

特集：今後の難病対策のあり方について

〈総説〉

筋萎縮性側索硬化症に対する治療法の開発

青木正志

東北大学大学院医学系研究科 神経内科

Development of therapy for amyotrophic lateral sclerosis

Masashi AOKI

Department of Neurology, Tohoku University School of Medicine, Tohoku University Hospital ALS Center

抄録

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は神経・筋疾患のなかでも治療法が極めて乏しく全身の筋萎縮が進行する過酷な疾患であり、神経難病の象徴的疾患とされている。ALSは神経疾患のなかでも最も過酷な疾患とされ、現在治療薬として唯一認可されているリルゾール（リルテック）の効果も限局的であるため、早期に病因の解明と有効な治療法の確立が求められている。家族性ALSにおいてはSOD1やFUS/TLSなどの原因遺伝子が報告され、病態の解明やモデル動物の作成が進められている。わが国では、現在、いずれも我が国の研究者によって開発されたエダラボンおよび大量メチルコバラミンによる治験が行われている。

東北大学神経内科ではALSに対する再生医療の開発のために世界に先駆けて大型のALS動物モデルであるトランスジェニックALSラットの開発に成功し、薬剤の髄腔内投与が可能なモデルとして注目されている。肝細胞増殖因子（HGF）は日本で発見された神経栄養因子であり、運動ニューロンに対する強力な保護作用が知られている。私たちはALSラットモデルに対してリコンビナントHGF蛋白の髄腔内持続投与を行うことにより、明確な治療効果を臨床的かつ病理学的にも確認した。リコンビナントHGF蛋白の髄腔内持続投与がALSの発症期からの投与であっても約63%の罹病期間の延長効果があり、この効果はこれまでに報告されたモデル動物に対する治療実験の中でも最も良い成績である。HGFはわが国発のALS治療薬候補としてスーパー特区（中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区：代表 岡野栄之）にも選定された。

これまでに臨床試験のために霊長類であるマーモセットを用いてHGFの髄腔内投与による副作用を検証すると共に臨床用量の設定を行った。同時にGLP基準でカニクイザルに髄腔内持続投与を行い、安全性（毒性）および薬物動態を確認している。ヒトリコンビナントHGF蛋白によるALS治療は医薬品機構との事前面談が終了し、平成23年度にフェーズ1の治験を開始する方向で準備を進めている。

キーワード：筋萎縮性側索硬化症，ALSラット，肝細胞増殖因子，髄腔内投与

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is an adult onset neurodegenerative disorder characterized by the death of upper and lower motor neurons. Approximately 20% of familial ALS cases are caused by mutations in the superoxide dismutase 1 (SOD1) gene. Mutations in the fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS) gene have recently been discovered to be associated with familial ALS. We found FUS/TLS mutations in familial ALS cases in Japan. Even in Asian races, ALS with FUS/TLS mutations may have the common characteristics of early onset, rapid progress, and high penetrance. Using edaravone and ultrahigh-dose methylcobalamin, clinical studies in ALS patients are underway in Japan.

連絡先：青木正志

〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町1-1

1-1, Seiryomacho, Aoba-ku, Sendai, Miyagi, 980-8574, Japan.

Tel: 022-717-7189

Fax: 022-717-7192

[平成23年4月4日受理]

We developed rats that express a human SOD1 transgene with two different ALS-associated mutations that lead to striking motor neuron degeneration and paralysis. The larger size of this rat model as compared with the ALS mice will facilitate studies involving manipulations of spinal fluid (implantation of intrathecal catheters for chronic therapeutic studies, and CSF sampling) and the spinal cord (e.g., direct administration of viral- and cell-mediated therapies).

Hepatocyte growth factor (HGF) is one of the most potent survival-promoting factors for motor neurons. To examine both its protective effect on motor neurons and its therapeutic potential, we administered human recombinant HGF (hrHGF) by continuous intrathecal delivery to the transgenic rats at the onset of paralysis for 4 weeks. Intrathecal administration of hrHGF attenuates motor neuron degeneration and reduced the duration of the disease by 63%. Our results indicated the therapeutic efficacy of continuous intrathecal administration of hrHGF in ALS rats. These results should prompt further clinical trials in ALS using continuous intrathecal administration of hrHGF.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, transgenic rats, hepatocyte growth factor, intrathecal administration

I. はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は主に中年以降に発症し、上位および下位運動ニューロンを選択的かつ系統的に障害をきたす神経変性疾患である。片側上肢の筋萎縮にはじまり、反対側上肢、両下肢へ筋萎縮が進行して、その間に言語障害、嚥下困難などの球麻痺症状および呼吸筋麻痺が加わる経過をとることが多い。人工呼吸器による呼吸管理を行わないと、発症後2-5年で呼吸不全のために死亡にいたることがほとんどである。呼吸筋をふくめた全身の筋萎縮および脱力にもかかわらず、知能などの高次機能や感覚は全く保たれることが普通であり、ALSは神経疾患のなかで最も過酷な疾患とされる。いわゆる神経難病のなかでも「難病中の難病」といっても過言ではない。加えて、現在治療薬として唯一認可されているリルゾール（リルテック）の効果も限局的であるため、早期に病因の解明と有効な治療法の確立が求められている。

ALSの病態としてはフリーラジカルの関与やグルタミン酸毒性、なかでもグルタミン酸受容体のサブタイプであるAMPA受容体を介したグルタミン酸仮説が有力であり、このAMPA受容体のCa²⁺透過性を亢進させる分子変化が神経細胞死の原因となる可能性が注目されている[1]。AMPA受容体はGluR1-4の4つのサブユニットで構成されるが、このうちCa²⁺透過性を決定するのはGluR2である。ヒトALS運動ニューロンではGluR2 Q/R部位のRNA編集率が低下しており、これは運動ニューロン選択的かつ疾患特異的な変化であり、孤発性ALSの病態に重要な役割をはたしていることが報告された[1]。GluR2 Q/R部位のRNA編集はadenosine deaminase that acts on RNA type 2 (ADAR2)とよばれる酵素によって触媒されることが知られている。このADAR2の酵素活性の調節機構を解明し、運動ニューロン選択的なGluR2 Q/R部位のRNA編集率を回復することが可能になれば、新たな治療法の開発に結びつくことが期待される。

ALS発症者の5-10%は家族性で発症がみられ、家族性

ALSとよばれる。遺伝学的解析法の進歩により、1993年に家族性ALSにおいてその一部の原因遺伝子がCu/Zn superoxide dismutase (SOD1)であることが明らかになった[2,3]。さらにはALS患者で同定されたSOD1遺伝子変異をマウスやラットに導入することにより、ヒトALSの病態を非常によく再現することに成功した[4]。これらのALSモデル動物を利用して、治療法の開発が進んでいる。その後の研究の進歩により新たな家族性ALSの原因遺伝子として、angiogenin, vesicle-associated membrane protein/synaptobrevin-associated membrane protein B (VAPB), TAR DNA-binding protein (TDP43)遺伝子などが報告されている。2009年には新規遺伝子としてfused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)遺伝子が報告された。私たちはSOD1などの既知の遺伝子に異常のない日本人の家族性ALS 40家系においてFUS/TLS遺伝子をスクリーニングしたところ、ALS 5家系に遺伝子変異を同定した[5]。わが国においてはSOD1について2番目に頻度の高い原因遺伝子と考えられている。同遺伝子にR521C変異を持つ宮城県の家系では構成員46人のうち半分にあたる23人が家族性ALSを発症しており浸透率は100%と考えられた。平均35.3歳で筋力低下を発症し、平均死亡年齢は37.2歳であり病期の進行は非常に急速であった。典型例の剖検所見では運動ニューロンの変性のみならず脳幹被蓋部の著明な萎縮を認め、さらに脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体を認めている[5]。さらに2010年5月には広島大学の川上秀史らによって細胞内シグナル伝達に重要な役割を果たすNF-κB (nuclear factor-kappa B)を制御するoptineurin (OPTN)遺伝子が新たな原因遺伝子であることが報告された[6]。このような家系を集積し解析を進めることがALS病態の解明および治療法の開発に寄与すると考えられる。

II. 国内で実施中の治験

1. ALSに対する脳保護薬エダラボン(ラジカット注)治療
ALSの病態にはフリーラジカルによる酸化ストレスの

関与が想定されている。エダラボンはラジカルスカベンジャーであり、過酸化脂質生成抑制作用やヒドロキシラジカル消去作用をもち、脳梗塞急性期における神経細胞保護を目的に広く臨床で用いられている。このエダラボンを ALS 治療へ応用しようという試みが、国立精神神経センター（現、吉野内科・神経内科医院）の吉野 英らにより自主研究として開始された。まず、市販エダラボン製剤 30mg/ 日の 14 日間投与を 2 週間毎に行うオープン臨床試験では投与開始後 6 ヶ月の時点で、投与前と比較して ALS 機能障害度（Revised ALS Functional Rating Scale: ALSFRS-R）の悪化率の抑制が認められた。髄液中の酸化ストレスのマーカーとして知られている 3-nitrotyrosine の低下も確認された [7,8]。さらには 8 週間の短期間ではあるが、プラセボとの 2 重盲検比較試験を行ったところ、重症度が軽度の患者（ALS 重症度分類における重症度 1 および 2）における有効性が確認された [9]。これとは別に三菱ウェルファーマ社（現、田辺三菱製薬）による第 II 相試験が実施され、60mg/ 日投与群において、投与前の観察期間と比較して ALS 機能障害度（ALSFRS-R）の進行抑制および呼吸機能（%FVC）の低下抑制が示唆された [10]。いずれの試験においても安全性には問題がなかった。またこれらの臨床試験による有効性は ALS モデル動物への投与によっても支持された [11,12]。

これらの結果を受けて、平成 18 年度から田辺三菱製薬社により「筋萎縮性側索硬化症を対象とした MCI-186 の二重盲検並行群間比較法による検証的試験（第 III 相試験）」が行われ、計画通りに終了した。この二重盲検試験の結果は医薬品医療機器総合機構と相談中である。

2. ALS に対する大量メチルコバラミン療法

前述のように ALS における運動ニューロンの細胞死はグルタミン酸の関与が想定されている。現在唯一認可されているグルタミン酸拮抗薬であるリルゾール（リルテック）が ALS に対して効果を有することもこの仮説を支持している。ビタミン B₁₂ 類縁体であるメチルコバラミンの大量療法はこのグルタミン酸毒性の軽減作用が知られている。徳島大学神経内科の梶 龍児、和泉唯信らは、まずランダム化二重盲検によりメチルコバラミン 50mg/ 日筋注の大量投与および 0.5g/ 日の少量投与を 14 日連続で行ったところ、大量投与群では徒手筋力テストで有効な傾向を示した [13,14]。さらに、オープン非ランダム化対照試験として大量投与群（21 名）として 50mg/ 日週 2 回の筋注を長期間継続し、非投与群（19 名）との比較を行ったところ生存曲線に有意な改善を認めている [15]。いずれの試験においても重篤な副作用は認めていない。これらの結果を受けて、厚生労働省「神経変性疾患に関する調査研究」班（主任研究者 中野今治）の班員施設を中心に多施設共同、プラセボ対照二重盲検比較試験であるエーザイ社による「E0302 の筋萎縮性側索硬化症に対する臨床第 II/III 相試験」が開始され、現在進行中である。

Ⅲ. 今後国内で計画されている治験

ALS に対する肝細胞増殖因子 HGF 髄腔内投与療法

肝細胞増殖因子（Hepatocyte growth factor: HGF）は、わが国の中村敏一らによってクローニングされた新しい増殖因子である。HGF は海馬、大脳皮質、運動、感覚、小脳顆粒細胞などの神経細胞に対しても神経栄養因子として作用することが明らかになったが、なかでも HGF の培養運動ニューロンに対する神経生存促進活性は非常に強力である。その活性は既知の運動神経栄養因子の中でも強力とされ ALS に対する治験が行われたグリア細胞由来神経栄養因子(GDNF)や脳由来神経栄養因子(BDNF)に全くひけをとらないとされる。さらに大阪大学（現、旭川医科大学）の船越 洋らは遺伝子工学的に導入された HGF の ALS マウスにおける有効性を示し、ALS の新しい治療薬として注目されている [16]。

ALS に対する治療法の開発のために、東北大学神経内科ではトランスジェニックラットによる ALS モデルの開発に成功した [4]。このラットは従来のマウスに比較して約 20 倍の大きさをもち、脊髄や脊髄腔に対するアプローチが容易である [17,18]。この ALS ラットに対して浸透圧ポンプを用いてヒト型リコンビナント HGF 蛋白の脊髄腔内への持続投与を行ったところ（図 1）、発症期からの投与開始でも罹病期間の有意な延長を認めた（図 2） [19]。

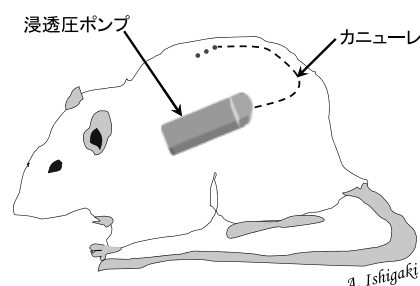


図 1 ALS ラットに対する HGF の髄腔内継続投与

腰椎レベルから脊髄くも膜下腔にカニューレを留置し、浸透圧ポンプを用いることにより神経栄養因子の持続投与が可能である。

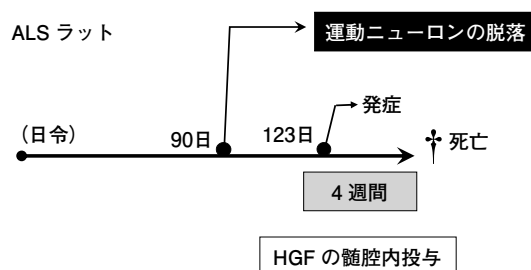


図 2 ALS ラットに対する発症直前からの HGF の髄腔内投与

G93A 変異を持つトランスジェニックラットの発症期からヒト型リコンビナント HGF 蛋白の持続投与を 4 週間行った。

図3はHGF投与群および対照群の経過を示す。平均発症はHGF投与群が 126.8 ± 13.1 日、対照群が 126.3 ± 13.8 日($p=0.6346$)と有意差は認めない。一方で平均死亡はHGF投与群が 154.3 ± 16.4 日、対照群が 143.25 ± 17.0 日($p=0.0135$)とHGF投与群が対照群より有意に遅延している。発症から死亡までの平均罹病期間が、HGF投与群が 27.5 ± 11.1 日間、対照群が 16.9 ± 8.17 日間と、HGF投与群では対照群の62.7%の増大を示し、発症期からの投与によってもHGFがALSラットの罹病期間を大幅に延長させ、ALS病態の進行を遅らせることが示された[19]。この効果はこれまでに報告されたモデル動物に対する治療実験の中でも最も良い成績である。

HGFはわが国発のALS治療薬候補としてスーパー特区(中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区：代表岡野栄之)にも選定され(図4)、この研究成果を臨床応用するために大阪大学発のバイオベンチャー企業であるクリングルファーマ社によってGMP基準を満たすヒト型リコンビナントHGFの生産が開始された。慶応大学との共同研究で霊長類を用いてHGFの髄腔内投与の安全性を確認するとともに臨床用量の設定の実験を行った[20]。この結果を受け東北大学のトランスレーショナルリサーチセンター(未来医工学治療開発センター)ではデータマネジメント体制を含めた臨床試験の準備を進めている。医薬品医療機器総合機構との安全性相談および事前面談も終了し、平成23年春の治験届け(第I相試験)の提出を目指し、治験を行うための実施計画書(プロトコル)を作成している(図5)。

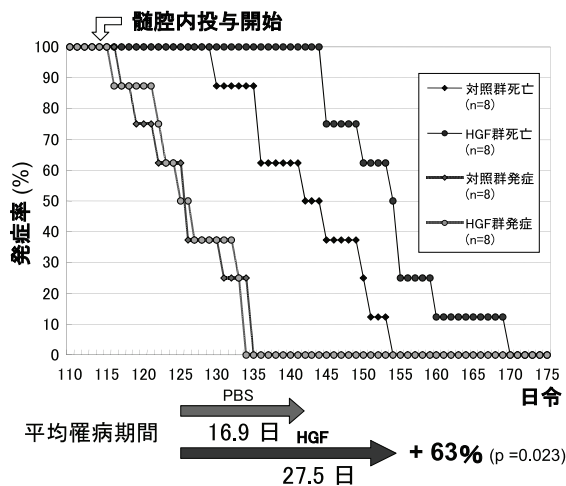


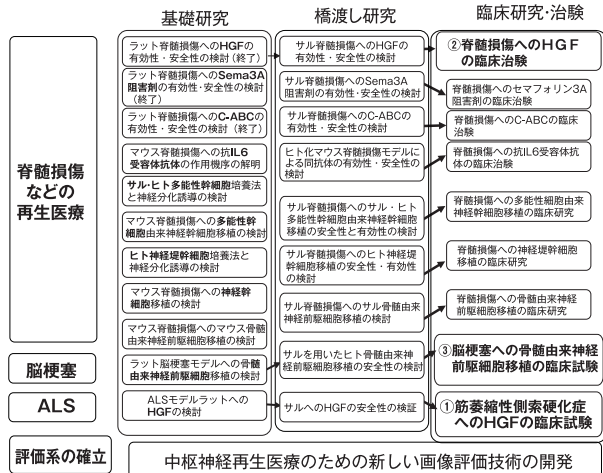
図3 発症期のHGF投与によるALS進行抑制効果(文献19)

赤線はヒト型リコンビナントHGF蛋白投与群、青線は生理食塩水(PBS)投与(対照)群を示す。発症から死亡までの平均罹病期間が、HGF投与群では対照群の62.7%の増大を示し、発症期の投与によってもHGFがALSラットの罹病期間を大幅に延長させることが示された。

中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区(スーパー特区)

成果実現に向けたロードマップ

代表 岡野栄之(慶応義塾大学生理学)



本事業では次の課題の①、②、③の順で先導的に進める。

図4 中枢神経の再生医療のための先端医療開発特区(スーパー特区)

本スーパー特区は、我が国で開発された薬剤や発見された細胞を用いた多くの基礎研究をさらに加速し、我が国発の脊髄損傷やALSの再生医療を実現することを目標としている。HGFはわが国発のALS治療薬候補として特区の中でも最先導課題となった(①)。

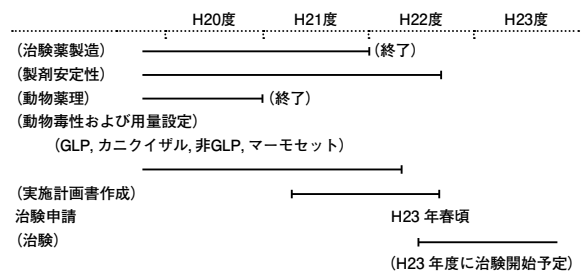


図5 ヒト組み換えHGF蛋白質製剤の開発スケジュール

カニクイザルに対してGLP基準(Good Laboratory Practice薬事法によるデータの信頼性を確保するための実施基準)に従ったヒト型リコンビナントHGF蛋白髄腔内持続投与の安全性試験(赤字)を終了し、現在、治験届けを提出するために実施計画書(プロトコル)の作成を行っている。

Ⅳ. コメント

ALSをはじめとする神経変性疾患では、わが国の患者における自然歴を前向きに調査したデータが皆無であり、今後限られた患者数のなかで有効な臨床治験をデザインしていくうえで非常に重要な課題である[21]。この問題の解決を目的の一つとしたALS患者の自然歴調査が厚生労働省「神経変性疾患に関する調査研究」班(主任研究者 中野今治)を中心として開始された(JaCALS <http://www.jacals.jp/>, 事務局は名古屋大学神経内科)。2011年3月現在で登録症例はALS 536例、対照186例となっている。今後はこの自然歴調査と臨床治験が同時並行で進行していくことが想定されるが、疾患頻度の低い神経変性疾患では、観察研究と臨床治験が上手に情報を共有しながら進んでいくことが、質の高いアウトカムを得るうえで重要と考えられる。

文献

- [1] Kawahara Y, Ito K, Sun H, Aizawa H, Kanazawa I, Kwak S. Glutamate receptors: RNA editing and death of motor neurons. *Nature*. 2004;427:801.
- [2] Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*. 1993;362:59-62.
- [3] Aoki M, Ogasawara M, Matsubara Y, Narisawa K, Nakamura S, Itoyama Y, et al. Mild ALS in Japan associated with novel SOD mutation [published erratum appears in *Nature Genet*. 1994; 6: 225]. *Nature Genet*. 1993;5:323-4.
- [4] Nagai M, Aoki M, Miyoshi I, Kato M, Pasinelli P, Kasai N, et al. Rats expressing human cytosolic copper-zinc superoxide dismutase transgenes with amyotrophic lateral sclerosis: associated mutations develop motor neuron disease. *J Neurosci*. 2001;21:9246-54.
- [5] Suzuki N, Aoki M, Warita H, Kato M, Mizuno H, Shimakura N, et al. FALS with FUS mutation in Japan with early onset, rapid progress and basophilic inclusion. *J Hum Genet*. 2010;55:252-4.
- [6] Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, et al. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*. 2010;465:223-6.
- [7] 吉野英. ALSに対するエダラボンをを用いたオープン試験. 厚生労働科学研究費補助金特定疾患対策研究事業「筋萎縮性側索硬化症の病因・病態に関わる新規治療法の開発に関する研究」(主任研究者: 糸山泰人) 平成 14 年度研究報告書. 2003. p.33-4.
- [8] 吉野英, 木村暁生. 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に対する edaravone をを用いた臨床試験. *神経治療学*. 2003;20:557-64.
- [9] 吉野英. 筋萎縮性側索硬化症に対するフリーラジカルスカベンジャー, エダラボンをを用いた二重盲検試験. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「筋萎縮性側索硬化症の病因・病態に関わる新規治療法の開発に関する研究」(主任研究者: 糸山泰人) 平成 15 年度研究報告書. 2004. p.41.
- [10] Yoshino H, Kimura A. Investigation of the therapeutic effects of edaravone, a free radical scavenger, on amyotrophic lateral sclerosis (Phase II study). *Amyotroph Lateral Scler*. 2006;7: 241-5.
- [11] Ito H, Wate R, Zhang J, Ohnishi S, Kaneko S, Ito H, et al. Treatment with edaravone, initiated at symptom onset, slows motor decline and decreases SOD1 deposition in ALS mice. *Exp Neurol*. 2008;213:448-55.
- [12] Aoki M, Warita H, Mizuno H, Suzuki N, Yuki S, Itoyama Y. Feasibility study for functional test battery of SOD transgenic rat (H46R) and evaluation of edaravone, a free radical scavenger. *Brain Res*. 2011;1382:321-5.
- [13] Kaji R, Kodama M, Imamura A, et al. Effect of ultrahigh-dose methylcobalamin on compound muscle action potentials in amyotrophic lateral sclerosis: A double-blind controlled study. *Muscle Nerve*. 1998;21:1775-8.
- [14] 梶龍兒, 和泉唯信, 西村公孝ら. ALS に対する大量 methylcobalamin 治療. 厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業「神経変性疾患に関する研究」(主任研究者: 田代邦雄) 平成 13 年度研究報告書. 2002. p.136-8.
- [15] 梶龍兒, 和泉唯信, 西村公孝ら. 筋萎縮性側索硬化症に対する大量メチルコバラミン大量療法の長期効果. 厚生労働科学研究費補助金特定疾患対策研究事業「神経変性疾患に関する調査研究」(主任研究者: 葛原茂樹) 平成 14 年度研究報告書. 2003. p.136-8.
- [16] Sun W, Funakoshi H, Nakamura T. Overexpression of HGF retards disease progression and prolongs life span in a transgenic mouse model of ALS. *J Neurosci*. 2002;22:6537-48.
- [17] Matsumoto A, Okada Y, Nakamichi M, Nakamura M, Toyama Y, Sobue G, et al. Disease progression of human SOD1 (G93A) transgenic ALS model rats. *J Neurosci Res*. 2006;83:119-33.
- [18] Okada Y, Matsumoto A, Shimazaki T, Enoki R, Koizumi A, Ishii S, et al. Spatio-temporal recapitulation of central nervous system development by murine ES Cell-derived neural stem/progenitor cells. *Stem Cells*. 2008;26:3086-98.
- [19] Ishigaki A, Aoki M, Nagai M, Warita H, Kato S, Kato M, et al. Intrathecal delivery of HGF from the ALS onset suppresses disease progression in a rat ALS model. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007;66:1037-44.
- [20] Iwanami A, Yamane J, Katoh H, Nakamura M, Momoshima S, Ishii H, et al. Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: the common marmoset. *J Neurosci Res*. 2005;80:172-81.
- [21] Atsuta N, Watanabe H, Ito M, Tanaka F, Tamakoshi A, Nakano I, et al. Research Committee on the Neurodegenerative Diseases of Japan: Age at onset influences on wide-ranged clinical features of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 2009;276:163-9.