

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業
(英語) Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases
- 研究開発課題名： (日本語) 新規配列連結型核酸医薬品を用いたデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ治療の実用化に関する研究
(英語) Development of exon skipping therapy targeting the hot spot region for Duchenne muscular dystrophy
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 部長 武田 伸一
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Molecular Therapy,
National Institute of Neuroscience,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Director General,
Shin'ichi TAKEDA
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) DMD 患者細胞を用いた薬効・薬理試験、効果的な薬物送達法の開発
開発課題名： (英語) Development of a drug delivery system using DMD derived cells
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 室長 青木 吉嗣
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Molecular Therapy,
National Institute of Neuroscience,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Section Chief,
Yoshitsugu AOKI

分担研究 (日本語) 治験の対象患者の把握とフィージビリティの検討
開発課題名: (英語) Surveillance of potential DMD subject
研究開発分担者 (日本語) 国立精神・神経医療研究センター 同病院
臨床研究推進部 部長 小牧 宏文
所属 役職 氏名: (英語) Department of Clinical Research Support,
National Center Hospital,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Director
Hirofumi KOMAKI

分担研究 (日本語) 薬事関連業務の管理
開発課題名: (英語) Management of regulatory application affairs
研究開発分担者 (日本語) 国立精神・神経医療研究センター
トランスレーショナル・メディカルセンター
臨床研究支援室 室長 中村 治雅
所属 役職 氏名: (英語) Translational Medical Center,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Section Chief,
Harumasa NAKAMURA

分担研究 (日本語) DMD 患者細胞の提供
開発課題名: (英語) Supply of DMD patient derived cells
研究開発分担者 (日本語) 国立精神・神経医療研究センター
メディカル・ゲノムセンター センター長 後藤 雄一
所属 役職 氏名: (英語) Medical Genome Center,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Director General
Yuichi GOTO

分担研究 (日本語) 類薬の開発動向調査
開発課題名: (英語) Survey on the trend of oligonucleotides-based drug development
研究開発分担者 (日本語) 国立精神・神経医療研究センター 同病院 院長 村田 美穂
所属 役職 氏名: (英語) National Center Hospital,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Director General
Miho MURATA

分担研究 (日本語) 骨格筋サンプル評価体制の整備
開発課題名: (英語) Establishment of muscle evaluation system
研究開発分担者 (日本語) 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 部長 西野 一三
所属 役職 氏名: (英語) Department of Neuromuscular Research,
National Institute of Neuroscience,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Director
Ichizo NISHINO

分担研究 (日本語) 治験対象患者レジストリの整備
開発課題名: (英語) Establishment of national registry for Duchenne muscular dystrophy
研究開発分担者 (日本語) 国立精神・神経医療研究センター
トランスレーショナル・メディカルセンター
早期・探索的臨床試験室 室長 木村 円
所属 役職 氏名: (英語) Translational Medical Center,
National Center for Neurology and Psychiatry,
Section Chief,
En KIMURA

分担研究 (日本語) 原薬合成と非臨床試験の実施
開発課題名: (英語) Production of API and nonclinical study
研究開発分担者 (日本語) 日本新薬株式会社 創薬研究所 東部創薬研究所 所長 北川 英俊
所属 役職 氏名: (英語) Nippon Shinyaku Co., Ltd., Discovery Research Laboratories in
Tsukuba
General Manager
Hidetoshi KITAGAWA

分担研究 (日本語) マス・スペクト法を用いたジストロフィンの高度定量化技術の確立
開発課題名: (英語) Targeted Quantification of Dystrophin by Mass Spectrometry
研究開発分担者 (日本語) 東京農工大学 大学院工学研究院生命機能科学部門 准教授 稲田全規
所属 役職 氏名: (英語) Biotechnology and Life Science,
Tokyo University of Agriculture and Technology,
Associate professor
Masaki INADA

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

国立精神・神経医療研究センター(NCNP)と日本新薬(株)は、エクソン・スキップ治療の対象患者を拡大するため、新たなコンセプトで設計された高活性配列連結型核酸医薬品を共同研究中である。NCNPは、本薬について、患者由来細胞を対象に簡便な薬効評価法の確立、ジストロフィンの高度定量化および運動機能評価法の検討などの橋渡し研究を実施する。並行して、NCNPと日本新薬(株)は、臨床試験を見据えた開発計画を策定し、必要な非臨床試験を行い、臨床試験への移行を目指す。

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an incurable, X-linked progressive muscle degenerative disorder that results from the absence of dystrophin protein. Very recently, we have demonstrated successful dystrophin production in muscles of patients with DMD after treating with exon 53 skipping antisense oligonucleotides (ASOs). However, a weakness of the current ASO-based approach is that it is mutation-specific. To address this, we have newly designed ASOs, which are theoretically applicable to more number of patients with deletion mutations. Here we are now conducting a series of preclinical testing of the ASO drug to develop a highly efficient single exon skipping therapy targeting a hot spot region for DMD.

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者： _____ 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 5 件、国際誌 13 件）

1. Aoki Y, Manzano R, Lee Y, Dafinca R, Aoki M, Douglas AG, Varela MA1 Sathyaprakash C, Scaber J, Barbagallo P, Vader P, Mäger I, Ezzat K, Turner MR, Ito N, Gasco S, Ohbayashi N, El Andaloussi S, Takeda S, Fukuda M, Talbot K, Wood MJ: C9orf72 and RAB7L1 regulate vesicle trafficking in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. Brain. 2017 Feb 23.
2. Maruyama R, Echigoya Y, Caluseriu O, Aoki Y, Takeda S, Yokota T: Systemic Delivery of Morpholinos to Skip Multiple Exons in a Dog Model of Duchenne Muscular Dystrophy. Methods Mol Biol. 1565: 201-213, 2017
3. Suzuki H, Aoki Y, Kameyama T, Saito T, Masuda S, Tanihata J, Nagata T, Mayeda A, Takeda S, Tsukahara T: Endogenous Multiple Exon Skipping and Back-Splicing at the DMD Mutation Hotspot. Int J Mol Sci. 17: E1722, 2016
4. Nakamura A, Fueki N, Shiba N, Motoki H, Miyazaki D, Nishizawa H, Echigoya Y, Yokota T, Aoki Y, Takeda S: Deletion of exons 3-9 encompassing a mutational hot spot in

- the DMD gene presents an asymptomatic phenotype, indicating a target region for multiexon skipping therapy. *J Hum Genet.* 61: 663-667, 2016
5. Miskew Nichols B, Aoki Y, Kuraoka M, Lee JJ, Takeda S, Yokota T: Multi-exon Skipping Using Cocktail Antisense Oligonucleotides in the Canine X-linked Muscular Dystrophy. *J Vis Exp.* 24: 111, 2016
 6. 青木吉嗣, 武田伸一: Duchenne 型筋ジストロフィーとエクソン・スキップ治療. EBM に基づく脳神経疾患の基本治療指針 第4版. 編集 田村晃, 松谷雅生, 清水輝夫, 辻貞俊, 塩川芳昭, 成田善孝, 株式会社メディカルビュー社, 東京, pp688-694, 2016
 7. 宮武正太, 青木吉嗣, 武田伸一: デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソンスキップ治療 —有効性と安全性を併せもつモルフォリノ核酸の開発に向けて. *実験医学*, 羊土社, 東京, 34: 19, 3151-3158, 2016
 8. 青木吉嗣, 武田伸一: Duchenne 型筋ジストロフィーに対するエクソン 51 および 53 スキップ薬開発の現状. *週刊医学のあゆみ*, 259: 5-10, 2016
 9. Miyatake S, Shimizu-Motohashi Y, Takeda S, Aoki Y: Anti-inflammatory drugs for Duchenne muscular dystrophy: focus on skeletal muscle-releasing factors. *Drug Des Devel Ther.* 10: 2745-2758, 2016
 10. Shimizu-Motohashi Y, Miyatake S, Komaki H, Takeda S, Aoki Y: Recent advances in innovative therapeutic approaches for Duchenne muscular dystrophy: from discovery to clinical trials. *Am J Transl Res.* 8: 2471-2489, 2016
 11. Fujita H, Gomori A, Fujioka Y, Kataoka Y, Tanaka K, Hashimoto A, Suzuki T, Ito K, Haruma T, Yamamoto-Yokoi H, Harada N, Sakuragi M, Oda N, Matsuo K, Inada M, Yonekura K: High potency VEGFRs/MET/FMS triple blockade by TAS-115 concomitantly suppresses tumor progression and bone destruction in tumor-induced bone disease model with lung carcinoma cells. *PLOS ONE.* 2016, 11(10) e0164830. DOI:10.1371/journal.pone.0164830.
 12. Tominari T, Matsumoto C, Watanabe K, Hirata M, Grundler FM, Inada M, Miyaura C: Lutein, a carotenoid, suppresses osteoclastic bone resorption and stimulates bone formation in cultures. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2017, 81(2), 302-306.
 13. Takeda H, Tominari T, Ichimaru R, Matsumoto C, Watanabe K, Hirata M, Inada M, Miyaura C: Lutein, a carotenoid, inhibits lipopolysaccharide-induced alveolar bone loss associated with inflammation in a mouse model of periodontitis. *Curr. Topics in Biochem. Res.* 2017, 17, 71-76
 14. Takeda H, Tominari T, Hirata M, Watanabe K, Matsumoto C, Grundler FM, Inada M, Miyaura C: Lutein enhances bone mass by stimulating bone formation and suppressing bone resorption in growing mice. *Bio. Pharm. Bull.* 2017, In Press
 15. Shimizu R, Ogata K, Tamaura A, Kimura E, Ohata M, Takeshita E, Nakamura H, Takeda S, Komaki H. Clinical trial network for the promotion of clinical research for rare diseases in Japan: muscular dystrophy clinical trial network. *BMC Health Serv Res.* 2016, 16, 241.

16. Takeuchi F, Komaki H, Nakamura H, Yonemoto N, Kashiwabara K, Kimura E, Takeda S. Trends in steroid therapy for Duchenne muscular dystrophy in Japan. Muscle Nerve. 2016, 54, 4, 673-80.
17. 中村治雅. ウルトラオーファンドラッグの開発戦略. PHARMSTAGE 2016, 9, 11-13.
18. 中村治雅. 臨床研究ネットワーク-希少疾患、筋ジストロフィーの医薬品開発に向けての基盤整備- CLINICAL NEUROSCIENCE 2016, 34, 363-364.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 青木吉嗣: Duchenne 型筋ジストロフィーに対する RNA 治療薬開発の現状と課題. 第 2 回日本筋学会学術集会, 東京, 8.6, 2016
2. Kuraoka M, Kimura E, Nagata T, Okada T, Aoki Y, Tachimori H, Yonemoto N, Imamura M, Takeda S: Serum osteopontin in dystrophic dogs is elevated during muscled regeneration. 45th European Muscle Conference, Montpellier France, 9.5, 2016
3. Tanihata J, Nagata T, Ito N, Saito T, Nakamura A, Minamisawa S, Aoki Y, Takeda S: Cytosolic Ca²⁺ dynamics through the SR is associated with pathology of muscular dystrophy. Molecular Mechanisms Modulating Skeletal Muscle, Development and Homeostasis in Health and Disease Society for Muscle Biology Frontiers in Myogenesis, Pacific Grove, USA, 6.7, 2016
4. 青木吉嗣, 武田伸一: デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するアンチセンス核酸医薬品開発の試み. 第 2 回 Neo Vitamin D Workshop 学術集会, 東京, 8.26, 2016
5. 倉岡睦季, 木村円, 永田哲也, 岡田尚巳, 青木吉嗣, 立森久照, 米本直裕, 今村道博, 武田伸一: イヌ筋ジストロフィーモデルにおける血清オステオポンチン-筋再生マーカーとしての可能性の提唱. 第 2 回日本筋学会学術集会, 東京, 8.5, 2016
6. 谷端淳, 永田哲也, 伊藤尚基, 齊藤崇, 青木吉嗣, 中村昭則, 南沢享, Ruegg UT, 武田伸一: Sarcolipin deletion ameliorates the dystrophic phenotype of mdx mic by increasing SERCA activity. 第 2 回日本筋学会学術集会, 東京, 8.5, 2016
7. 倉岡睦季, 木村円, 永田哲也, 岡田尚巳, 青木吉嗣, 立森久照, 米本直裕, 今村道博, 武田伸一: 筋ジストロフィー病態における血清オステオポンチンの解析-筋再生マーカーとしての可能性の提唱. 第 37 回日本炎症・再生医学会, 京都, 6.17, 2016
8. 青木吉嗣: 特別企画 AMED 後援 核酸医薬の創出に向けた産官学連携シンポジウム - 核酸化学の希少・難治性疾患への応用-. パネルディスカッション, 日本核酸医薬学会 第 2 回年会, 東京, 11.17, 2016
9. 谷端淳, 永田哲也, 伊藤尚基, 齊藤崇, 中村昭則, 南沢享, 青木吉嗣, 武田伸一: 筋ジストロフィー病態における細胞内 Ca²⁺動態の解明と新たな治療法の開発. 第 5 回骨格筋生物学研究会, 東京, 3.5, 2017
10. 倉岡睦季, 笠原優子, 立森久照, 木村円, 青木吉嗣, 加藤直広, 武田伸一: 加速度・角速度センサを用いたイヌ筋ジストロフィーモデルの運動機能評価および筋傷害との関連解析. 第 38 回国立精神・神経医療研究センター神経研究所 研究所発表会, 東京, 2.28, 2017

11. 宮武正太, 溝部吉高, 滝澤歩武, 原裕子, 武田伸一, 青木吉嗣: 筋収縮によるスカベンジャー受容体クラス A1 を介したモルフォリノ核酸取り込み分子機構の解明. 第 38 回国立精神・神経医療研究センター神経研究所 研究所発表会, 東京, 2. 28, 2017
12. 谷端淳, 永田哲也, 伊藤尚基, 齊藤崇, 中村昭則, 南沢享, 青木吉嗣, 武田伸一: 筋ジストロフィー病態における細胞内 Ca²⁺動態の解明と新たな治療法の開発. 第 38 回国立精神・神経医療研究センター神経研究所 研究所発表会, 東京, 2. 28, 2017
13. 宮武正太, 溝部吉高, 滝澤歩武, 原裕子, 武田伸一, 青木吉嗣: 筋収縮によるスカベンジャー受容体クラス A を介したモルフォリノ核酸取り込み分子機構の解明. 第 11 回筋ジストロフィー治療研究会, 宮城, 10. 29, 2016
14. 青木吉嗣, 武田伸一: エクソンスキッピング・核酸医薬の研究開発の状況と今後の展望. 第 15 期バイオフィナンスギルド第 3 回セミナー「核酸医薬の離陸は本当か?」, 東京, 10. 26, 2016
15. 青木吉嗣, 武田伸一: 筋ジストロフィーの遺伝子治療法開発. 早稲田大学大学生・大学院生対象, 国立精神・神経医療研究センター神経研究所早稲田大学連携大学院オープンキャンパス, 神経研で研究してみませんか? 東京, 8. 8-9, 2016
16. 青木吉嗣: デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ治療法開発の現状と課題. 国立国際医療研究センター先進医療開発部門セミナー (医学研究セミナー/NCGM 病院-研究所連絡会), 東京, 10. 25, 2016
17. 青木吉嗣: NCNP における橋渡し研究の現状. 筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ治療法開発, 第 12 回神経内科短期臨床研修セミナー, 東京, 7. 19, 2016
18. 武田伸一, 倉岡睦季, 笠原優子, 立森久照, 木村 円, 青木吉嗣, 加藤直広: 加速度・角速度センサを用いたイヌ筋ジストロフィーモデルの運動機能評価および筋傷害との関連解析. 国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費 28-6 「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」 (主任研究者: 武田伸一) 平成 28 年度班会議, 東京, 12. 8, 2016
19. 青木吉嗣, 宮武正太, Matthew JA Wood, Samir El-Andaloussi, 横田俊文, 武田伸一: エクソン・スキップ治療の効果向上を目的とした、骨格筋・心筋への核酸取り込み機序の解明 - Phosphorothioate inclusion in antisense oligonucleotides influences cellular uptake, intracellular distribution and displays differential activity depending on RNA target -. 国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費 28-6 「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」 (主任研究者: 武田伸一) 平成 28 年度班会議, 東京, 12. 7, 2016
20. 武田伸一, 谷端淳, 永田哲也, 伊藤尚基, 齊藤崇, 中村昭則, 南沢享, 青木吉嗣: 筋ジストロフィー病態における細胞内 Ca²⁺動態の解明と新たな治療法の開発. 国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費 28-6 「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」 (主任研究者: 武田伸一) 平成 28 年度班会議, 東京, 12. 7, 2016
21. 前立腺癌の骨転移におけるプロスタグランジン E2 の関与, 口頭, 稲田全規, 第 19 回癌と骨病変研究会, 2016/11/11, 国内.

22. 生体イメージングによる筋萎縮・骨粗鬆症の発症機構解析, 口頭, 富成司, 渡辺健太, 青木吉嗣, 武田伸一, 宮浦千里, 稲田全規, 精神・神経疾患研究開発費「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした 筋ジストロフィーの新しい治療法開発」班 班会議, 2016/12/7, 国内.
23. クリニカルイノベーションネットワークの取り組み, 口頭, 中村治雅, 第8回日本臨床試験学会シンポジウム1, 2017/1/27, 国内.
24. 神経難病治療薬の創薬への取り組みーレジストリの発展、ネットワークとの連携, 口頭, 中村治雅, 第37回日本臨床薬理学会学術総会 シンポジウム28, 2016/12/6, 国内
25. 臨床研究に関する法制化及び個人情報保護法案改正について, 口頭, 中村治雅, 第34回日本神経治療学会総会特別企画1, 2016/11/2, 国内.
26. Clinical Innovation Network, New strategy to improve the environment of the clinical development, poster, H Nakamura, S Takeda, ASENT 19th Annual Meeting, 2017/3/3, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 青木吉嗣: 最新の治療について. 第13回筋ジストロフィー市民公開講座, 東京, 7.2, 2016
2. 青木吉嗣: 治験報告. 一般社団法人日本筋ジストロフィー協会 第53回全国大会, 東京, 5.21, 2016
3. 現場の最前線から 研究の”基盤を作る”の現場から, 中村治雅, Rare Disease Day 2017(RDD2017) 「世界希少・難治性疾患の日」イベント, 2017/2/28, 国内.
4. 武田伸一, 中村治雅: 希少疾患の取り組みが臨床開発にイノベーションを引きこす. 第3回NCNPメディア塾 脳とこころの問題と社会のあり方を考える, 東京, 8.26, 2016
5. 武田伸一: 認知症にどのように対抗したら良いか! 第31回 日比谷会計・監査研究会, 東京, 9.7, 2016
6. 武田伸一: 医薬品開発からみたクリニカル・イノベーション・ネットワークの必要性について. 内閣官房 健康・医療戦略室勉強会, 内閣官房 健康・医療戦略室, 6.16, 2016
7. 武田伸一: NCNPにおける研究の概況説明. 内閣総理大臣補佐官 NCNP 視察, 東京, 9.28, 2016

(4) 特許出願

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業
(英語) Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases
- 研究開発課題名： (日本語) 新規配列連結型核酸医薬品を用いたデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ治療の実用化に関する研究
(英語) Development of exon skipping therapy targeting the hot spot region for Duchenne muscular dystrophy
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所
遺伝子疾患治療研究部 部長 武田 伸一
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Molecular Therapy, National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Director General,
Shin' ichi Takeda
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 原薬合成と非臨床試験の実施
開発課題名： (英語) Production of API and nonclinical study
- 研究開発分担者 (日本語) 日本新薬株式会社 東部創薬研究所 所長 北川英俊
所属 役職 氏名： (英語) Nippon Shinyaku Co., Ltd., Discovery Research Laboratories in
Tsukuba, General Manager, Hidetoshi Kitagawa

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 部長 武田 伸一 総括研究報告を参照。

Ⅲ. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）
なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし
- (4) 特許出願
なし