

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17060

研究課題名（和文）球脊髄性筋萎縮症におけるイオンチャンネルを標的とした病態解明と革新的治療法の開発

研究課題名（英文）Pathophysiology and development of symptomatic therapy for cold paresis in spinal and bulbar muscular atrophy

研究代表者

山田 晋一郎（Yamada, Shinichiro）

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60828375

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、球脊髄性筋萎縮症（SBMA）患者の寒冷下における運動障害の病態生理を解明し、本疾患患者の運動障害に寄与する薬剤を見出すことである。寒冷麻痺に関連するイオンチャンネルの発現をRT-PCRおよびウエスタンブロットで解析した結果、SBMA患者の骨格筋ではClチャンネルのmRNAおよび蛋白質の両者が低下していた。Clチャンネルの発現・機能低下はNa電流異常を惹起するため、Naチャンネルブロッカーであるメキシレチン塩酸塩及びプラセボを投与する多施設共同ランダム化二重盲検クロスオーバー比較試験を特定臨床研究として実施し、メキシレチン投与時に全般的運動機能が改善する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、球脊髄性筋萎縮症（SBMA）患者の運動障害の病態生理が明らかとなり、本疾患患者の運動障害に寄与する可能性のある薬剤が見出された。本研究は臨床データに基づき候補薬剤の探索を行い、臨床試験に繋げるいわゆるリバーストランスレーショナルリサーチであり、この手法は神経変性疾患を含む多くの難病に応用可能である。さらに、標的とする麻痺やミオトニアはSBMA以外の神経筋疾患でもしばしば認められる症状であり、本研究開発は他の疾患への波及効果も大きいと予想される。疾患修飾療法と対症療法を両輪で開発することは、今後の神経変性疾患に対する治療法開発のモデルとなることも期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to elucidate the pathophysiology of myotonia-like motor dysfunction, we performed basic research to investigate the levels of protein and mRNA of ion channel in the skeletal muscle of SBMA patient. Western blotting and RT-PCR analyses revealed that the protein and mRNA levels of a chloride channel CLCN1 were significantly decreased in the skeletal muscle of patients with SBMA. Therefore, we hypothesized that myotonia-like symptoms are caused by muscle membrane hyperexcitability due to reduction of the resting chloride conductance leads to excessive sodium current in skeletal muscle. Based on these clinical and basic studies, we carried out a placebo-controlled, randomized, double-blind, multicenter, crossover clinical study to explore the efficacy and safety of mexiletine hydrochloride in SBMA patients. The results showed that the change in ALSFRS-R and quantitative muscle strength improved in the mexiletine group.

研究分野：神経筋疾患

キーワード：球脊髄性筋萎縮症 Clチャンネル メキシレチン塩酸塩 リバーストランスレーショナルリサーチ イオンチャンネル

1. 研究開始当初の背景

球脊髄性筋萎縮症 (spinal and bulbar muscular atrophy, SBMA) は、球麻痺および四肢筋力低下を主症状とする、成人発症の緩徐進行性神経変性疾患である。X 染色体上に存在するアンドロゲン受容体 (androgen receptor, AR) 遺伝子における CAG 繰り返し塩基配列の異常伸長を病因とし、神経細胞核内で変異 AR 蛋白質が凝集し、イオンチャネルを含むさまざまな遺伝子の転写障害を惹起する。変異 AR 蛋白質の凝集を抑制する抗アンドロゲン療法 (リュープロレリン酢酸塩) の SBMA に対する効力が承認され、臨床で広く使用されるに至ったが、これまでの臨床試験では筋力低下を改善する効果は認められておらず、患者の ADL を向上させるには新たな治療法の開発が必要である。しかし、変異 AR がどのように神経・筋の変性を起こすのかについてはほとんど明らかになっておらず、その病態機序を解明することが、SBMA の病態や治療を考える上で必須と考えられる。

寒冷麻痺 (cold paresis) は寒冷環境下で著しい筋力低下を生じる現象で、主として先天性パラミオトニアや筋強直性ジストロフィーなど、ミオトニアを呈する筋疾患で高率にみられることが知られており、その病態は骨格筋における Na チャネルの機能亢進もしくは Cl チャネルの機能低下による Na 電流異常 (不活化遅延) である。SBMA では、患者のほとんどが寒冷麻痺を自覚しており、日常生活の大きな妨げとなっている。また、SBMA ではミオトニア症状も高率に認められることから、Na チャネルや Cl チャネルの異常が SBMA における運動障害の病態に寄与していることが想定されている。

2. 研究の目的

- (1) 本研究では、寒冷による運動機能の悪化に関連すると報告されている Na チャネルおよび Cl チャネルの発現について、SBMA のモデルマウスおよび患者の筋組織を用いた蛋白質、mRNA レベルの解析を実施することで、SBMA 患者の寒冷下における運動障害の病態生理を解明する。
- (2) 生化学的研究を通じて明らかになった疾病の分子メカニズムと多数の患者レジストリから得た神経症状のバイオマーカーを基盤とした臨床試験を行うことにより、これまで実現しえなかったヒトの病態に即した新規治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 細胞膜の過興奮性に関連する Na チャネルや静止膜電位の恒常性を保つ Cl チャネルの発現について、SBMA のモデルマウスならびに患者の筋組織を用い、ウエスタンブロッティング法やリアルタイム PCR 法などの生化学的手法を用いて本疾患の寒冷麻痺の病態生理を分子生物学的に解明する。
- (2) 研究代表者が中心となって被験者登録、検査、観察、評価を行い、先行する治療期間に試験薬を 4 週間投与する。1 週間の休薬期間を設けた後に次に続く治療期間に、他方の試験薬を 4 週間内服し、期間中に所定の検査・観察を行う。主要評価項目は予備的臨床研究から見出した寒冷前後における遠位潜時の差 [投与開始から 4 週間後] とし、被験者は開始時 (0、5 週後)、内服終了時 (4、9 週後) に外来を受診し、所定の検査・観察を行い、有効性、安全性を評価する。副次評価項目として、運動機能検査 [握力、ピンチ力、10 秒テスト、舌圧、Timed Walk Test]、運動機能指標の評価 [日本版 ALSFRS-R、SBMAFRS]、QOL の評価、全身筋量評価 (DXA 法における lean mass) および血液検査などを行い、定量的・定性的に有効性の確認を行う。安全性の評価は、自覚的随伴症状や血液検査および心電図検査における臨床検査値異常変動などの項目を評価する。有効性の主要評価項目の解析集団は、Full Analysis Set と定め、寒冷前後における遠位潜時の差について、混合効果モデルを用いて検証する。治療群、時期効果を固定効果とし、患者を変量効果とする。モデルには時期効果は含めるが、持越し効果は含めないものとする。副次評価項目の解析は、データの性質に応じ、2 検定、対応のない t 検定、Wilcoxon 符号付順位検定を実施する。また、安全性の主要評価項目の解析は、投与開始日以降の有害事象の発現率により、既報告との比較を実施する。

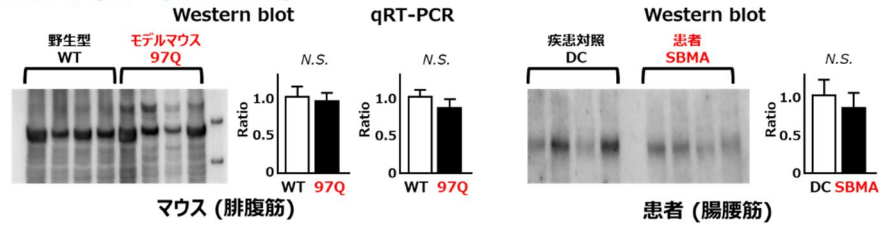
さらに、当院における臨床研究中核病院としての機能を生かし、先端医療・臨床研究支援センターから試験コーディネーター、生物統計家による研究計画のサポート、試験薬の保管・管理、データマネージメント及び統計解析など様々な支援を受け、特定臨床研究を実施する。

4. 研究成果

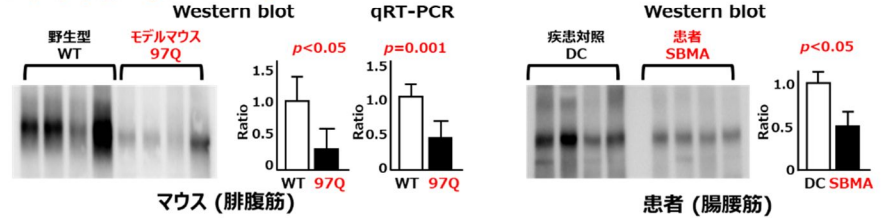
(1) 寒冷による運動機能の悪化やミオトニアの原因として報告されている Na チャネル (SCN4A) および Cl チャネル (CLCN1) の発現を RT-PCR およびウエスタンブロットで解析した結果、SBMA 患者の骨格筋では Cl チャネルの mRNA および蛋白質の両者が低下していることが明らかとなった (図 1)。また、患者における変化が疾患および病態特異的であることを明らかにするために行った SBMA モデルマウスによる検討でも同様の知見を得た。Cl チャネルの発現・機能低下により Na 電流異常が生じることが知られているため、Na チャネルブロッカーの投与により骨格筋細胞膜の過興奮性が低下し、運動症状を改善できる可能性があると考えられた。

(2) 予備的臨床研究および分子生物学的な検討に基づき、Na チャネルの阻害と同時に K チャネルの開口によって活動電位の持続時間を短縮させる薬剤であり、神経筋疾患患者に対して用いられた実績があることに加え、「糖尿病性神経障害に伴う自覚症状 (自発痛、しびれ感) の改善」の効能・効果として承認され、一定の安全性も確認されているメキシレチン塩酸塩 (以下、メキシレチン) に着目した。研究代表者は、SBMA に対するメキシレチンの有効性を探索するために、「球脊髄性筋萎縮症患者に対するメキシレチン塩酸塩経口摂取の有効性及び安全性を検討する多施設共同ランダム化二重盲検クロスオーバー比較試験」を特定臨床研究として実施した。メキシレチン投与時に ALSFRS-R (全般的運動機能) が改善する傾向が認められ、同評価項目の構成要素である球症状、上肢症状、下肢症状に対応する、その他の評価項目として設定していた定量的運動機能検査においても、同様にメキシレチン投与時に改善する傾向が認められたことから、メキシレチン塩酸塩は SBMA 患者の全般的運動機能を改善する可能性が示唆された (図 2)。

Naチャネル (SCN4A)



Clチャネル (CLCN1)



筋Clチャネル発現低下 → Na電流の異常増加 → 運動機能低下

図1 SBMAにおけるイオンチャネル異常

多施設共同ランダム化二重盲検クロスオーバー比較試験 (UMIN000026150)

| 評価項目 | 治療効果 | | | |
|-----------------------------|--------|---------|-------|-------|
| | 差の推定値 | 95%信頼区間 | | P値 |
| (投与開始から4週間後の変化量) | | | | |
| 主要評価項目 | | | | |
| 尺骨神経遠位潜時の室温-寒冷時の差 | -0.023 | -0.260 | 0.214 | 0.843 |
| 副次評価項目 | | | | |
| ALSFRS-R (全般的運動機能) | 0.51 | -0.10 | 1.12 | 0.094 |
| 舌圧, kPa (嚥下機能) | 1.33 | 0.20 | 2.45 | 0.023 |
| 10秒テスト, 回 (上肢運動機能) | 1.37 | 0.10 | 2.65 | 0.037 |
| 握力, kg (上肢運動機能) | 0.25 | -0.28 | 0.79 | 0.331 |
| Timed walk test, 秒 (下肢運動機能) | -0.17 | -0.63 | 0.30 | 0.464 |

図2 特定臨床研究の結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 山田晋一郎, 橋詰淳, 勝野雅央 |
| 2. 発表標題 臨床研究のススメ 医師が行うクリニカルクエストンに基づいた臨床研究 |
| 3. 学会等名 第41回日本臨床薬理学会学術総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shinichiro Yamada, Atsushi Hashizume, Yasuhiro Hijikata, Daisuke Ito, Yoshiyuki Kishimoto, Hideyuki Moriyoshi, Madoka Iida, Tomohiko Nakamura, Masahisa Katsuno |
| 2. 発表標題 Pathophysiology and development of symptomatic therapy for cold paresis in spinal and bulbar muscular atrophy |
| 3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|-------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 山田 晋一郎, 橋詰 淳, 勝野 雅央 | 4. 発行年 2020年 |
| 2. 出版社 (公財)金原一郎記念医学医療振興財団 | 5. 総ページ数 2 |
| 3. 書名 生体の科学 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|