

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：医薬品としての薬事承認申請をめざしたアンチセンス核酸による福山型筋ジストロフィー治療薬探索と非臨床試験
2. 研究開発代表者： 戸田達史 神戸大学大学院医学研究科 教授
3. 研究開発の成果

福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) は、重度の筋ジストロフィーに脳奇形を伴う常染色体劣性遺伝性神経筋疾患である。我が国の小児期筋ジストロフィーの中ではデュシャンヌ型に次いで多く我々の約 90 人に 1 人が保因者である。患児は生涯歩行不能であり、同時に精神発達遅延を伴い、多くは 20 歳以前に死亡する難病である。

我々のグループは FCMD の原因遺伝子の同定に成功、遺伝子産物をフクチンと名付けた (Nature 1998)。FCMD 患者の殆どには、フクチンの 3' 非翻訳領域に約 3kb のレトロトランスポゾンの挿入変異が存在する。我々は FCMD は、患者 *fukutin* のレトロトランスポゾン挿入変異内に存在する潜在的スプライシング受容部位が、*fukutin* の exon 10 の翻訳領域内にある潜在的スプライシング供与部位を活性化することが原因で、exon 10 の翻訳部領域が異常スプライシングを受け、異常フクチン蛋白が産生されることにより発症するという、‘スプライシング異常症’であることを見出した。さらにそれぞれ A3 や E3 や D5 と名付けたアンチセンス核酸をミックスカクテルとして、モデルマウスやヒト患者細胞に投与すると、正常フクチンが回復し、 α -ジストログリカンの糖鎖異常が是正された。これにより、アンチセンス薬剤による FCMD の根本治療への可能性を示した (Nature, 2011)。

しかしながら医薬品とするためには A3 や E3 や D5 の 3 種類のアンチセンス核酸のカクテルであるため、3 種類の薬剤単独とそれぞれの組み合わせ 3 種類と全種混合の合計 7 種類の非臨床試験が必要となる可能性があり、評価が困難かつ莫大な開発費が必要となる。そこで我々は、A3E3D5 の 3 配列のミックスカクテルでなく 1 本のアンチセンス核酸を用いて実際の治療に使用できる様に最適化し、ヒトへの投与試験が実施されているモルフォリノ核酸を使用することで安全性面の危惧を無くすことで、課題を克服した。

本研究では、研究開発として①動物モデルの整備とこれを用いた候補配列の薬効証明、②PMDA による薬事戦略相談、③GLP 原薬製造および GLP 試験を行う。動物モデルを用いた筋肉内への局所投与あるいは 100 mg/kg 程度の静脈内への全身投与において、20%程度のフクチン mRNA およびタンパク質の回復を示し、さらに機能回復につながる α ジストログリカンの糖鎖修飾およびラミン結合能の回復を実証した。膜修復分子ジスフェルリン欠損マウス *sjl/sjl* とフクチンレトロトランスポゾンノックインマウス *Hp/-* を掛け合わせると筋細胞膜脆弱性が現れ、ジストロフィー病変が発現することがわかった。ヒト患者では糖鎖異常が軽症になると表現型も軽症化するため、モデルで糖鎖が軽症化すれば説明可能と考えており、この点に関しては PMDA でも了承を得ている。

PMDA 対面助言の結果、こちらが提案した非臨床パッケージは概ね了承されたが、オフターゲット作用に関する *in vitro* の試験追加を求められた。追加試験で用いる判定基準を適切に設定するため、文献調査と計算機による情報解析の両方を実施した。GLP 原薬合成では、収率最適化およびオリゴマー合成の原料となるモノマー合成は終了している。なお、探索的薬物動態試験の結果、候補配列は、モルフォリノ核酸に一般的な動態を示し、また、非 GLP の安全性試験および安全性薬理試験の結果から、臨床試験での安全性は担保できると考えている。FCMD とよく似た病態を示す *Large^{myd}* マウスを用いた薬物動態試験の結果、標的組織である骨格筋において *Large^{myd}* マウスでは野生型マウスより高い濃度で検出されたことから、候補配列は、FCMD においても高い取り込みと有効性を示すことが期待できる。

【作成上の留意事項】

本報告書は、提出締切り時点（事業年度終了6 1日後）の情報として毎年度当機構ホームページ上に公開されます。知的財産関連の情報（*）、個人情報等公開に適さない内容が含まれていないかご注意ください。

- （1）研究者等は当該報告書を提出した時点で、公表について承諾したものとします。
- （2）当該年度の研究班全体の成果が明らかになるように1600字以内（図表絵等を含めない）で簡潔に記載してください。研究開発期間最終年度の研究班の研究開発代表者は、初年度から最終年度までの全研究開発期間における活動総括概要を作成してください。

4. その他

- （1）日本工業規格A列4番（A4）の用紙を用い、全文を1枚以内でまとめてください。
- （2）文字の大きさは、10～12ポイント程度とします。
- （3）当機構に提出の際はPDF*に変換したファイルを送付してください。

※ PDF (Portable Document Format) とは、米国アドビシステムズ社が開発したドキュメント表示用のファイル形式のことです。ワープロソフト等の印刷可能なソフトウェアで作成されたドキュメントであれば、「Adobe Acrobat」という専用ソフトウェアを使って、原則としてすべて PDF ファイルに変換することができます。PDF に変換されたファイルは、無料で配布されている「Adobe Reader」（インターネットでダウンロードできます）で読むことができます。

（*）公表資料（採択課題名、研究成果報告書）の作成にあたっての注意事項

研究成果の公表により、特許権を取得できない、ノウハウとして秘匿すべき事項（例えば、製造条件の詳細）が第三者に知られる、研究開発において第三者に先を越されるといった事態が起こり得ます。特に、創薬研究については、化合物情報（有効成分）、生物活性情報と治療対象疾患の情報から第三者が容易に研究内容を把握できてしまうため、下記のように、化合物情報と生物活性情報（治療対象疾患）のいずれかを公表しないと工夫をすることが必要です。公表資料に記載する事項については、各研究機関の知財担当者等と相談することをお勧めします。

例1. ある化合物の生物活性が新規である場合

- × 課題名：A B 1 2（名称から化学構造式が明らか）のY Zキナーゼ阻害活性
- 課題名：化合物XのY Zキナーゼ阻害活性
- 公表資料においては、例えば、化合物情報の具体的な開示を避ける。

例2. 標的（Y Zキナーゼ）が抗がん剤のターゲットとして新規である場合

- × 課題名：化合物Xを有効成分とするY Zキナーゼ阻害剤－新規機序による抗がん剤の開発
- 課題名：化合物Xを有効成分とする新規抗がん剤の開発
- 公表資料においては、Y Zキナーゼが抗がん剤の新規ターゲットとなることは、できる限り開示しない。化合物Xの具体的な開示も避ける。