

日本医療研究開発機構
創薬支援推進事業
－希少疾病用医薬品指定前実用化支援事業－
事後評価報告書

公開

機関名 : ノーベルファーマ株式会社
所属 役職 : 代表取締役社長
氏名 : 塩村 仁

(公印不要)

I 基本情報

補助事業課題名 (開発品目名)	デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する NPC-14(アルベカシン硫酸塩)の開発	
	Development of NPC-14 (Arbekacin sulfate) for Duchenne muscular dystrophy	
代表機関名	ノーベルファーマ株式会社	
事業代表者	所属・役職	企画本部 副本部長 兼 開発企画部 プロジェクトマネージャー
	氏名	八木 良樹
研究実施期間	平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日	

II 研究開発の成果概要

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne Muscular Dystrophy、以下 DMD）は、X 染色体短腕（Xp21.2）に局在する 2.4 Mb、79 のエクソンから構成されるジストロフィン遺伝子の伴性劣勢遺伝により、筋形質膜直下に発現するべきジストロフィン蛋白が欠損することを本質原因とする遺伝性筋疾患である。その発現頻度は出生男児 3,500 人に 1 人と筋ジストロフィーの中で最も高い。

ジストロフィン蛋白は、細胞質内アクチンと結合し、細胞膜の糖蛋白とジストロフィン-ジストロフィン関連蛋白複合体を形成することで、細胞外マトリックスのラミニン $\alpha 2$ を通じて基底膜と連結し、筋収縮に対し膜安定化として働くことが知られている。よって、遺伝子異常によりこの筋肉の機能維持に必須なジストロフィン蛋白が欠損した患者は、生誕直後より恒常的に骨格筋及び心筋の変性・壊死が生じ、また、筋線維が再生を経ながら徐々に脂肪組織や結合組織へと置換されていくために進行性に筋力低下を来す。

NPC-14（アルベカシン硫酸塩）は、各種基礎試験成績に基づき、DMD 患者のうち、遺伝子ナンセンス変異を原因とする患者（DMD 患者のうち 19%）の遺伝子に直接作用することで、ジストロフィンの発現回復を図るとの根本的治療を目指し開発が進められた。本事業では、この NPC-14（アルベカシン硫酸塩）の DMD 治療薬としての研究開発を加速するため、以下の課題克服を進めた。

- ・ 感度・精度に優れたジストロフィン蛋白測定法の開発
- ・ 市販規模での治験薬製造法、規格・試験方法の確立、並びに安定性成績取得
- ・ 必要な追加薬効薬理試験の実施

特に、ジストロフィン蛋白測定法は、従来 Western-Blot 及び蛍光免疫染色による方法が用いられてきたが、特異度及び再現性が乏しく、FDA 及び EMA から新たな手法の確立が必須と問題提起されていた状況にあった。従って、研究レベルではなく、医薬品の製造販売承認申請に利用可能な感度及び精度を有し、また、バリデーションされた手法の確立が必須であった。

本事業の 1 年目においては、従来法より高感度で精度が高いと判断された電気化学発光法/ECL 法を含む 2 種のタンパク測定法について精度、真度及び日内・日間変動等の基準を事前に設定した上でバリデーション試験を実施し、手法の確立にいたった。また、NPC-14 はドラッグリポジショニングにより見いだされた薬剤であったことから、本疾患の治療には適した製剤ではないとの問題があったが、本疾患の治療に適切な剤型の開発に至った。

また、2 年目では、治験のジストロフィン蛋白の発現回復成績を評価する上で課題となった蛋白分子種別の発現様式とその発現量についての研究を進め、ジストロフィン蛋白の発現回復に関する最終成績を得るとの成果を得た。

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a severe, progressive muscle degenerative hereditary disease, affecting 1 in 3,500 live male births. There is no curable treatment available for DMD. DMD is caused by an absence of a functional protein called dystrophin due to mutation of dystrophin gene located on the X chromosome short arm (Xp 21.2). Approximately 19% of all DMD patients are caused by a point mutation of gene that generates a nonsense codon leading to premature stop of translation of the dystrophin protein synthesis. The dystrophin protein acts as stabilization against muscle contraction, therefore, the lack dystrophin protein due to genetic abnormality cause constant degeneration or necrosis of skeletal muscle and cardiac muscle.

NPC-14 (Arbekacin sulfate) has the capacity to reduce ribosomal fidelity for recognizing premature termination codon in the transcript and induce ribosomal read-through of premature termination signals that result in the expression of full-length dystrophin.

In this project, to accelerate the development of NPC-14 as a drug for curable treatment of DMD, the following challenges have been overcome.

- Development of dystrophin protein measurement method with excellent sensitivity and accuracy
- Establishment of investigational drug manufacturing method, standards, and test method as well as acquisition of stability results
- Conduct of the necessary additional pharmacological tests

In particular, while Western blotting and fluorescent immunostaining methods have been conventionally used to measure dystrophin proteins, their insufficient specificity and reproducibility have caused FDA and EMA to point out the need to establish a new technique. Therefore, we engaged in this project to establish measurement method that has high sensitivity and precision that can be used for NDA.

In the first year of this project, we established a new dystrophin measurement method by electrochemiluminescence (ECL) that have higher sensitivity and accuracy than conventional method. In addition, we developed suitable dosage form for the treatment of this disease.

In the second year, we studied the expression pattern of protein molecule type of dystrophin, and finally accomplished the data fixation for the dystrophin protein from a clinical trial.