンス」に該当して、有効であると考えられた。試験薬投与前後で有意に上昇した白血球ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>タウリン修飾率からは、このバイオマーカー候補が有用である可能性を示した。試験薬投与による有害事象はなく安全性についても問題ないと考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Takayama K, Noguchi Y, Aoki S, Takayama S, Yoshida M, Asari T, Yakushiji F, Nishimatsu S, Ohsawa Y, Itoh F, Negishi Y, Sunada Y, Hayashi Y. Identification of the minimum Peptide from mouse myostatin prodomain for human myostatin inhibition. *J Med Chem.*;58(3):1544-9, 2015

Murakami T, Sunada Y. Expression of the transthyretin gene in Schwann cells and familial amyloidotic polyneuropathy

-mediated neurodegeneration. In: Sango K, Yamauchi J, eds. *Schwann Cell Development and Pathology*. Tokyo, Japan: Springer, 103-115, 2014

村上 龍文、久徳 弓子、西村 広健、林 真貴子、阿部 暁子、早坂 清、砂田 芳秀 Charcot-Marie-Tooth 病 4B1 と myelin outfoldings. *Peripheral Nerve*, 25(1): 52-58, 2014

Murakami T, Sango K, Watabe K, Niimi N, Takaku S, Li Z, Yamamura K, Sunada Y. Schwann cells contribute to neurodegeneration in the transthyretin amyloidosis. *J. Neurochem.* DOI:10.1111/jnc.13068, 2015

##### 2. 学会発表

<国内学会>

砂田芳秀「マトリックスポロテアーゼを介するサルコグリカン欠損筋ジストロフィー発症機構の解析」第 55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月 23 日 福岡

砂田芳秀「ミオパチーupdate」第 32 回日本神経治療学会総会 2014 年 11 月 22 日 東京

#### G. 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

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 後藤雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所  
疾病研究第2部・部長

研究要旨

MELAS はミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>のクローバーリーフ構造の点変異で発症する。本研究は MELAS を変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>アンチコドンのタウリン修飾異常（tRNA 修飾異常病）と捉え、タウリン大量投与でその改善と脳卒中様発作再発予防を目指す医師主導治験である。厚労省ミトコンドリア病調査研究（後藤）班がバックアップして神経学会及び小児神経学会認定全国 911 施設からこれまで最大の 291 名の MELAS 患者（小児科 63 名/神経内科 223 名）をを集計し、このうち脳卒中様発作反復患者は 83 名（小児科 33 名/神経内科 50 名）であった。この結果は世界的にも明確となっていない MELAS 自然歴の解明に繋がり、あわせて将来の National registry に向けた基盤データとなる。ミトコンドリア遺伝子解析により、治験登録を推進し、バイオマーカー解析に協力した。

A. 研究目的

MELAS は、ミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子のクローバーリーフ領域の点変異（A43243G）が、80%の患者で認められる希少難病である（Goto Y, et al. *Nature* 348 : 651-651, 1990）。この遺伝子変異から脳卒中様発作など多様な臨床発症に至る分子メカニズムの全容については未だに解明されていない。

分担研究者太田らは、MELAS の変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドン 1 文字目の塩基である U34 で、正常で認められるタウリン修飾の欠損を発見し（Yasukawa T, Ohta S, et al. *JBC* 275 : 4251-4257, 2000）、このタウリン修飾欠損と MELAS 臨床症状との相関を示した（Kirino Y, et al. *PNAS* 102 : 7127-7132, 2005）。さらに、研究代表者らによってタウリンを大量投与することによって MELAS モデル細胞のミトコンドリア機能異常が改善し、2 名の MELAS 患者の脳卒中様発作が長期に抑制されることが報告され、RNA 修飾異常のタウリン大量治療の可能性が示された（Rikimaru M, et al. *Intern Med.* 51, 3351-3357, 2012）。

タウリンはうっ血性心不全と高ビリルビ

ン血症に対し既に薬事承認されているアミノ酸であるため、容易に保険適応外投与が行われ得る。そこで、厚労省ミトコンドリア病調査研究（後藤）班は、研究代表者らに、タウリンの MELAS 脳卒中様発作再発予防の薬事承認を目的とする厳密な医師主導治験を開始するよう勧告した。

MELAS 全国疫学アンケート調査に協力し、この疫学データを踏まえ、将来の自然歴把握と National registry 構築の基盤とすることを旨として研究を進めた。一方、ミトコンドリア遺伝子解析を実施し治験登録を推進し、First-in-human (FIH) で解析する、バイオマーカー解析に協力した。

B. 研究方法

① MELAS 疫学全国調査：研究代表者に協力し、日本神経学会、日本小児神経学会との疫学共同研究を立案した。平成 25 年 1 月下旬から本邦 MELAS 患者の疫学・自然歴を把握するための一アンケート票を専門施設の診療部長宛てに発送し、集計に協力した。

② ミトコンドリア遺伝子解析：治験登録基準に合致するが、遺伝子解析が未施行の候

補患者について、ミトコンドリア DNA を抽出し変異解析を行った。

③ バイオマーカー白血球 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>のタウリン修飾率解析：研究代表者に協力し、解析デザインを立案した

(倫理面への配慮)

本治験は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究(侵襲なし)に相当し、2008年版ソウル版ヘルシンキ宣言に基づく”ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”を遵守して施行する。治験登録候補患者の遺伝子解析については、患者の同意のもと、藤田保健衛生大学およびNCNPの倫理委員会の承認を得て、その規定を遵守して施行した。治験は、平成24年発令の「臨床研究・治験活性化5か年計画」に基づき、「医薬品の臨床研究の実施に関する省令(GCP)」に該当する医師主導治験として実施された。

### C. 研究結果

① MELAS 全国疫学調査：疫学および自然歴調査のため、研究代表者が作成した MELAS 疫学研究を改訂し、日本小児神経学会に共同研究申請をおこなった。この申請が採択され、小児神経学会認定施設(141 施設)へ MELAS 患者に対する疫学アンケート票を郵送し調査協力を依頼した。現在までに 87 施設/61.7%の解答を得て、本邦の小児科医の診療する MELAS 患者疫学について最新情報が得られた。同様に日本神経学会と共同研究をおこない神経学会認定施設(770 施設)の MELAS 患者について調査した。これまで最大の 291 名の MELAS 患者が集まり、このうち 2 年間に 2 回以上の脳卒中様発作反復患者数は、83 名で、小児科が 33 名、神経内科が 50 名であった。さらに、登録・実施医療機関選定のための二次調査および三次調査に協力した。

② National registry：ミトコンドリア調査班の分担研究者である小牧宏文が平成 25 年 7 月の本治験キックオフミーティングに参加し希少難病である MELAS の本邦の National registry の現状と問題点について発言した。これを受けて、調査班全体として本治験への患者・実施施設登録への協力体制構築に協力した。

③ ミトコンドリア遺伝子解析：遺伝子解析が未施行である治験登録候補患者について、タウリン修飾欠損が予想される m

tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の詳細な遺伝子解析を実施し、その治験登録の可否を判定した。

④ 白血球 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> タウリン修飾率測定：分担研究者は、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の A3243G, T3271C, G3244A, T3258C, T3291C で tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> タウリン修飾率について検討した先行研究を実施している。この情報を分担研究者西松の伝達し、FIH で被験者血中白血球検体を用いて実施されるタウリン修飾率デザインと、その評価について助言した(結果の詳細は分担研究者西松の項参照)。

### D. 考察

本研究は厚生労働省および文部科学省の「臨床研究・治験活性化 5 ヶ年計画」の 3 大目標のうち、①迅速に国民に医薬品を届ける、②日本で疾患概念が確立し遺伝子変異が同定された希少疾患 MELAS(Goto, et al. Nature 348, 1990)の tRNA 修飾異常症(Yasukawa, Ohta, et al. EMBO J 20, 2001)の修復治療(Rikimaru, et al. Intern Med 51, 2012)という独創的シーズの実用化、③市販後医薬品による最適治療法を見出すためのエビデンス構築、にいずれも合致する。本研究で得られたわが国の MELAS 疫学情報は、将来予定される、ピルビン酸・EPI 等の治験についての重要な基礎データとなるものと考えられる。難治疾患 MELAS の克服に向けた National registry への取り組みが必要と考えられた。本治験から新規疾患概念である tRNA 修飾異常病(Torres AG, et al. Y, et al. Trends Mol Med 20 : 306-314, 2014)の世界初の薬事承認を得たい。

### E. 結論

ミトコンドリア病調査研究班、日本小児神経学会、日本神経学会の協力により、本治験の患者登録のための MELAS 全国アンケート調査を実施して本邦 MELAS 患者の実態についての最新情報を得た。また FIH で被験者血中白血球検体を用いて実施された白血球 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> タウリン修飾率測定に協力した。

### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし

(著書)

後藤雄一: ミトコンドリア病, 267-271 (図説分子病態学 改訂第5版、中外医学社、東京) 2014. 5. 10

後藤雄一: ミトコンドリア病, 831-833 (小児の治療指針、小児科診療 2014年増刊号、診断と治療社、東京) 2014. 4. 2

後藤雄一: ミトコンドリア病, 817-822 (神経症候群Ⅲ (第2版)、日本臨床別冊、大阪) 2014. 6. 20

後藤雄一: ミトコンドリア病, 251-252 (2015-2017 神経疾患最新の治療、南江堂、東京) 2015. 1. 30

(総説)

なし

## 2. 学会発表 (国際学会)

Sakai C, Matsushima Y, Sasaki M, Miyamoto Y, Goto Y: Targeted exome sequencing identified a novel genetic disorder in mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. Euromit 2014, Tampere, Finland, 6.16, 2014

Matsushima Y, Hatakeyama H, Takeshita E, Kitamura T, Kobayashi K, Yoshinaga H, Goto Y. Leigh-like syndrome associated with calcification of the bilateral basal ganglia caused by compound heterozygous mutations in mitochondrial poly(A) polymerase. Euromit 2014, Tampere, Finland, 6.16, 2014

Goto Y: Mitochondrial Disease. Asian & Oceanian Epilepsy Congress 2014. Singapore, 8.7, 2014

(国内学会)

後藤雄一: ミトコンドリア病に関わる基礎研究の進展. 企画セミナー1 ミトコンドリア病: A reappraisal. 第56回日本小児神経学会学術集会, 浜松, 5.30, 2014

後藤雄一: ミトコンドリア脳筋症: MELASの脳卒中発作に対するタウリン療法の開発. 共同研究支援委員会主催セミナー. 第56回日本小児神経学会学術集会, 浜松, 5.30, 2014

水野葉子, 三牧正和, 太田さやか, 下田木の実, 高橋長久, 岩崎博之, 斉藤真木子, 岡明, 水口雅, 後藤雄一: ミトコンドリア呼吸鎖異常省の診断におけるBlue-Native 電気泳動 (BN-PAGE). 第56回日本小児神経学会学術集会, 浜松, 5.30, 2014

坂井千香, 松島雄一, 山口清次, 佐々木征行, 宮本雄策, 後藤雄一: ECHS1の変異は呼吸鎖の活性低下を伴う Leigh 脳症を引き起こす. 第14回日本ミトコンドリア学会年会, 福岡, 12.5, 2014

金田大太, 新宅雅幸, 窪田-坂下美恵, 加藤忠史, 後藤雄一: MELAS 脳卒中発作における AQP4 の発現低下. 第14回日本ミトコンドリア学会年会, 福岡, 12.5, 2014

## G. 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

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 古賀 靖敏 久留米大学医学部小児科・教授

研究要旨

MELAS はミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子のクローバーリーフ領域の一塩基変異によるが発症機構は不明であった。太田らは、世界に先駆け、正常 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドン 1 文字目はタウリン修飾をうけ、一方 MELAS 変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> ではこの修飾が欠損するため (Yasukawa, JBC 275, 2000)、転写が障害される (Yasukawa, EMBO J 20, 2001) ことを発見した。この独創的知見から MELAS の基本病態は RNA 修飾異常症であると提唱し昨年度タウリンの治療特許を取得した。本治験ではタウリン経口療法によって、MELAS の脳卒中様発作を予防でき、且つ、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率の改善、Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量の増加、ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー) の軽減が達成されるかなど、有効性と安全性を検証する事が目的である。本院では、小児型 MELAS 1 名について、医師主導治験を行った。当院の患者は、残念ながら典型的な脳卒中様発作を起こした。また、タウリン使用前後のミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率、Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量、ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー) は、それぞれ、38.48+2.71 が 28.35+3.72 へ、31.3+2.6 が 22.9+3.5 へ、57.8+1.21 が 56.9+0.96 へと全く改善が見られなかった。本児では、タウリン内服後もタウリン修飾率の改善、Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量、ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー) いずれも変化なく、脳卒中様発作も起こしたことから、タウリン内服による有効性は検証できなかった。

A. 研究目的

タウリン内服により、MELAS の脳卒中様発作を予防でき、且つ、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率の改善、Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量の増加、ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー) の軽減が達成されるかを検証する目的で、医師主導治験に参加、治験での有効性と安全性の検証を行った。

B. 研究方法

川崎医科大学タウリン治験ワーキンググループが作成した治験プロトコールに従って、1例の小児型 MELAS 患者で、タウリンを内服し、治療効果について検証した。治験参加に先立って、久留米大学臨床試験審査委員会 (IRB) に本治験プロトコールを申請し、久留米大学治験センターの承認を得た。

(倫理面への配慮)

本治験は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究 (侵襲なし) に相当し、ヘルシンキ宣言に基づく”ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”を遵守し、久留米大学臨床試験審査委員会 (IRB) の規定に従って、患者の同意を得て実施された。

選択・除外基準。

選択基準

(1) 臨床所見、筋病理検査、並びに遺伝子検査により、MELAS の診断基準に照らし合わせて、総合的に MELAS と確定診断されている患者 (2) ミトコンドリア DNA に A3243G、T3271C、G3244A、T3258C、T3291C のいずれかの点変異を有する患者

(3) 同意取得時の年齢、性別、入院・外来は不問

(4) 同意取得前 78 週間にアルギニンを使用していない患者、または、使用している場合は同意取得前 26 週間以上継続し

ている患者

(5) 同意取得前の脳卒中様発作\*回数が次のいずれかを満たす患者であり、当院患者は、アルギニン服薬患者であるため、アルギニンを使用している患者は、アルギニン使用期間に応じて次のいずれかを満たす患者（アルギニン併用例）

(i) アルギニン使用期間が 78 週以内の場合、その使用期間で 2 回以上、かつ同意取得前 52 週間に 1 回以上の脳卒中様発作のある患者

(ii) アルギニン使用期間が 78 週を超える場合、同意取得前 78 週間で 2 回以上、かつ同意取得前 52 週間に 1 回以上の脳卒中様発作のある患者を満たしていたためにエントリー可能となった。

除外基準

1) ペースメーカー植え込み等で頭部 MRI 検査が実施できない患者

(2) 痙攣重積及び重度の昏睡を有する患者

(3) 認知症、寝たきり等の状態にあり、意思の疎通が不可能な患者

(4) 敗血症を合併している患者

(5) 重篤な心機能、肝機能、腎機能障害を有する患者

(6) 長期間（2 週間以上）のステロイドの全身投与が必要な患者

(7) 同意取得前 12 週以内にピルビン酸を使用した患者

(8) 妊娠中、授乳中又は妊娠している可能性のある患者

(9) 治験薬の成分に過敏症の既往歴を有する患者

(10) 薬物アレルギーの既往歴を有する患者

(11) 同意取得前 12 週以内に、他の治験に参加した患者

(12) その他、治験責任医師又は治験分担医師が対象として不適格と判断した患者があり、何れの条件にも抵触しないためにエントリー可能となった。

## C. 研究結果

患者：小児型 MELAS 1 名。

現在までに 13 回の脳卒中様発作を起こしていた。背景調査では、平成 24 年 9 月 3 日、平成 24 年 11 月 27 日、平成 25 年 5 月 28 日、平成 25 年 8 月 20 日の 4 回脳卒中様発作を起こしていた。選択除外基準

に照らして、エントリー可能であった。タウリンの投与開始時期は平成 25 年 12 月 6 日からで、1 年間の治験を実施した。その後、タウリン内服開始後、8 か月後の平成 26 年 8 月 20 日頃より、頭痛、嘔吐、右半身のけいれん、不全麻痺が発現した。その後、救急車にて病院受診し、脳卒中様発作として、緊急に L-アルギニンの 0.5 g / k g / one shoot を静注し、入院して経過観察した。右半身のけいれん、不全麻痺は静注後 1-2 時間で回復したが、頭痛と軽度の嘔気は翌日まで残存した。発症後翌日の 8 月日に拡散強調画像を含めた、頭部 MRI 施行し、左後頭、側頭、頭頂部にかけての異常画像を確認した。その後、臨床症状は徐々に 2-3 日で改善し、5 日目に退院となった。そのほかにも 2 回程度、脳卒中様発作を疑う症状が発現したが、数時間で症状が消失したため、発作とは考えていない。

タウリン使用前後のミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率、Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量、ミトコンドリア遺伝子変異率（ヘテロプラスミー）は、それぞれ、38.48±2.71 が 28.35±3.72 へ、31.3±2.6 が 22.9±3.5 へ、57.8±1.21 が 56.9±0.96 へと、全く改善が見られなかった。

## D. 考察

本児では、タウリン内服後にも、脳卒中様発作を起こし、且つミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率、Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量、ミトコンドリア遺伝子変異率（ヘテロプラスミー）が改善する事はなかった。他の施設の患者では、タウリンが脳卒中様発作を予防し、修飾率も改善した症例もあり、タウリン修飾に現在考えられている他の因子が関与しているものと推測される。

## E. 結論

我々の MELAS 症例では、タウリンの有効性を検証することは出来なかった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

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) 133-138, 2014

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, 2034-2042, 2015

Katayama K, Povalko N, Yatsuga S, Nishioka J, Kakuma T, Matsuishi T, Koga Y. New TRPM6 mutation and management of hypomagnesaemia with secondary hypocalcaemia. Brain Dev. 2015. (in press)  
doi:10.1016/j.braindev.2014.06.006

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 (in press) 2015, cmet.2015.01.019

2. 学会発表  
なし

G. 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

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 太田 成男 日本医科大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

MELAS はミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子のクローバーリーフ領域の一塩基変異によるが発症機構は不明であった。われわれは世界に先駆け、正常 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドン 1 文字目はタウリン修飾を受け、一方 MELAS 変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> ではこの修飾が欠損するため (Yasukawa, JBC 275, 2000)、転写が障害される (Yasukawa, EMBO J 20, 2001) ことを発見した。この独創的知見から MELAS の基本病態は RNA 修飾異常症であると提唱し、タウリンの治療特許を取得した。本治験ではタウリン経口療法によって、ミトコンドリア Complex I 構成蛋白質 (ND6) 量の増加、ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー) の軽減が認められるかを、患者白血球試料を用いて解析した。

A. 研究目的

1966 年、クリックは tRNA アンチコドン 1 文字目と mRNA コドン 3 文字目の結合はワトソン・クリック水素結合モデルだけでは説明しきれず、アンチコドン 1 文字目は何らかの化学修飾を受けていると予言した (Click, J Mol Biol 19, 1966)。MELAS はミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子のクローバーリーフ領域の一塩基変異によるが発症機構は不明であった。われわれは世界に先駆け、正常 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドン 1 文字目がタウリン修飾を受け、一方 MELAS 変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> ではこの修飾が欠損し (Yasukawa, JBC 275, 2000)、転写が障害される (Yasukawa, EMBO J 20, 2001) ことを発見した。この結果から MELAS の基本病態を tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾異常症と提唱し、タウリン大量投与によりモデル細胞のミトコンドリア機能障害が改善、2 例の MELAS 患者の反復する脳卒中様発作が 10 年以上抑制されることを報告した (Rikimaru, Ohta, et al. Intern Med 51, 2012)。

本治験はタウリン経口療法によって、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率が改善するという作業仮説 (太田：特許第 5028639) を基盤とした臨床治験である。

また、tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> は、UUA と UUG のコドン認識するが、タウリン修飾が欠損すると UUA のみを認識するようになる (Kirino, Ohta. et al. PNAS 101, 15070-15075, 2004)。UUG のコドンの比率が最も多いサブユニットは、ND6 (complex I; NADH-コピキノン酸化還元酵素サブユニット 6) である。そこで、タウリン大量投与後に ND6 の含量が変化するかどうかを調べた。

B. 研究方法

タウリンの大量経口投与の前後で、血液から白血球画分を分離、凍結保存した。(1) 変異ミトコンドリア DNA (mtDNA) の比率の変動について、治療前後の血液細胞において、3243 変異については mtDNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域を PCR で増幅し、3243 変異については、制限酵素 (ApaI) で切断し、電気泳動によって変異 mtDNA と正常 mtDNA の比率を求めた。また、3271 変異においては、ミスマッチ PCR によって、変異 mtDNA と正常 mtDNA の比率を求めた。なお、定量的に正しい値を得るために、PCR においては、直線上に増加している条件を用いた。

(2) ND6 の定量については、抗 ND6 抗体を用いた Western blot により行った。な

お、標準としては、actinを用いて、ほとんど actin 量が一定になるような条件で測定した。

### C. 研究結果

(1)変異 mtDNA と正常 mtDNA の比率は、タウリン投与後に変異率が増加した例は1例、減少した例は3例、変化がほとんどなかった例は6例であったので、全体としての傾向は認められなかった。

#### (2)ND6 の変化

ND6 が有意に増加した症例は1例。増加した傾向が見られた症例は1例、減少した傾向があった症例は2例であった。全体としては、明確な傾向はみられなかった。しかし、3271 変異をもつ患者では、有意に ND6 の量の増加が認められた。この症例では、変異 mtDNA の比率に変化がなかった。

### D. 考察

タウリン大量投与により、全体としては変異 mtDNA の比率の変化は認められなかった。また、全体としては、ND6 の変化は認められなかったが、3271 変異を持つ症例においては、タウリンの大量投与後に、ND6 の増加が認められた。

ND6 の増加は、ND6 の合成の増加または、分解の減少の可能性があるが、tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾によって、ND6 タンパク質の合成増加の可能性はありうる。

### E. 結論

全体として、タウリン大量投与による変異 mtDNA の比率の変化は認められなかった。全体としては、ND6 の変化は認められなかったが、3271 変異を持つ症例においては、タウリンの大量投与後に、ND6 の増加が認められた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Yokoyama M, Okada S, Nakagomi A, Moriya J, Shimizu I, Nojima A, Yoshida Y, Ichimiya H, Kamimura N, Kobayashi Y, Ohta S, Fruttiger M, Lozano G, Minamino T.: Inhibition of endothelial p53 improves metabolic abnormalities related to dietary obesity. *Cell Rep*. 2014;7(5):1691-703.

Lee H, Kiuchi T, Muto J, Ohta S, Mikami T.: Intense exercise enhances the hippocampal proliferation of progenitor cells via activating the Flk1 signaling cascade in mice. *J. Internal Med. Pharmacol.* 2014; 173:329-40.

Zhai X, Chen X, Ohta S, Sun X.: Review and prospect of the biomedical effects of hydrogen. *Med Gas Res*. 2014;4(1):19.

Kanamaru T, Kamimura N, Yokota T, Iuchi K, Nishimaki K, Takami S, Akashiba H, Shitaka Y, Katsura K, Kimura K, Ohta S.: Oxidative stress accelerates amyloid deposition and memory impairment in a double-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2015;587:126-31.

#### 2. 学会発表

太田成男: ミトコンドリア tRNA のタウリン修飾とその機能 第1回国際タウリン研究会日本部会 2015.2.21.

太田成男: ミトコンドリア活性酸素の実時間計測、酸化ストレス亢進マウスの作製、新概念の抗酸化物質としての水素 第36回日本基礎老化学会シンポジウム 2014.10.25.

太田成男: 水素医学の展開: 基礎医学から臨床応用へ向かって日本性機能学会 第25回学術総会 2014.9.5.

太田成男: ケトン体代謝について 糖尿病新治療 2014.8.27.

太田成男: How To 水素治療 第14回日本抗加齢医学会総会 2014.6.7.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む)

1. 特許取得

取得した特許等知的財産権

特許: 028639号

<http://www1.ipdl.inpit.go.jp/>

[RS1/cgi-bin/RS1P400.cgi/9001/](http://www1.ipdl.inpit.go.jp/RS1/cgi-bin/RS1P400.cgi/9001/)

発明の名称: ミトコンドリア病の予防又は治療薬

出願人 太田成男  
出願日 平成13年8月2日  
出願国 日本  
登録日 平成24年7月6日  
特許番号 5028639  
登録国 日本  
特許満了日 平成33年8月1日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 萩原 宏毅

帝京科学大学 医療科学部・教授

研究要旨

MELAS 患者における脳卒中様発作の再発抑制治療としてタウリン療法を実施し、その有効性と安全性を検証する目的で、平成 24 年 10 月より本研究を行っている。昨年度は、本研究を厚生労働省難治性疾患克服研究事業・医師主導治験として実施する基盤となるインフラ整備のため、治験実施計画（プロトコル）の作成、同意説明文書の作成、行政当局（PMDA）との対応、治験審査委員会（IRB）の審査、6 月に PMDA の薬事戦略相談を受け 7 月に治験の承認が得られた。これらにより、当初のタイムテーブル通り、平成 26 年 1 月までに観察期間 1 年の治験薬タウリン投与を開始した。本年度は医師主導治験を継続し、手順書に則してモニタリングを実施した。平成 27 年 1 月末までに全参加施設で治験が終了し、治験終了届書を提出した。成果報告会を実施し、データ固定した後、EDC データマネジメントによりタウリンの MELAS の脳卒中様発作に対する再発抑制効果と安全性を検証し、本年度末までに総括報告書を作成し提出する。

A. 研究目的

MELAS (Mitochondrial Myopathy, Encephalopathy, Lactic-acidosis and Stroke-like episodes) は最も頻度の高い病型である。脳卒中様発作を繰り返す進行性の経過をとるため、発作の再発を抑制する治療法の確立が急務である。私たちは、平成 24 年度より MELAS 患者における脳卒中様発作の再発抑制治療としてタウリン療法を実施し、その有効性と安全性を検証する目的で本研究を行っている。昨年度は、医師主導治験として実施するため、治験プロトコルを作成し、PMDA と各医療機関での IRB 承認を得た。平成 26 年 1 月までに当初のタイムテーブル通り、10 症例観察期間 1 年の治験薬タウリン投与を開始した。本年度は医師主導治験を継続し、手順書に従ってモニタリングを実施した。平成 27 年 1 月末までに全参加施設で治験が終了し、治験終了届書を提出した。2 月 7 日成果報告会を実施し、個別の症例検討を行った後、データを固定させた。タウリンの MELAS 脳卒中様発作に対する再発抑制効果と安全性を検証し、本年度末までに総括報告書を作成する。

B. 研究方法

- ① 治験実施：平成 26 年 1 月までに、全参加施設で観察期間 1 年の治験薬投与を開始した。本年度は医師主導治験を継続した。平成 27 年 1 月末までに全参加施設で治験が終了した。
- ② モニタリングの実施：本年度引き続き医師主導治験を継続し、手順書に則してモニタリングを実施した。
- ③ 治験終了届書の提出：全参加施設で治験が終了した後、平成 27 年 1 月 30 日治験終了届書を作成し提出した。
- ④ 成果報告会の実施：平成 27 年 2 月 7 日成果報告会を実施し、個別の症例検討を行った後、データを固定させた。
- ⑤ 総括報告書の作成：EDC データマネジメントにより、期間 1 年間のタウリン投与により「100%レスポンス率＝脳卒中様発作完全抑制」を主要評価項目とした有効性と安全性を検証し、総括報告書を作成する。

（倫理面への配慮）

本研究は、2008 年「ソウル版ヘルシンキ宣言」に準じ、平成 25 年「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」及び平

成 23 年版「医療における遺伝子検査・診断に関するガイドライン」を遵守する。治験は、平成 24 年発令の「臨床研究・治験活性化 5 か年計画」に基づいた医師主導治験として実施する。

### C. 研究結果

①治験とモニタリングの実施:本治験のデザインは、多施設共同・オープン・Phase III 試験で、目標症例は、過去 1.5 年間で 2 回以上かつ 1 年で 1 回以上の脳卒中様発作を反復した A3243G 及び T3291C の MELAS 患者である。日本神経学会・日本小児神経学会のバックアップにより疫学アンケート調査を実施し、これまで最大の MELAS 患者の中から脳卒中様発作反復 10 患者を登録した。治験薬タウリンは提供者（大正製薬）が GMP 基準で提供し、体重区分により規定された 1 日用量を 1 日 3 回食後経口投与、投与期間 1 年とした。治験プロトコルを作成し、PMDA と各医療機関の IRB 承認を経て、平成 26 年 1 月初旬までに全施設で投与を開始した。モニタリングを手順書に則して行い、当初の計画通り完了した。平成 27 年 1 月末までに全参加施設で治験が終了し、治験終了届書を提出した。

②成果報告会の実施:平成 27 年 2 月 7 日成果報告会を実施し、個別の症例検討を行った。脳卒中様発作再発防止の有効性については、主要評価項目を「100%レスポonder率（発作完全抑制）」とし、発作の定義は、「突発性局所神経徴候（片麻痺・感覚消去・皮質盲・失語・失行・失認）があり頭部 MRI 拡散強調像で高信号が確認されるもの」とした。副次評価項目として、ミトコンドリア病重症度スコア（JMDRS）、特殊検査（血中・髄液の乳酸値・ピルビン酸値・乳酸/ピルビン酸比・タウリン）、頭部 MRI 所見について解析した。安全性については、自覚症状、他覚所見及び各検体検査を総合し治験責任医師及び治験調整医師がタウリン自体の有害事象か判定し、本会議にて確認した。報告会の後、データを固定させた。

③総括報告書の作成:EDC データマネジメントにより、期間 1 年間のタウリン投与により「100%レスポonder率＝脳卒中様発作完全抑制」を主要評価項目とした有効性

と安全性を検証し、総括報告書を作成している。今後この報告書をもとに論文を作成し、社会に発信する計画である。

### D. 考察

平成 26 年 1 月までに観察期間 1 年の治験薬投与を開始した。本年度は医師主導治験を継続し、手順書に則してモニタリングを実施した。平成 27 年 1 月末までに全参加施設で治験が終了し、治験終了届書を提出した。現在、EDC データマネジメントによりタウリンの MELAS の脳卒中様発作に対する再発抑制効果と安全性を検証しており、本年度末までに総括報告書を作成する計画である。

### E. 結論

当初のタイムテーブル通り、平成 27 年 1 月末までに全参加施設で治験が終了し、治験終了届書を提出した。タウリンの MELAS の脳卒中様発作に対する再発抑制効果と安全性を検証し、総括報告書にまとめる。

### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし

2. 学会発表

萩原宏毅, 斉藤史明, 真先敏弘, 松村喜一郎, 園生雅弘. レスベラトロールは線維化を軽減し先天性筋ジストロフィーモデルの症状を改善する. 日本神経学会学術大会, 福岡市, 5. 24, 2014

斉藤史明, 萩原宏毅, 真先敏弘, 松村喜一郎. 先天性筋ジストロフィーモデルに対するレスベラトロールの長期的効果と作用機序の検討. 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費 26-8 「筋ジストロフィー関連疾患の基盤的診断・治療開発研究」平成 26 年度「西野班」班会議. 東京, 2014. 12. 5

### G. 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

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 西松伸一郎 川崎医科大学 分子生物学1・講師

研究要旨

本研究は、ミトコンドリア脳筋症（MELAS）に対するタウリン療法の医師主導治験において、タウリン投与前と投与後の被験者白血球に含まれるミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率を解析した。本治験で登録された 10 症例のうち、タウリン修飾率の測定を行ったのは 9 症例であった。このうち 5 症例でタウリン投与後に tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率が有意に増加していた。脳卒中様発作とタウリン修飾率の相関は、発作が完全に抑制された 6 症例のうち、測定を行ったのは 5 症例で、このうち 3 症例でタウリン修飾率が有意に改善していた。また脳卒中様発作が再発した残り 4 症例においても、2 症例でタウリン修飾率の上昇が認められた。このうち脳卒中様発作時に採血した 1 症例では、発作時（15 週）のタウリン修飾率は投与前とほとんど差はなく、タウリン投与終了時（52 週）に上昇していた。タウリン修飾率上昇の割合は、全体で 55.6%（95%信頼区間 21.2%-86.3%）を示し、タウリンの有効性を支持する結果が得られた。

A. 研究目的

ミトコンドリア脳筋症（MELAS）は、ミトコンドリアDNAがコードする tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> 遺伝子の点変異により発症するが、病態メカニズムの全貌については未解明のまま残されている。後藤、太田らは、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のアンチコドン3番目の塩基がタウリンで修飾されていること、さらに MELAS の変異 tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> では3番目のアンチコドンのタウリン修飾が欠損していることを発見した。tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のタウリン修飾が欠損すると、Leu<sup>(UUG)</sup> への対応が十分にできなくなるため、ミトコンドリアの中で最も Leu<sup>(UUG)</sup> 含量の多いタンパク質で、呼吸酵素複合体Iを構成するND6タンパク質の合成が抑制され、ミトコンドリアの呼吸機能が低下するのではないかと予想されている。われわれは、MELAS のモデル細胞の培養液にタウリンを添加するとミトコンドリアの呼吸機能が改善すること、さらに MELAS 患者 2 名にタウリンを投与すると脳卒中用発作が抑制されることを明らか

とし、MELAS の基本病態はRNA修飾異常症であることを提唱した。

これまでの基礎研究および先行臨床研究にもとに本研究では、タウリンの投与による脳卒中様発作の抑制効果と関連して、被験者白血球に含まれるミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のタウリン修飾と ND6 タンパク質の合成が上昇しているか解析し、タウリン投与によりミトコンドリア機能が改善しているか検討した。

B. 研究方法

【白血球分画の調整】

被験者より採血した血液21mL(EDTA入り)に、等量の生理食塩水を加え、リンフォプレップチューブに重層した。2000回転で20分間遠心後、白色の中間層を採取し白血球分画とした。この分画をIsogen液(Wako)と混合し全RNAを抽出した後、DNA分解酵素により混入しているゲノムDNAを分解し全RNAを精製した。

【プライマー伸長法によるミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> タウリン修飾率の解析】

ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUA)</sup> のアンチコドンの 3' 側上流の塩基配列に相補的なプライマーを作製し放射性ヌクレオド ( $\cdot$ -<sup>32</sup>P-ATP)

により標識した。被験者より採取した全 RNA とジデオキシグアノシン (ddGTP)、デオキシヌクレオチド (dATP, dTTP) を混合し、逆転写酵素 (MMLV) により cDNA 合成を行った。タウリンで修飾された tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> を鋳型とした場合、アンチコドンの 3 番目の塩基「U」は「G」と水素結合を形成するため、ddGTP が取り込まれ cDNA 合成が停止する。一方、タウリンで修飾されていない場合、「U」は「A」と水素結合を形成し cDNA 合成が継続され

「G」に相当する塩基が出現したところで停止する。cDNA 合成の差を定量することで、タウリン修飾率を算出した (図 1)。

$$\text{タウリン修飾率 (\%)} = \frac{\tau\text{m}^5\text{U}_{34}}{\text{U}_{34} + \tau\text{m}^5\text{U}_{34}} \times 100$$

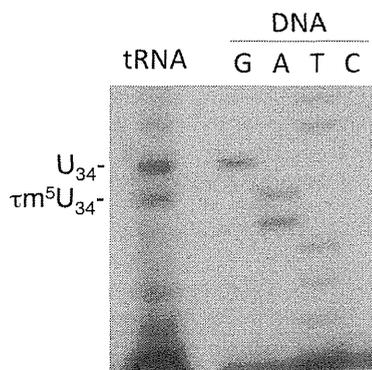


図 1 プライマー伸長法によるミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> タウリン修飾の解析

### C. 研究結果

タウリン投与開始前 (0 週) および投与終了後 (52 週) の白血球 18 検体に加え、脳卒中様発作時 (15 週) に採血した 1 検体より抽出した全 RNA を用いて tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率をプライマー伸長法により分析した。標準物質としてミトコンドリア DNA A3243G 変異を有する培養細胞株とそのコントロールの A4 細胞株より調整した全 RNA を用いた。標準物質の A4 細胞株と A3243G 変異を有する培養細胞株由来の RNA については 6 回測定を行い、タウリン修飾率と標準偏差は

それぞれ  $32.54 \pm 2.83\%$ 、 $21.21 \pm 2.35\%$  であった。標準誤差は、それぞれ 1.15 と 0.96 でプライマー伸長法によるタウリン修飾率測定の再現性を確認した。

続いてタウリン投与開始前と終了後の検体を用いて、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率を比較した。タウリン修飾率の測定を行った 9 症例のうち、タウリン投与後に修飾率が増加していたのは 5 症例であった。脳卒中様発作との相関については、発作が完全に抑制された 6 症例のうち、タウリン修飾率の測定を行ったのは 5 症例で、このうち 3 症例で有意にタウリン修飾率が上昇していた。脳卒中様発作が再発した残り 4 症例においても、2 症例でタウリン修飾率が改善していた。このうち 1 症例では、脳卒中様発作時に検査を実施した。投与前 (0 週) と発作時 (15 週) のタウリン修飾率に差は認められなかったが、タウリン投与終了時 (52 週) には上昇していた。

### D. 考察

本検査を行った 9 症例のうち 5 症例で tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率が有意に増加していたが、いずれの症例もタウリン投与前後でミトコンドリア DNA の変異率 (ヘテロプラスミー) はほとんど変化していなかった。タウリン修飾率の上昇は、ミトコンドリア DNA の複製レベルでの調節ではなく、転写後のレベルで調節されている可能性が示唆された。タウリンの大量投与により、tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾自体が回復しているものと考えられる。

ND6 タンパク質の合成との相関については、タウリン修飾率の上昇に伴って、T3271C 変異を有する 1 症例で ND6 タンパク質の合成が有意に上昇していた。この症例では、作業仮説のとおり、タウリンの大量投与によりミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾が改善することで、ミトコンドリア ND6 タンパク質の合成が回復し、ミトコンドリア呼吸酵素複合体 I の活性が改善し、脳卒中様発作の抑制が達成された可能性が示唆された。

タウリン修飾率が上昇した症例で、ND6 タンパク質量に有意な上昇が認められない症例については、タウリン大量投与の

二次的な効果として、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率が上昇した可能性が示唆される。タウリンの長期継続投与による検証とともに、症例数を増やしてさらに詳細な検討を行う必要がある。

3. その他  
なし

## E. 結論

本治験に登録された 10 症例のうち、特殊検査（血中白血球検査）を行った 9 症例のうち 5 症例で tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率が有意に増加していた。タウリン修飾率上昇の割合は、脳卒中様発作の有無に関わらず全体で 55.6%（95%信頼区間 21.2%-86.3%）で、タウリンの有効性を支持する結果が得られた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Takayama K, Noguchi Y, Aoki S, Takayama S, Yoshida M, Asari T, Yakushiji F, Nishimatsu S, Ohsawa Y, Itoh F, Negishi Y, Sunada Y, Hayashi Y : Identification of the minimum peptide from mouse myostatin prodomain for human myostatin inhibition. J. Med. Chem. 58, 1544-1549 (2015).

Motomura E, Narita T, Nasu Y, Kato H, Sedohara A, Nishimatsu S, Sakai M : Cell-autonomous signal transduction in the Xenopus egg Wnt-β-catenin pathway. Dev Growth Differ 56, 640-652 (2014).

### 2. 学会発表

Nishimatsu S, Ohsawa Y, Terada K, Katase N, Suzuki T, Sunada Y, Nohno T: Regulation of skeletal muscle growth by the pro-protein convertase, furin. 第 37 回（平成 14 年度）日本分子生物学会、横浜、11.26. 2014.

## G. 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

「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の開発」

研究分担者 村上 龍文 川崎医科大学 神経内科学・准教授

研究要旨

ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の効果を判定するため、MELAS ストローク判定基準として、①突発性局所神経徴候を有すること、②頭部 MRI で拡散強調画像での高信号病変が確認されること、の両者の存在を必要条件としている。本治験では全治験実施医療機関 10 施設で、前観察期間と観察期間 52 週に定時の頭部 MRI 撮影がプロトコルに従って施行された。脳卒中様発作が疑われた場合頭部 MRI 撮影が施行され、臨床症状と合わせて MELAS ストロークの再発か判定された。タウリン療法を施行した 10 人中 4 人が各々 1 回ストローク再発と判定されたが、他の 6 人は再発を認めなかった。頭部 MRI の拡散強調画像は、MELAS の脳卒中様発作診断の判定条件として有用であった。

A. 研究目的

ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中様発作に対するタウリン療法の効果を判定するため、発作再発の判定が重要である。本治験では MELAS ストローク再発の判定基準として、①突発性局所神経徴候を有すること、②頭部 MRI で拡散強調画像での高信号病変が確認されること、の 2 条件を基準とした。

MELAS 患者の頭部 MRI 撮影は、本治験のため作成された「MRI イメージング手順書」に基づき、各治験実施医療機関で定時の前観察期間の頭部 MRI 撮影、定時の観察期間 52 週の頭部 MRI 撮影、脳卒中様発作時の頭部 MRI 撮影が施行された。

本研究ではこれら頭部 MRI 撮影の実施状況と、その読影結果について報告する。

B. 研究方法

本治験で登録した全治験実施医療機関 10 施設での、定時の前観察期間と観察期間 52 週の頭部 MRI 検査の施行状況、画像データと読影結果の提出、検査記録および読影記録の提出、品質の点検状況について検討する。

また脳卒中様発作時の頭部 MRI 撮影状況、画像データと読影結果の提出、検査

記録および読影記録の提出、品質点検の状況と発作再発の判定状況についてまとめ考察する。

（倫理面への配慮）

本治験は、ヒトゲノム遺伝子解析研究・介入研究（侵襲なし）に相当し、2008 年版ソウル版ヘルシンキ宣言に基づく“ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”を遵守して施行された。

頭部 MRI 撮影条件調査書の写し、頭部 MRI 撮影条件確定書の写し、検査記録の写し、読影記録、画像データの保存された CD-ROM は施錠された棚に保存し、個人情報情報は連結匿名化され個人情報漏洩の防止について徹底管理された。

C. 研究結果

治験実施医療機関での頭部 MRI 検査の実施状況について表にまとめた。

「MRI イメージング手順書」では定時の前観察期間 MRI 検査はタウリン投与前 4 週間以内可、できたら 1 週間内ということであった。この規定は遵守され、頭部 MRI 撮影はタウリン投与当日が 3 施設、前日が 1 施設、2 日前が 3 施設、4 日前が

1施設、7日前が2施設と、規定通り投与前1週間以内にMRI検査が施行された。

定時の観察期間52週(364日)の頭部MRI検査は、前後14日であれば可としたが、タウリン投与終了当日が7施設、投与終了前日が1施設、投与終了6日前が1施設、投与終了7日前が1施設と、タウリン投与終了1週間前から投与終了当日にかけMRI検査が施行された。このように規定通り観察期間52週の頭部MRI検査は施行された。

脳卒中様発作時の頭部MRI撮影は、4施設の4人では脳卒中様発作はなく施行されなかった。

発作再発と判定されたのが4施設の4人で、各々1回ずつ認められた。そのうち2人は皮質性視野障害を呈し、両者とも頭部MRI拡散強調画像で右後頭葉皮質に高信号が認められ症状と関連していた。これら2人と対照的に残りの2人は病巣が広く、1例では左後頭葉、左側頭葉、左頭頂葉にかけて拡散強調画像で高信号病変を認め、もう1例では右側頭葉に拡散強調画像で高信号の新規病変が出現していた。

脳卒中様発作が疑われながら、発作再発と判定されなかったのは2施設、2人であった。1人は3回発作が疑われたが、拡散強調画像では新たな病変は認められなかった。

もう1人は3回脳卒中様発作が疑われ、2回の発作の頭部MRIでは新規病変は認められなかったが、1回の発作では頭部MRIの拡散強調画像で右前頭葉皮質に高信号を認めた。症状は頭痛と嘔吐のみで、再発の判定基準の“突発性局所神経徴候を有すること”を満たさなかった。本例は症候性てんかんであった可能性や、右前頭葉でsilent lesionであったために局所神経徴候が出現しなかった可能性が推測された。

治験実施医療機関から、画像データと読影結果の保存されたCD-ROM、MRI検査記録および読影記録提出書が送付されてきた。読影結果は一部数日遅れて提出される事があった。画像データ、読影結果、検査記録および読影記録提出書は照らし合わされ、治験調整医師である砂田により品質点検記録が作成され、治験実施医療機関に送られた。原本は川崎医科大学

神経内科で保管された。

#### D. 考察

各治験実施医療機関の協力で定時の前観察期間の頭部MRI撮影、観察期間52週の頭部MRI撮影は手順通り滞りなく施行された。

また脳卒中様発作時の頭部MRI撮影はもう少し頻度が高いことを予想していたが、平成26年5月にMRI撮影回数が多かった以外は、それほど撮影回数は多くなかった。

再発判定の条件の1つは拡散強調画像での高信号病変であった。読影の再確認で判定に迷うことはなかったが、ADC mapやT2強調画像なども参考にした。

今回は局所神経徴候を呈さず、MRI撮影の拡散強調画像で高信号を認めた例が1回のみ観察された。今後このような例をどのように解釈するか検討がさらに必要である。

#### E. 結論

今回の治験は稀少難病で患者数が少なく、また予想より脳卒中様再発回数も少なかったため、頭部MRI撮影とその後の発作判定がスムーズに施行された。また頭部MRI拡散強調画像は、MELASの脳卒中様発作診断の判定条件として判別しやすく有用であった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Murakami T, Sunada Y. Expression of the transthyretin gene in Schwann cells and familial amyloidotic polyneuropathy-mediated neurodegeneration. In: Sango K, Yamauchi J, eds. *Schwann Cell Development and Pathology*. Tokyo, Japan: Springer, 103-115, 2014

村上 龍文、久徳 弓子、西村 広健、林 真貴子、阿部 暁子、早坂 清、砂田 芳秀 Charcot-Marie-Tooth病4B1とmyelin outfoldings. *Peripheral Nerve*, 25(1): 52-58, 2014

Murakami T, Sango K, Watabe K, Niimi N, Takaku S, Li Z, Yamamura K, Sunada Y. Schwann cells contribute to neurodegeneration in the transthyretin amyloidosis. *J. Neurochem.* DOI:10.1111/jnc.13068, 2015

## 2. 学会発表

村上 龍文、久徳 弓子、西村 広健、林 真貴子、阿部 暁子、早坂 清、砂田 芳秀

「Charcot-Marie-Tooth 病 4B1 本邦例の検討：myelin outfoldings の診断的重要性について」第 55 回日本神経学会学術大会  
2014 年 5 月 24 日 福岡

村上 龍文、久徳 弓子、西村 広健、砂田 芳秀「Charcot-Marie-Tooth 病 4B1 での myelin outfoldings の形成機序の研究」  
第 24 回日本末梢神経学会学術集会 2014 年 8 月 29 日 京都

Murakami T, Sango K, Watabe K, Niimi N, Takaku S, Li Z, Yamamura K, Sunada Y. Schwann cells affect neurodegeneration in the transthyretin amyloidosis. 第 37 回日本神経科学大会 2014 年 9 月 11 日 横浜

## G. 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