

2. 学会発表
なし

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 白石 裕一 長崎大学脳神経内科・講師

研究要旨

MELAS はミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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。長崎大学病院では、エントリー基準の脳卒中様発作回数 2 回の 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完全に抑制された。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、安全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^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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。研究責任者砂田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した。

白石は、分担研究者として長崎大学病院で、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

長崎大学病院脳神経内科外来に通院中の 1 例の 30 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、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した。

C. 研究結果

被験者は 30 台女性。低身長、難聴、糖尿病あり。平成 19 年右眼視野異常で発症し、mtDNA A3243G 変異を認め MELAS と診断した。

[治験選択基準]脳卒中様発作①:

平成 24 年 6 月 28 日 皮質性視覚障害あり、頭部 MRI にて左小脳半球に拡散強調画像で高信号を呈した。

脳卒中様発作②：平成 25 年 4 月 22 日皮質性感覚障害、皮質性視覚障害、失語あり、頭部 MRI にて、右島皮質に拡散強調画像で高信号を呈した。

脳卒中様発作③平成 25 年 6 月 16 日、皮質性視覚障害あり、頭部 MRI では拡散強調画像で高信号病変なし。

以上のように背景調査では、平成 24 年 6 月 28 日、平成 25 年 4 月 22 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。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 11 月 11 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 11 月 18 日-平成 26 年 11 月 17 日迄の 1 年間。[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] 有害事象は、不眠の悪化、食思不振、皮疹、下痢、腹痛がみられた。このうち、不眠の悪化と食思不振は治験薬との関連なしとは言えないと判断した。治験薬は期間中続行できた。本被験者は血中乳酸、ピルビン酸、アミノ酸分析を行ったが、バイオマーカー関連検査については、被験者の同意が得られなかった。

乳酸、ピルビン酸値は投薬開始時、終了時でそれぞれ 64.3→41.7mg/dl、2.05→1.70mg/dl と推移した。

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。

E. 結論

長崎大学病院の 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。試験薬投与による重篤な有害事象はなく安全性についても問題は少ないと考えられた。

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 小川 厚 福岡大学筑紫病院小児科・教授

研究要旨

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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。

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。

A. 研究目的

主任研究者らの共同研究により、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)。本年度は分担研究者として中核医療機関福岡大学筑紫病院で、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。

我々は平成25年10月より分担研究者として本研究に参加し、中核医療機関福岡大学筑紫病院で、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、福岡大学筑紫病院小児科外来に通院中の1例の15歳男児MELAS患者について、保護者および患児に人権擁護上の配慮を行う旨を説明、研究方法による不利益がない事、十分なインフォームドコンセントを行い登録した。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、当院臨床研究審査委員会 (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：15歳男児

6歳1ヵ月時に頭痛、嘔吐が続くため精査を行い、髄液検査で乳酸、ピルビン酸高値、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 MELAS と診断された。L-アルギニン、ジクロロ酢酸、ビタミンB1の経口投与を開始され、外来経過観察された。11歳9ヵ月より脳卒中様発作を認めるようになり、視覚発作と脳波異常が出現しカルバマゼピンの経口投与も開始された。低身長、感音性難聴も認めた。[治験同意取得 78 週以内]脳卒中様発作①：平成24年8月6日(13歳11ヵ月)から頭痛、嘔吐が出現し、高乳酸血症を認めた。L-アル

ギニン、D-マンニトール、デキサメタゾンの静脈投与を行い、けいれんが群発したためミダゾラム持続点滴を開始した。けいれんは頓挫したが、目が見えなくなっており、頭部MRI検査で両側の後頭葉にDWIで高信号域を認め皮質盲と判断した。L-アルギニン投与を継続し、徐々に視力は改善し8月28日に退院した。発作②:退院後の平成24年9月に頭痛が増加し、話すことができなくなることがあった。10月1日の受診時に話すことができず、けいれんも出現したため、L-アルギニン、D-マンニトール、ミダゾラム静脈投与を行った。頭部MRI検査では左側頭葉にDWIで高信号域を認めた。10月5日に右手の麻痺が出現し、右手がびくつくことがあるためジアゼパムの静注も行った。10月8日に右手のびくつきは改善し、会話も可能であった。徐々に活気が上昇し、10月16日退院した。発作③:平成25年3月17日に嘔吐しており、顔面の違和感を訴え左足のびくつきがみられた。3月18日の頭部MRI検査では右頭頂葉にDWIで高信号域を認めた。経口摂取が回復しており、L-アルギニン経口投与で左側の違和感と足のびくつきは改善傾向であった。3月21日に頭痛が出現し3月22日に左側の違和感も再燃したため、L-アルギニン、D-マンニトールの静脈投与を開始した。3月26日より症状は改善し、3月29日にL-アルギニンは経口投与に変更し、4月3日にレベチラセタムの経口投与を開始して退院した。発作④:4月6日の夕方に足のびくつきがみられ、左足が脱力していた。4月7日に入院してミダゾラム点滴静注を行った。4月8日に症状は改善しておりミダゾラムは中止してレベチラセタム経口投与を増量した。4月10日に項部痛があったが4月11日に改善し、4月13日退院した。

以上のように背景調査では、平成24年8月6日、平成24年10月1日、平成25年3月17日、平成25年4月6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4回であった。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23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11月7日-平成26年11月12日迄の1年間。[評価期間] 平成26年1月8日-平成26年11月12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^{Leu(UUR)}のタウリン修飾率:(投与前0週) 33.32±1.48%→(投与後52週) 34.50±3.33%(変化なし) ②ミトコンドリアLeu(UUR)-rich ND6蛋白質量(内部コントロールb-actin比):(0週) x 1.0→(52週) x 1.034. ③ミトコンドリア遺伝子変異率(ヘテロプラスミー):(0週) 65.8%→(52週) 66.2%。

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^{Leu(UUR)}タウリン修飾率は変化なかった。

E. 結論

福岡大学筑紫病院の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。試験薬投与前後で白血球ミトコンドリアtRNA^{Leu(UUR)}タウリン修飾率は変化なかった。このバイオマーカー候補が有用である可能性はあるが、本症例の結果は一致しなかった。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

Higurashi N, Takahashi Y, Kashimada A. et al. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure* In press
<http://dx.doi.org/10.1016/j.seizure>

. 2015. 02. 006. 2015

Inoue T, Ihara Y, Tomonoh Y. et al.
Early onset and focal spike discharges
as indicators of poor prognosis for
myoclonic-astatic epilepsy *Brain Dev*
36;613-619. 2014

Inoue S, Ishii A, Shirohani G, et al.
Case of Desbuquois dysplasia type 1:
Potentially lethal skeletal dysplasia.
Pediatr Int 56; e26-9 doi:
10.1111/ped.12383. 2014

川谷恵里, 森島直美, 友納優子. 他
児童虐待と判断した急性薬物中毒入院例
の背景
小児の精神と神経 54;157-164. 2014

鶴澤礼実, 林 仁美, 廣瀬伸一, 小川 厚
軽症胃腸炎に伴うけいれんにおけるカル
バマゼピン少量 (2.5mg/kg) 単回投与の
有効性
てんかん研究 31;506-510. 2014

Inoue T, Hattori K, Ihara K. et al.
Newborn screening for Fabry disease in
Japan: prevalence and genotypes of
Fabry disease in a pilot study. *J Hum*
Genet 58:548-552. 2013

Higurashi N, Nakamura M, Sugai M. et
al. PCDH19-related female-limited
epilepsy: Further details regarding
early clinical features and
therapeutic efficacy. *Epilepsy Res*
106;191-199. 2013

Ishii A, Yasumoto S, Ihara Y. et al.
Genetic analysis of PRRT2 for benign
infantile epilepsy, infantile
convulsions with choreoathetosis
syndrome, and benign convulsions with
mild gastroenteritis. *Brain Dev*
35;524-530. 2013

Goto A, Shirohani G, Kakura H. et al.
A case of tetrasomy 18p with
tracheomalacia. *Med. Bull. Fukuoka Univ*
40;193-195. 2013

中村紀子, 安元佐和, 藤田貴子. 他
小児欠伸てんかんと初期診断した25例の
臨床経過と脳波所見
福岡大学医学紀要 40;105-110. 2013

鶴澤礼実, 林 仁美, 廣瀬伸一, 小川 厚
軽症胃腸炎に伴うけいれんにおけるカル
バマゼピン少量 (2.5mg/kg) 単回投与の
有効性
てんかん研究 31;506-510. 2014

川谷恵里, 花宮理比等, 橋本淳一, 佐々
木聡子, 林 仁美, 鶴澤礼実, 吉兼由佳
子, 小川 厚
虫垂炎様症状が先行した川崎病の1例
日本小児科学会雑誌 117;1788-1791.
2013

2. 学会発表
なし

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 中村 道三 京都医療センター 神経内科

研究要旨

MELAS はミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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, Ohta, JBC 275, 2000)、転写が障害される (Yasukawa, Ohta, 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, Sunda, Ohta, 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%レスポンス：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^{Leu(UUR)} 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。実施医療施設京都医療センターでは、エントリー基準の脳卒中様発作回数 6 回の 30 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完全に抑制され、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を示唆する結果と考える。

A. 研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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。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京都医療センターで、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

京都医療センター神経内科外来に通院中の 1 例の 30 歳女性 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、院内治験インフラを整備し、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：30歳女性

15歳から難聴、2007年から双極性うつ病がある。

2012.6.12、けいれん発作、右側頭葉から頭頂葉にかけての広範な梗塞様病変を生じ、MELAS と診断された。遺伝子解析で mt 3243 A to G 変異が判明した。

2012年8月、左後頭葉

同9月、左側頭葉前部

同10月、左側頭葉後部、右前頭葉内側

同11月、左側頭葉中部

同12月21日、左側頭葉後部

に梗塞様病変を再発してその都度頭痛と失語の悪化があったが、いずれも入院の上、ドルミカム、アルギU、ラジカットを点滴し、軽快していた。

これまでは抗けいれん剤(VPA、CBZ、LTG)、ビタミンB群、ビタミンE、CoQ10、アルギニン、バイアスピリンなどの内服を行ってきたが再発予防効果はなかった。

しかし12月の入院の時からジアゼパムの内服を開始したところ、再発が見られなくなった。

以上選択除外基準に照らし、患者登録が可能であると判断し、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9g/日とした。投与期間は2013年10月31日—2014年11月6日迄の1年間。[評価期間] 2013年10月31日—2014年11月6日迄の1年間。[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。

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。

E. 結論

京都医療センターの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nder」に該当して、有効であると考えられた。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 西田 勝也 国立病院機構兵庫中央病院 神経内科

研究要旨

MELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes) はミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} 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。本治験において主導的役割を担っている川崎医科大学の先行研究によって、正常 tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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) ことが世界に先駆け報告された。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、平成 24 年度にタウリン治療の特許を取得し、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が川崎医科大学を中心として開始された。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^{Leu(UUR)} 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。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 56 週間、主要評価項目は 100%レスポンス：脳卒中様発作完全抑制とした。実施医療施設国立病院機構兵庫中央病院では、エントリー基準の脳卒中様発作回数 2 回の 40 代 MELAS 男性 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の回数は半減し、タウリン治療の有効性が示唆された。

A. 研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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。川崎医科大学神経内科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目標とする医師主導治験を骨子とする。

国立病院機構兵庫中央病院は分担研究者として、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

兵庫中央病院神経内科に入院中の 1 例の 40 代男性 MELAS 患者について、文書および口頭による説明の後、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、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、平成 20 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 代男性で小学生の頃から運動が苦手、低身長、感音性難聴があり 15 歳から補聴器を使用している。[治験開始 78 週以前 (アルギニン併用期間外)]平成 24 年 4 月 14 日朝に頭痛が出現した。他院を受診し、頭部 MRI 上、左側頭葉皮質に拡散強調画像で高信号域が確認されたため緊急入院した。4 月 23 日には感覚性失語が出現した。4 月 27 日には右不全麻痺、5 月 2 日には右同名半盲が出現し、頭部 MRI での異常信号は拡大した。5 月 7 日に前医へ転院し脳血管造影を施行されるも頭頸部の血管に異常は認めなかった。ステロイドパルス療法により半盲、麻痺は消失した。脳梗塞としては非典型的であり、精査目的で 6 月 25 日当院に転院した。特徴的な身体所見 (低身長、難聴)、血液および髄液検査での乳酸、ピルビン酸高値、家族歴 (同胞がミトコンドリア病と診断されている) などからミトコンドリア病が強く示唆された。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。7 月 10 日より脳卒中様発作予防のために L-アルギニン経口投与 (18g/日) が開始された。[治験開始 78 週以内 (アルギニン併用期間内)]脳卒中様発作①：平成 24 年 10 月 4 日に皮質性視覚障害、頭痛、意識障害が出現した。頭部 MRI 上、右側頭葉に拡散強調画像で高信号域を認め脳卒中様発作と診断した。ステロイドパルス療法を施行した。[治験開始 52 週以内]脳卒中様発作②：平成 24 年 10 月 28 日に単麻痺、痙攣、意識障害が出現した。頭部 MRI 上、右側頭葉、頭頂葉、後頭葉に拡散強調画像で

高信号の病変を認めた。前回発作よりも 2 週間以上経過しており新たな再発としてステロイドパルス療法を行った。

以上のように背景調査では、平成 24 年 10 月 4 日、平成 24 年 10 月 28 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 21 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 25 年 10 月 28 日-平成 26 年 10 月 22 日までの 52 週間。[評価期間] 平成 25 年 10 月 21 日-平成 26 年 11 月 19 日までの 56 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・評価期間ともに重篤な有害事象は認められなかった。[バイオマーカー候補測定] ①白血球ミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)}のタウリン修飾率：(投与前 0 週) 34.25±0.87% → (投与後 52 週) 30.65±2.12% (p=0.09) 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 1.87 → (52 週) x 1.62 (p=0.114) ③ミトコンドリア遺伝子変異率 (ヘテロプラスミー)：(0 週) 29.5% → (52 週) 26.7%。

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の回数は 2 回→1 回と減少し発作の抑制効果の可能性が示唆された。薬効バイオマーカー候補はいずれも有意な変化は見られなかった (白血球検体で測定したミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} タウリン修飾率では有意差はないものの減少していた)。

E. 結論

兵庫中央病院の 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

ポンドー」には該当しなかったが、発作回数の減少を認め、有効性の可能性が示唆された。この点は今回試験薬投与前後で測定した各種バイオマーカーのデータを検討し、他施設での症例も合わせた総合的な解析が必要であると考えられる。試験薬投与による重篤な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 高橋 哲也 広島大学 脳神経内科

研究要旨

MELAS はミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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, 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。本研究ではタウリン経口療法により、ミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)} 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。その結果発作これらのマーカーが病態を適切に評価しうることが示唆された。MELAS に対するタウリンの抑制効果が示され、安全性についても確認された。

A. 研究目的

MELAS は、本邦でミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 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^{Leu(UUR)} 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。主任研究者である砂田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目標とする医師主導治験を骨子とする。

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、広島大学病院外来通院中の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1年間の投与を実施して、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、広島大学の治験審査会 (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。

事前に予想された不利益は、副作用として、総症例1,064例中30例(2.82%)38件認められ、その主なものは、消化器系として嘔気5件(0.47%)、下痢4件(0.38%)、腹部不快感4件(0.38%)、便秘

3 件(0.28%)、軟便 3 件(0.28%)、食欲不振 3 件(0.28%)、消化性潰瘍悪化 1 件(0.09%)、詳細不明 5 件(0.47%)であった。過敏症として発疹 4 件(0.38%)であった。全身症状として脱力感 2 件(0.19%)、発熱 1 件(0.09%)であった。精神神経系として眠気 1 件(0.09%)、気分高揚 1 件(0.09%)であった。また中枢神経系として頭痛 1 件(0.09%)であり倫理的な配慮としてこれらの症状発現時は適切な対応を行うこととしていた。

C. 研究結果

被験者：30 歳代男性
生来易疲労性があった。23 歳時頭痛、失語、意識障害のため近医に入院した。MRI T1 強調画像にて左側頭葉に低信号域を指摘されヘルペス脳炎と暫定診断された。症状軽快後に譫妄が出現した。その後 4 年間は予防目的に抗てんかん薬の内服を継続し、経過は良好であった。28 歳時記憶力低下、失語が相次いで出現し、近医での MRI 検査にて左側頭葉の脳梗塞を疑われた。MRI 再検で病巣の拡大を認め、脳波にて病巣に一致して焦点性棘波を認めた。ミトコンドリア脳筋症が疑われ好気性運動負荷試験、筋生検により確定診断された(ミトコンドリア遺伝子解析では A3243G 変異が認められた)。同年 8 月に左耳側視野の欠損を自覚し再入院した。この時に HDS-R20/30 と認知機能障害も指摘された。36 歳時左不全片麻痺と頭痛で再発入院した。その後アルギニンの内服を開始した。2013 年(38 歳時)アルギニン増量中にも拘らず 3 ヶ月の間隔で発作を 2 回再発した。画像上脳の萎縮も進行してきており治験に登録した。[治験同意取得] 治験プロトコルについて説明し、平成 25 年 12 月 20 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、体重が 40kg 以上であることから 12g/日とした。投与期間は平成 25 年 12 月 27 日-平成 26 年 12 月 19 日迄の 1 年間。[評価期間] 平成 26 年 1 月 24 日-平成 26 年 12 月 19 日までの 47 週間。[有効性評価] 投与期間・評価期間とも MELAS ストローク判定基準では再発回数は 0 回であった。観察期間中に有害事象を認めなかった。[バイオマーカー候補測定] ①白血球ミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)}のタウ

リン修飾率：(投与前 0 週) $38.53 \pm 4.55\%$
→(投与後 52 週) $56.90 \pm 2.74\%$ ($P=0.0081$)
②ミトコンドリア Leu(UUR)-rich ND6 蛋白質量(血漿)：(0 週) 65.6 ± 3.0 pg/ml
→(52 週) 44.2 ± 4.7 pg/ml. ③ミトコンドリア遺伝子変異率(ヘテロプラスミー)：(0 週) $21.5 \pm 1.67\%$ → (52 週) $19.1 \pm 0.60\%$ ($P=0.080$)

D. 考察

試験薬タウリンの投与期間中脳卒中様発作の再発を認めなかった。タウリンの投与前後で白血球のミトコンドリア tRNA^{Leu(UUR)}のタウリン修飾率は 50%近く有意に上昇した。ヘテロプラスミーについても有意ではないものの改善傾向を認めた。

E. 結論

広島大学の 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onder」に該当した。このレスポonderにおける試験期間中のバイオマーカーの変化は、これらのマーカーが病態を適切に評価しうることを示唆する。長期的な試験による検討の余地はあるものの本試験薬の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

Ⅲ. 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
古賀靖敏	ミトコンドリア機能の臨床生化学的評価	杉江秀夫	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京	2014	22-27
古賀靖敏	ミトコンドリア代謝異常症のトピックス	杉江秀夫	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京	2014	142-152
古賀靖敏	ミトコンドリアにおける代謝	杉江秀夫	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京	2014	153-159
古賀靖敏	ミトコンドリア病の診断の進め方	杉江秀夫	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京	2014	160-167
古賀靖敏	ミトコンドリア代謝異常症の臨床的病型による分類 MELAS	杉江秀夫	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京	2014	168-174
古賀靖敏	ミトコンドリア代謝異常症の臨床的病型による分類 Leber病	杉江秀夫	代謝性ミオパチー Basic mechanism, Diagnosis and Practical Approach	診断と治療社	東京	2014	181-184
古賀靖敏	L-アルギニン (MELAS)		引いて調べる 先天代謝異常症	診断と治療社	東京	2014	136-137

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
<u>古賀靖敏</u>	ミトコンドリア心筋症・心合併症		心エコーハンドブック 心筋・心膜疾患	金芳堂	京都	2014	100-105
<u>古賀靖敏</u>	悪性高熱症		今日の小児治療指針 第16版	医学書院	東京	2015	In press
亀井浩行、 波多野正和、 植田晃広、 <u>武藤多津郎</u>	薬物治療管理の 実践 7 精神・ 神経疾患 パー キンソン病		薬局別冊 入院・外来 薬物治療プ ラクティス 2013年 03 月号	南山堂	東京	2013	64(4):12 12-1226
波多野正和、 亀井浩行、 植田晃広、 <u>武藤多津郎</u>	パーキンソン病		薬と検査2014 薬物治療&服薬指 導プラクティカル ガイド	南山堂	東京	2014	65:1182 -1198
<u>武藤多津郎</u>	ギランバレー症候群に於けるバイオマーカーの探索・開発と診断薬・機器開発		最先端バイオマーカーを用いた診断薬/診断装置開発と薬事対応	技術情報協会	東京	2015	369-372
木澤真努香、 水谷泰彰、 <u>武藤多津郎</u>	神経内科研修ノート	永井良三 他編集	腎疾患に伴う神経系疾患	診断と治療社	東京	2015	429-431
<u>Mutoh T</u>	Current understanding of membrane lipid rafts and their involvements in neurological disorders From bench to clinics.	Mutoh T	Frontiers in Bioscience.			2015	In press
<u>井上貴仁</u>	第12章, 神経疾患	廣瀬 伸一 【監修】	小児科研修ハンドブック	海馬書房	東京	2013	213-236
<u>小川 厚</u>	第2章, 救急主要症候論1. 小児の救急	廣瀬 伸一 【監修】	小児科研修ハンドブック	海馬書房	東京	2013	8-37

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
小川 厚	小児疾患 子どもも虐待	永井良三	今日の治療と看護	南江堂	東京	2013	1351-1356

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
Rikimaru M, <u>Ohsawa Y</u> , Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S, Ohta S, <u>Sunada Y</u>	Taurine Ameliorates Impaired the Mitochondrial Function and Prevents Stroke-like Episodes in Patients with MELAS	Intern Med	51(24)	3351-3357	2012
Fujii T, Nozaki F, Saito K, Hayashi A, Nishigaki Y, Murayama K, Tanaka M, <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)	133-138	2014
Katayama K, Povalko N, Yatsugana S, Nishioka J, Kakuma T, Matsuiishi T, <u>Koga Y</u>	New TRPM6 mutation and management of hypomagnesaemia with secondary hypocalcaemia	Brain Dev	37(3)	292-298	2015
Fujita Y, Ito M, Kojima T, Yatsugana S, <u>Koga Y</u> , Tanaka M	GDF15 is a novel biomarker to evaluate efficacy of pyruvate therapy for mitochondrial diseases	Mitochondrion	20	34-42	2015
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, <u>Koga Y</u> , 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
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 扁桃体—update	32(6)	704-705	2014
<u>古賀靖敏</u>	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

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>Mutoh T</u> , 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 glycosphingolipi d biosynthesis.	FASEB J	26	3065-3074	2012
Hamano T, <u>Mutoh T</u> , Hirayama M, Uematsu H, Higuchi L, Koga H, Umehara F, Komai K, Kiriyaama M.	Winged scapula in patients with myotonic dystrophy type 1.	Neuromus c Disord	22	755-758	2012
Kawamura N, Kizawa M, Ueda A, Niimi Y, <u>Mutoh T</u> .	An update on diag nostic imaging st udies of viral en cephalitis.	Future Vir ol	7	901-909	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, <u>Mutoh T</u> , Yuzawa Y, Kitaguchi N.	Potential therapeutic system for Alzheimer's disease: removal of blood A β s by hemodialyzers and its effect on the cognitive functions of renal-failure patients.	J Neural Transm	119	1533-1544	2012
朝倉邦彦、 <u>武藤多津郎</u>	ウェゲナー肉芽腫 症と神経合併症	BRAIN and NERVE	65	1311-1317	2013
<u>武藤多津郎</u>	抗(中性)糖脂質抗 体と辺縁系脳炎	神経内科	79	348-353	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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、 <u>武藤多津郎</u>	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
<u>Mutoh T.</u>	Emergence of new roles of lipid rafts in neurological disorders.	J Neurol Transl Neurosci	1	2-3	2013
Ikeda M, Miki T, Atsumi M, Inagaki A, Mizuguchi E, Meguro M, Kanamori D, Nakagawa K, Watanabe R, Mano K, Aihara A, Hane Y, <u>Mutoh T</u> , Matsuo K.	Effective elimination of contaminants after oral care in elderly institutionalized individuals.	Geriatr Nurs	35(4)	295-299	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, <u>Mutoh T</u> 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)	814-824	2014
Asakura K, Ueda A, Shima S, Ishikawa T, Hikichi C, Hirota S, Fukui T, Ito S, <u>Mutoh T</u> .	Targeting of aquaporin 4 into lipid rafts and its biological significance.	Brain Res	2;1583	237-244	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
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)	100-105	2014
Nakamura K, Sugaya K, Nakata Y, Shima S, <u>Mutoh T</u> , Nakano I.	Hypertrophic pachymeningitis and encephalitis in a patient with relapsing polychondritis.	Neurology and Clinical Neuroscience	3	42-43	2015
Asakura A, Ueda A, <u>Mutoh T</u> .	Lipid rafts and their possible involvements in neuroimmunological disorders:new research arena.	Frontiers In Bioscience Landmark	1:20	303-313	2015
Hikichi C, Asakura K, Hirota S, Fukui T, Murate K, Ishikawa T, Kizawa M, Ueda A, Ito S, <u>Mutoh T</u> .	Deep Neck inflammatory Diseases: Implication of Cervical Magnetic Resonance Imaging for Early Diagnosis.	Austin Journal of Clinical Neurology	2(2)	1024-1025	2015
Fukuda Y, Fukui T, Hikichi C, Ishikawa T, Murate K, Adachi T, Imai H, Fukuhara K, Ueda A, Kaplan AP, <u>Mutoh T</u> .	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, <u>Mutoh T</u> .	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, <u>Mutoh T</u> .	Voriconazole-responsive Disseminated Nodular Lesions on Spinal MRI.	Intern Med	54	215-218	2015