

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<sup>1)</sup>

共同研究者：野口 悟<sup>1)</sup>

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、 $218.7 \pm 121.0$  pmol/ul であった。タンパク質含量での補正值は、 $137.3 \pm 49.7$  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  $218.7 \pm 121.0$  pmol/ul のエラー率 0.55、タンパク質あたりでは、 $137.3 \pm 49.7$  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、 $396.8 \pm 178.9$  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、唾液中のタンパク質含量の変化によるシアル酸合成量が気にかかるところである。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]

該当なし

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

## 3. その他

該当なし