

ひとつずつ、近づけるALS治療薬開発への希望

ALSの治療法開発の時代へ

ALSレジストリ研究(JaCALS)から
病態解明・創薬に向けて

祖父江 元

名古屋大学大学院医学系研究科

平成31年2月2日
日本ALS協会 治療研究講演会 (60)

筋萎縮性側索硬化症 (ALS)

- ・ 進行性の運動ニューロン変性、平均3-5年で死亡・呼吸器装着
- ・ 5-10%は家族性、新規原因遺伝子の発見が相次いでいる
- ・ 我が国の患者数 約1万人、新規発症 約2000人/年
- ・ 代表的な**神経難病**、**神経変性疾患**

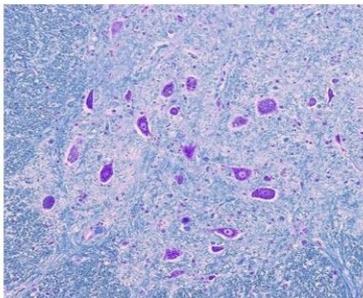
孤発性が90-95%を占め、病態・病因の解明は遅れている



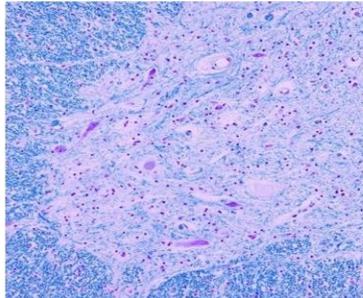
孤発性ALSの病態解明・治療法開発が大きな課題

脊髄運動ニューロンの脱落

正常



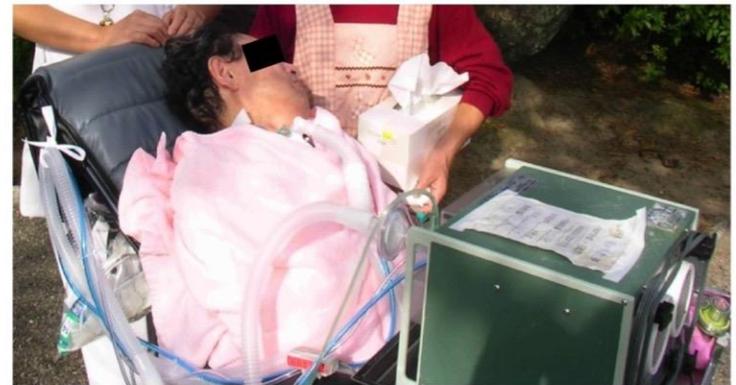
ALS



全身の筋萎縮



呼吸筋麻痺に対する人工呼吸器装着



孤発性ALS大規模レジストリから見えるもの 創薬促進に結びつく利活用について

- 1) ALSの経過、予後、病型などに影響する
遺伝子 (modifier gene) :
創薬シーズ探索・同定
- 2) 経過や予後を占う臨床マーカー :
創薬デザイン策定
- 3) Real world 型の創薬の進展 :
治験の促進

神経変性疾患の前向き レジストリ・コホートの利活用（代表的な2点）

筋萎縮性側索硬化症（ALSの）
前向きレジストリ・コホート(JaCALS)

臨床情報、ゲノム、不死化細胞、血清、iPSCなど

(1) 患者レジストリ・コホートを
利活用する治験促進

CIN: クリニカル
イノベーションネットワーク

大規模データを利用するCIN
アカデミア、PMDA、AMED
厚労・企業

(2) 大規模レジストリ解析による
治療標的分子、治療シーズの開発

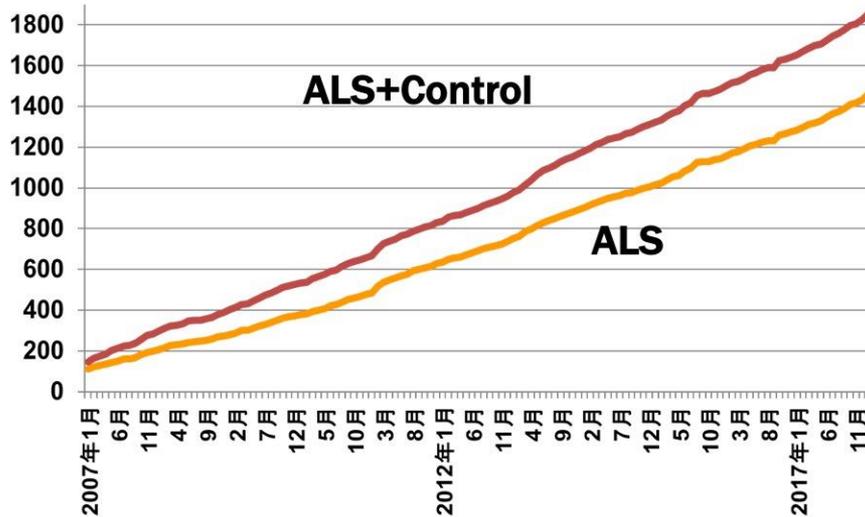
臨床データ、オミックス
ゲノムデータなどのビッグデータ解析
(機械学習、AIなど)

大規模データを利用する
病態解明、治療標的探索同定
アカデミア、企業

JaCALS

Japanese Consortium for ALS Research

- ・ 多施設共同孤発性ALS患者レジストリ・コホート
- ・ 前向き臨床像を3カ月ごとに把握。92%の経過観察率
- ・ 遺伝子・不死化細胞 (iPS) ・ 生体試料リソースを蓄積
- ・ 全国32施設が参加
- ・ ALS患者1650例、コントロール424例登録



北海道大学
東北大学
新潟大学
群馬大学
宮城病院
自治医科大学
東京大学
東京都立神経病院
東京医科歯科大学
順天堂大学
東京病院
東京医科大学
東邦大学大森病院
千葉大学
国立精神神経センター
山梨大学
相模原病院
静岡富士病院
静岡てんかん神経医療センター
名古屋大学
東名古屋病院
三重大学
鈴鹿病院
京都大学
京都府立医科大学
拓海会神経内科クリニック
岡山大学
ビハーラ花の里病院
徳島大学
鳥取大学
九州大学

JaCALSのこれまでの成果

- ① 経過・予後を規定する臨床的、遺伝子的因子の同定
- ② 不死化細胞由来のiPS細胞による創薬シーズ候補探索同定
- ③ 治療薬の長期効果のPMSでの検証 (エダラボンの true endpoint の検証)

JaCALS の follow up システム(臨床情報の取得)

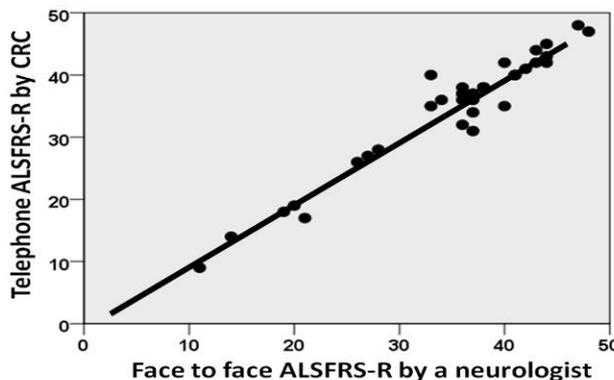
ALS 患者の登録後の転院状況・・・これをどうカバーするか

患者の登録後の**転院状況**・・・3年で**76%**



CRCによる電話調査と
医師の診察によるALSFRS-Rは
十分な整合性を示す

BRAIN and NERVE 63:491-496, 2011

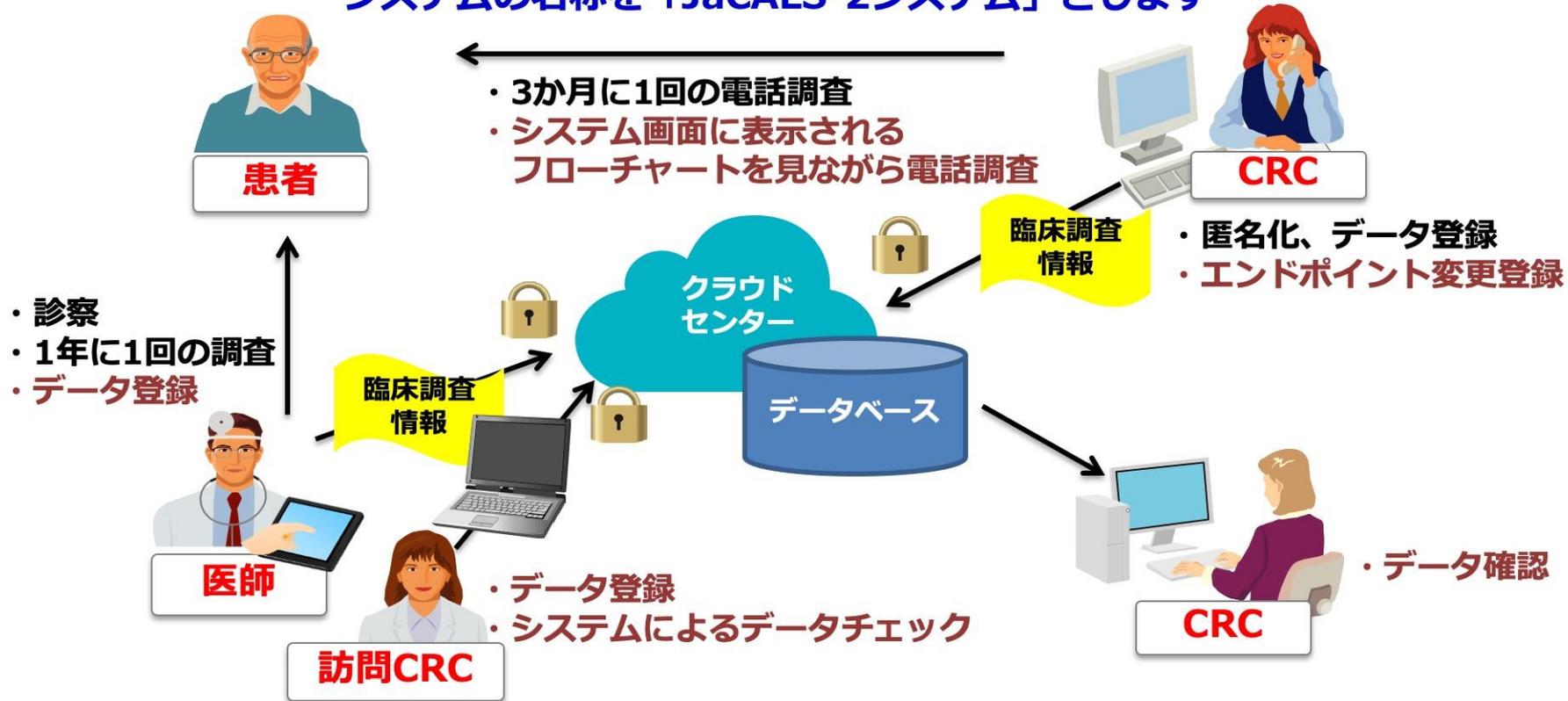


級内相関係数 0.97
(95% CI
0.94-0.98)

JaCALSの患者レジストリシステム アップグレード

GPSPとER/ES指針に対応する

システムの名称を「JaCALS-2システム」とします



- webシステムでリアルタイム性を改善し、患者リクルートを実現
- ER/ES指針に準拠したシステムとし、要求される規制要件に対応
- GPSPに準拠した標準業務手順書 (SOP) の策定
- 紙資料削減などの業務負担の軽減により、新規調査項目に対応
- より高い信頼性(GPSP, ER/ES)を実現し、蓄積データを市販後調査等に活用
- セキュリティのレベルアップ

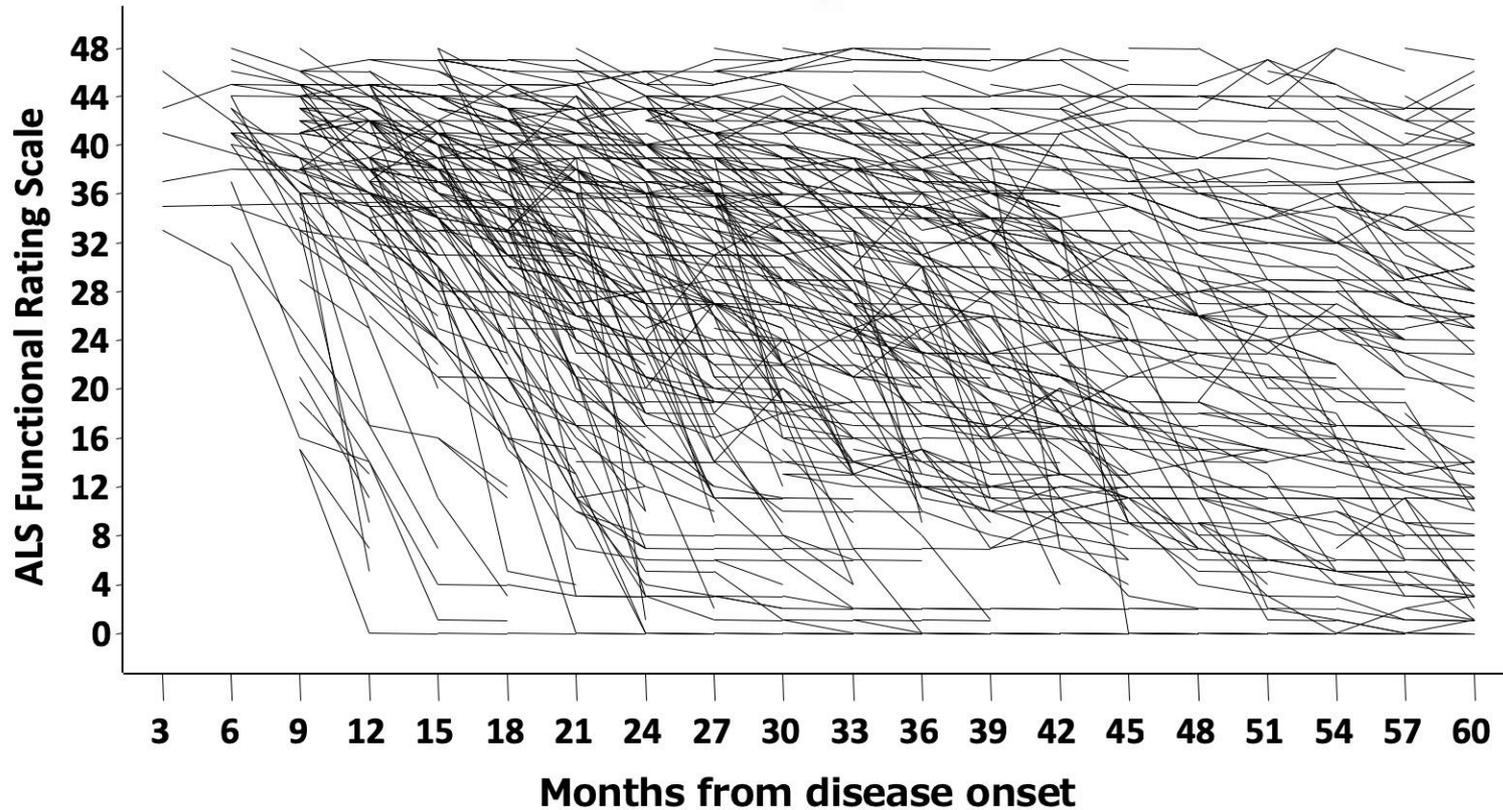
**1) 孤発性ALSの進行・予後・病型などに
影響するmodifier gene :
創薬シーズの探索・同定
治験のデザイン策定**

**Modifier gene
探索**

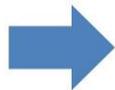
孤発性ALSの進行経過は極めて多様である

疑問点は、

“この経過の多様性をmodifyする遺伝子は存在するか？”



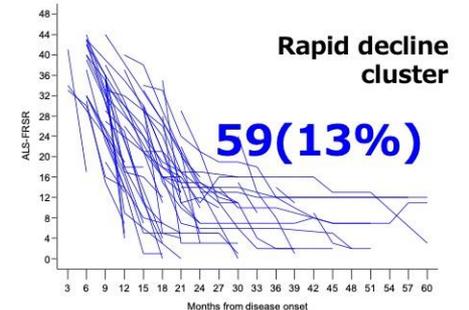
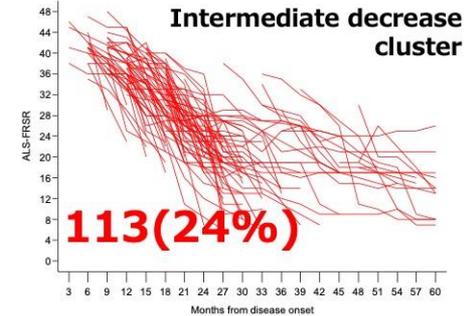
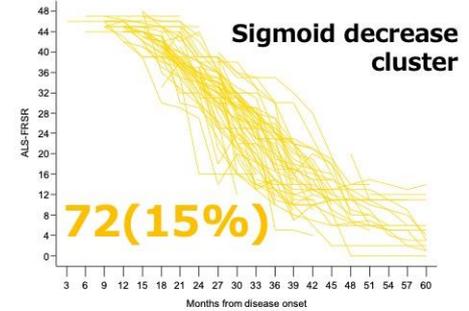
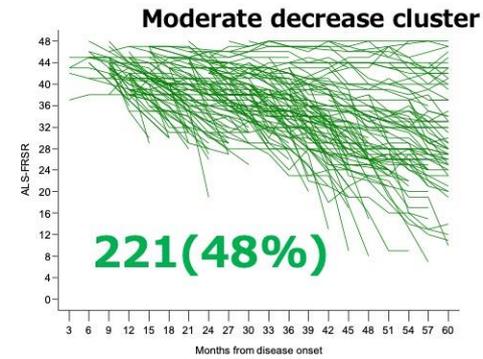
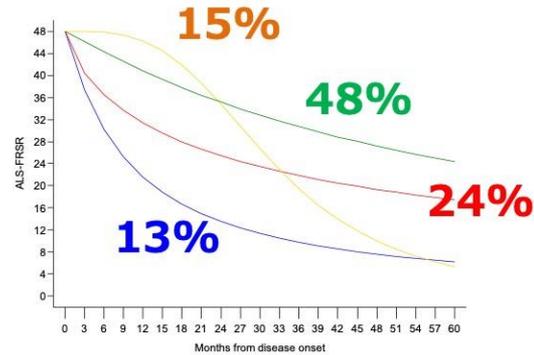
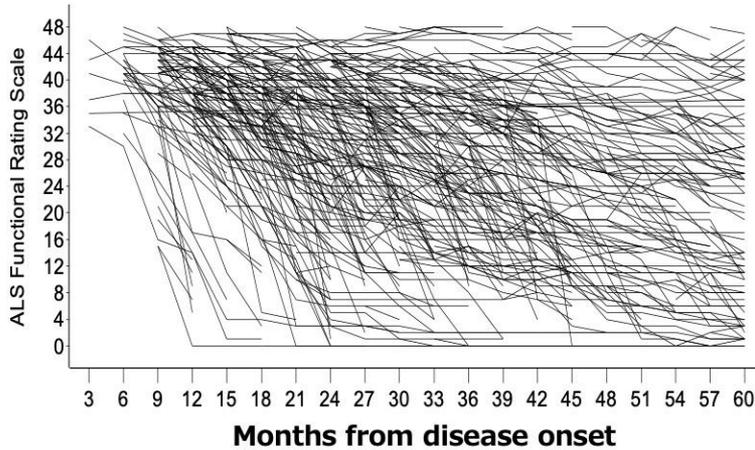
**Searching for genes associated to disease
courses of sporadic ALS**



**Genome-wide association study (GWAS) to
find genes associated to clinical courses**

1, 孤発性ALSの臨床経過と関連したmodifier 遺伝子の同定

孤発性ALS患者の臨床経過を混合モデルを用いて類型化 (生物統計専門家の関与)



700,000 SNPs + 250,000 exome variantsをタイピング

Illumina: HumanOmniExpressExome BeadChip

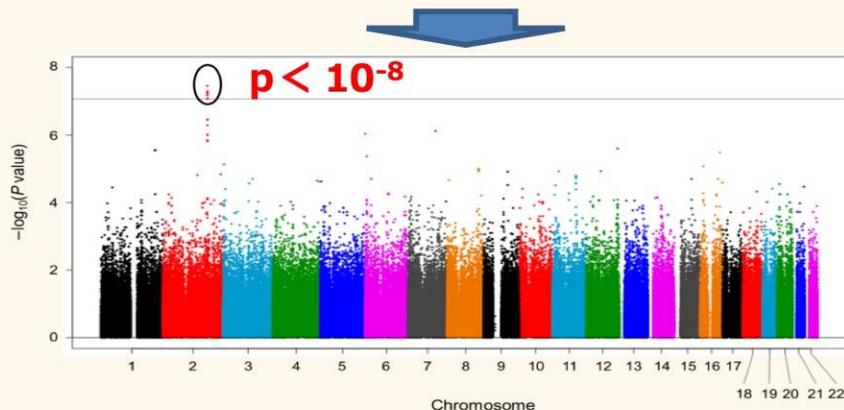
ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により
臨床経過パターンと関連する遺伝子を探査



孤発性ALSの臨床経過と関連した遺伝子の探索

<GWAS>

70万 SNPs+ 25万exome variants == 臨床経過パターンとの関連



7 SNPs が急速進行パターンと関連
 $p=3.47\sim 8.34\times 10^{-8}$, Odds比 5.5 to 5.84



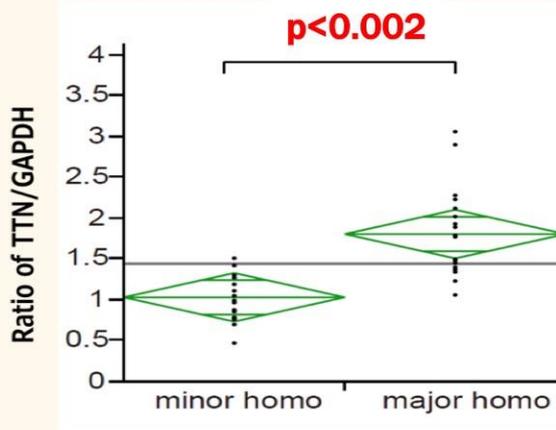
eQTL データベース

SNPsと遺伝子発現プロファイルとの関連データベース

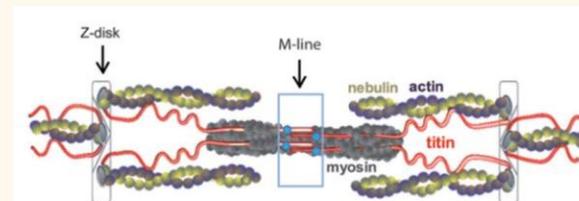
7つのSNPsはTitinの発現低下と関連

$p=8.6\times 10^{-10} \sim 1.1\times 10^{-7}$

Human Genetic Variation Database (HGVD)



Titin



- ・サルコメアを構成する巨大分子
- ・筋の構造と機能に重要な役割
- ・遺伝子変異により多彩な筋、心筋疾患を生じる

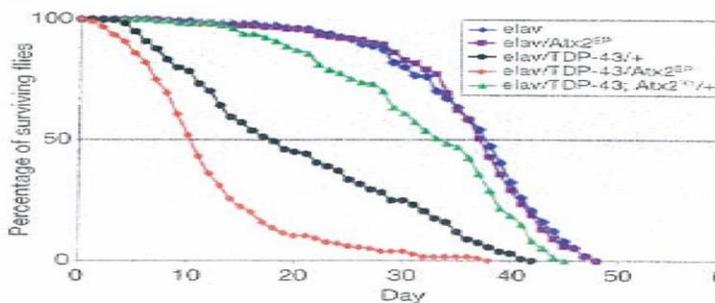
(2) 他の疾患（脊髄小脳変性症2型）の原因遺伝子が、 孤発性ALSのmodifier geneになっている

Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS

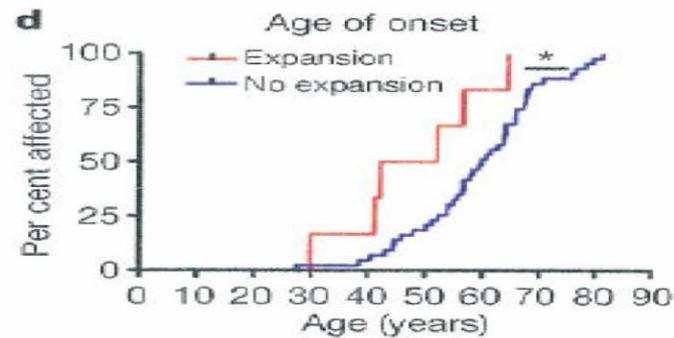
Andrew C. Elden^{1*}, Hyung-Jun Kim^{2*}, Michael P. Hart^{1*}, Alice S. Chen-Plotkin^{3,4*}, Brian S. Johnson¹, Xiaodong Fang¹, Maria Armakola¹, Felix Geser³, Robert Greene³, Min Min Lu¹, Arun Padmanabhan¹, Dana Clay-Falcone³, Leo McCluskey⁴, Lauren Elman⁴, Denise Juhn⁵, Peter J. Gruber⁵, Udo Rüb⁶, Georg Auburger⁷, John Q. Trojanowski³, Virginia M.-Y. Lee³, Viviana M. Van Deerlin³, Nancy M. Bonini² & Aaron D. Gitler¹

Nature 466: 1069-75, 2010

Life span of TDP-43 ALS model changes depending on the extent of Ataxin -2 repeat expansion



Younger onset age with longer repeat expansion of ataxin-2



Therapeutic reduction of ataxin 2 extends lifespan and reduces pathology in TDP-43 mice

Lindsay A. Becker^{1,2}, Brenda Huang¹, Gregor Bieri^{1,2}, Rosanna Ma¹, David A. Knowles¹, Paymaan Jafar-Nejad³, James Messing⁴, Hong Joo Kim⁴, Armand Soriano³, Georg Auburger⁵, Stefan M. Pulst⁶, J. Paul Taylor^{4,7}, Frank Rigo³, and Aaron D. Gitler^{1,8}

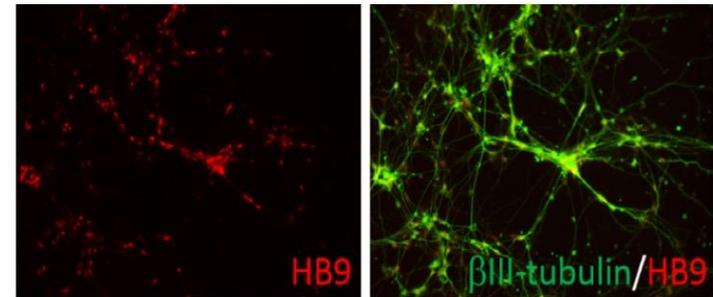
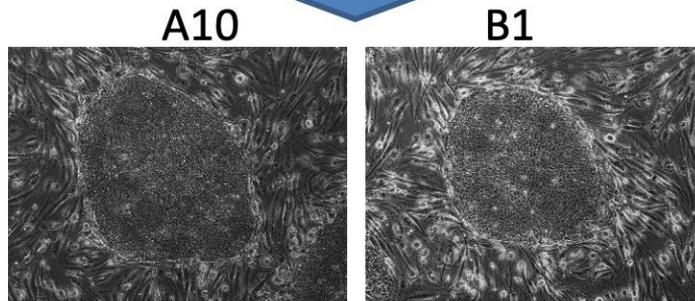
Nature 544: 367-371, 2017

5, 孤発性ALS患者由来iPS細胞を用いた Modifier gene・薬剤シーズの探索・同定

SNPsと病態との関連、候補薬剤探索 (慶応大学生理学 岡野研との共同研究)

JaCALS 不死化リンパ球ライブラリ
既に**62例**でiPS細胞作製

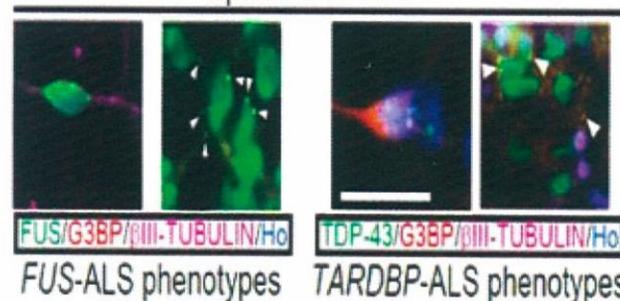
JaCALS登録孤発性ALS患者由来
の運動ニューロン
32例で運動ニューロンへの分化に成功



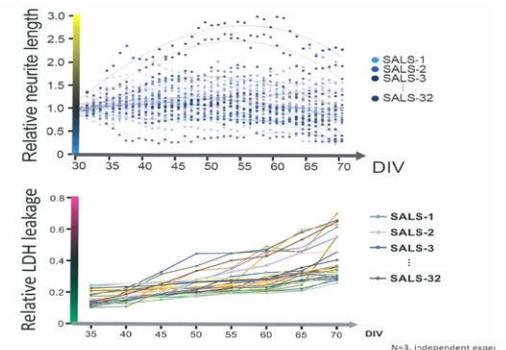
孤発性 ALS iPSC での運動ニューロンのフェノタイプ解析

細胞死,
ストレスグラニュール,
TDP-43 凝集,
FUS 凝集,
神経突起長
LDH excretion

フェノタイプ1
TDP-43 and FUS の凝集

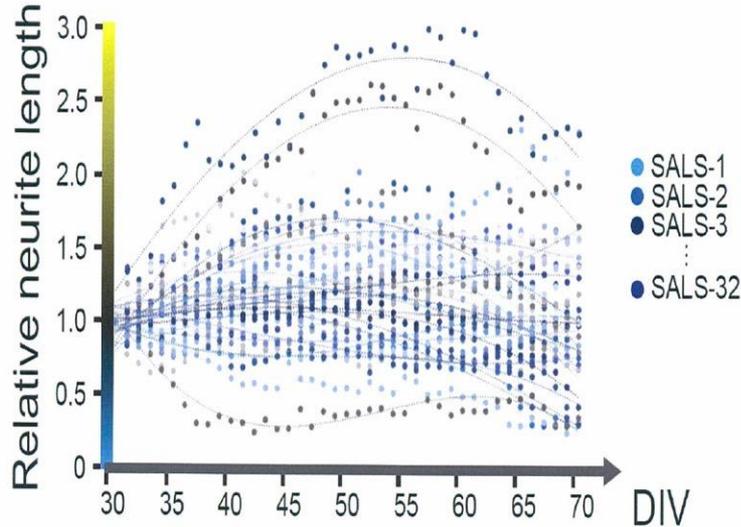


フェノタイプ2
神経突起長と細胞死

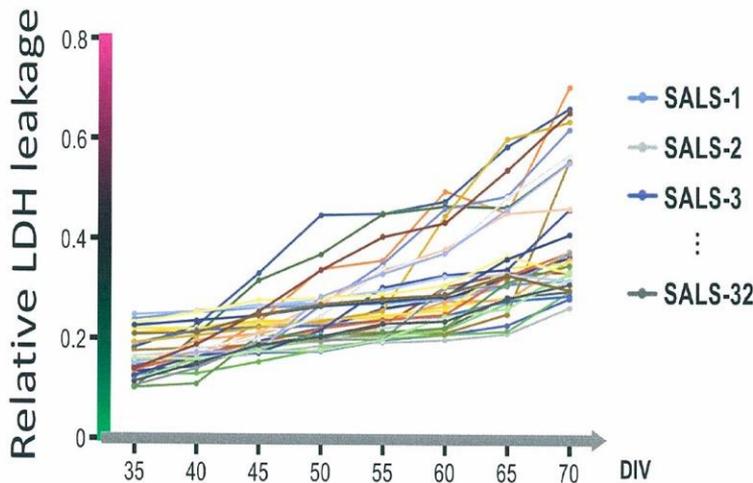
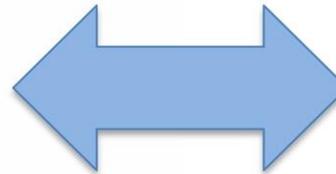


孤発性ALSの臨床フェノタイプと iPS細胞由来運動ニューロンフェノタイプの相関

孤発性ALS iPSC由来の運動ニューロン
表現型の時系列変化（神経突起伸長と細胞死）



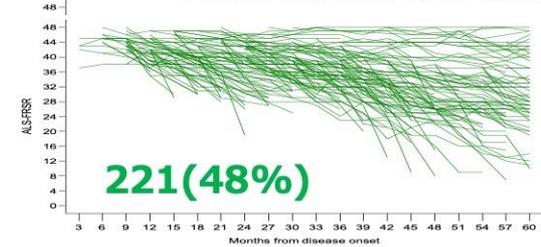
相関関係？



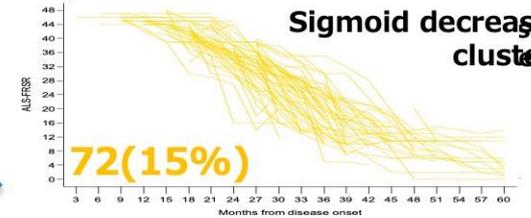
孤発性ALSの経過パターン

ALSFRS-R

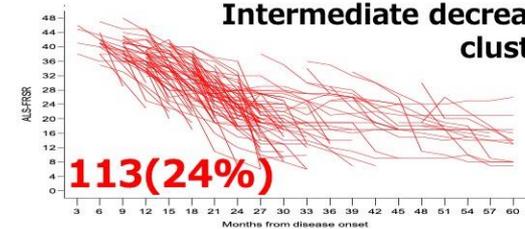
Moderate decrease cluster



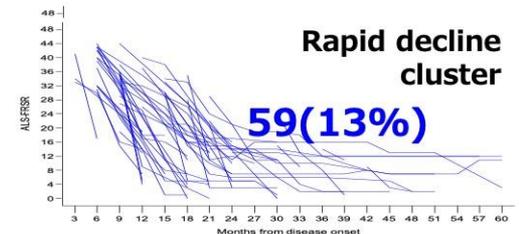
Sigmoid decrease cluster



Intermediate decrease cluster



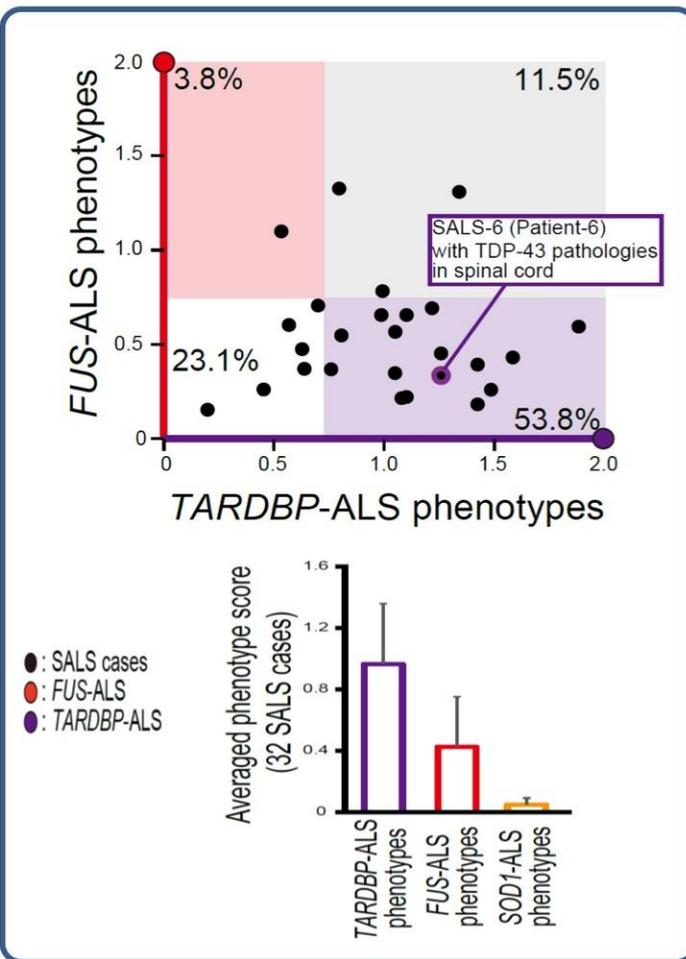
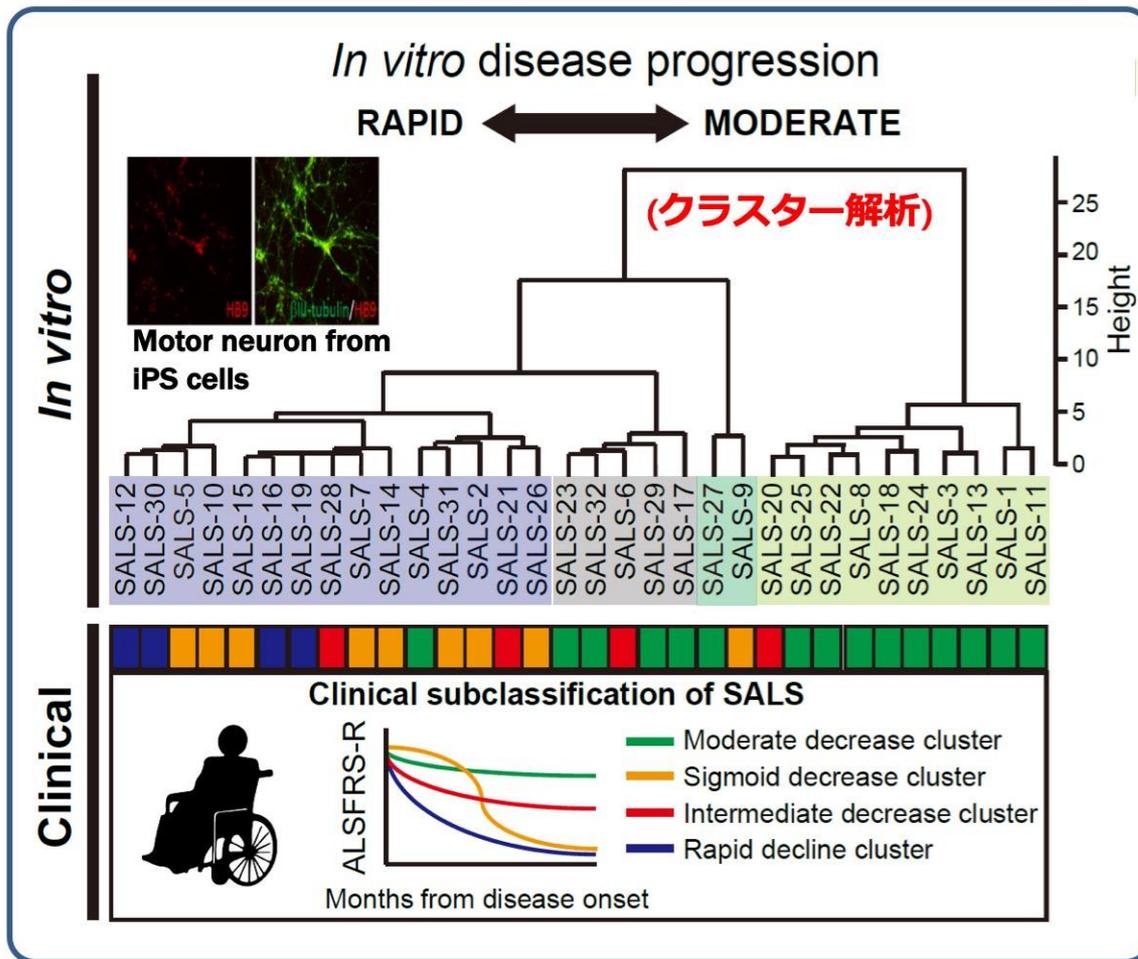
Rapid decline cluster



孤発性ALS患者由来のiPSC/運動神経の phenotype/omics 解析

iPSC/運動神経の変性マーカーの進行が、元のALS症例の進行フェノタイプと相関する

iPSC/MNのTDP-43, FUS, SOD-1-likeの蛋白凝集フェノタイプと相関する



孤発性ALSからのiPSC/運動神経のゲノム・オミックスを解析することによってALSの phenotype-modifier gene が探索可能?

本拠点内の研究連携体制の流れ

理研 統合生命医科学

研究センター：

Biobank Japan

10,000例の日本人ゲノム情報、SNPs情報
ALS 700例のDNA

池川 志郎

SNPsタイピング

Biobank Japan検体
によるバリデーション体制

ゲノムデータ、
オミックスデータの共有
ALS×コントロール関連解析
Modifier gene 探索・同定

JaCALS：名古屋大学

1500例のALS臨床情報、不死化リンパ球、DNA、生体試料

→ **オミックス情報**

データセンター、生体試料保存センター

祖父江 元

Security roomによる直接ゲノム解析



指紋認証システム

Thin client
端末



慶應大学生理学

愛知医科大学

ALS患者由来iPS細胞
トランスクリプトーム
メタボローム情報

岡野 栄之

岡田 洋平

ALS患者由来
iPS細胞作製・分化
運動ニューロンを介する
Modifier gene, 創薬シーズ
探索・同定

VPN回線をつなぎ
ゲノムデータを
共有、直接解析

東北メディカルメガバンク機構：東北大学

日本人コントロール2000例の全ゲノム情報、1万例のSNPs, 不死化リンパ球、血漿のオミックス情報（トランスクリプトーム・メタボローム）

長崎 正朗

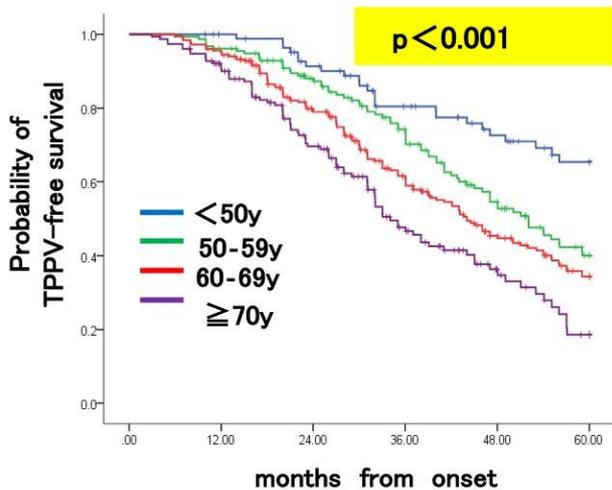


ゲノムデータ
ベース
スーパーコン
ピューター

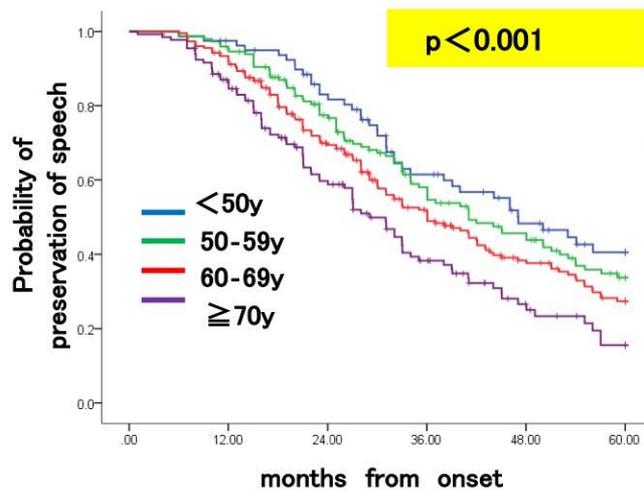
**2) 経過や予後を占う臨床マーカー：
治験デザイン策定に重要**

発症年齢と生命予後・機能予後：部位別に異なる

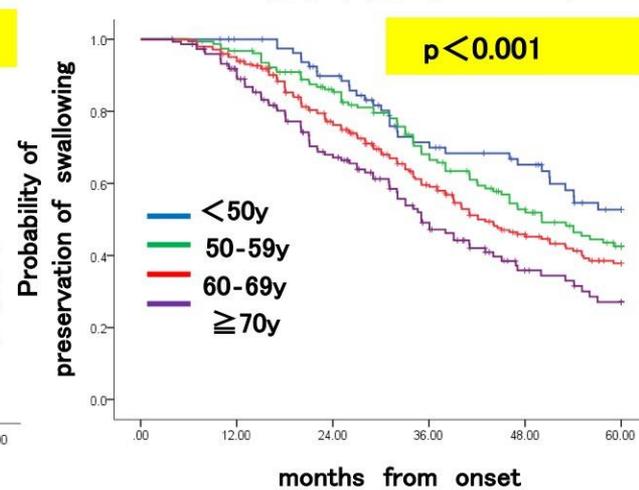
A TPPV-free survival (n=648)



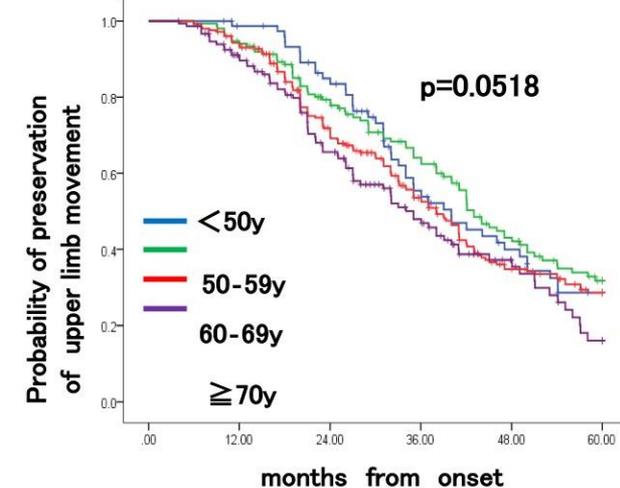
B 発語不能 (n=588)



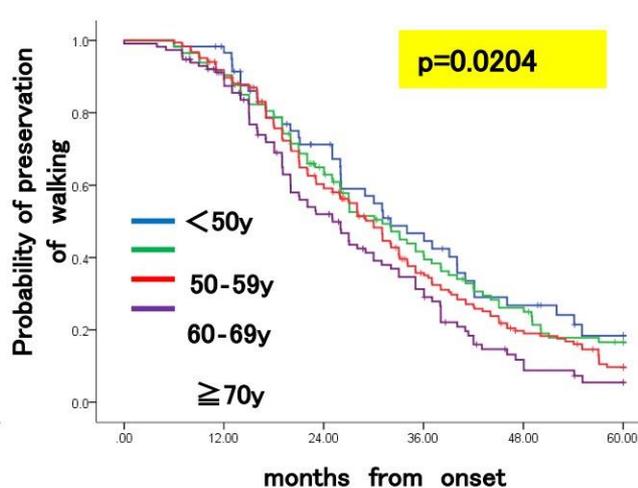
C 嚥下不能 (n=635)



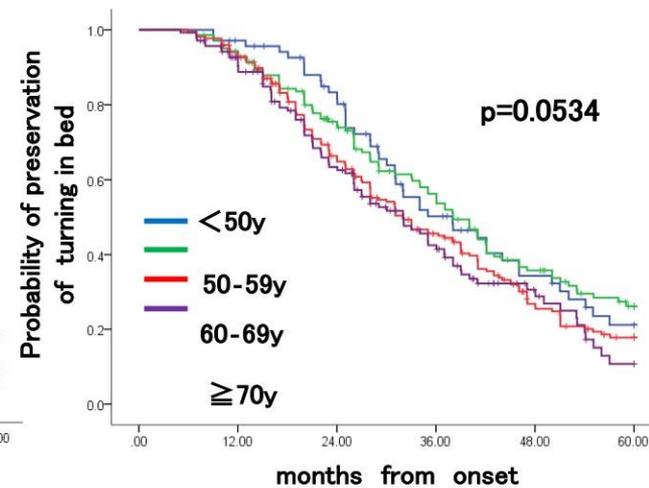
D 上肢機能廃絶 (n=623)



E 独立歩行不可 (n=476)



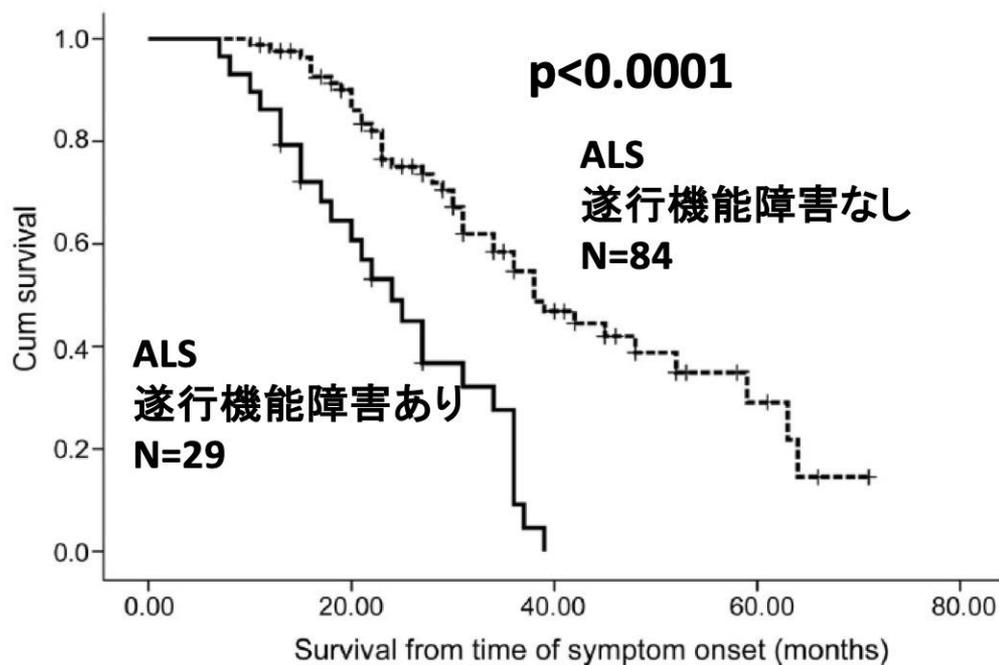
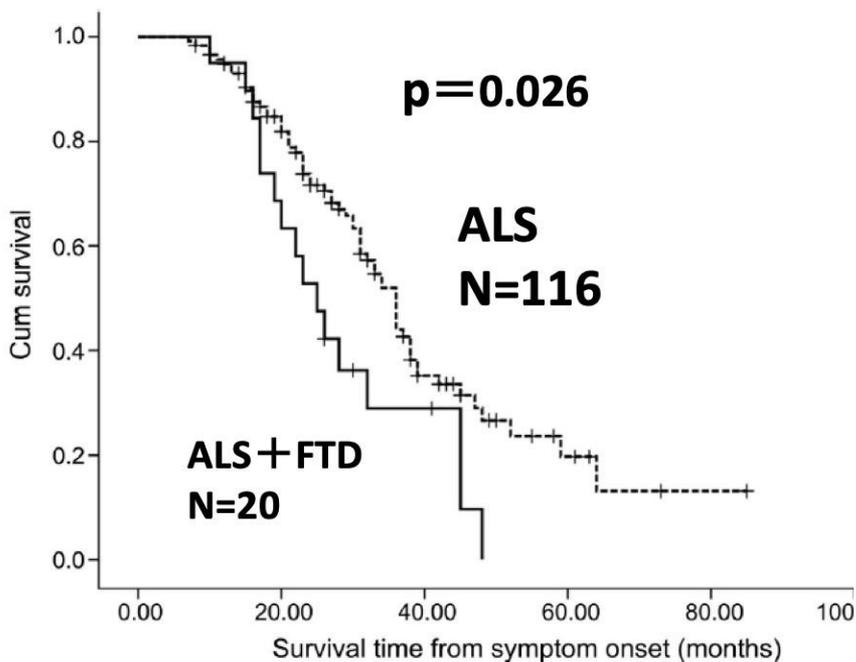
F 独力寝返り不可 (n=573)



呼吸不全、球筋廃絶までの期間(上段)において発症年齢の影響が強くみられる

高次脳機能障害（認知症）と生命予後

高次機能低下は生命予後を悪くする (アイルランド)



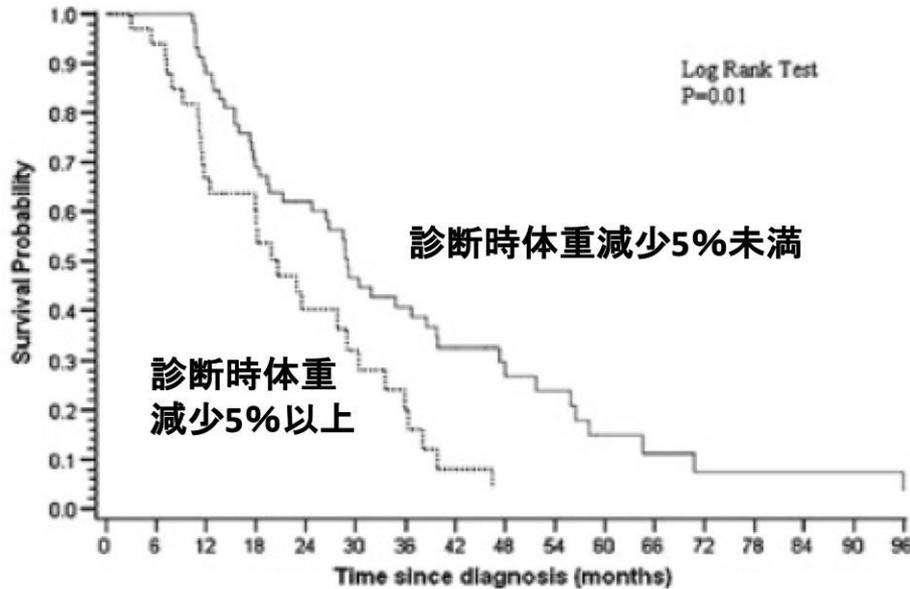
Neurology 76:1263–9. 2011

高次脳機能障害の存在はALS患者の独立した予後不良因子

栄養状態と生命予後

診断時の栄養状態は大きく予後に影響する

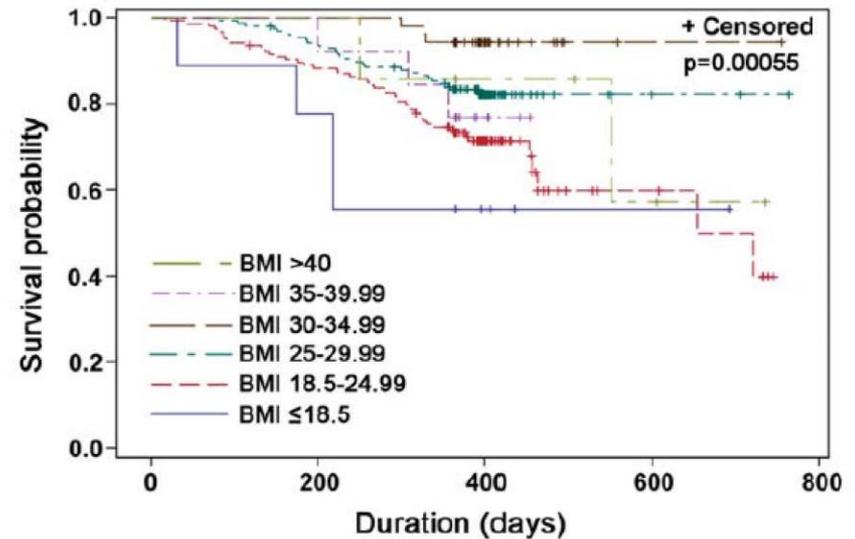
診断時の体重減少は独立した
予後不良因子 (N=92) (フランス)



J Neurol Neurosurg Psychiatry 82:628-34, 2011.

BMIが小さいほど生存期間が
短い (N=128) (USA)

BMI=体重/身長²



Muscle Nerve 44: 20-24, 2011.

胃瘻造設は%FVC 50%≦低リスク、30~50%中リスク、30%以下高リスク

栄養不良は予後に影響するため、病初期からの栄養管理が重要

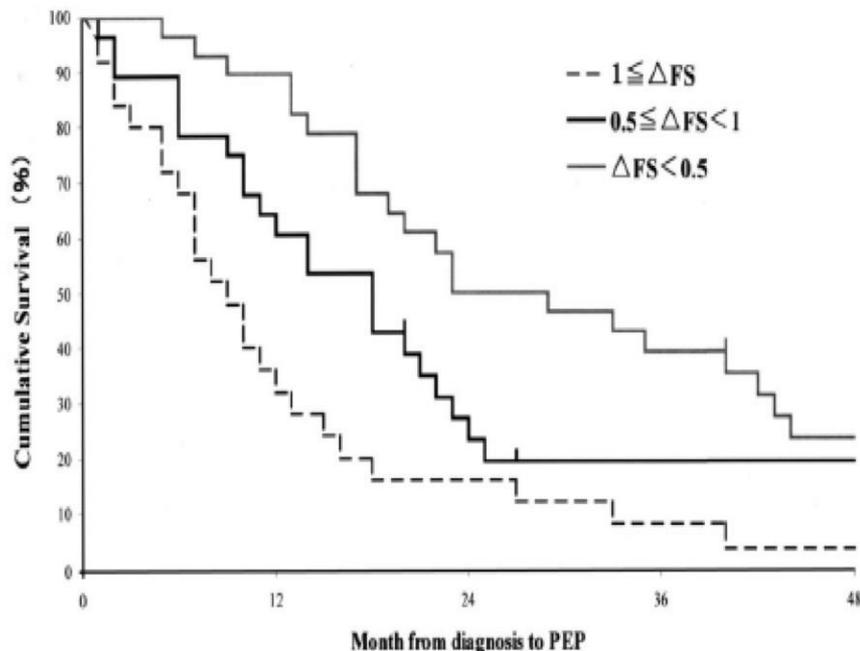
ALSFRS-Rの発症からの低下率と生命予後

低下率は、生命予後に大きく影響する

ALSFRS-R: 代表的なALS重症度スケール48点満点

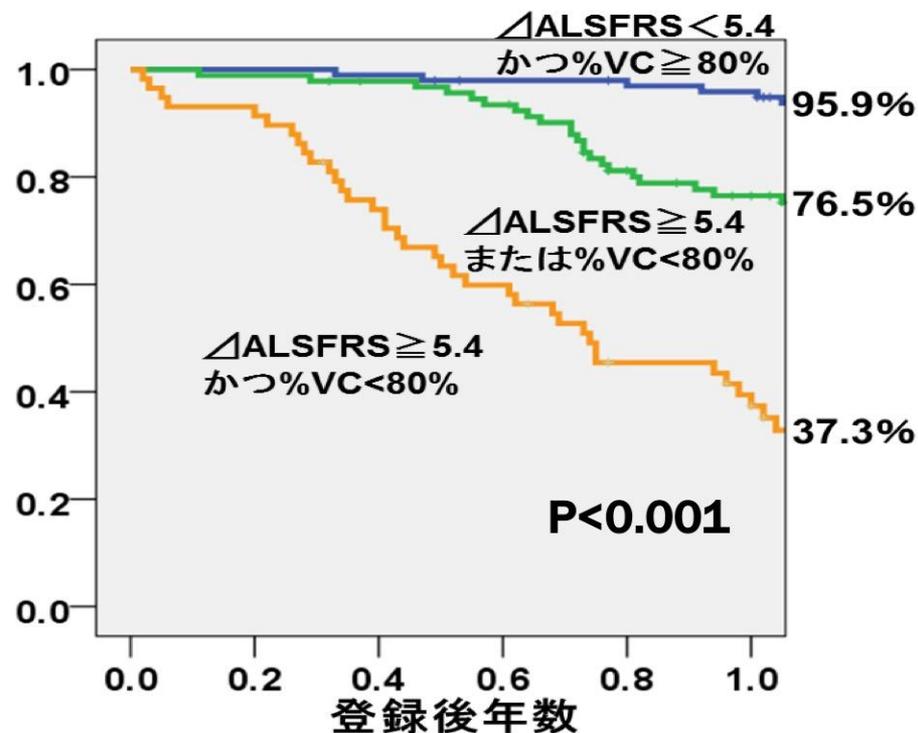
ALSFRS-R低下率: 発症時を48点と仮定して、低下している点数を発症からの期間で割る

大阪医大 木村らの報告 (N=115)



Neurology 66:265-7, 2006

JaCALS の解析(N=353)

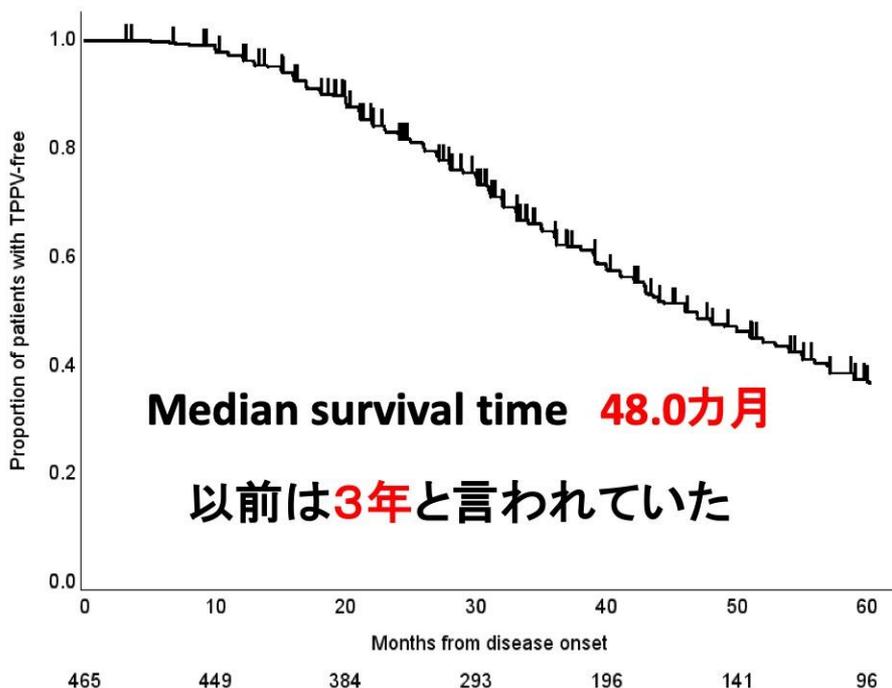


ALSFRS-R低下率を用いて高い精度の予後予測ができる

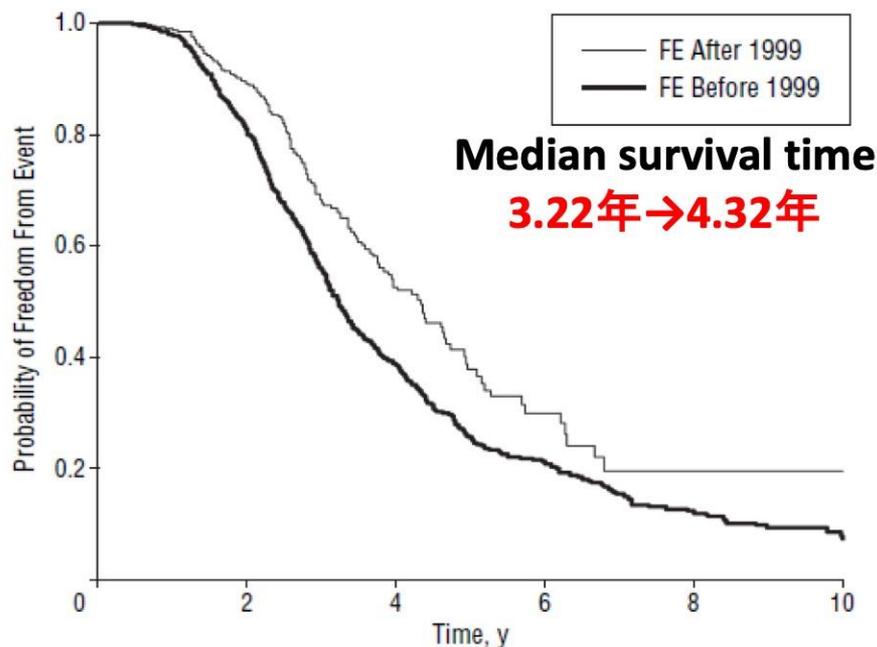
この20年の間でALSの生命予後は改善している

原因は何かは必ずしも明らかではない

死亡もしくはTPPV導入までの生存曲線 (JaCALS) (N=451)



1999年以前と以後の予後比較
死亡または気切までの生存曲線
アメリカ (N=1041)



Arch Neurol 2006;63:1139-43

現在、ALS患者のMedian survival timeは4年程度

生命予後、機能予後の影響因子

発症年齢

病型*

ALSFERS-Rの低下率

発症時の栄養状態*

高次機能障害の合併

NPPVの導入*

%FVC、その他



1, 個々の患者への臨床対応、

2, 治験デザイン策定：治験では患者のバックグラウンドを揃える

* 普通型、下肢型、球型について

* 介入によって改善が可能

3) レジストリを利活用する

Real world 型の創薬の促進

ALSの治験をどのように促進するか

ALS Clinical Trials Guidelines 2016 Workshop 2016年3月17-19日 アメリカ Airlie Houseにて開催

ALSの治験をどのように促進するか



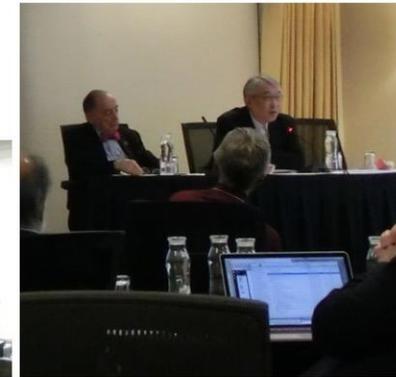
Airlie House (アメリカ バージニア州)



現在の標準的なALS診断基準が策定された地で、これからのALSに対する臨床試験のあり方を議論し、ガイドラインを策定する会議が開催された

ALS Clinical Trials Guidelines 2016 Workshop

2016年3月、国際的なALS臨床試験ガイドラインを17年ぶりに改訂する国際会議が開催された



100近いALS治験の失敗の反省から

- 病態、症状経過の**多様性を踏まえた臨床試験デザイン、層別化など**
 - 治療効果の測り方、**特に長期効果**
 - 臨床試験への**患者リクルート、レスポonder/エンリッチメント**
 - 病態を反映する**バイオマーカー**
 - 第I～第III相さらにその先への臨床試験の進め方、**長期効果検証**
 - **治療開発の基盤としての患者レジストリ（疾患登録システム）の重要性**
- わが国発の考え方が多く取り入れられている。**

これらの項目を徹底討論。さらに文案をメールなどにて詰め、現在final draftの段階。
2018年にガイドライン発表

ALS Clinical Trials Guidelines 2016 議論されている内容 適切な層別化の必要性

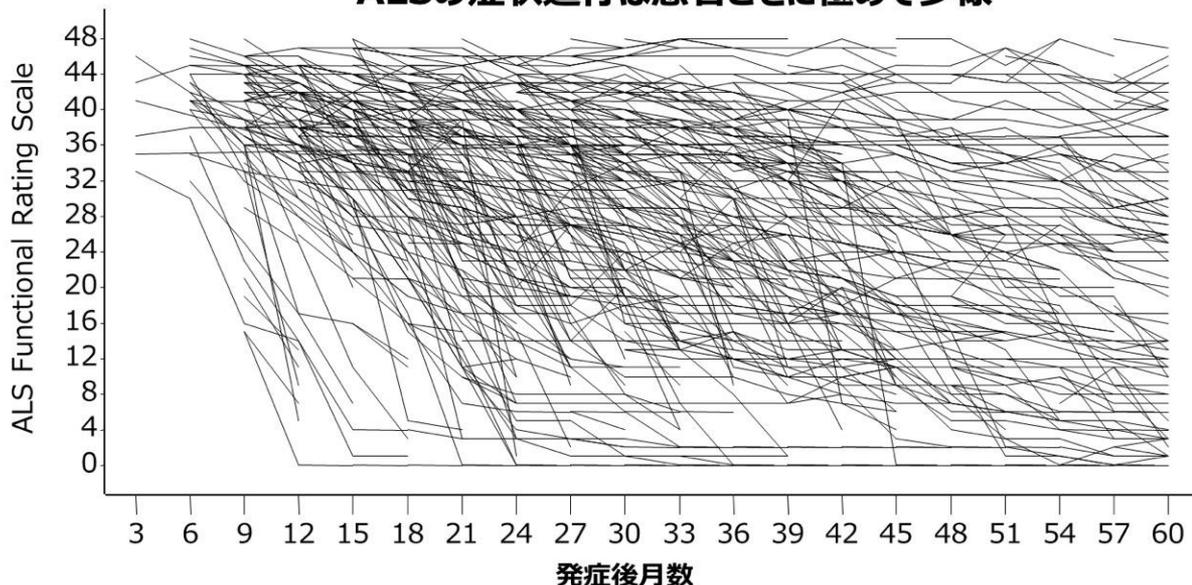
Guideline案より

In large phase 3 trials the trialist should consider in **particular stratifying** for riluzole use, trial site and disease progression.

Clinical trialists should **collect DNA from all participants** to allow genetic post-hoc analyses.

背景

ALSの症状進行は患者ごとに極めて多様



進行抑制効果を検出するためには、**進行パターンに影響する因子**を用いて、臨床試験参加患者を**層別化**する必要がある

進行、予後に影響する臨床的因子、遺伝子等を明らかにしておく必要がある

ALS Clinical Trials Guidelines 2016 議論されている内容 Responder analysis (enrichment) について

Guideline案より

The investigator may include **responder analyses (enrichment)** in their analysis of ALS clinical trial data, but these should be presented as hypothesis generating, rather than hypothesis confirming.

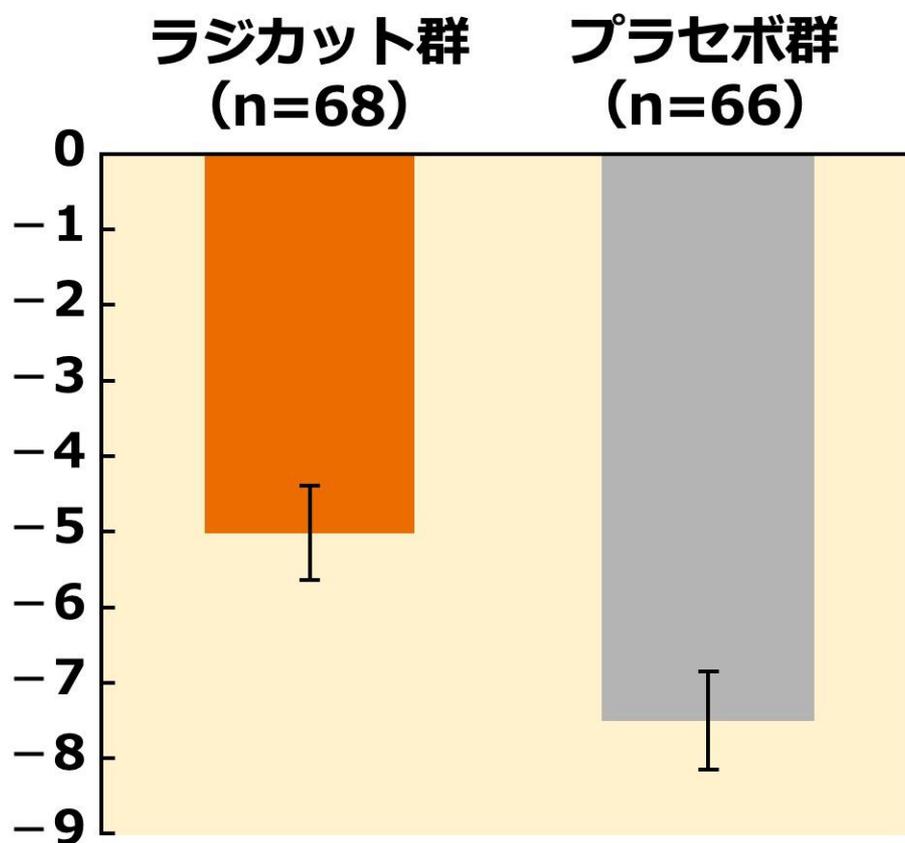
Enrichment designs implement screening or lead-in analysis to determine candidates most likely to benefit from treatment, thus reducing heterogeneity, and while criticism about biased effect estimates and lack of generalizability are important to bear in mind, **enrichment may substantively reduce ALS heterogeneity.**

背景

- ・日本において、約20年ぶりにALS治療薬としてエダラボンが承認
- ・日本でのメコバラミン第Ⅲ相治験において、全体では実薬と偽薬との有意差が示されなかったが、responder analysisの有用性が示唆される結果

Responder analysis エダラボン（ラジカット） 治験 検証的試験2回目 結果

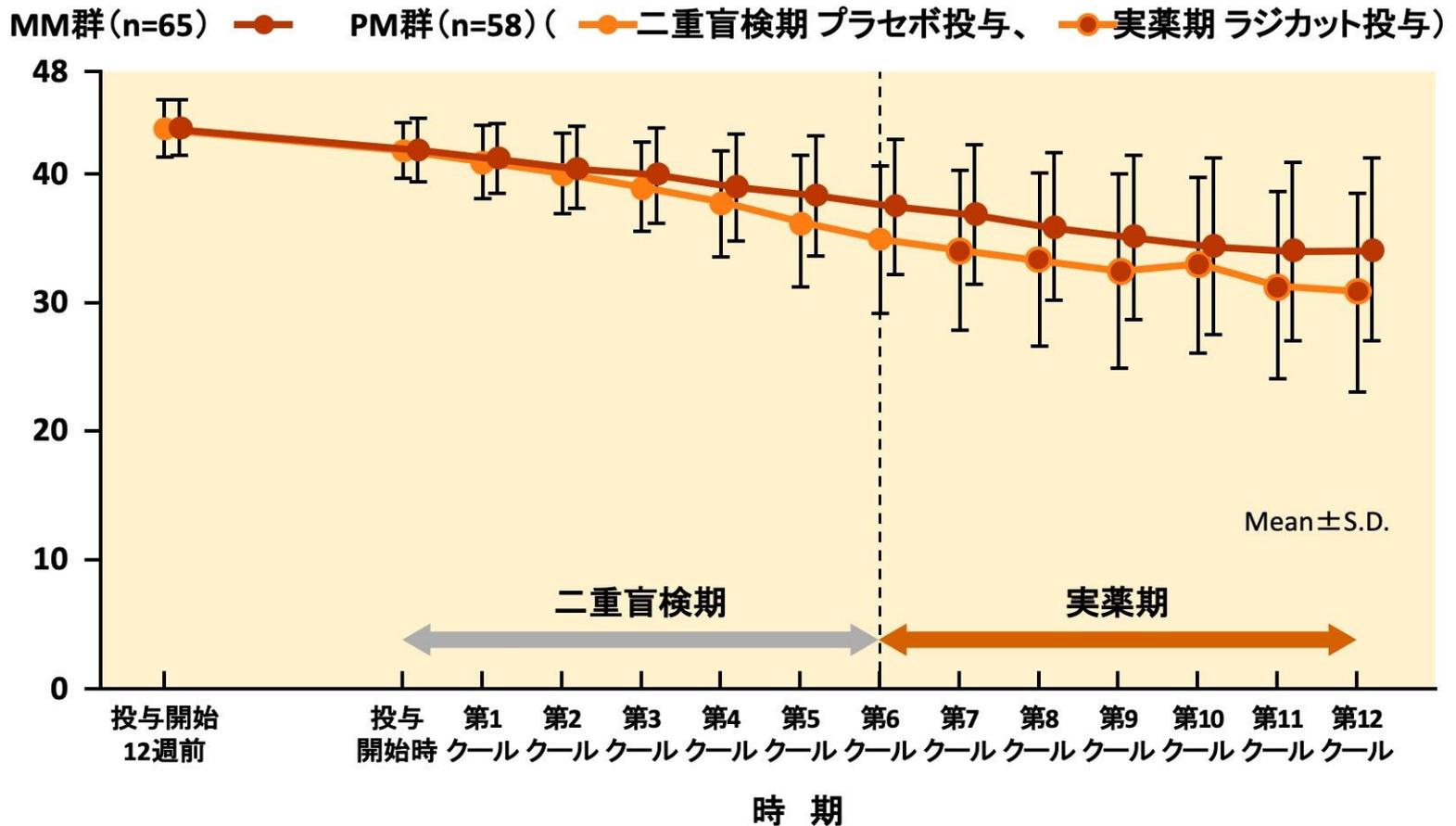
■ ALSFRS-Rスコア変化量（6クール、24週間）



投与群間差	
LSMean ± S.E.	2.49 ± 0.76
95%信頼区間	0.99 ~ 3.98
p値(共分散分析)	0.0013

Responder analysis エダラボン（ラジカット）治験 検証的試験2回目 結果

ALSFRS-Rスコアの推移



ALS Clinical Trials Guidelines 2016 議論されている内容

Real world evidenceの必要性

Guideline案より

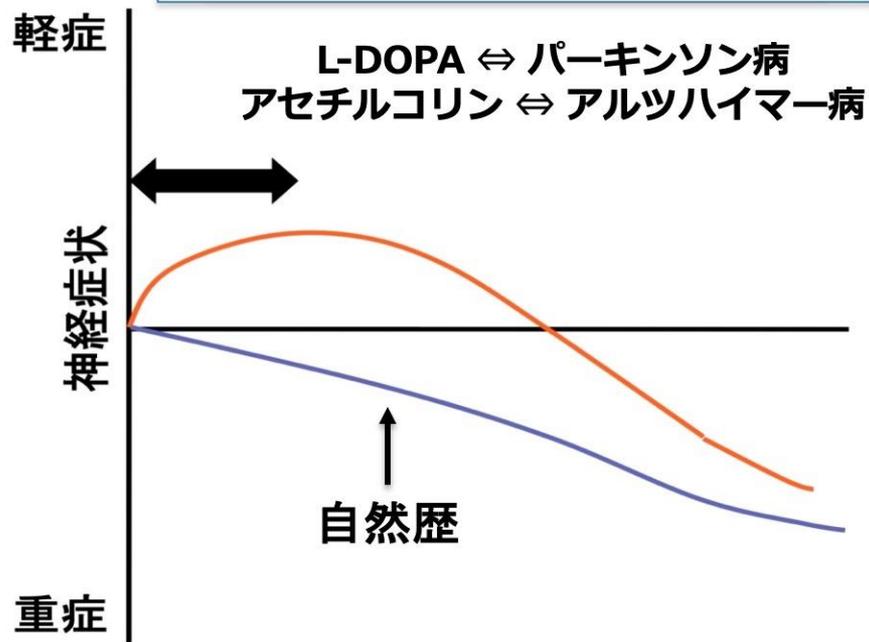
Successful interventions, both symptomatic and disease modifying, may benefit from subsequent evaluation in the pragmatic trial setting for **safety and efficacy in the 'real-world' ALS population**. Investigators **should perform well-designed pragmatic (Phase IV) trials** on therapeutic interventions for ALS symptoms and for ALS disease-modifying agents.

背景

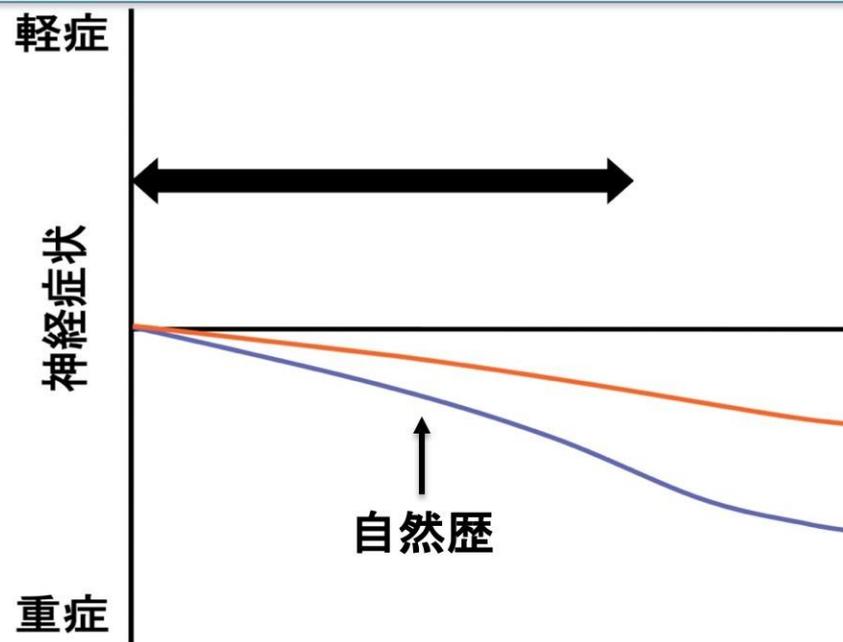
- ・ランダム化比較試験は半年～1年など、疾患の全経過に比して短い期間で実施される。長期的な経過や予後に与える影響、安全性は別に検証を要する。
- ・換気補助療法、ロボットリハビリ、brain machine interfaceなどランダム化比較試験は困難な治療介入を検証していく必要がある。
- ・長期的に患者情報をfollow upするレジストリデータが必要

Disease-modifying therapy(分子標的治療)と対症療法(補充療法)

対症療法／補充療法
Symptom relief therapy



Disease-modifying therapy
病態抑止治療／分子標的治療

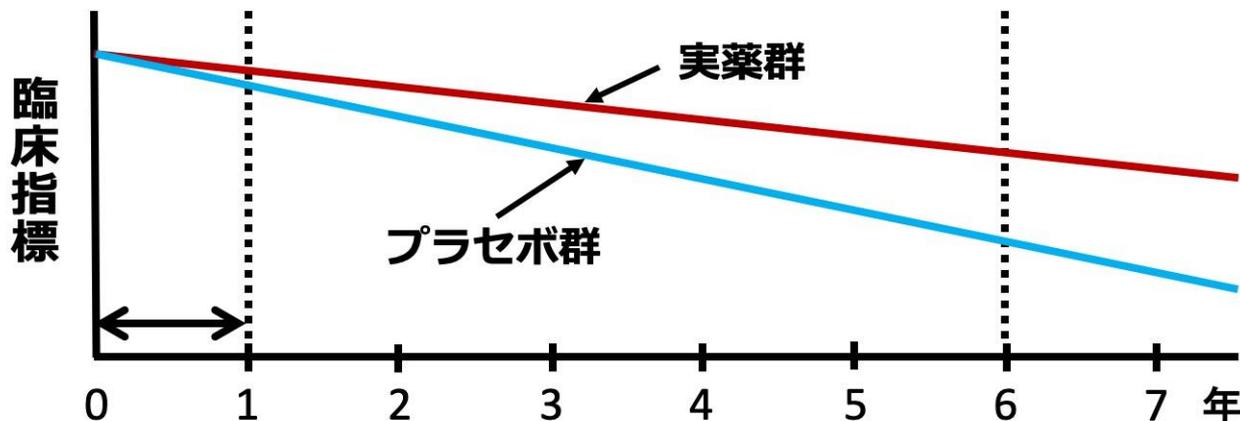


対象療法／補充療法に比べ、病態抑止治療の臨床試験ではデザインが重要

成人型神経変性疾患では、まだヒトでの確実な成功例はない

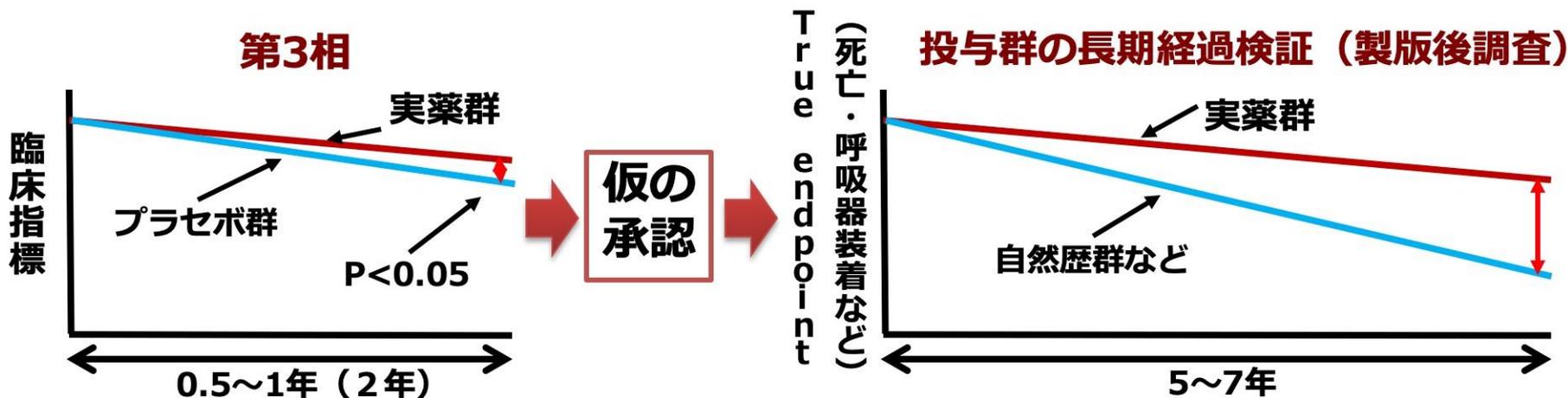
患者レジストリの利活用の一つ

神経変性疾患のDisease-modifying therapy (根本治療) 開発への 治験デザインの新たな考え方



Alzheimer's disease
Parkinson's disease
ALS, SBMA など
経過が10年以上に
わたる例もある

1年程度のRCT治験では、実薬群とプラセボ群の差 (Δ) は小さい。p値が有意で安全性があれば、承認を行う。
さらにtrue-endpointに対して自然歴群などとの長期 (5~7年) の対比から長期薬効と長期安全性を検証する。



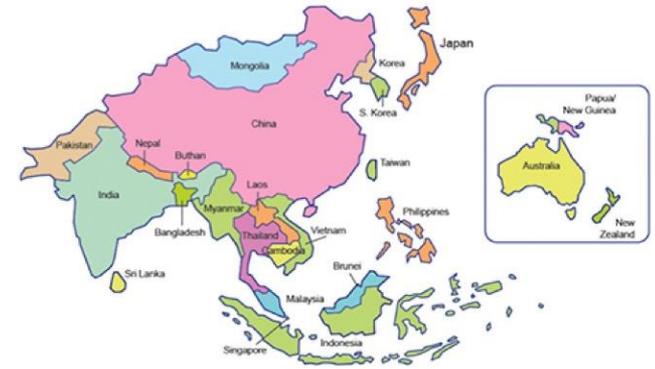
- 1、ALSに対するエダラボンのPMS長期検証 (自然歴 JaCALS, 7年)
- 2、SBMAに対するリュープリンのPMS長期検証 (SBMAの自然歴 SBMA, 8年)

国際共同研究への展開

PACTALS

Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in ALS

アジア、オセアニアのALS研究コンソーシアム
日本、オーストラリア、中国、韓国、インド、
インドネシア、マレーシア、シンガポール、
台湾、ミャンマー、ニュージーランドが参加



2014年から定期的に会合。当初から日本は祖父江を中心に参加
定期的な学術ミーティングに加えて、レジストリベースの国際共同研究を構想
2020年9月に日本（名古屋）で学術ミーティング開催予定

JaCALS参加施設

東北大学	鈴木直輝 青木正志	宮城病院	伊藤博明
新潟大学	石原智彦 小野寺理	岡山大学	太田康之 山下徹
自治医科大学	森田光哉		阿部康二
東京都立神経病院	川田明広	国立精神神経医療研究センター	高橋祐二
静岡てんかん神経医療センター	小尾智一	京都府立医科大学	辻有希子 能登祐一 中川正法
東名古屋病院	橋本里奈 饗場郁子	三重大学	谷口彰
名古屋大学	祖父江元	相模原病院	長谷川一子
ビハーラ花の里病院	織田雅也 和泉唯信	東京大学	石浦浩之 辻省次
順天堂大学	金井数明 服部信孝	横浜市立大学	土井宏 竹内英之 田中章景
徳島大学	和泉唯信 梶龍兒	京都大学	綾木孝 高橋良輔
鈴鹿病院	久留聡 酒井素子	鳥取大学	渡辺保裕 中島健二
	小長谷正明	山梨大学	長坂高村 瀧山嘉久
拓海会神経内科クリニック	藤田拓司	東京病院	中村美恵
群馬大学	藤田行雄 池田佳生	北海道大学	高橋育子 佐々木秀直
静岡富士病院	溝口功一	東邦大学大森病院	狩野修
東京医科大学	相澤仁志	千葉大学	澁谷和幹 桑原聡
東京医科歯科大学	赤座実穂 叶内匡 横田隆徳	九州大学	白石歩 吉良潤一

理化学研究所 池川志郎、東北メディカルメガバンク 長崎正朗、慶應大学 岡野栄之
名古屋大学 神経内科 熱田直樹、中村亮一、林直毅、横井大知、渡辺はづき、藤内玄規
伊藤瑞規、渡辺宏久、石垣診祐、千田譲、曾根淳、勝野雅央、祖父江元
先端医療・臨床研究支援センター 中枿昌弘