

「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 患者の再発判定が重要である。本治験では 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、の両者が存在することを再発の判定基準とした。

本治験ではまず MRI 撮影条件の標準化のため、「MRI イメージング手順書」に基づき各治験実施医療機関 10 施設で治験開始前の頭部 MRI 撮影条件調査書の作成と提出がなされ、当施設でそれに対する頭部 MRI 撮影条件確定書の発行を行い治験開始の条件を整えた。

次に前観察期間と観察期間 52 週に定時の頭部 MRI 撮影がプロトコールに従って施行された。脳卒中様発作が疑われた場合は頭部 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否か判定された。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、発作の再発の判定が重要なポイントなる。本治験では 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、の両者が存在することを再発の判定基準とし施行された。

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 10 施設で頭部 MRI 撮影条件の調査と、その撮影条件の確定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 施設での頭部 MRI 撮影条件調査書の作成と、当施設での頭部 MRI 撮影条件確定書の発行について報告する。

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”を遵守して施行している。

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ており、個人情報 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する。

### C. 研究結果

頭部 MRI 撮影条件調査書はまず 9 月 5 日作成の当院の調査書が院内中央放射線部より送付された。その後 10 月に 6 施設から、11 月には 2 施設、12 月にさらに 1 施設から FAX にて送付を受けた。途中で 1 施設から MRI 機種の変更があり、FAX の再送付を受けている。MRI の機種はフィリップス、GE、シーメンス、東芝と様々で、磁場強度は 1.5T が 5 施設、3.0T は 5 施設であった。

送られてきた撮影パラメーターの検討では、拡散強調画像、MRA 画像、FLAIR 画像、T2 強調画像、T1 強調画像、T2\*強調画像の各シーケンスで、各々の治験実施医療機関とも画像を詳しく解析できるよう工夫されていた。ADC map は、1 医療機関以外は作成可能であった。どの医療機関の撮影条件も本治験の画像検査としては充分再発を検出できるもので、妥当であった。

撮影条件の確定は上記のように撮影パラメーターを詳しく確認したのち、頭部 MRI 撮影条件確定書が記入され、治験調整医師の署名が行われ、原本は各実施医療機関に郵送された。大部分は頭部 MRI 撮影条件調査書 FAX 受領後、翌日ないし翌々日に送付された。

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前日が 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、タウリン投与前終了当日が 7 施設、投与前終了前日が 1 施設、投与前終了 6 日前が 1 施設、投与前終了 7 日前が 1 施設と、タウリン投与前終了 1 週間前から投与前終了当日にかけ 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相関していた。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

本治験で登録した全治験実施医療機関での「MRI イメージング手順書」に基づく、治験開始前の頭部 MRI 撮影条件調査書の作成と提出、当機関での頭部 MRI 撮影条件確定書の発行には大きな問題はなく順調に施行された。

本研究の治験実施医療機関が大学附属病院ないし、主要医療機関であったため頭部 MRI の撮影条件調整の問題がほとんどなく、頭部 MRI 撮影準備が整えられたと考察される。

また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。

さらに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 FLAIR 画像、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, Shimada Y, Imada Y, Nakamura A, Sunada Y. Vascular endothelial growth factor electro-gene therapy improves functional outcome in a mouse model of ALS. *Immun., Endoc. & Metab. Agents in Med. Chem.* 2(13):107-111, 2013

Murakami T, Kutoku Y, Nishimura H, Hayashi M, Abe A, Hayasaka K, Sunada Y. Mild phenotype of Charcot-Marie-Tooth disease type 4B1. *J Neurol Sci* 334(1-2):176-179, 2013

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、三五 一憲、渡部 和彦、大澤 裕、李 正花、山村 研一、砂田 芳秀 「ヒト異型トランスサイレチン遺伝子を発現する不死化シュワン培養細胞の確立」第 54 回日本神経学会学術大会 2013 年 5 月 30 日 東京

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  
「軽度の表現型を呈した Charcot-Marie-Tooth 4B1 の検討」第 24 回日本末梢神経学会学術集会 2013 年 8 月 23 日 新潟

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. 知的所有権の取得状況

(予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

頭部 MRI 検査実施状況

医療機関名	No	前観察 期間 脳 MRI (4 週間以内)	タウリン 投与 開始日	観察期 脳卒中様 発作疑い時 脳 MRI	タウリン投 与 終了日	観察期 52 週 脳 MRI (前後 14 日)
川崎医科大学 附属病院	1	13/10/03	13/10/03	-	14/10/02	14/09/25
国立病院機構 兵庫中央病院	2	13/10/24	13/10/28	14/5/01 X 14/5/02 O	14/10/22	14/10/22
国立病院機構 京都医療 センター	3	13/10/31	13/10/31	-	14/11/06	14/11/06
藤田保健衛生 大学病院	4	13/10/31	13/11/02	14/05/21 X 14/10/29 O	14/11/07	14/11/07
福岡大学 筑紫病院	5	13/11/05	13/11/07	13/12/02 X 14/05/16 X 14/08/12 X	14/11/12	14/11/11
聖隷浜松病院	6	13/11/07	13/11/14	-	14/11/13	14/11/07
長崎大学病院	7	13/11/11	13/11/18	14/02/17 X 14/05/26 X 14/10/06 X	14/11/17	14/11/17
久留米大学 附属病院	8	13/12/09	13/12/09	14/03/24 O	14/12/01	14/12/01
広島大学病院	9	13/12/25	13/12/27	-	14/12/19	14/12/19
防衛医科 大学校病院	10	14/1/06	14/1/07	14/04/18 O 14/04/25 O 14/05/07 O 14/05/20 O	14/12/22	15/12/22

O: ストローク再発、X: 再発でない、o: 経過観察

「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 大澤 裕 川崎医科大学 神経内科学・講師

本研究は MELAS 患者における脳卒中様発作の再発抑制治療として、タウリン大量経口投与の多施設・オープン・第 3 相試験を実施し、薬事承認を獲得する目的で平成 24 年 10 月に開始された。平成 24-25 年度はタウリン投与による MELAS モデル細胞機能障害の改善と 2 例の MELAS 患者の脳卒中様発作の再発予防に効果について先行 POC 研究について論文を作成・発表した。また治験実施計画（プロトコル）作成、行政当局（PMDA）対応、治験審査委員会（IRB）審査、PMDA の薬事戦略相談などのインフラ整備を担当した。平成 25-26 年度は観察期間 1 年の治験薬タウリン投与を実施し、手順書に則したモニタリング、及びデータマネージメントを担当した。本報告書では、患者登録のための全国神経内科・小児神経内科専門医施設への MELA アンケート調査について記載する。まず、小児神経学会専門医と日本神経学会専門医の所属する全国 911 医療施設の診療部長宛てに、患者アンケート票を郵送した。これまで回答のあった 462 施設（約 51%）の回答の集計では、本邦には 277 名の MELAS 患者（小児科 63 名/神経内科 214 名）が存在し、このうち、本タウリン治験の患者登録の候補となる過去 2 年間に 2 回以上の脳卒中様発作に該当する患者は、79 名（小児科 32 名/神経内科 47 名）であった。今後は、厚生労働省ミトコンドリア病調査研究（後藤）班と連携して希少難病 MELAS の包括的克服事業の基盤となる National registry を推進する。

### A. 研究目的

MELAS は、分担研究者後藤らによりミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の点変異（A43243G）（Goto Y, et al. Nature 348, 651-651, 1990）が発見された。一方太田らにより変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドンのタウリン修飾の欠損による翻訳障害（Yasukawa T, Ohta S, et al. JBC 275, 4251-4257, 20000）という未知の病態が発見された。われわれは、太田らとの共同研究により、タウリン大量投与による A43243G-MELAS モデル細胞のミトコンドリア機能障害の改善、2 名の患者の脳卒中様発作の長期間の抑制について報告した（Rikimaru, Intern Med 51, 2012）。この先行 POC 試験の結果を基盤として、タウリンの薬事承認を目的とする多施設・オープン・Phase III 試験を骨子とする本研究を開始した。

まず、治験を開始するにあたり、MELAS 患者疫学および自然歴について検索した。

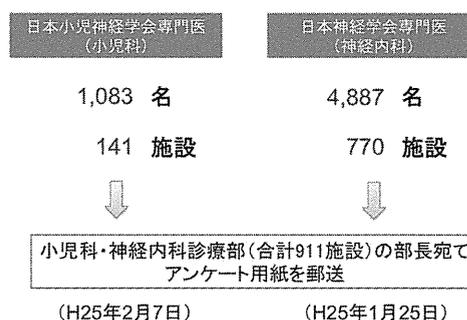


図1. 患者登録のための MELAS 疫学全国アンケート調査

ところが、世界的にみても MELAS 患者疫学および自然歴については小規模なコホート研究に限られている（Yatsuga, Koga, BBA 1820, 2012）。

そこで本研究では、タウリン治験患者登録を目的に、まず本邦 MELAS の実態について一次アンケート調査を行った。集計された過去最大の MELAS 患者について、脳卒中様発作の頻回再発患者数、その発

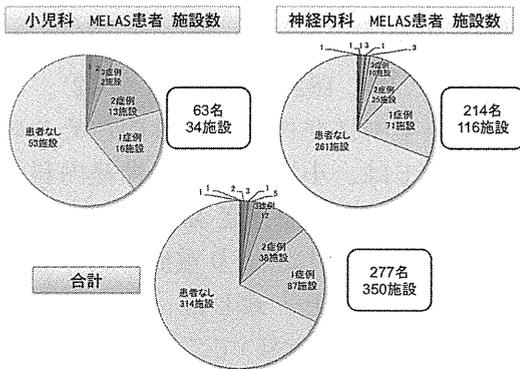


図2. 一次調査・本邦MELAS患者集計

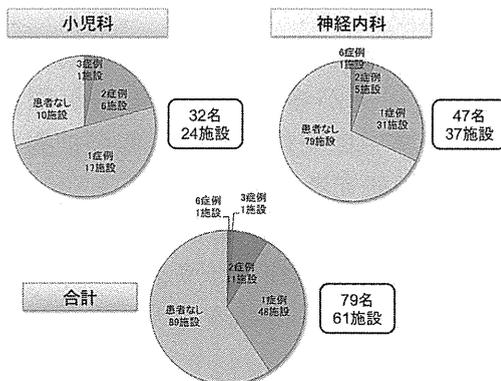


図3. 一次調査・MELAS脳卒中様発作 (2年で2回以上) 反復患者集計

作回数、タウリン等のミトコンドリア病治療薬併用の有無、他疾患の合併について、さらに二次、および三次アンケート調査を実施した。このアンケート調査の結果を基盤として患者登録と医療機関選択を実施した。

## B. 研究方法

- ①一次アンケート調査：まず全国 MELAS 患者の疫学研究について、厚生労働省ミトコンドリア病研究（後藤）班・日本小児神経学会、日本神経学会に共同研究を依頼し調査協力体制を構築した。次いで、日本小児神経学会専門医 1,083 名、日本神経学会専門医 4,887 名が所属する 977 認定施設（小児科 141 施設、神経内科 770 施設）の診療部長宛に、はがきによる MELAS 一次アンケート票を送付した。内容：MELAS 患者の有無、ありの場合、過去 2 年間の発作、タウリン内服の有無。
- ②二次アンケート調査：対象：一次調査で「過去 2 年間で 2 回以上の脳卒中様発作」が「あり」の脳卒中様発作反復 83 例；

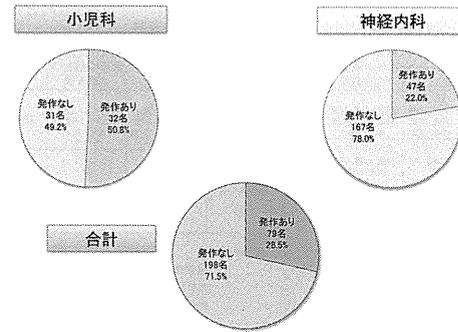


図4. 一次調査・全MELAS患者における脳卒中様発作 (2年で2回以上) 反復患者の集計

作」が「あり」の脳卒中様発作反復 83 例；内容：過去 1 年間で 2 回以上の脳卒中様発作の有無、アルギニン併用の有無、今回のプロトコルの選択基準・除外基準の該当項目。

- ③三次アンケート調査：対象：二次調査で除外されなかった過去 1 年間で 2 回以上の脳卒中様発作があった 28 例中、以下の事前電話で確認した 18 施設、22 例（院内 IRB の有無、院内 CRC（治験コーディネーター）の有無、医師の治験協力の意志）。内容：DNA 変異、過去 1 年間の脳卒中様発作の内容（局所神経徴候：片麻痺あるいは単麻痺、感覚消去、皮質盲、失語、失行、失認；その他の徴候：頭痛、嘔気・嘔吐、痙攣、意識障害）と、それぞれの発症時期、MRI 検査、アルギニン内服の詳細、施設情報。

（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。

神経内科				小児科			
	過去1年間で脳卒中様発作2回以上	過去1年間で脳卒中様発作2回未満	計		過去1年間で脳卒中様発作2回以上	過去1年間で脳卒中様発作2回未満	計
アルギニン服用あり	10 (33歳, 34歳, 29歳, 30歳, 31歳, 33歳, 41歳, 44歳, 45歳)	7 (20歳, 30歳, 31歳, 34歳, 42歳, 50歳, 60歳, 64歳)	17	アルギニン服用あり	13 (10歳×4, 12歳×3, 14歳×2, 15歳×1, 16歳×1, 17歳×1, 26歳×1)	9 (10歳×2, 12歳×1, 13歳×2, 14歳×1, 16歳×1, 21歳×1, 7歳×1)	22
アルギニン服用なし	2+2(?)=4(?) (40歳, 58歳, 68歳, 7)	2+1+2+1=6 (35歳, 28歳, 27歳, 50歳, 40歳)	10	アルギニン服用なし	1 (14歳×1)	0	1
計	13	13	27	計	14	9	23
基準外				基準外			
寝たきり(20歳, 30歳, 37歳, 46歳)				4			
痲痺(20歳, 45歳)				2			
腎不全(28歳)				1			
死亡(50歳×1, 60歳×2, 36歳×1)				3			
タウリン投与(28歳×1, 30歳×1, 44歳×1, 82歳×1)-その他				5			
合計例数	42		回収率95%	合計例数	30		回収率92.0%

図5. 二次調査・脳卒中様発作反復患者の内訳

### C. 研究結果

- ①一次調査：(i)回答率：52.4% (477施設/全911施設：図1)、(ii)全国MELAS患者数：286名 (小児科63名/神経内科223名：図2)、(iii)過去2年間に2回以上の脳卒中様発作のある脳卒中様発作反復患者数=83名 (小児科33名/神経内科50名：図3)、(iv)脳卒中様発作反復患者の全MELAS患者に占める割合：図4)。
- ②二次調査：(i)回答率：神経内科95.0%、小児科92.4%、(ii)過去1年間で2回以上の脳卒中様発作があった症例数：27例 (神経内科13例/小児科14例) (iii)27例の内訳：アルギニン併用なし：5例、併用あり23例：図5)。
- ③三次調査：過去1年間で2回以上の脳卒中様発作 (本研究で設定した「MELAS ストローク判定基準」)があり、プロトコルの基準をみたす例=登録症例候補とした。内訳はアルギニン非併用：2例；アルギニン併用例：11例、非併用例では、未回答例が1例、アルギニンウォッシュアウト見込み例が1例あり、全ての候補症例の平均発作回数は3.08回であった。

### D. 考察

世界的にも MELAS 患者の疫学・自然歴については、小規模なコホート研究に限られている。今回明らかとなった本邦の MELAS 患者数は、これまでの国内の報告と

比較して最大数であった (Yasuga S, Koga Y, et al. BBA 1820:619-624, 2012)。このうち脳卒中様発作反復患者の占める頻度については、小児科患者が神経内科患者を上回り、小児期発症 MELAS が成人発症 MELAS と比較し、より重症という国内外の従来の報告と一致した。この脳卒中様発作反復患者について二次調査によって更に最近1年間の発作回数2回以上の発作頻発患者に絞り込んだ。これらの患者では先行治験で使用された L-arginine の継続併用例が多数を占めるわが国の MELAS 脳卒中様発作治療の実態が把握できた (分担研究者古賀の稿参照)。

以上のアンケート調査を基盤に、患者10名 (タウリン単独投与9名、アルギニン併用投与1名) を本タウリン治験に登録できた。

### E. 結論

日本小児神経学会・日本神経学会専門医所属施設を対象に MELAS と、その脳卒中様発作について一次から三次の全国アンケート調査を実施した。これまで最大の患者が集積し、タウリン治験の基準を満たす10例について登録ができた。今後は、この調査を基盤として厚生労働省ミトコンドリア病調査研究 (後藤) 班が推進している希少難病 MELAS の包括的克服事業の基盤となる National registry に協力する。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Kondo T, Asai M, Tsukita K, Kutoku Y, Ohsawa Y, Sunada Y, Imamura K, Egawa N, Yahata N, Okita K, Takahashi K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Watanabe K, Kadoya C, Nakano R, Watanabe D, Maruyama K, Hori O, Hibino S, Choshi T, Nakahata T, Hioki H, Kaneko T, Naitoh M, Yoshikawa

K, Yamawaki S, Suzuki S, Hata R, Ueno SI, Seki T, Kobayashi K, Toda T, Murakami K, Irie K, Klein WL, Mori H, Asada T, Takahashi R, Iwata N, Yamanaka S, Inoue H. Modeling Alzheimer's Disease with iPSCs Reveals Stress Phenotypes Associated with Intracellular A $\beta$  and Differential Drug Responsiveness. *Cell Stem Cell* 12(4):487-496, 2013

Kawakami E, Kawai N, Kinouchi N, Mori H, Ohsawa Y, Ishimaru N, Sunada Y, Noji S, Tanaka E. Local Applications of Myostatin-siRNA with Atelocollagen Increase Skeletal Muscle Mass and Recovery of Muscle Function. *PLoS One* 8(5):e64719, 2013

## 2. 学会発表

### <国内学会>

大澤 裕 「TGF-beta シグナル制御による筋消耗性疾患治療法の開発」第54回日本神経学会学術大会 2013年5月31日 東京

大澤 裕 「TGF-beta 阻害低分子医薬による筋消耗性疾患とメタボリック症候群の治療戦略」第31回日本神経治療学会総会 2013年11月22日 東京

大澤 裕 「筋消耗性疾患に対するマイオスタチン阻害医薬：サルコペニア治療の展望」第55回日本神経学会学術大会 2014年5月24日 福岡

大澤 裕 「MRL 創傷治癒形質によるデュシェンヌ型筋ジストロフィー改善機構の解析」第55回日本神経学会学術大会 2014年5月24日 福岡

大澤 裕 「筋ジストロフィーに対するマイオスタチン阻害ペプチドの開発」第32

回日本神経治療学会総会 2014年11月22日 東京

大澤 裕, 砂田芳秀, 深井雄太, 藤野雅広, 西松伸一郎, 高山健太郎, 伊東史子, 林 良雄, 土田邦博 「筋ジストロフィー関連疾患におけるTGF- $\beta$ シグナルの解明と標的医薬の開発」平成26年度精神・神経疾患研究開発費 26-8 ; 西野班班会議 2014年12月6日 東京

### <国際学会>

Ohsawa Y, Nishimatsu S, Fujino M, Hagiwara H, Hinohara A, Sunada Y. Inverse regulation of myogenesis and adipogenesis by caveolin-3 through type I TGF- $\beta$  type I receptor kinase. EMBO workshop. Molecular mechanisms of muscle growth and wasting in health and disease. Ascona, Switzerland, Sep 15-21, 2013.

Ohsawa Y, Nishimatsu S, Fujino M, Fukai Y, Sunada Y. Type I TGF- $\beta$  receptor kinase inverses myogenesis; implication in caveolin-3-deficient limb-girdle muscular dystrophy 1C. FASEB Science Research Conferences SKELETAL MUSCLE SATELLITE AND STEM CELLS. Steamboat Springs, Colorado, USA, July 20-25, 2014

## G. 知的所有権の取得状況

(予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

「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 武藤 多津郎 藤田保健衛生大学医学部 脳神経内科学・教授  
研究協力者 植田 晃広 藤田保健衛生大学医学部 脳神経内科学・講師

研究要旨

MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes) 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点変異によって発症する。MELAS 変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> アンチコドンでは、正常で認められるタウリン修飾が欠損し (Yasukawa, JBC 275, 2000)、転写が障害される (Yasukawa, EMBO J 20, 2001)。一方、タウリン大量投与によって MELAS モデル細胞のミトコンドリア機能障害が改善し、2 名の MELAS 患者の脳卒中様発作が 10 年以上完全に抑制された (Rikimaru, Intern Med 51, 2012)。この POC 試験から、MELAS 基本病態は tRNA 修飾異常症と提唱し、平成 24 年度にタウリン特許を取得し、脳卒中の再発予防効果を効能効果とする薬事承認を目指す医師主導治験 (多施設・オープン・第 3 相) 実施を骨子とする本研究を開始した。エントリー基準は試験薬同意取得前 78 週以内に 2 回以上、かつ 52 週以内に 1 回以上の発作性突発性局所神経徴候とした。試験薬タウリンの投与期間は 52 週で、評価期間は 42 週間、主要評価項目は 100%レスポナー：脳卒中様発作完全抑制とした。薬効バイオマーカーとして、本治験では、ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のタウリン修飾率、ミトコンドリア Leu(UUR)-rich ND6 蛋白質量、及びミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー) について検討した。実施医療施設藤田保健衛生大学病院では、エントリー基準の脳卒中様発作回数 2 回の 19 歳 MELAS 女性 1 名を登録し治験を実施した。試験薬タウリン経口投与によって脳卒中様発作は 1 回に抑制され、薬効バイオマーカーのうち白血球ミトコンドリア tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> タウリン修飾率が有意に上昇した。タウリン大量経口投与による脳卒中様発作再発予防効果の有効性が検証できたものと考えられる。

A. 研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の点変異 (A43243G) を同定し (Goto, et al. Nature 348, 651-651, 1990)、変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドンのタウリン修飾欠損が発見された (Yasukawa, et al. JBC 275, 4251-4257, 2000) 希少難病である。川崎大学神経内科の砂田らのグループは、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された (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した。

平成 24 (2012) 年度から平成 25 (2013) 年度は治験実施計画を作成した。

平成 26 (2014) 年度は分担研究者として藤田保健衛生大学病院 (以下、当院) 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

平成 24 (2012) 年度から平成 25 (2013) 年度は治験実施計画を作成した。本治験の目的は MELAS 患者における脳卒中発作

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し、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厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業・医師主導治験として実施した。

#### 治験スケジュール、デザイン.

症例登録期間 2013 年 9 月～2013 年 12 月、治験実施期間 2013 年 9 月～2014 年 12 月とした。治験の方法は多施設共同・オープン試験 (Phase III) で実施した。より信頼性の高いランダム化二重盲検プラセボ対照群間比較治験は、MELAS 患者の診断からの平均余命の短さへの倫理的配慮から、プラセボ設定が不可能であり見送られた。

#### 対象患者設定.

次の選択基準を全て満たし、除外基準に抵触しない患者を本治験の対象とした。

- 1) MELAS の診断基準 (厚生労働省研究班古賀班. 2005 年) に照らし合わせて、総合的に MELAS と診断されている患者。
  - 2) 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、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
    2. 同意取得時の年齢、性別、入院・外来は不問及び、過去にタウリン経口製剤で治療されたことのない患者
    3. 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
    4. (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、脳卒中様発作の臨床所見の判定が可能な患者
- ①アルギニンを使用していない患者は、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 (アルギニン非併用例)

②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

\*選択基準における脳卒中様発作の定義は、①片麻痺あるいは単麻痺②皮質性感覚障害 (感覚消去) ③皮質性視覚障害 (閃輝暗点、皮質盲) ④失語⑤失行⑥失認の発作時突発性局所神経徴候のいずれかを有するものとし、頭部 MRI の実施は問わない。

#### 3) 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、重篤な心機能、肝機能、腎機能障害を有する患者を合併している患者
5. 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
6. 同意取得前 12 週以内にヒルビン酸を使用した患者
7. 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

上記のように対象患者を設定し、エントリーを行った。治験薬の効果をミトコンドリア遺伝子変異率でも評価できるようにするため点変異の明らかな MELAS 患者を対象とした。

目標症例数は 15 例と設定した。

## 治験薬タウリン

体重区分により設定され、1日用量を1日3回食後に経口投与とした。投与期間は52週間と設定した。

体重*	1日量
40kg以上	12g
25kg以上40kg未満	9g
15kg以上25kg未満	6g
15kg未満	3g

## 併用治療

(1) 併用禁止薬：1)ピルピニン酸 2)アルギニン経口製剤（治験開始時にアルギニン経口製剤を服用していない患者）

(2) 併用禁止療法：ステロイド療法：2週間以上の長期ステロイドの全身投与は併用禁止とする。

また、高度の脳卒中様発作や痙攣が治験期間中に発症した場合には救急処置を優先する必要がある、救急処置の薬剤には制限は設定されなかった。

## 中止基準

中止基準は以下のように設定した。

1. 被験者あるいは代諾者より同意の撤回又は、治療の変更・中止の申し出があった場合があった場合
2. 原疾患の悪化又は、有害事象の発現（合併症の悪化、新たな疾患の併発等）により、治験責任（分担）医師が治験の継続を不相当と判断した場合
3. 転居等により決められた来院日に通院出来なくなった場合
4. 本人が妊娠していることが判明した場合
5. 選択基準への不適合又は除外基準への抵触が判明した場合
6. 治験実施計画書からの重大な逸脱が認められた場合
7. その他、治験責任（分担）医師が治験の継続を不相当と判断した場合

## 評価項目

治験薬タウリン内服開始前の前観察期間を1週間設けた。前観察期間に、患者背景調査、頭部MRI（治験薬投与開始前4週間以内であれば可）、併用薬剤・療法調査（同意取得前4週間から観察終了まで）

を実施する。

観察期間は52週間。MELAS重症度評価（Japanese Mitochondrial Disease Rating Scale）、12誘導心電図、心エコー、理学検査、一般血液検査、特殊検査（血中乳酸、血中ピルピニン酸、血中アミノ酸分析、髄液乳酸、髄液ピルピニン酸、髄液アミノ酸分析）、血中白血球検査（任意測定項目）（ミトコンドリア遺伝子変異率、tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>タウリン修飾率、ND6蛋白質量）、MMSEスコアを評価した。

## 有効性評価・安全性評価

(1) 有効性評価：

主要評価項目：評価期間（治験薬投与開始9週以降投与終了まで）における脳卒中様発作回数が0回だった症例（100レスポnder）の割合

副次評価項目：(1)ミトコンドリア病の重症度スコア Japanese Mitochondrial Disease Rating Scale (JMDRS) 2) 50%レスポnder率 3) MELAS ストローク判定基準のうち発作時突発性局所神経徴候の発現回数(4) 特殊検査（血中・髄液の乳酸値、ピルピニン酸値、乳酸/ピルピニン酸比、タウリン値）5) 画像検査（頭部MRI検査）(6) 治験薬投与前後のアルギニン静注製剤が使用された回数(7) 頭痛、嘔気・嘔吐、痙攣及び意識障害が発現した際に頭部MRIを実施した場合の高信号の確認回数

(2) 安全性評価：有害事象・副作用

当院は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プロトコルに従い分担研究を行った。治験に先立ち、当院治験審査会（IRB）に本治験プロトコルを申請し2013年9月18日に承認を得た。

平成26（2014）年度は、当院神経内科外来に通院中の1例の19歳男性MELAS患者について、その同意を未成年である本人と代諾者の母親から得て登録した。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。

（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

当院担当被験者 1 名を以下に提示し、次いで治験全体の結果の概略を示す。

被験者：19歳 男性

14歳時 頭痛、視野障害を発症。頭部MRIで左後頭葉-頭頂葉に異常信号を認め、髄液検査での乳酸の高値から MELAS を疑われ、採血によるミトコンドリア DNA 検査で A3243G 変異を認め、MELAS の確定診断を受けた。

しばしば発作が認められたため、2009年2月12日からアルギニン製剤（アルギ U 12g/3×毎食後）内服開始した。2010年9月ピルビン酸ソーダ内服の治験に参加するも、下痢の副作用で内服中止となった。2010年11月8日からアルギ U16g/4×毎食後、寝る前に増量。2011年11月13日からアルギ U24g/6×に増量されていた。2013年10月18日に当院へ精査加療目的で紹介初診となった。

[治験同意取得 54 週以内]

脳卒中様発作 1：2013年3月8日右上肢脱力（単麻痺）あり。頭部MRIで新たな高信号なし。次第に回復した。

脳卒中様発作 2：2013年9月5日右上肢脱力（単麻痺）あり。頭部MRIで新たな高信号なし。次第に回復した。

本治験の選択基準による「脳卒中様発作カウント」は2回であった。

過去のタウリン経口製剤治療歴なし。

除外基準に抵触する既往、合併症なし。

2週間以上のステロイド全身投与が必要な合併症なし。

同意取得前12週以内のピルビン酸使用なし。

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、2013年10月31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12g/日とした。投与期間は2013年11月2日-2014年11月7日迄の1年間。

[評価期間] 治験薬投与開始 9 週以降-投与終了（2014年11月7日）まで。

[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2014年10月28日の1回であった。

2014年10月28日に左側見難さを自覚し、MELAS の再発疑いで近医入院。2014年10月29日に精査加療目的で当院へ転院。視野検査で左同名半盲を認め、頭部MRI 拡散強調画像で右後頭葉から頭頂葉の皮質から皮質下に高信号を認めた。髄液検査では乳酸/ピルビン酸 28.1 と上昇を認めた。MELAS の再発と考え、2014年10月28日から2014年11月3日までアルギニン製剤（アルギ U20g×1回/日）の点滴加療を行った。

[安全性評価]

プロトコルに従い2013年11月2日の投与開始から2014年12月5日の投与終了28週までを観察した。観察期間中に試験薬タウリン経口投与と因果関係のあると考えられる有害事象は認めなかった。

[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） $29.95 \pm 0.53\%$  → （投与後 52 週） $67.16 \pm 4.80\%$

2. ミトコンドリア Leu(UUR)-rich ND6 蛋白質量（内部コントロール  $\beta$ -actin 比）：（0 週） $\times 1.0$  → （52 週） $\times 0.876$

3. ミトコンドリア遺伝子変異率（ヘテロプラスミー）：（0 週）53.0% → （52 週）54.3%.

以上が当院1例の結果である。

本治験の全体の結果概略としては、登録症例数10例（アルギニン併用例：9例、アルギニン非併用例：1例）、性別男性7例：女性3例、登録時年齢14歳～46歳、1日治験薬タウリン投与量9g/日、12g/日、治験終了10例、MELAS ストローク判定基準による発作は10例中4例の症例に各1回ずつ認められた。結果として治験期間中の脳卒中発作が0回の完全に発作が抑制された症例が10例中6例認められた。重篤な有害事象は全2例に計2件（急性胃腸炎、CK 上昇）が報告されたが、治験薬との因果関係は否定された。有害事象

は前例に計 82 件認められ、そのうち治験薬との因果関係が否定できない事象は 5 例に 9 件認められた。

#### D. 考察

当院被験者は試験薬タウリンの 1 年間の投与によっても、1 回の脳卒中用発作を発症した。しかし、投与前 52 週で 2 回の脳卒中様発作を生じており、発作回数は減少した。

全体結果でも、同意取得前 52 週間で 1 回以上の症例がエントリーしているが、治験薬タウリンを内服している観察期間 52 週の間で 10 例のうち 6 例は脳卒中様発作 0 回であり発作が完全に抑制されていた。また、治験全体としての有害事象も軽度にとどまった。有効性、安全性ともに治験薬タウリンは現在脳卒中様発作を繰り返す MELAS の治療薬として期待できるものと考えられた。

#### E. 結論

当院の 1 症例は、試験薬タウリンの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%レスポナー」には該当しなかった。試験薬投与による有害事象はなく安全性に問題はなかった。

本治験 10 症例全体での、主要評価項目である 100%レスポナー率だけでなく副次評価項目も含めた有効性と安全性の詳細な評価が待たれる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Mutoh T, Kawamura N, Hirabayashi Y, Shima S, Miyashita T, Ito S, Asakura K, Araki W, Cazzaniga E, Mutoh E, Masserini M. Abnormal cross-talk between mutant presenilin 1 (I143T, G384A) and glycosphingolipid biosynthesis. *FASEB J.* 26:3065-74. 2012.

Hamano T, Mutoh T, Hirayama M, Uematsu H, Higuchi L, Koga H, Umehara F, Komai K, Kiriya M. Winged scapula in patients with myotonic dystrophy type 1. *Neuromusc Disord.* 22:755-8. 2012.

Kawamura N, Kizawa M, Ueda A, Niimi Y,

Mutoh T. An update on diagnostic imaging studies of viral encephalitis. *Future Virol.* 7:901-9. 2012.

Kato M, Kawaguchi K, Naaki S, Murakami K, Hori H, Ohashi A, Hiki Y, Ito S, Shimano Y, Suzuki N, Sugiyama S, Ogawa H, Kusimoto H, Mutoh T, Yuzawa Y, Kitaguchi N. Potential therapeutic system for Alzheimer's disease: removal of blood A $\beta$ s by hemodialyzers and its effect on the cognitive functions of renal-failure patients. *J Neural Transm.* 119:1533-44. 2012.

Mutoh T. Emergence of new roles of lipid rafts in neurological disorders. *J Neurol Transl Neurosci.* 1:2-3. 2013.

Shima S, Kawamura N, Ishikawa T, Masuda H, Iwahara C, Nimi Y, Ueda A, Iwabuchi K, Mutoh T. Anti-neutral glycolipid antibodies in encephalomyeloneuropathy. *Neurology.* 82(2):114-8. 2014.

Ikeda M, Miki T, Atsumi M, Inagaki A, Mizuguchi E, Meguro M, Kanamori D, Nakagawa K, Watanabe R, Mano K, Aihara A, Hane Y, Mutoh T, Matsuo K. Effective elimination of contaminants after oral care in elderly institutionalized individuals. *Geriatr Nurs.* 35(4): 295-9. 2014.

Uemura N, Sugano K, Hiraishi H, Shimada K, Goto S, Uchiyama S, Okada Y, Origasa H, Ikeda Y; MAGIC Study Group. Collaborators: Asakura K, Mutoh T et al. Risk factor profiles, drug usage, and prevalence of aspirin-associated gastroduodenal injuries among high-risk cardiovascular Japanese patients: the results from the MAGIC study. *J Gastroenterol.* 49(5):814-24. 2014.

Asakura K, Ueda A, Shima S, Ishikawa T, Hikichi C, Hirota S, Fukui T, Ito S,

Mutoh T. Targeting of aquaporin 4 into lipid rafts and its biological significance. *Brain Res.* 2;1583;237-44. 2014.

Nakamura K, Sugaya K, Nakata Y, Shima S, Mutoh T., Nakano I. Hypertrophic pachymeningitis and encephalitis in a patient with relapsing polychondritis. *Neurology and Clinical Neuroscience.* 3:42-3. 2015.

Asakura A, Ueda A, Mutoh T. Lipid rafts and their possible involvements in neuroimmunological disorders: new research arena. *Frontiers In Bioscience Landmark.* 1;20. 303-13. 2015.

Hikichi C, Asakura K, Hirota S, Fukui T, Murate K, Ishikawa T, Kizawa M, Ueda A, Ito S, Mutoh T. Deep Neck inflammatory Diseases: Implication of Cervical Magnetic Resonance Imaging for Early Diagnosis. *Austin Journal of Clinical Neurology.* 2(2):1024-5. 2015.

Fukuda Y, Fukui T, Hikichi C, Ishikawa T, Murate K, Adachi T, Imai H, Fukuhara K, Ueda A, Kaplan AP, Mutoh T. Neurotrophin promotes NGF signaling through interaction of GM1 ganglioside with Trk neurotrophin receptor in PC12 cells. *Brain Res.* 30;1596; 13-21. 2015.

Fukui T, Asakura K, Hikichi C, Ishikawa T, Murai R, Hirota S, Murate K, Kizawa M, Ueda A, Ito S, Mutoh T. Histone deacetylase inhibitor attenuates neurotoxicity of clioquinol in PC12 cells. *Toxicology.* (Epub ahead of print). 7 ;331. 112-118. 2015.

Hirota S, Ito S, Fukui T, Murate K, Shima S, Kizawa M, Ueda A, Asakura K, Mutoh T. Voriconazole-responsive Disseminated Nodular Lesions on Spinal MRI. *Intern Med.* 54:215-8. 2015.

朝倉邦彦、武藤多津郎. ウェゲナー肉芽腫症と神経合併症. *BRAIN and NERVE.* 65:1311-7. 2013.

武藤多津郎. 抗(中性)糖脂質抗体と辺縁系脳炎. *神経内科.* 79:348-353. 2013.

石川等真、植田晃広、新美芳樹、引地智加、河村直樹、島さゆり、宮下忠行、伊藤信二、朝倉邦彦、武藤多津郎. 左角回から側頭葉にかけての深部白質の脳梗塞で漢字の純粹失書を呈した1例. *脳卒中.* 35:306-311. 2013.

廣田政古、植田晃広、稲熊容子、島さゆり、恵美宣彦、武藤多津郎. 亜急性軸索型ニューロパチーに認められた抗 Trk 抗体の意義. *Peripheral Nerve.* 25(1):100-5. 2014.

#### G. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

「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 尾上 祐行 防衛医科大学校病院神経抗加齢血管内科・指定講師

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、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について患者試料を用いて解析した。本病院の被験者は、試験薬タウリンの 1 年間の投与期間中に 1 回の脳卒中様発作を認め主要評価項目である「100%レスポnder」には該当しなかった。副次評価項目のうち、ミトコンドリア病の重症度スコアは 13 点 (0 週) から 11 点 (52 週) に改善、画像検査では、投与前にみられていた右後葉頭葉内側と左側頭葉病変に加え、投与期間中の脳卒中発作で出現した右頭頂葉～側頭葉の高信号病変も縮小消失していった。また、治験前後でのアルギニン静注回数は 2 回から 1 回に改善した。副次評価項目ではないが MMSE は 25 点 (0 週) から 28 点 (52 週) に改善した。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。タウリン療法は、MELAS の脳卒中発作における有効な薬物療法となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の点変異 (A43243G) を同定し (Goto, et al. Nature 348, 651-651, 1990)、変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドンのタウリン修飾欠損が発見された (Yasukawa, Ohta, et al. JBC 275, 4251-4257, 2000) 希少難病である。川崎医大砂田ら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が報告された。(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防衛医科大学校病院で、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、防衛医科大学校病院神経抗加齢血管内科外来に通院中の1例の20代男性 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。治験は、川崎医大を

治験調整事務局とし、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：20代男性

3歳頃から時折嘔吐することがあった。H23年になり、1ヶ月に1度の嘔吐、右視野のかすみ、聴力低下などの症状が出現。同年12月18日起床時に右視野障害を自覚し嘔吐が持続するため近医受診。脳MRIで左後頭葉皮質に血管支配に一致しない高信号病変を認め精査目的に当科に入院。血液髄液検査で乳酸、ピルビン酸の高値を認め、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と診断した。入院時にL-アルギニン静注が投与され頭痛、視野欠損は改善した。発作予防としてL-アルギニン経口投与（12g/日）を開始し退院、以後外来でフォローしていた。H24年9月11日から複視と視野欠損があり。3日後の9月14日に受診。頭部MRIでは新規病変は指摘できなかったが脳卒中発作と診断し、L-アルギニン静注が静脈投与され症状は改善した。[治験同意取得54週以内]脳卒中様発作①：平成24年11月9日外来診察時に漢字の失認あり。皮質性視覚障害を認めた。

発作②：平成25年8月13日起床時から両眼視力低下を自覚、次第に悪心、嘔気、頭痛も出現し当院眼科を受診。脳卒中発作再発が疑われ当科に緊急入院した。同日の頭部MRI撮影では、FLAIR画像と拡散強調画像で既知の左後頭葉の病変は淡く高信号を示していた。脳卒中発作と診断しL-アルギニン静注が投与され視力は改善した。8月19日に遅れてCKの上昇、肝酵素の上昇あり。8月27日脳MRI拡散強調画像で右後頭葉内側に新規高信号域が描出されていた。L-アルギニン経口投

与（12g/日）を継続し当科外来に定期通院した。

以上のように背景調査では、平成24年11月9日、平成25年8月13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2回であった（このうち1回の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26年1月6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12g/日とした。投与期間は平成26年1月7日-平成26年12月22日迄の1年間。

[評価期間] 平成26年1月16日-平成27年1月22日までの54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1回であった。[安全性評価] 投与期間・評価期間で非痙攣性てんかんと考えられる高CK血症を認めた。[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) 29.65±1.65%→(投与後52週) 58.12±1.68% (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 1.013 ③ミトコンドリア遺伝子変異率(ヘテロプラスミー)：(0週) 39.4±3.28%→(52週) 38.6%±2.10

### D. 考察

本被験者は、試験薬タウリンの1年間の投与期間中に1回の脳卒中様発作を認めた。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

防衛医科大学校病院の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%レスポナー」には該当しなかった。副次評価項目のうち、ミトコンドリア病の

重症度スコアは 13 点(0 週)から 11 点(52 週)に改善、画像検査では、投与前にみられていた右後葉頭葉内側と左側頭葉病変に加え、投与期間中の脳卒中発作で出現した右頭頂葉～側頭葉の高信号病変も縮小消失していった。また、治験前後でのアルギニン静注回数は 2 回から 1 回に改善し、副次評価項目では有効であると考えられた。副次評価項目ではないが MMSE は 25 点(0 週)から 28 点(52 週)に改善した。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>Lou (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  
なし
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 佐藤慶史郎、内山剛 聖隷浜松病院

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 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について患者試料を用いて解析した。聖隷浜松病院では、エントリー基準に合致した 30 代男性 1 名を登録し治験を実施した。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、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> タウリン修飾率も有意に上昇していた。試験薬投与による有害事象もなく、タウリン大量経口投与による脳卒中様発作再発予防効果の有用性が検証できたものと考えられる。

A. 研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子領域の点変異 (A43243G) を同定し (Goto, et al. Nature 348, 651-651, 1990)、変異 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> のアンチコドンのタウリン修飾欠損が発見された (Yasukawa, Ohta, et al. JBC 275, 4251-4257, 2000) 希少難病である。先行研究により、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も報告されている (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。

本研究では分担研究者として聖隷浜松

病院で、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、聖隷浜松病院神経内科外来に通院中の1例の30代男性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。

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した。

## C. 研究結果

被験者：30代 男性

[治験同意取得 54週以内]

脳卒中様発作①：2012年7月15日意識の減損を伴う痙攣あり。8月3日にも同様の症状みられ、13日より痙攣重積となり当科再入院。コントロールには難渋したが、17日よりLEV1000mg加えたところ消失。頭部MRIでは左後頭葉の可逆性の病変、左PCAの拡張を認め、脳血流SPECTでは同部の血流亢進を認めた。病状安定しており8月30日退院。

脳卒中様発作②：2012年11月22日、職場でのストレス等を誘因に閃輝暗点出現。この際は大発作に至らず経過観察。

脳卒中様発作③：2013年2月9日より感冒症状あり。同日より左同名半盲、ちらつきを自覚し、13日に当科を受診、再燃疑い同日入院。この際はMRI上右後頭葉に可逆性病変あり、脳血流SPECTでは同部の血流亢進を認めた。髄液乳酸32.1、髄液ピルビン酸1.36。精査希望あり2月25日筋生検施行。発作はLEV2000mgで消失しており28日退院。筋生検では筋繊維の大小不同は軽度で、壊死・再生線維は認めない。Endomysial fibrosisなく、リンパ球浸潤無し。RRF, COX, SSVなどミトコンドリア異常を示唆する所見は認めなかったが、ミトコンドリアDNA解析ではtRNAロイシンコード領域に3271T>C点変異を指摘された。

以上のように背景調査では、2012年7月15日、11月22日、2013年2月9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2回の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、アルギニン非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、2013年11月7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12g/日とした。投与期間は2013年11月14日-2014年11月13日迄の1年間。

[評価期間] 2014年1月16日-2014年11月13日までの43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) 25.54±1.20%→(投与後52週) 46.43±0.52% (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) 0.37±0.06→(52週) 0.53±0.03. ③ミトコンドリア遺伝子変異率(ヘテロプラスミー)：(0週) 30.9±2.87%→(52週) 29.2±5.03%.

## 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

聖隷浜松病院の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onder」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。

現在、長期継続投与試験を実施中であり、引き続きMELAS脳卒中様発作の再発予防に対する試験薬タウリンの有効性及び長期投与における安全性について検証していく。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし