

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07892

研究課題名（和文）GDF15を用いたミトコンドリア病・メタボリック症候群に対する創薬の基盤研究

研究課題名（英文）Basic research of GDF15 therapy for mitochondrial diseases/metabolic syndrome

研究代表者

古賀 靖敏（Koga, Yasutoshi）

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：00225400

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ミトコンドリア病の診断バイオマーカーとしてGDF15を発見、国内特許（P6711966）を取得し、株式会社医学生物学研究所（MBL）と共同で、世界で使用されている自動汎用検査機器に搭載可能な新たな診断デバイス（LTIAデバイス）を開発し、その臨床的有用性を検証した（J Inherit Metab Dis. 2021;44(2):358-366）。この新しいデバイスを用いると、GDF15の測定を10分という測定時間（迅速）でしかも全自動で大量の検体が一度に処理可能となる。その診断性能は、感度94.0%、特異度91.0%であり、診断薬として有用であることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GDF15は、細胞が障害された場合に誘導されるTGF 遺伝子ファミリーに属する生体内活性物質であり、その生物学的意義はいまだ不明である。今回、GDF15のミトコンドリア病に対する診断薬を開発したことで、未診断症例の早期発見や早期治療が可能となる。また、診断薬としての適応症取得や薬価収載になる事で、今まで解明されていない種々の病気、病態における研究が可能となり、GDF15の生物学的意義も解明されるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：We have identified GDF15, a new diagnostic biomarker for mitochondrial disease, and obtained the patent (P6711966). Under the collaborative study with Medical and Biological Laboratories Co., Ltd. (MBL), we developed a new diagnostic device (LTIA device) as an automated diagnostic indication test for MDs, and examined the equivalency of specificity and sensitivity in measuring serum GDF15 concentrations. The sensitivity and specificity of LTIA device showed 94% and 91%, respectively. The LTIA device of GDF15 may be a sufficiently reliable, frontline, diagnostic indicator of individuals with suspected MDs in the general population.

研究分野：先天代謝異常

キーワード：GDF15 診断薬 感度 特異度 サイトカイン ミトコンドリア病 バイオマーカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

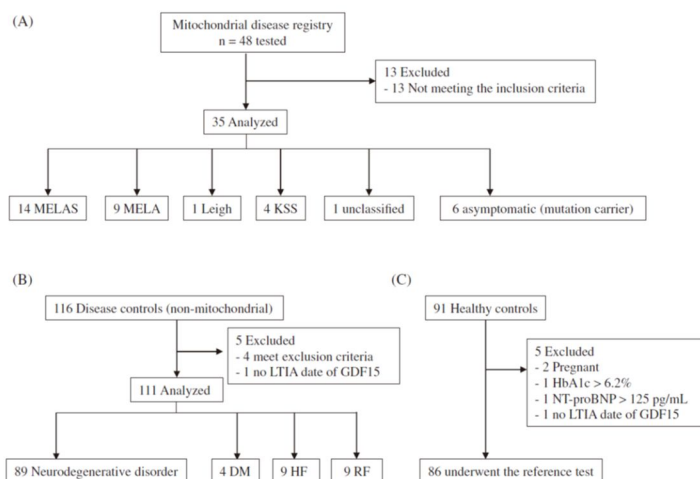
ミトコンドリア病を確実に診断できるデバイスは未だ開発されていない。GDF15 は、細胞が障害された場合に誘導される TGF 遺伝子ファミリーに属する生体内活性物質であり、これまで MIC1、TGF-PL、PDF、PLAB、PTGFB など、多くの呼称で呼ばれていた。しかしながら、その生物学的意義はいまだ不明である。我々は、ミトコンドリア病の診断バイオマーカーとして GDF15 を発見、感度・特異度 98% として報告し (Mitochondrion. 2015;20c:34-42, Annals of neurology. 2015;78(5):814-23, Nat Rev Dis Primers doi:10.1038/nrdp.2016.80) 国内・国際特許を出願 (特願 2014-005391、PCT/JP2015/50833) 株式会社医学生物学研究所 (MBL) と共同で診断バイオマーカーとしての体外診断薬の開発を行っている。GDF15 は、ヒトでは胎盤で最も高活性を示すことから、器官形成期の筋 (心筋・骨格筋) 神経などの細胞分化誘導にも重要な作用を有すると考えられている。一方、出生後に一度非活性化された GDF15 は、ミトコンドリア病や心不全、腎不全のようなエネルギー代謝不全状態で細胞が障害された場合、再活性化のシグナルを受けると考えられる。したがって、細胞障害時やエネルギー不全時の核とミトコンドリア遺伝子間のネットワーク機構に破綻を来した場合、直接的もしくは間接的に誘導される物質と考えられる。また、最近、GDF15 が細胞の品質管理 (autophagy) に関与する可能性が報告され、GDF15 の治療的可能性が広がってきた。我々は、この GDF15 を用いたタンパク補充療法をミトコンドリア病患者もしくはメタボリックシンドロームの創薬ターゲットとして開発する可能性を探る意味で、簡易診断薬を開発し、GDF15 の生物学的意義を解明する事を計画した。

2. 研究の目的

GDF15 のペプチドを利用した補充治療により、ミトコンドリア病の細胞モデルおよびマイトマウスを用いた動物モデル、もしくは肥満、インスリン抵抗性および高血糖を来すメタボリックシンドロームのモデルマウス (db/db マウス: レプチンレセプターの異常) で、機能もしくは症状の改善を検証できれば、ヒトに対する first-in-human の治療法としての道が開かれる。本研究で使用するミトコンドリア病の細胞モデル (MELAS 型変異を有するサイブリド細胞) は、研究代表者がコロンビア大学で作成したオリジナルの細胞群であり、その生物学的特性はすでに報告している (Mol Cell Biol. 1992;12(2):480-90)。また、in vivo 研究で使用するミトコンドリア病マウスモデル (マイトマウス) は、世界初のミトコンドリア DNA 欠失モデルであり、久留米大学へ赴任した小笠原博士が筑波大学の中田研究室から分与されたものである (Nature Med. 2001;77:934-940)。これら世界でも貴重なミトコンドリア病疾患モデルでの基盤研究が可能なのも本研究の特筆すべき特徴である。しかしながら、これらのミトコンドリア動物モデルは、飼育が非常に困難で、研究に使用するまで十分な数が確立できない事が判明した。したがって、GDF15 の臨床的有用性を確立する目的で、かねてより MBL と共同開発している GDF15 の迅速測定デバイスであるラテックス法を用いた診断キット LTIA デバイスの臨床性能試験を実施し、その生物学的意義に関し解明する事とした。

3. 研究の方法

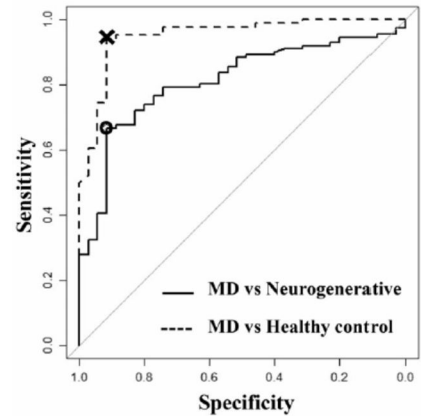
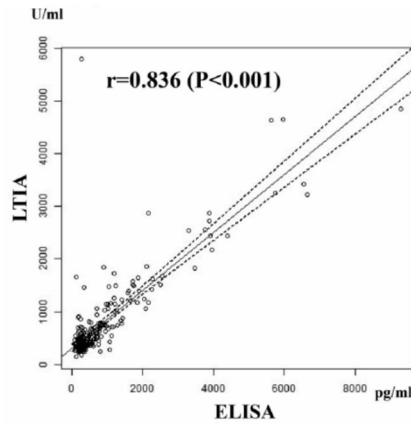
ELISA 法による GDF15 の測定を自動化するために、MBL と共同で、新たに Latex 体外診断薬を開発し、その臨床性能試験を実施した。開発した Latex を用いた新しいデバイスは、Latex ビーズに GDF15 に対する 2 種類のモノクローナル抗体をコーティングしたもので、国内の病院で使用される全自動測定機器に搭載可能な汎用品となっている。このデバイスの臨床性能試験を行うために、国内 7 施設のミトコンドリア病診療施設と MBL とで共同研究を行った。検体は、遺伝的に確定したミトコンドリア病 48



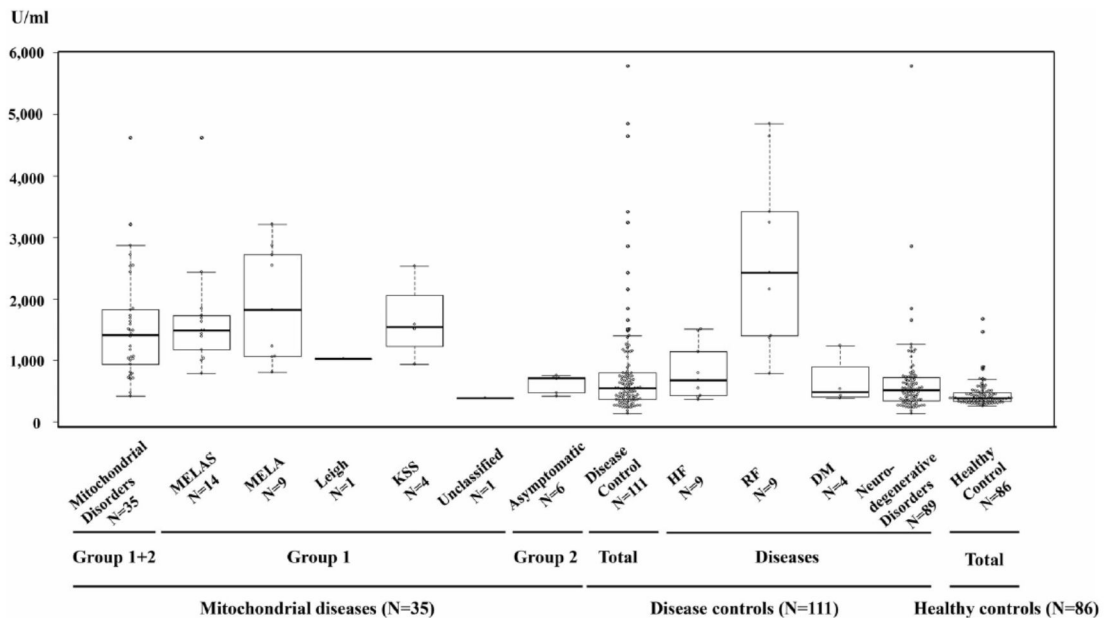
例、疾患コントロールとしての総数 116 名 (内訳は、非ミトコンドリア病で受診中の心不全 9 例、腎不全 9 例、糖尿病 4 例、および神経筋疾患の患者群 89 名、除外 5 名) 治療薬を使用していない正常群 91 名であった。血清の GDF15 の測定を今までの測定法である ELISA 法、および LTIA デバイスで測定し、両者の有用性に関する比較検討を行い、臨床使用が可能かどうかを検証した。また、ミトコンドリア病の診断における感度、特異度およびカットオフを算出した。

4. 研究成果

LISA 法と LTIA 法による測定値は、相関係数 0.836 と良好な相関を示した。新たに開発した LTIA デバイスは、正常群と比較してミトコンドリア病は、感度 94% 特異度 91% の確率で、診断できることを明らかにした。また、ミトコンドリア DNA の遺伝子変異を有するものの、臨床的には治療適応の無い oligosymptomatic 群では、明瞭なミトコンドリア病と正常群とも層別



が可能であることも判明した。非ミトコンドリア病がはっきりしている神経筋疾患は、全体的にはミトコンドリア病に比較して有意に値が低かったが、正常群と比較すると有意に高値であった。この新しいデバイスは、世界の病院で採用されている汎用自動測定機器に搭載可能である。血清 0.3ml で測定時間 10 分、一時間に 1,000 検体が処理可能となっているハイスループットデバイスである。この新規デバイスは、2021 年 9 月 28 日に医薬品医療機器総合機構 (PMDA) に診断薬としての適応症を申請した。今後は、薬価収載後に世界販売する計画である。この開発により、専門医がいない僻地の病院でも、効率よくミトコンドリア病の診断が可能となり、早期に発見できたミトコンドリア病をより早期の治療へ結びつけることが可能となる。この研究は、ミトコンドリア病の分野では画期的開発であり、トランスレーショナルリサーチの成功例である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Koga Y, Wei YH, Tanaka M.	4. 巻 1864
2. 論文標題 Mitochondrial research in Asia: A step for the mito-global conference	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Acta-general	6. 最初と最後の頁 129638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2020.129638	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koga Y, Povalko N, Inoue E, Ishii A, Fujii K, Fujii T, Murayama K, Mogami Y, Hata I, Ikawa M, Fukami K, Fukumoto Y, Nomura M, Ichikawa K, Yoshida K	4. 巻 44
2. 論文標題 A new diagnostic indication device of a biomarker growth differentiation factor 15 for mitochondrial diseases: From laboratory to automated inspection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of inherited metabolic disease	6. 最初と最後の頁 358-366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jimd.12317	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsui M, Yamadera M, Saito T, Fujimura H, Sakoda S, Koga Y	4. 巻 7
2. 論文標題 Biomarker changes associated with clinical symptoms in MELAS patient	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurol Clin Neurosci	6. 最初と最後の頁 344-346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ncn3.12325	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nohara S, Ishii A, Yamamoto F, Yanagiha K, Moriyama T, Tozaka N, Miyake Z, Yatsuga S, Koga Y, Hosaka T, Terada M, Yamaguchi T, Aizawa S, Mamada N, Tsuji H, Tomidokoro Y, Nakamagoe K, Ishii K, Watanabe M, Tamaoka A	4. 巻 405
2. 論文標題 GDF-15, a mitochondrial disease biomarker, is associated with the severity of multiple sclerosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the neurological sciences	6. 最初と最後の頁 116429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2019.116429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kagiyama Y, Yatsuga S, Kinoshita M, Koteda Y, Kishimoto S, Koga Y, Suda K.	4. 巻 75
2. 論文標題 Growth Differentiation Factor 15 as a useful biomarker of heart failure in young patients with unrepaired congenital heart disease of left to right shunt	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 697-701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2019.12.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kadoya T, Sakakibara A, Kitayama K, Yamada Y, Higuchi S, Kawakita R, Kawasaki Y, Fujino M, Murakami Y, Shimura M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y, Koga Y, Yorifuji T.	4. 巻 32
2. 論文標題 Successful treatment of infantile-onset ACAD9-related cardiomyopathy with a combination of sodium pyruvate, beta-blocker, and coenzyme Q10	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pediatr Endocrinol Metab	6. 最初と最後の頁 1181-1185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/jpem-2019-0205.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koga Y, Povalko N, Inoue E, Nashiki K, Tanaka M.	4. 巻 48
2. 論文標題 Biomarkers and clinical rating scales for sodium pyruvate therapy in patients with mitochondrial disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mitochondrion	6. 最初と最後の頁 11-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2019.02.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Koga Y
2. 発表標題 Mitochondrial biomarker GDF15: usefulness and development of diagnostic device from laboratory inspection to automated inspection
3. 学会等名 Mitochondrial Medicine 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koga Y.
2. 発表標題 Clinical update: Treatment of mitochondrial disorders.
3. 学会等名 16th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine (ASMRM 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koga Y.
2. 発表標題 Therapeutic regimen of L-arginine for MELAS and the development of new biomarker GDF15.
3. 学会等名 Symposium "Interactions: Dream" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八ツ賀 秀一
2. 発表標題 ミトコンドリア病のバイオマーカー
3. 学会等名 第60回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
研究 分担 者	八ツ賀 秀一 (Yatsuga Shuichi) (10454919)	久留米大学・医学部・講師 (37104)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	喜多村 美幸 (Kitamura Miyuki) (70772911)	久留米大学・医学部・助教 (37104)	

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