

ALS に対する HGF

割田 仁 加藤 昌昭 鈴木 直輝 糸山 泰人 青木 正志

(臨床神経 2012;52:1214-1217)

Key words : 筋萎縮性側索硬化症, 肝細胞増殖因子, 髄腔内投与, 治験, トランスジェニックラット

はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の本態は進行性の系統的運動ニューロン変性である。とくに脳幹および脊髄前角に存在し骨格筋に直接投射する運動ニューロンの変性はいちじるしい筋萎縮と筋力低下を全身にひきおこし、発症から数年で呼吸筋麻痺をきたす。このように致死性の神経変性疾患でありながらリゾールを除き有効な治療法は確立しておらず、病態解明と有効な治療法確立が強く求められ続けてきた。しかし、(1) 疾患自体の多様性と希少性、(2) 発症メカニズム解明が不十分なこと、(3) 単なる神経伝達物質の補充療法が奏功しないこと、といった点から ALS の治療法開発は困難をきわめてきた。

ALS モデルラットの開発

それまで原因がまったく不明であった中で 1993 年、ALS の約 10% を占める家族性 ALS にはじめて Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子変異が発見された¹⁾²⁾。さらに、変異 SOD1 を全身に過剰発現するマウスが遅発性の選択的運動ニューロン変性を示し ALS 病態をよく再現することが報告された³⁾。このモデルでは変異 SOD1 蛋白の新規獲得毒性が病因であるとわかり、神経炎症や病的グリア細胞の積極的な神経変性への関与といった ALS 病態の重要な知見が明らかになりつつある。

上述の ALS モデルマウスは各国で広くもちいられ、その果たしてきた役割も大きい。しかし、病変の主座である脳幹・脊髄へのアプローチはマウスの小ささゆえに制約がある。そこで東北大学神経内科ではラットの変異 SOD1 遺伝子導入モデル (ALS ラット) を世界に先駆けて作出した⁴⁾。ラットをもちいることでマウスより十分な解析試料がえられるだけでなく、脊髄への効率的な選択的投与を実現する髄腔内投与、あるいは細胞移植といった実験的治療アプローチがすぐれて容易となった。

ALS 創薬における HGF

肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) は本邦でクローニングされた新しい増殖因子である⁵⁾。生理的に存在する HGF はひとたび臓器障害が生じると発現誘導され臓器保護に与る。HGF には増殖促進のみならず、細胞死阻止、血管新生、遊走促進、形態形成など多彩な生物活性がある。生理的条件下の神経系では受容体 c-Met と共に運動ニューロンにも HGF が発現しており、その運動神経保護効果は既知の神経栄養因子にくらべても同等以上とされる。

ALS モデル動物脊髄では、活性化 c-Met が運動ニューロンと活性化アストロサイトに発現誘導され病態進行とともに亢進する。また、ALS ラットにおいて内因性 HGF を阻害すると ALS 病態進行が増悪することから、HGF は神経変性に対抗するために発現誘導される生理的保護因子の一つであることが示唆されている。さらに、SOD1 変異をもたない孤発性 ALS 剖検脊髄においても残存運動ニューロンに HGF と c-Met の発現がみとめられ、孤発性 ALS における重要性も示唆される⁶⁾。このような HGF を十分量供給することで神経保護効果や病的グリア細胞に対する改善効果が期待できる。

HGF 髄腔内投与療法の開発

治療法開発には疾患モデル動物をもちいた *in vivo* での検討が必須である。とりわけ神経変性過程に運動ニューロンのみならず周囲のグリア細胞をふくめた環境が重要な役割をもつ ALS 病態ではなおさらとなる。HGF を神経系に過剰発現するマウスと ALS モデルの交配実験により、Funakoshi らは脊髄および脳幹運動ニューロン変性抑制と生存期間延長効果を明らかにした⁷⁾⁸⁾。同時にミクログリアやアストロサイト増生抑制効果、アストロサイト特異的グルタミン酸トランスポーター蛋白の発現保持効果も確認されている。

臨床応用を念頭に私たちは ALS ラットに対するヒト型リコンビナント HGF (human recombinant HGF, hrHGF) 蛋白の髄腔内持続投与をおこなった。その結果、外来性 HGF が用量依存性に脊髄運動ニューロン脱落を抑制することを明らか

HGF 投与 Phase I 試験実施体制の構築

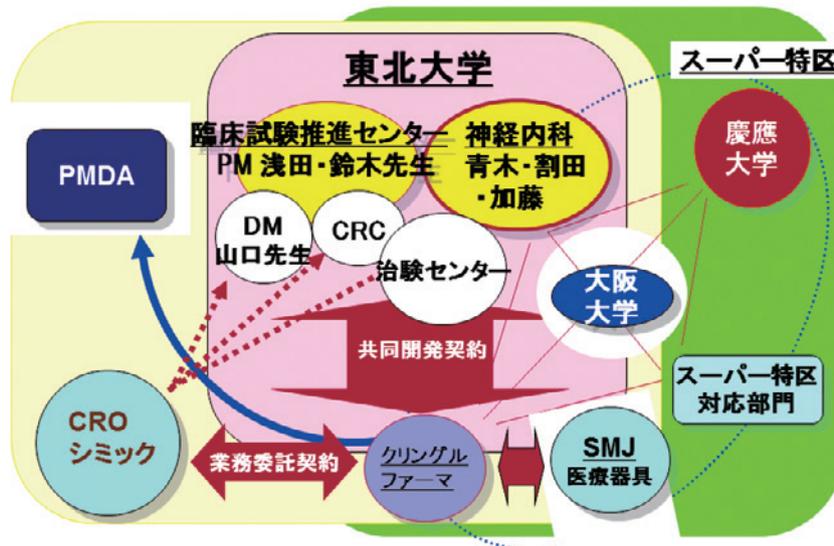


Fig. 1 ALS に対する HGF 治験（第 I 相臨床試験）実施体制の構築。

〔略語〕 CRC：治験コーディネーター，CRO：医薬品開発業務受託機関，DM：データマネージャー，PM：プロジェクトマネージャー，PMDA：医薬品医療機器総合機構，SMJ：スミス・メディカル・ジャパン

Table 1 ALS に対する HGF：第 I 相臨床試験の概要。

目的	安全性と薬物動態を検証
対象	選択基準に合致し，除外基準に当てはまらない ALS 患者
例数	下記の各投与群に対して 3 例ずつ，計 12 例
選択基準（抜粋）	(1) ALS 診断基準に合致し，発症から 3 年以内 (2) ALS 重症度分類で 1 もしくは 2 (3) 20 歳以上，65 歳未満 (4) 投与・観察中の一定期間入院が可能 (5) 治験参加に同意
投与方法	腰部脊髄腔内投与カテーテルを留置し，皮下ポートを埋め込む 一部国内未承認の機器を使用（医療機器の治験を兼ねる） 以下の 4 群に分け，1. → 4. へと順次施行 1. 単回投与：低用量 2. 単回投与：中用量 3. 単回投与：高用量 4. 反復投与：安全性を確認できた最高用量で 5 回投与

にした。さらに，ALS 発症後の薬剤投与となる実際を想定した発症期からの hrHGF 髄腔内持続投与によっても，病態進行抑制効果が明らかとなった。HGF 投与群では平均罹病期間が対照群にくらべて 62.7% 延長し，HGF が ALS 病態の進行を遅らせる新たな薬剤となりうる事が示された⁹⁾。

ALS に対する HGF 前臨床試験の推進

ヒトへの HGF 髄腔内投与は報告がない上に齧歯類とヒトの間には種差が存在するため，慎重な用量設定試験・安全性試験が不可欠となる。現状では霊長類 ALS モデルが未確立なため，慶應義塾大学との共同研究により霊長類の脊髄損傷モ

デルに対する hrHGF 投与を試みた。Kitamura らはマーモセット脊髄損傷モデルに対してラットから換算した用量の hrHGF を髄腔内持続投与し，神経保護効果と運動機能回復の促進効果を明らかにした¹⁰⁾。

HGF は我が国発の治療薬候補として再生医療分野のスーパー特区（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，hrHGF による ALS および脊髄損傷治療法開発は再先導課題となった。第 I 相臨床試験開始のため，クリングルファーマ社と協同で治験薬製造，カニクイザルをもちいた GLP (Good Laboratory Practice) 基準での安全性試験，治験プロトコル作成をおこなった。さらに薬事法および GCP 基準 (Good Clinical Practice) にしたがったモニタ

リング・データマネジメント・監査などの治験実施体制を整備した (Fig. 1).

第 I 相臨床試験の開始

2011年3月11日の東日本大震災による被害は甚大であったが、医薬品医療機器総合機構との治験前相談を経た2011年6月に治験届を提出した。2011年7月、軽症 ALS 罹患者を対象とした髄腔内投与による hrHGF 蛋白の安全性と薬物動態を検証する治験 (第 I 相) が東北大学病院にて承認された。本治験では最初に被験者の腰椎椎間から脊髄腔内にカテーテルを挿入・留置し、投与用の皮下ポートを側腹部に埋め込む手術をおこなう。また、hrHGF 蛋白の髄腔内投与がヒトではじめてとなるため、期待する有効用量の低い用量かつ単回投与から安全性を確認しつつ用量を漸増し、最終的に安全性を確認できた最高用量で5回の反復投与をおこなう計画である (Table 1)。

本治験は東北大学病院臨床試験推進センターの全面的な支援のもとに現在進行中である。その詳細は東北大学神経内科のホームページで公開している (<http://www.neurol.med.tohoku.ac.jp/index.html>)。なお、混乱を防ぐために主治医から専用 FAX でのみ問合せを受けつけている。

おわりに

私たちは HGF の ALS に対する proof of concept (POC) を達成するのみならず、この HGF による治療法開発を通じて ALS のような稀少疾患に対する創薬プラットフォームを確立し、神経変性疾患・筋疾患に対する治療法開発研究の拠点を整備していきたいと考えている。

本研究の共同研究者、慶應義塾大学の岡野栄之先生、中村雅也先生、旭川医科大学の船越洋先生ほかご協力いただいている多くの先生方、患者さんにご家族の方々に深謝申し上げます。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

文 献

1) Aoki M, Ogasawara M, Matsubara Y, et al. Mild ALS in

Japan associated with novel SOD mutation. *Nat Genet* 1993;5:323-324.

- 2) Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993;362:59-62.
- 3) Gurney ME, Pu H, Chiu AY, et al. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. *Science* 1994;264:1772-1775.
- 4) Nagai M, Aoki M, Miyoshi I, et al. Rats expressing human cytosolic copper-zinc superoxide dismutase transgenes with amyotrophic lateral sclerosis: associated mutations develop motor neuron disease. *J Neurosci* 2001;21:9246-9254.
- 5) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature* 1989;342:440-443.
- 6) Kato S, Funakoshi H, Nakamura T, et al. Expression of hepatocyte growth factor and c-Met in the anterior horn cells of the spinal cord in the patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS): immunohistochemical studies on sporadic ALS and familial ALS with superoxide dismutase 1 gene mutation. *Acta Neuropathol* 2003;106:112-120.
- 7) Kadoyama K, Funakoshi H, Ohya W, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) attenuates gliosis and motoneuronal degeneration in the brainstem motor nuclei of a transgenic mouse model of ALS. *Neurosci Res* 2007;59:446-456.
- 8) 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;22:6537-6548.
- 9) Ishigaki A, Aoki M, Nagai M, et al. Intrathecal delivery of hepatocyte growth factor from amyotrophic lateral sclerosis onset suppresses disease progression in rat amyotrophic lateral sclerosis model. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007;66:1037-1044.
- 10) Kitamura K, Fujiyoshi K, Yamane J, et al. Human hepatocyte growth factor promotes functional recovery in primates after spinal cord injury. *PLoS One* 2011;6:e27706.

Abstract**Clinical translation of hepatocyte growth factor for amyotrophic lateral sclerosis**

Hitoshi Warita, M.D., Ph.D., Masaaki Kato, M.D., Ph.D., Naoki Suzuki, M.D., Ph.D.,

Yasuto Itoyama, M.D., Ph.D. and Masashi Aoki, M.D., Ph.D.

Division of Neurology, Department of Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Medicine
Tohoku University Hospital ALS Center

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a devastating neurodegenerative disease characterized by selective loss of motor neurons. Approximately 20% of familial ALS cases are linked to mutations in Cu/Zn superoxide dismutase (*SOD1*) gene. Previously, we developed a transgenic rat model of ALS overexpressing mutant *SOD1* protein. The rat model facilitates preclinical ALS research employing various therapeutic approaches such as intrathecal administration, cell transplantation, and viral vector-mediated gene transduction to the affected central nervous system.

Hepatocyte growth factor (HGF) is a pleiotropic growth factor and also a potent survival-promoting factor for motor neurons. To examine its therapeutic effect on ALS, we administered human recombinant HGF (hrHGF) to the transgenic ALS rats. In contrast with vehicle-treated rats, continuous intrathecal infusion of hrHGF attenuated spinal motor neuron degeneration and prolonged the duration of the disease, even with administration from the onset of symptoms.

To translate the strategy to human treatment, we performed dose-finding and safety studies using non-human primate model of contusive cervical spinal cord injury. Introducing exogenous HGF protein also revealed a distinct therapeutic effect with functional recovery. Given the therapeutic potential of hrHGF on ALS, we started a novel phase I clinical trial for ALS patients in Tohoku University Hospital.

(Clin Neurol 2012;52:1214-1217)

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, hepatocyte growth factor, intrathecal administration, *SOD1*, transgenic rat
