

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))
総合研究報告書

「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 2 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 3 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 3 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 2 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 3 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 3 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 1 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 2 相試験等の成果を踏まえ実施された海外第 2 相試験の最高用量で第 3 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 3 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 1 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 1 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 1 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 1 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

追加第 1 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 1 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。

第 / 相試験の実施(国際共同第 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 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 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 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 相試験は日本人患者でのPOC試験でもあり、また海外第 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 相試験でなく第 / 相試験の位置づけになると考えた。

薬事戦略相談の指摘に従い生殖毒性試験(ICH-study1)を上記第 / 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 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 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 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 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 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

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 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 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, Mitran-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

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet.* 2013; 58:259-66

Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, Tateyama M, Yaginuma C, Sato H, Hayasak

a M, Sugawara H, Ito M, Abe-Kondo E, Shimakura N, Ibi T, Kuru S, Wakiyama T, Sobue G, Fujii N, Saito T, Matsumura T, Funakawa I, Mukai E, Kawanami T, Morita M, Yamazaki M, Hasegawa T, Shimizu J, Tsuji S, Kuzuhara S, Tanaka H, Yoshioka M, Konno H, Onodera H, Itoyama Y. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84(4):433-40.

Mori-Yoshimura M, Monma K, Suzuki N, Aoki M, Kumamoto T, Tanaka K, Tomimitsu H, Nakano S, Sonoo M, Shimizu J, Sugie K, Nakamura H, Oya Y, Hayashi YK, Malicdan MC, Noguchi S, Murata M, Nishino I. Heterozygous UDP-GlcNAc 2-epimerase and N-acetylmannosamine kinase domain mutations in the GNE gene result in a less severe GNE myopathy phenotype compared to homozygous N-acetylmannosamine kinase domain mutations. *J Neurol Sci.* 2012; 318: 100-5.

Stenzel W, Nishino I, von Moers A, Kadry MA, Glaeser D, Heppner FL, Goebel HH: Juvenile autophagic vacuolar myopathy – a new entity or variant? *Neuropathol Appl Neurobiol.* 39(4): 449-453, Jun, 2013

Mori-Yoshimura M, Okuma A, Oya Y, Fujimura-Kiyono C, Nakajima H, Matsuyama K, Takemura A, Malicdan MC, Hayashi YK, Nonaka I, Murata M, Nishino I: Clinicopathological features of centronuclear myopathy in Japanese populations harboring mutations in dynam 2. *Clin Neurol Neurosurg.* 114(6): 678-683. Jul, 2012.

Ikeda-Sakai Y, Manabe Y, Fujii D, Kono S, Narai H, Omori N, Nishino I, Abe K: Novel Mutations of the GNE Gene in Distal Myopathy with Rimmed Vacuoles Presenting with Very Slow Progression. *Case Rep Neurol.* 4(2): 120-125, May, 2012

Malicdan MC, Noguchi S, Tokutomi T, Goto YI, Nonaka I, Hayashi YK, Nishino I: Peracetylated N-acetylmannosamine, a synthetic sugar molecule, effectively rescues muscle phenotype and biochemical defects in a mouse model of

sialic acid deficient myopathy. J Biol Chem. 287(4): 2689-2705, Jan, 2012

著書

Malicdan MC, Noguchi S, Nishino I: Function and mutations of the GNE gene leading to distal myopathy with rimmed vacuoles/ hereditary inclusion-body myopathy, animal models, and potential treatment. Muscle aging, inclusion-body myositis and myopathies. Askanas V (Editor), Engel WK (Editor), Wiley-Blackwell, New York, NY, USA, pp177-190, Feb, 2012

Argov Z, Nishino I, Nonaka I: GNE myopathy (hereditary inclusion-body myopathy/ distal myopathy with rimmed vacuoles): clinical features and epidemiology. Muscle aging, inclusion-body myositis and myopathies. Askanas V (Editor), Engel WK (Editor), Wiley-Blackwell, New York, NY, USA, pp191-198, Feb, 2012

Nishino I, Malicdan MC, Noguchi S: Sweetening the therapy for distal myopathy with rimmed vacuoles/hereditary inclusion body myopathy. Fifty Years of Neuromuscular Disorder Research after Discovery of Creatine Kinase as a Diagnostic Marker of Muscular Dystrophy: Proceedings of the Hideo Sugita Symposium. 武田伸一 (監修). 医学書院, 東京, pp46-55, 10.5, 2011

総説

Malicdan MC, Nishino I: Autophagy in lysosomal myopathies. Brain Pathol.

22(1): 82-88, Jan, 2012

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. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1. 発明者：野口 悟 ,Malicdan MC, 西野一三

発明の名称：

非ヒト哺乳動物、その作製方法及びそれを用いた筋疾患用治療薬のスクリーニング方法

出願番号：特願第2006-144241号

2. 発明者：野口 悟 ,Malicdan MC, 西野一三

発明の名称：

GNEタンパク質の機能低下に起因する疾患の治療用医薬剤、食品組成物、食品添加物

出願番号：PCT/JP2010/058116

3. 発明者：野口 悟 ,Malicdan MC, 西野一三

発明の名称：タンパク質蓄積性筋疾患を治療するための医薬

出願番号：特願第 2011-042435 号

2. 実用新案登録

なし