

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
本格研究開発ステージ シーズ育成タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: 糖尿病性腎症に特異的な診断方法の確立と治療ターゲットの同定
プロジェクトリーダー	: ヒュービットジェノミクス(株)
所属機関	: ヒュービットジェノミクス(株)
研究責任者	: 土井 俊夫(徳島大学)

1. 研究開発の目的

糖尿病は今世紀の最重要課題であるが、その中でも特に糖尿病性腎症への対策は最も重要な命題である。糖尿病性腎症は2型糖尿病の30%以上が発症し、また糖尿病性腎症は末期腎不全の主たる原因であり、末期腎不全症例の約40%が糖尿病に由来するものである。さらに糖尿病性腎症は糖尿病罹患者の主たる死因である心血管系の合併症を併発しやすい。現在、糖尿病性腎症の診断方法として、尿蛋白や尿中アルブミン測定が行われているが、これらの診断方法は、臨床的意義はあるが、特異的な診断方法ではなく、この検査による診断を経て実施されている糖尿病性腎症の治療は必ずしも適切な医療になっていないことが考えられる。

糖尿病性腎症の特異的な所見は腎生検による病理検査で確認され、糸球体メサンギウム基質の増生(メサンギウム基質拡大)と糸球体基底膜の肥厚を特徴とする。特にメサンギウム基質拡大の程度は腎機能(糸球体濾過率)低下と密接に関連しており、メサンギウム基質拡大をターゲットとした診断法および治療法の開発が必須である。我々はこの糖尿病性腎症の特異的な病理学的特徴であるメサンギウム基質拡大をターゲットとした成因解析を進めており、Bone Morphogenic Protein 4(BMP4)/Smad1経路が糖尿病性腎症を惹起する決定的な責任分子であることを明らかにしている。このSmad1をターゲットに糖尿病性腎症特異的な診断方法を確立すると共に、BMP4/Smad1経路が糖尿病性腎症発症にどのように寄与しているかを解明し、糖尿病性腎症の根本治療につながる標的分子を同定することを目的としている。

2. 研究開発の概要

①成果

糖尿病性腎症責任分子の一つであるSmad1は腎臓糸球体では転写因子として合成され、病態においては尿中に排泄されることから、当該プログラムでSmad1測定系(HBG101試作品)を開発することを目的としてきた。

ELISA測定系開発に関しては、およそ3,000種類のモノクローナル抗体(A社の共同開発)からSmad5との交差反応をしない抗体を組み合わせて検討してきたが、研究の結果、尿中Smad1は3量体を構成することが判明し、単純なモノクローナル抗体の組み合わせでは測定系が困難なためSmad1測定キット(HBG101のElisaキット)構成はMono-Pori抗体の組み合わせとなっていた。当該研究期間においてmono-mono抗体系確立すべくSmad1人工3量体を作成し、これら抗体を含めたHBG201の測定計を検討するために温度条件ならびにバッファーの再点検を実施し、病理所見を有する尿サンプルでの測定、さらに病理所見は有さないが糖尿病性腎症強く疑われる症例に対してHBG101を用いた検証を非盲検、盲検試験等を含め約100,000assay実施した。この結果、25度恒温下においては安定した測定性能を有する系を確立できた。したがって、今後の開発はHBG101を研究用試薬として発売し、同時に当該測定系を用いた医師主導臨床研究で糖尿病性腎症の診断に対する有効性情報を蓄積し、これをもって公知申請を行うこと、欧州におけるCEマーキングの取得を行うこととした。

一方、糖尿病性腎症のバイオマーカーとして Smad1 が有用であるとの前提から、当該診断キットを「コンパニオン診断薬」と位置づけ、Smad1 をマーカーとして創薬開発の可能性を検討するために糖尿病性腎症の遺伝子解析によるターゲット分子との関連を検討してきた。この結果、1次スクリーニングでは Smad1 上流のパスウェイに存在する分子の2SNP に有意に関与する SNP をみいだしたが、type1エラーの存在を否定できなかった。候補遺伝子の探索は糖尿病性腎症ならびに糖尿病性腎症症状を強く疑われる症例を対象としたことから、この結果は「症例数の不足による検出力の不足」あるいは「糖尿病性腎症の診断の多様性の結果、遺伝子の寄与する数と種類の多様性」によるものかは判断できなかった。

しかしながら、本開発テーマと平行して実施してきた試験の結果、Smad1 上流分子の一つ BNP4 のトランスジェニックマウスでは無負荷状態では糖尿病性腎症を発症しないが、糖尿病を負荷することで腎症我発症することを突き止めた。このことは上流分子(シグナルトランスダクション系あるいは受容体系)で Smad1 の制御が可能なことを示しており、創薬ターゲット分子が Smad1 パスウェイに存在することを示す根拠と考えた。以上の結果を含め従来 Smad1 の立体構造をもとに化合物スクリーニングを実施する計画であったが、将来の計画を変更し Smad1 をマーカーとした薬剤スクリーニング系を開発し創薬開発ターゲットのスクリーニングをライセンスアウトしたい。Smad1 診断キット HBG101 は B 社へのライセンスアウトが決定しており、今後は臨床開発に進む。また創薬に関してはスクリーニング系の開発を行うとともにライセンスアウト先を模索する。

研究開発目標	達成度
① 糖尿病性腎症診断方法としての Smad1 測定系の確立	①100%(3000 種類の抗体の取得し、最適な抗体組み合わせ選択と反応型を検討し、HBG101 として最適な反応系を確立した。)
② 糖尿病性腎症発症に関わる因子の同定	②95%(糖尿病性腎症遺伝子多型解析を Case-Control 研究として実施し、さらに Smad1 パスウェイ遺伝子改変動物の作成し、BMP 創薬ターゲットとして確認した。)
③ 糸球体硬化病変との相関性解析	③100%(糖尿病腎症の病理所見と尿中 Smad 相関性をヒトならびに動物で証明した。)
④ 腎障害予知マーカーとしての有用性の確認	④100%(糖尿病モデル動物ならびにヒトの5年間追跡研究で Smad1 尿中レベルが腎症発症の予測因子であることを立証した。)
⑤ 糖尿病性腎症以外のマーカーとしての有用性確認	⑤100%(IgA 腎症、糖尿病性網膜症ならびに腎機能低下例での尿中 Smad1 解析、血中アデポネクチン等との相関解析を実施し、糸球体硬化を起こす疾患の応用可能性を確認、眼房水ならびに血中での測定の可能性も確認した。)

②今後の展開

Smad1 診断キット HBG101 は B 社へのライセンスアウトが決定しており、今後は臨床開発に進む。また創薬に関してはスクリーニング系の開発を行うとともにライセンスアウト先を模索する。

3. 総合所見

ヒト尿中 Smad1 をマーカーとした診断方法を確立し、治療ターゲットとして BMP4 を同定したことは高く評価出来る。

本課題で達成された成果は、研究用検査試薬として具体的に企業化されつつあるが、診断薬として広く医療現場で使用されるには、Smad1 の尿中濃度と病態の相関関係の解明等、Smad1 の臨床的意義をさらに明確にする必要がある。コホート研究のハードルは高いが、是非継続して研究開発を推進していただきたい。

将来的には、診断薬として用いられることにより、現在より早期に疾患の診断が可能となることが期待され、早期治療も可能となることから、増大する医療費の削減に大きく貢献する可能性がある。

学術的にも広く認められれば、当初の目標以外にもビジネスチャンスが広がり、その後の展開に大きな期待が持てる。産学連携のもと、次のステップに挑戦していただきたい。