

201415034A

厚生労働科学研究費補助金

(難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業))

遠位型ミオパチーにおける N-アセチルノイラミン酸
の薬物動態の検討及び第 2/3 相試験

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 青木 正志

東北大学大学院医学系研究科 神経内科学

平成 27 年 3 月 印刷

目 次

I. 総括研究報告書

遠位型ミオパチーにおける N-アセチルノイラミン酸の薬物動態の検討 及び第 2/3 相試験	1
東北大学大学院医学系研究科 神経内科学 青木正志	

II. 分担研究報告書

1. GNE ミオパチーの新規バイオマーカー探索	7
国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第一部 西野一三	
2. 薬物動態試験に関わる業務及び生殖毒性試験の委託業務	10
ノーベルファーマ株式会社 医薬品開発 研究開発本部 島崎茂樹	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	15
---------------------------	----

IV. 研究成果に関する刊行物	17
-----------------------	----

V. 研究者一覧	
----------	--

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業))
総括研究報告書

「遠位型ミオパチーにおける N-アセチルノイラミン酸の薬物動態の検討
及び第 2/3 相試験」

研究代表者：青木 正志
東北大学 大学院医学系研究科 神経内科学 教授

研究要旨

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーという希少筋疾患は、体幹から離れた部位から筋肉が萎縮、変性し次第に体の自由が奪われていく有効な治療法のない難病である。最近、この疾患に N-アセチルノイラミン酸が奏効する可能性の高いことが、国立精神・神経医療研究センターにより世界に先駆けて見出された。

現在まで、公的資金の助成等により、治験薬 GMP に準拠した原薬・製剤の製造、長期投与に必要な非臨床試験がほぼ終了し、東北大学病院では患者を対象とした医師主導第 I 相試験を実施した。この試験では総 N-アセチルノイラミン酸濃度を測定し、尿中排泄量の増加は確認できたが血清中濃度の上昇は確認できなかった。この結果を受けて、国内開発企業の米国の提携先は、生理的に僅かに存在する遊離 N-アセチルノイラミン酸を測定する患者対象第 I 相試験を実施し、用量依存の血清中濃度上昇を確認した。日米の成績を基に、米・イスラエルで第 II 相試験が実施され、安全性に問題なく上肢筋力の維持などから有効性が示唆された。

我々の第 I 相試験は普通製剤で検討したが、25 年度から海外で使用した徐放錠にて医師主導第 I 相試験を行い安全性及び薬物動態を検討した。今後 27 年度に国際共同第 III 相試験に加わる予定である。この国際共同試験は日本人患者での POC 試験でもあり、国内では事実上第 II/III 相試験の位置づけになると考えている。

本研究は日本で見出されたシーズを採算の取りにくい希少疾病医薬品として開発することから、その実用化には官民学の協力関係が不可欠である。折しも厚生労働省ではウルトラオーファンドラッグの開発支援を始めたところであり、本研究はその好例となりうるものと考えている。なお 24 年度までの本事業は文科省の橋渡し研究加速ネットワークプログラムの支援で行った。

研究分担者

西野一三 (国立精神・神経医療研究センター神経研究所、疾病研究第一部)
島崎茂樹 (ノーベルファーマ株式会社、医薬品開発 研究開発本部)
割田 仁 (東北大学大学院医学系研究科、神経内科学)
加藤昌昭 (東北大学病院、神経内科)

A. 研究目的

本研究では、国立精神・神経医療研究センターの西野らの成果をもとに、我々が世界で初めて実施した第 I 相試験等の成果を踏まえ実施された海外第 I 相試験の最高用量で第 I 相試験を平成 25 年度に実施する。さらに海外で実施中の第 II 相試験の結果を検討し、平成 27 年度に国際共同治験

として第Ⅱ/Ⅲ相試験を開始することにより日本人患者でPOCを確認し、海外と同時期の承認取得を目指すものである。

なお生殖毒性試験等必要な非臨床試験を25-26年度にかけて実施する。

我々の実施した第Ⅰ相試験では生理的に蛋白等と結合しているものを含めた総N-アセチルノイラミン酸濃度を測定し、尿中排泄量の増加は確認できたが血清濃度の上昇は確認できなかった。この結果を受けて、国内開発企業の米国の提携先は、生理的に僅かに存在する遊離N-アセチルノイラミン酸のみを測定する患者対象第Ⅰ相試験を実施し、用量依存の血清中濃度上昇を確認した。国内外の成績をもとに、米国では有効性、安全性を確認する第Ⅱ相試験が実施されることとなった。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーという筋疾患は、体幹から離れた部位から筋肉が萎縮・変性し次第に体の自由が奪われていく難病で、今のところ治療手段はない。本疾患の患者では、N-アセチルノイラミン酸の生合成経路の重要な酵素であるGNE/MNKをコードするGNE遺伝子に変異がある。西野らは、本疾患のモデルマウスをGNE-KOマウスとヒトGNE遺伝子のD176V変異トランスジェニックマウスの掛け合わせにより作製したが、他の研究グループの疾患モデル動物と異なり、成長に伴いヒトの病態を忠実に再現する。西野らは、このマウスによりN-アセチルノイラミン酸の予防効果を示し、世界で初めて治療法の糸口を提示した。この成果はNature Medicine (15(6)690-5, 2009)に掲載され、特許も出願された。

これまで公的資金の助成も受け、治験薬GMPに準拠した原薬・製剤の製造、ラット及びイヌの慢性毒性、ラット及びウサギの胚・胎児発生、安全性薬理、ラット薬物動態などの試験を実施し、公表された情報も

含めると、一部の生殖毒性試験を除き必要な非臨床試験は終了した。プロトコール開発等を含め24年度までの本事業は文科省の橋渡し研究加速ネットワークプログラムの支援で行った。

B. 研究方法

① 追加第Ⅰ相試験の実施

GNE遺伝子変異を確認できている縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの患者を対象に6000mg/日を7日間まで投与し、安全性と薬物動態を検討する。前回我々は2400mg/日、5日間まで検討し、これを受けて海外では6000mg/日、7日間までを検討後、第Ⅱ相試験に移行した。また、前回は普通製剤を使用し、総N-アセチルノイラミン酸を測定したが、今回は海外試験と同じ徐放製剤を使用し、遊離N-アセチルノイラミン酸を測定する。3例に1回2000mgを単回投与、別の3例に1日3回投与、次いで原則としてその中から3例に1日3回を7日間投与する。薬物動態では、非投与時と比較した血清中遊離N-アセチルノイラミン酸濃度の変化、尿中総及び遊離N-アセチルノイラミン酸排泄量の変化から治験薬の吸収を確認する。血清中濃度測定は単回及び1日3回投与時が、それぞれ投与前日及び投与日の推移と投与翌日朝までの19時点/例、7日間投与時が投与開始前日、投与開始日及び7日目の推移と2~6日目及び投与終了翌日それぞれの朝の30時点/例であり、計204検体となる。尿中濃度は血清中濃度と同じ日程で1日を2回に分けて蓄尿し、計42検体について総及び遊離N-アセチルノイラミン酸濃度

を測定する。血液検査、血液生化学検査等の臨床検査は単回及び1日3回投与時が3回、7日間投与時が4回の測定となる。他に必要な理学的検査、心電図測定、心エコーを実施する。

② 第Ⅱ/Ⅲ相試験の実施（国際共同第Ⅲ相試験への参画）

プラセボ対照二重盲検、我が国の例数は20例以上、6カ月又は1年投与、評価指標は以下の第Ⅱ相試験と同様だが、その結果を踏まえ新たな項目を追加するなどして決定する。

現在国内開発企業の協業先が米国及びイスラエルで第Ⅱ相試験を実施している。低用量3000mg/日、高用量6000mg/日及びプラセボを各15例、24週投与のあと、実薬群は同用量で、プラセボ群は実薬2群に振り分け、更に24週継続投与する。評価指標は血清中遊離N-アセチルノイラミン酸濃度、投与前後の筋生検と筋組織のシアリル化の程度、6分間歩行、筋力計で測定した筋力、患者の自覚症状等。平成25年7月、本試験の中間解析において、安全性に問題なく一部の筋肉群でプラセボと比較して用量依存の筋力の改善が認められ有効性が示唆されたが、疾患の進行に比べ試験の投与期間が短いので、さらに投与を継続し認められた治療効果の維持或いは増強を確認することとなった。

実施中の海外第Ⅱ相試験の患者と我が国の患者では同じ遺伝子の変異でも変異箇

所が異なることより、上記第Ⅲ相試験は日本人患者でのPOC試験でもあり、また海外第Ⅱ相試験のみでは有効性について明解な結論が得られない（POCが確立できない）可能性もあることより、国内では事実上第Ⅲ相試験でなく第Ⅱ/Ⅲ相試験の位置づけになると考えた。

③ 薬事戦略相談の指摘に従い生殖毒性試験（ICH-study1）を上記第Ⅱ/Ⅲ相試験開始前に実施する。

25-26年度に実施した医師主導第Ⅰ相試験は、研究代表者 青木正志が自ら治験を実施するものとして東北大学病院神経内科にて行った。研究協力者は同科 割田仁、加藤昌昭が治験分担医師として参画し、臨床研究推進センターの協力も得て、医薬品の臨床試験の実施の基準（GCP）に準拠した治験を実施する。他に、本治療法の発見者である国立精神・神経医療研究センター 西野一三が医薬専門家として、国内開発企業から島崎茂樹が治験薬提供者、非臨床試験担当として参画する。また、上記国際共同治験は、日本では当院単独になるか複数の医療機関が参加することになるか等具体的な体制は未定であるが、本学においては第Ⅰ相試験と同様な体制で臨み治験を実施する。

（倫理面への配慮）

追加第Ⅰ相試験は医師主導治験として実

施する。したがってGCPに準拠して試験を実施する。その後の臨床試験は医師主導となるか、企業治験となるかは未定であるが、やはりGCPに準拠して試験を実施する。すなわち、試験実施に先立ち、治験責任医師は、治験実施計画書、同意説明文書等の必要文書を作成し、治験審査委員会の審議を経て治験実施医療機関の長の承認を得る。また、治験責任(分担)医師は、治験に参加する意思のある志願者に治験の参加に先立ち、同意説明文書を用いて十分に説明し、自由意思による参加の同意を文書により得る。その他、GCPで規定されている事項を順守し、被験者の人権の保護、安全の保持及び福祉の向上を図り、治験の科学的な質及び成績の信頼性を確保する。

C. 研究結果

25-26年度に追加第 I 相試験を実施した。GNE遺伝子変異を確認できている縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの患者を対象に、安全性と薬物動態を検討した。今回は海外試験と同じ徐放製剤を使用し、薬物動態では特に遊離N-アセチルノイラミン酸を測定した。3例に1回2000mgを単回投与、別の3例に1日3回投与、次いで原則としてその中から3例に1日3回を7日間投与するが、特に問題なく終了し、結果を解析している段階である。

一方、国内開発企業の協業先が米国及びイスラエルで第 II 相試験を実施している。低用量3000mg/日、高用量6000mg/日及びプラセボを各15例、24週投与のあと、実

薬群は同用量で、プラセボ群は実薬2群に振り分け、更に24週継続投与する。評価指標は血清中遊離N-アセチルノイラミン酸濃度、投与前後の筋生検と筋組織のシアリル化の程度、6分間歩行、筋力計で測定した筋力、患者の自覚症状等であった。本試験の解析では安全性に問題なく一部の筋肉群でプラセボと比較して用量依存の筋力の改善が認められ有効性が示唆された。現在、国際共同第III相試験に向け準備中である。

また薬事戦略相談に基づき、生殖毒性試験 (ICH-study1) を実施中であり、平成26年度にかけて生殖毒性試験

(ICH-study2) 等必要な非臨床試験を行い、生殖発生毒性のリスクが少ないことを確認した (島崎の項参照)。

D. 考察

追加第 I 相試験では重篤な有害事象は認められなかった。我が国では POC 試験は未実施であり、国際共同第III相試験に加わることは、POC 試験と検証試験を同時に実施することに相当する。この試験はプラセボ対照二重盲検比較試験で、欧米を中心に国内開発企業の米国の協業先である製薬企業が実施する。総数 80 例を対象とし 48 週間投与し 1 日 6g をプラセボと比較するが、我が国ではうち 10 例を実施する予定である。評価系は筋力計で測定した上下肢筋力の合計スコア、この縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーのために開発された患者報告アウトカム評価として GNE ミオパチー機能評価尺度、血清中遊離 N-アセチルノイラミン酸濃度、6 分間歩行、患者の自覚症状等である。同じ施設で総数 20-25 例の歩行不能患者を対象

にオープン試験も実施し、日本ではうち 4 例を実施する予定である。

本研究は日本で見出されたシーズを採算の取りにくい希少疾病医薬品として開発することから、その実用化には官民学の協力関係が不可欠である。厚生労働省ではウルトラオーファンドラッグの開発支援を強化しているが、本研究はその好例となりうるものと考えている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

Izumi R, ... Aoki M. GNE myopathy associated with congenital thrombocytopenia: a report of two siblings. *Neuromuscul Disord.* 24:1068-72, 2014

Nishino I, Carrillo-Carrasco N, Argov Z: GNE myopathy: current update and future therapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* [Epub Jul 2014] ahead of print

Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, Nakamura H, Murata M, Takeda SI, Nishino I, Kimura E: Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Dis.* 9(1): 150, Oct, 2014 [Online journal]

Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Mutation profile of the *GNE* gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 85(8): 914-917, Aug, 2014

Huizing M, Carrillo-Carrasco N, Malicdan MC, Noguchi S, Gahl WA, Mitrani-Rosenbaum S, Argov Z, Nishino I: GNE myopathy: New

name and new mutation nomenclature. *Neuromuscul Disord.* 24(5): 387-389, 2014

Mori-Yoshimura M, Oya Y, Yajima H, Yonemoto N, Kobayashi Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: GNE myopathy: A prospective natural history study of disease progression. *Neuromuscul Disord.* 24(5): 380-386, 2014

学会発表

西野一三：次世代シーケンサーによる筋疾患遺伝子解析. 第 56 回日本小児神経学会学術集会, 静岡県浜松市(オークラアクトシティホテル浜松), 5.30, 2014(5.29-5.31)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金

(難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業))

遠位型ミオパチーにおける N-アセチルノイラミン酸の薬物動態の検討

及び第 2/3 相試験

分担研究報告書

GNE ミオパチーの新規バイオマーカー探索

研究分担者：西野 一三¹⁾

共同研究者：野口 悟¹⁾

1) (独) 国立精神・神経医療研究センター

研究要旨

シアル酸化合物のシーズ探索、薬物動態および治療効果の探索のため、今年度は新規バイオマーカーの探索研究を行った。GNE ミオパチー患者の唾液中のシアル酸を測定し、感度、再現性を解析した。これまでの血液でのシアル酸測定と合わせて議論を行った。

A. 研究目的

GNE ミオパチーの新規バイオマーカー探索、患者でのシアル酸測定法を改良する。

B. 研究方法

これまで、N-アセチルノイラミン酸の薬物動態は血液、尿中のシアル酸を定量することで、また前臨床研究における治療効果測定では、組織、細胞の総シアル酸を測定することが行われてきた。しかしながら、これを侵襲的な方法が開発されれば、患者様への負担もなく、かつ、将来的には、通院の必要もなく、患者様自身において時を選ばず解析検体が採取出来る。シアル酸量が多く含まれる生体成分を使う必要があるため、本研究では唾液中のシアル酸測定を行った。GNE ミオパチー患者 11 名より、25 検体の唾液サンプル

を解析した。唾液は国立精神・神経医療研究センター病院への検査入院時、早朝食事前に、サリソフトにて、採取した。採取後は、一旦 4℃に保管し、遠心分離後、-20℃にて保管した。シアル酸量は、加水分解後 1,2-Diamino-4,5- methylenedioxy-benzene (MDB)にて誘導体化し、HPLCにて測定した。タンパク量は、BCA 法にて、牛血清アルブミンをスタンダードとして測定した。

(倫理面への配慮)

DMRV 患者を対象とした研究では、遺伝子解析の結果を含む情報を登録することについてのインフォームド・コンセントを同意書として得ることを必須とするとともに、研究対象者となる者が研究対象者となることを拒否できるよう十分に配慮した。取り扱う情報

は、遺伝子解析の結果を含む個人情報であり個人情報管理については十分な配慮を行った。本研究は厚生労働省・文部科学省「疫学研究に関する倫理指針」を準拠し、行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律を遵守した。

C. 研究結果

25 検体での唾液中のシアル酸濃度は、 218.7 ± 121.0 pmol/ul であった。タンパク質含量での補正值は、 137.3 ± 49.7 pmol/ug タンパク質であった。同一患者由来のサンプルでの測定では、エラー率はそれぞれ、0.23, 0.10, 0.26 と、再現性の高い値が得られた。

D. 考察

唾液中のシアル酸の解析では、シアル酸濃度 218.7 ± 121.0 pmol/ul のエラー率 0.55、タンパク質あたりでは、 137.3 ± 49.7 pmol/ug : エラー率 0.36 であった。以前 44 名の患者で測定した血清中のシアル酸濃度、 396.8 ± 178.9 pmol/ul : エラー率 0.45 に比較して、タンパク質で解析すれば、誤差が小さいと言える。これは、唾液検体がシアル酸の測定に適した検体であることを示している。さらに、容量あたりの含量は、一方、これらのデータは、唾液中に含まれるタンパク含量の違いによると考えられ、唾液中のタンパク含量の変化によるシアル酸合成量が気にかかる場所である。しかしながら、同時に唾液中に存在するシアル酸はタンパク質に結合して存在している可能性をも示していると思われる。このことは、治療が進行中の患者における投与シアル酸薬物動態の解析において重要である。唾液中のシアル酸測定は、血液での投与シアル酸の代謝量とは、独立かつ同時に、そ

の患者がもつシアル酸生合成能を測定しうるものと考えている。つまり、長期シアル酸投与によるシアル化の治療効果を推定しうる事が出来る。

さらに、同一の患者において、異なる日に得られた唾液サンプル間のエラー率は極めて小さい(0.1-0.26)ことがわかった。血液検体では、反復的な採取が難しいため、再現性の試験は行っていないが、少なくとも、唾液サンプルは血液にも劣らない再現性を示すものと考えている。血液中のシアル酸は主に肝臓で合成され、唾液は顎下腺で合成されるのであるが、これらのサンプル間でのシアル酸量変化の特性は興味深いところである。今後は、さらに解析検体を増やす、実際のシアル酸の状態（遊離型、タンパク結合型、脂質結合型）を解析する、血液サンプルとの関連および違いなどバイオマーカーとしての特性を調べるなどの必要があると考えている。

E. 結論

唾液中のシアル酸は、再現性のいい、バイオマーカーとなりうる。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishino I, Carrillo-Carrasco N, Argov Z: GNE myopathy: current update and future therapy. J Neurol Neurosurg Psychiatry. [Epub Jul 2014] ahead of print

Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, Nakamura H, Murata M, Takeda SI,

Nishino I, Kimura E: Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. Orphanet J Rare Dis. 9(1): 150, Oct, 2014 [Online journal]

Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Mutation profile of the *GNE* gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy). J Neurol Neurosurg Psychiatry. 85(8): 914-917, Aug, 2014

Huizing M, Carrillo-Carrasco N, Malicdan MC, Noguchi S, Gahl WA, Mitrani-Rosenbaum S, Argov Z, Nishino I: GNE myopathy: New name and new mutation nomenclature. Neuromuscul Disord. 24(5): 387-389, 2014

Mori-Yoshimura M, Oya Y, Yajima H, Yonemoto N, Kobayashi Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: GNE myopathy: A prospective natural history study of disease progression. Neuromuscul Disord. 24(5): 380-386, 2014

2. 学会発表

西野一三：次世代シークエンサーによる筋疾患遺伝子解析. 第56回日本小児神経学会学術集会, 静岡県浜松市(オークラアクトシティホテル浜松), 5.30, 2014(5.29-5.31)

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金

(難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業))

遠位型ミオパチーにおける N-アセチルノイラミン酸の薬物動態の検討

第 1 相試験及び第 2/3 相試験

分担研究報告書

薬物動態試験に関わる業務及び生殖毒性試験の委託業務

研究分担者：島崎茂樹¹⁾

1) ノーベルファーマ株式会社

研究要旨

N-アセチルノイラミン酸の薬物動態試験の実施にあたり、業務の一部を担当した。即ち海外協業先より輸入した徐放製剤を治験薬として提供し、その関連追加情報を提供した。また本試験に関わるモニタリング業務を担当し、データマネジメント業務、GCP 監査業務、統計解析業務、薬物濃度測定業務については、外部機関への委託を担当した。さらに、PMDA との薬事戦略相談において指導指示のあった生殖発生毒性試験を外部機関への業務委託により実施し、N-アセチルノイラミン酸は生殖発生毒性のリスクが低いことを確認した。

A：研究目的

研究代表者青木正志教授が実施する N-アセチルノイラミン酸の医師主導薬物動態試験における治験薬及びその情報の提供並びに治験実施にあたり必要な業務を当社にて或いは委託により実施することにより、薬物動態試験の一部を分担する。さらに必要な生殖発生毒性試験を実施することにより、本薬の生殖発生毒性のリスクを推定する。

B：研究方法

治験薬は昨年度海外協業先より輸入した徐放製剤を包装し提供したのものを使用した。また、昨年度提供後の新たな関連情報、非臨床試験成績の情報、海外臨床試験結果の情報を提供する。

また、昨年度に続き GCP における「自ら治験を実施する者」であり、本研究の研究代表者でもある青木正志教授の指名を受け、当社がモニタリング業務を行う。データマネジメント業務及び統計解析業務を株式会社応用ソフト開発に、GCP 監査業務を株式会社総合臨床メデフィに、薬物濃度測定業務を Intertek USA Inc に当社より委託して実施する。測定委託先は当社の米国での協業先 Ultragenyx 社が現在実施中の臨床試験において測定を依頼している受託機関で、血清及び尿中遊離 N-アセチルノイラミン酸の測定ができる唯一の機関である。

さらに、薬事戦略相談において指摘を受け実施が必要になったラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する

試験 (ICH-study 2) を株式会社 L S I メディエンス (旧称 三菱化学メディエンス株式会社) に委託し開始したが、それを終了する。詳細を以下に示す。

ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 (ICH-study 2)

交尾を確認した雌各群 20 例に 1 日 1 回、妊娠 6 日から分娩後 20 日まで経口投与する。投与量は 200、600 および 2000 mg/kg とし、対照群には同容量の注射用水を投与する。生まれた F1 胎児は、生後の行動・学習能の発達を観察し、また、10 週齢以降において生殖能の検査として同用量群内の雌雄を交配させ、生まれた F2 胎児への影響も観察する。

(倫理面への配慮)

以下のように倫理面に配慮して実施する。

N-アセチルノイラミン酸の薬物動態試験は「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(GCP) (平成 9 年 3 月 27 日厚生省令第 28 号、最終改正 平成 24 年 12 月 28 日厚生省令第 161 号) に準拠して実施する。

非臨床試験は厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」(GLP) (平成 9 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号、平成 20 年 6 月 13 日) に準拠して実施する。

C: 研究結果

①N-アセチルノイラミン酸の薬物動態試験に関わる業務
治験薬及びその情報提供

当社の海外協業先である米国 Ultragenyx 社より、臨床試験で使用の徐放剤を輸入し、試験開始に先立ち治験薬として提供した。その製造記録も併せて提供した。また、前回実施した第 I 相試験以降に終了した非臨床試験 (ラット 26 週毒性、イヌ 39 週毒性、ラット生殖発生毒性 (ICH study 3)、ラット薬物動態試験) 及び海外第 I 相試験の情報を提供した。

モニタリング業務の実施

当社からモニター資格を有する適切な社内のモニターを青木教授に推薦し、その指名を受けた 2 名が本試験のモニターを担当した。

モニターは治験開始前の必須文書の確認、被験者の適格性の確認、治験薬の保管状況の確認、原資料と症例報告書の整合性の確認など、GCP 及び治験実施計画書に従い適切に治験が実施されているかを訪問等により調査した。

モニタリングごとに規定の書式にて青木教授に報告し、特に問題なく治験が実施されたことを確認している。

データマネジメント業務の委託による実施

委託先に依頼し実施した。今回の業務は第 1 段階 5、6 例目、第 2 段階 3 例分の提供された症例報告書情報の入力、目視チェック及び DCF (Data Clarification Form) 作成を行った。

GCP 監査業務

委託先に東北大学病院の 2 回目 (治験終了時) の施設監査を依頼した。実施内容は本試験の監査及び直接閲覧である。治験が適切に実施され、終了したことが確認された。

統計解析業務

委託先に依頼し、統計解析計画書に従い必要な各種図表を現在作成中である。

薬物濃度測定業務

輸送業者を手配し、第1段階の5、6例目、第2段階の3例の血清検体及び尿検体を東北大学病院より米国の委託先に送付し、血清中遊離 N-アセチルノイラミン酸濃度、尿中総及び遊離 N-アセチルノイラミン酸濃度を測定した。海外臨床試験の結果と同様に血清中及び尿中濃度の増加が確認された。

なお、検体の輸送は試験の進捗に応じ、今年度分は2回に分けて実施し、その各々で輸送中の検体破損、紛失等に対応するため、各検体は2分割して冷凍し、2度に分けて送付した。

ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 (ICH-study 2)

委託先に依頼し試験を実施した。

F0 母動物では、死亡の発生はなく、一般状態、体重、摂餌量および剖検において被験物質投与の影響は認められなかった。また、分娩および哺育状態についても被験物質投与の影響は認められなかった。

F1 出生児では、分娩時検査、哺育期検査、一般状態、体重、発育分化検査、機能検査、運動協調性検査、学習能力検査、情動性検査、生殖能力検査、剖検および帝王切開時検査において被験物質投与の影響は認められなかった。

D : 考察

代表研究者青木正志教授が実施する医師主

導薬物動態試験に必要な業務を実施した。現在までのところ問題なく進捗している。

また、平成24年10月29日のPMDAとの薬事戦略相談にて必要との指導を受けた未実施の生殖毒性試験について、長期投与試験の実施に先立ち実施しておくことが望ましいと考えられたので、当方が担当し実施することとなった。

昨年度に開始したラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 (ICH-study 2) では、F0 母動物および F1 出生児のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。したがって、本試験条件下における N-アセチルノイラミン酸の F0 母動物および F1 出生児に対する無毒性量はいずれも 2000 mg/kg と考えられた。

以上から、ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能について N-アセチルノイラミン酸投与によるリスクは低いものと考えられた。

E : 結論

昨年度に引き続き医師主導薬物動態試験に必要な業務を実施し、一部を残し問題なく終了した。さらに薬事戦略相談で指導を受けた必要な生殖発生毒性試験を終了し、その成績より生殖発生毒性のリスクは低いと考えられた。

F : 健康危険情報

なし

G : 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1：論文発表

なし

2：学会発表

なし

H：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

実施した生殖発生毒性試験の最終報告書。

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

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Nishino I, Carrillo- Carrasco N, Argov Z	GNE myopathy: current update and future therapy.	J Neurol Neurosurg Psychiatry.			2014
Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I	Mutation profile of the <i>GNE</i> gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy).	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	85(8)	912- 915	2014
Huizing M, Carrillo- Carrasco N, Malicdan MC, Noguchi S, Gahl WA, Mitrani- Rosenbaum S, Argov Z, Nishino I	GNE myopathy: New name and new mutation nomenclature.	Neuromuscul Disord.	24(5):	387- 389	2014

IV. 研究成果に関する刊行物

REVIEW

GNE myopathy: current update and future therapy

Ichizo Nishino,¹ Nuria Carrillo-Carrasco,² Zohar Argov³¹Department of Neuromuscular Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Tokyo, Japan²Therapeutics for Rare and Neglected Diseases, National Center for Advancing Translational Sciences, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA³Department of Neurology, Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel**Correspondence to**

Dr Ichizo Nishino, Department of Neuromuscular Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), 4-1-1 Ogawahigashi-cho, Kodaira, Tokyo 187-8502, Japan; nishino@ncnp.go.jp

Received 20 February 2014

Revised 13 May 2014

Accepted 14 June 2014

ABSTRACT

GNE myopathy is an autosomal recessive muscle disease caused by biallelic mutations in *GNE*, a gene encoding for a single protein with key enzymatic activities, UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase and N-acetylmannosamine kinase, in sialic acid biosynthetic pathway. The diagnosis should be considered primarily in patients presenting with distal weakness (foot drop) in early adulthood (other onset symptoms are possible too). The disease slowly progresses to involve other lower and upper extremities' muscles, with marked sparing of the quadriceps. Characteristic findings on biopsies of affected muscles include 'rimmed' (autophagic) vacuoles, aggregation of various proteins and fibre size variation. The diagnosis is confirmed by sequencing of the *GNE* gene. Note that we use a new mutation nomenclature based on the longest transcript (GenBank: NM_001128227), which encodes a 31-amino acid longer protein than the originally described one (GenBank: NM_005476), which has been used previously in most papers. Based upon the pathophysiology of the disease, recent clinical trials as well as early gene therapy trials have evaluated the use of sialic acid or N-acetylmannosamine (a precursor of sialic acid) in patients with GNE myopathy. Now that therapies are under investigation, it is critical that a timely and accurate diagnosis is made in patients with GNE myopathy.

INTRODUCTION

GNE myopathy is a progressive muscle disease caused by mutations in the *GNE* gene, which encodes for a key enzyme in the sialic acid biosynthesis pathway (figure 1). In 2001, the gene defect associated with hereditary inclusion body myopathy (HIBM) was identified in Iranian Jews and other ethnicities.¹ Several mutations in the gene encoding sialic acid synthesis, called *GNE*, were identified. Soon afterwards, it became clear that distal myopathy with rimmed vacuoles (DMRV), first described in Japan by Nonaka and colleagues,² is also caused by defects in the same gene. More than a decade afterwards, numerous patients with GNE defects were described worldwide. Other names such as inclusion body myopathy type 2 and quadriceps-sparing myopathy have been used to describe this disease. To avoid confusion, a group of international experts working in the field of GNE myopathy recently met and decided to unify the nomenclature to GNE myopathy (name of disease and its mutations).³

In the passing decade, much progress has been achieved in clarifying some biochemical, genetic and phenotypic variations of this myopathy, but enigmas still persist about its pathogenesis.⁴ Importantly,

formal therapeutic trials have been initiated in the past 2 years. This timely review of the current knowledge about this unique myopathy also contains information presented at the recent third meeting of the GNE Consortium (San Francisco, September 2013).

CLINICAL FEATURES

GNE myopathy is a relatively rare muscle disease with some typical clinical and pathological characteristics that may be very important for its correct identification. This is especially true in regions where the disease is probably less prevalent or under-recognised (see Demographics section). GNE myopathy is an adult onset muscle disorder with signs typically appearing in the third decade of life. However, onset at teenage has been reported, the earliest probably around 12 years of age. The commonest presentation is weakness of the distal muscle of the leg (foot drop), thus GNE myopathy is still classified in the group of distal myopathies. Less common presentations include asymmetric foot drop or manifestations initially appearing in upper extremities and in the proximal leg musculature. The disease does not remain limited to the distal musculature but slowly progresses to involve more proximal leg muscles and the upper limbs. A very unique feature of this myopathy is the relative or full sparing of the quadriceps, even in advanced stages of the disease. This pattern, when recognised in a patient, is probably diagnostic and can be visualised by muscle imaging, which will also help differential diagnosis and selecting the biopsy site (see Diagnosis section). However, the unique pattern of involvement becomes evident only after the proximal leg musculature becomes affected. It is of note that about 5%⁵ of patients may have marked early quadriceps involvement making diagnosis more difficult. The pattern of muscle weakness in the upper limbs is more variable and can include scapular weakness (mimicking scapulo-peroneal syndrome) or distal weakness of the hands with varying degrees of involvement. There are patients with onset in proximal leg muscles only mimicking an unusual pattern of limb girdle muscular dystrophy⁶; such onset may delay diagnosis, but in retrospect, clinical and imaging features show that the posterior thigh muscles become markedly affected while the quadriceps is spared.

Cardiac involvement is not a classical feature of GNE myopathy. However, some patients with histological or electrophysiological evidence for heart disease have been reported.⁷ Although its association with GNE myopathy needs to be further defined, ECG may need to be performed every few years. Respiratory muscles are usually

To cite: Nishino I, Carrillo-Carrasco N, Argov Z. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* Published Online First: [please include Day Month Year] doi:10.1136/jnnp-2013-307051