

創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
事後評価報告書

研究開発課題名	tRNA 修飾異常に起因した 2 型糖尿病のコンパニオン診断薬開発を目指した臨床研究
代表機関名	熊本大学大学院生命科学研究部
研究開発代表者名	富澤 一仁
全研究開発期間	平成 26 年 5 月 16 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

1. 研究開発成果

- ・エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性・安全性を検証する臨床試験

エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性・安全性を検証する臨床試験を行った。PMDA との薬事相談後、臨床試験プロトコルを作成し、学内臨床研究倫理委員会、ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会ならびに COI 委員会に本臨床研究を申請し、承認を得た。熊本大学医学部附属病院に通院している 2 型糖尿病患者を Cdkal1 遺伝子に関してリスクアレル群とノンリスクアレル群に分け、エペリゾン 50 mg を 1 日 3 回毎食後 12 週間経口投与し、安全性および有効性について検討した。48 名が本臨床試験にエントリーし、その内の 46 名に対して試験を完遂した。安全性に関しては、重篤な副作用を示す被験者はいなかった。HbA1c は、リスクアレル群とノンリスクアレル群のいずれの群においてもエペリゾン服用開始前と 3 か月間服用後で差は認められなかった。tRNA^{Lys}(UUU)のチオメチル化修飾率は、エペリゾンの服用により有意に上昇した。エペリゾン服用開始前の修飾率を低い群と高い群に区分し、修飾率変化を検討した結果、修飾率が低い群ではエペリゾンの服用により修飾率が上昇したが、高い群では差は認められなかった。また、エペリゾン服用により C ペプチド分泌 (dCRP) が有意に上昇した。dCRP を修飾率が低い群と高い群で比較すると、修飾率が低い群でのみエペリゾンの服用により dCRP が上昇した。

- ・tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を診断するコンパニオン診断キットの開発

末梢血から tRNA^{Lys}(UUU)のチオメチル化修飾を定量する技術の標準化を行い、tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を診断するコンパニオン診断キットの開発を行った。ヒト末梢血から分離した血球成分からトータル RNA を精製し、ヒト tRNA^{Lys}(UUU)を直接逆転写し、その逆転写産物を定量 PCR することにより tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を定量する技術の標準化を行い、末梢血サンプルの保存方法、逆転写酵素の最適化、定量 PCR 機器の設定を行った。

tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾定量解析キットを作成した。キットの内容は、特異プライマーとコントロールプライマー、逆転写酵素、PCR 酵素、PCR 溶液、dNTP 混合液から構成されるものとした。RNA 精製には、RBC leucolysis キットおよび Total RNA isolation

キットを用いることとした。さらに、本キットのバリデーションを行った。バリデーションとして、Cdkal1 の各アレル保有者の末梢血から tRNALys(UUU)チオメチル化修飾を解析した。感度、精度、データの安定性、簡便性などについて評価した。とくに感度と精度については、質量分析法のデータと比較検討し、PCR の温度や時間のバリデーションを行い、tRNALys(UUU)チオメチル化修飾定量解析キットを完成させた。さらに、ヒト末梢血を用いて開発したキットの性能評価を実施した。ボランティア健康人から静脈血を 2 ml 採血し、トータル RNA を精製し、上記キットを用いて、チオメチル化修飾について定量解析を行った。ポジティブコントロールとして、同一トータル RNA から tRNALys(UUU)を精製後、質量分析法にてチオメチル化修飾を解析し、解析結果が一致するか検討したところ、99%以上の一致率であった。

2. 総合評価

- ・優れている

【評価コメント】

- ・患者数が熊本地震のために予定の半数程度になったものの、tRNA チオメチル化修飾とエペリゾンによる C ペプチド分泌上昇の関係が臨床試験で示されたことは意義がある。このメカニズムは確認できたが、HbA1c には影響がなかった。
- ・今後、研究を継続するにあたっては、tRNA チオメチル化修飾を標的としたより効果の高い化合物の探索など、より実用化を考慮した方向性を見いだす必要がある。

以上