

201433001A

厚生労働科学研究委託費

創薬基盤推進研究事業

(委託業務題目) 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

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 富澤 一仁

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（創薬基盤推進研究事業）による委託業務として、富澤一仁が実施した平成26年度「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」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
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	----- 1
富澤 一仁 （資料 1）臨床研究実施計画書	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 業務項目 1	
tRNA ^{Lys} (UUU) チオメチル化修飾を標的とした コンパニオン診断技術の開発	----- 53
富澤一仁、魏 范研、井上 謙吾 （資料 2）tRNA ^{Lys(UUU)} チオメチル化修飾解析手順書	
2. 業務項目 2	
2 型糖尿病に対する新規治療薬の開発	----- 65
厚生二郎	
III. 学会等発表実績	----- 69
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 71

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

業務主任者 富澤 一仁 熊本大学大学院生命科学研究部・教授

研究要旨

【目的】アジア型 2 型糖尿病に特有の危険因子 *Cdkal1* に着目した新規糖尿病治療薬、ならびに同コンパニオン診断薬を創出し、糖尿病領域で世界初となる個別化医療を実現することを目的とする。

【必要性】2 型糖尿病においては、アジア人種の病態がヨーロッパ人種のものとは異なり、アジア人種、特に日本人では遺伝的素因に基づく膵β細胞のインスリン分泌能の低下が病態に関与すると考えられている。このため、アジア人においてはインスリン分泌改善を作用機序とする SU 薬や DPP-4 阻害薬などの効果が欧米人に対し大きいとされ、アジア人種の 2 型糖尿病に対してはこれらのインスリン分泌促進系の薬剤による治療が不可欠となっている。しかしながら、SU 薬は長期投与による体重増加、二次無効、さらには低血糖の危険性の問題があり、一方 DPP-4 阻害薬は単独投与では低血糖のリスクが低いものの、長期投与時の作用の減弱や膵炎・膵癌発症に対する懸念などの問題点がある。これらの点から、長期に安全かつインスリン分泌を改善する作用を有する治療薬の開発のニーズは依然高く、特に、インスリン分泌改善能を評価したうえで、より安全かつ効果的な治療を行う、個別化治療の開発が必要とされる。

【成果】① tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の開発：ヒト末梢血から分離した血球成分から 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 機器の設定が終了した。また、PMDA との事前相談を行った。

② 2 型糖尿病に対する新規治療薬の開発：エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究についてプロトコルの作成が終了した。作成したプロトコールについて、PMDA と事前相談を行った。そして、そのプロトコールを基とした臨床研究について、学内臨床研究倫理委員会ならびにヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会に申請し、承認を得た。臨床研究チームを発足し、臨床研究の手順書の作成が完了した。

業務項目①

tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の開発：

- ・富澤一仁・熊本大学・教授
- ・魏 范研・熊本大学・助教
- ・井上 謙吾・静岡県産業振興財団ファルマバレーセンター・名誉所長

業務項目②

2型糖尿病に対する新規治療薬の開発：

- ・富澤一仁・熊本大学・教授
- ・荒木栄一・熊本大学・教授
- ・井上 謙吾・静岡県産業振興財団ファルマバレーセンター・名誉所長
- ・角間辰之・久留米大学・教授
- ・下田誠也・熊本大学・講師
- ・瀬ノ口隆文・熊本大学・特任助教

A. 研究目的

2型糖尿病に対する個別化医療の実現化を目指し、タンパク質翻訳精度を向上させる効果を有する2型糖尿病に対する新規治療薬の開発とtRNA^{Lys}(UUU)のチオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の開発のための臨床研究を実施することを目的とする。

このうち、2型糖尿病に対する新規治療薬の開発では、エペリゾンの2型糖尿病患者への有効性を検討する臨床研究を実施する。また標的としたコンパニオン診断技術の開発では、コンパニオン診断技術を確立し、エペリゾンの血糖値改善効果とtRNA^{Lys}(UUU)のチオメチル化修飾に相関性があるか検討する臨床研究を実施する。

B. 研究方法

① tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の開発：

i. Good Laboratory Practice (GLP)に準拠したコンパニオン診断技術の確立

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った。まず、採血後の血液保存状態が tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾に及ぼす影響を調査するために、健常人ボランティアから採血した血液を以下の条件で保存した。

- ・氷上で30分、1時間、2時間、24時間
- ・室温で30分、1時間、2時間、24時間

その後、3,000rpm/分で遠心し、血球成分をトリゾールで可溶化した。そしてトータル RNA を精製し、精製した RNA を従来我々が開発した定量 PCR 法を応用した tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾解析技術を用いて、tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾について比較検討した。

次に RNA 精製法についてトリゾールを用いたフェノールとグアニジンイソチオシアネートの単相溶液精製法と miRNeasy Mini kit を用いたシリカスピンカラム法で、tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾の検出に差が認められるか検討した。健常人ボランティアから採血した血液を直ちに遠心し、血球成分と血清成分に分画した。分画した血球成分から、トータル RNA をトリゾールならびに miRNeasy Mini

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

委託業務成果報告（総括）

kit で精製した。その後、tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾解析技術を用いて、tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾について両者で比較検討した。

tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾解析に用いる定量 PCR 機器について、使用する機器によって tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾の測定結果に差があるのか検討した。野生型 (WT) マウスと Cdkal1 欠損 (KO) マウスの肝臓からトリゾールを用いてトータル RNA を精製した。

比較検討した機器は、以下の 3 種類である。

・Veriti 96 皿サーマルサイクラー（アップライド・バイオシステムズ社）

・サーマルサイクラー ダイスレッドシステム TP800（タカラバイオ社）

・サーマルサイクラー ダイスレッドシステム TP870（タカラバイオ社）

ii. tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術に関する臨床研究について PMDA との事前相談

2 型糖尿病に対する tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の臨床研究計画について PMDA と事前相談を行い、コンパニオン診断薬開発のための臨床研究プロトコール作成に資した。

② 2 型糖尿病に対する新規治療薬の開発

i. エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究についてプロトコール作成

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、両群に

エペリゾンを 12 週間投与し、tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾率と HbA1c の変化量の相関性を主要評価項目とした臨床研究に関するプロトコールを作成した。

ii. エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究について PMDA との事前相談

i で作成したプロトコールに準じた臨床研究計画について PMDA に事前相談し、プロトコールの修正に資した。

iii. エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究の準備

i、ii で作成したエペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究プロトコールに準じた臨床研究について、学内臨床研究倫理委員会ならびにヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会に申請した。

（倫理面への配慮）

tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の開発において、健康人ボランティアから末梢血を採血し、tRNA^{Lys}(UUU) チオメチル化修飾について検討したが、本研究は熊本大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会承認された方法（承認番号：ゲノム 159）に則り実施した。またインフォームドコンセントに関しても、同委員会で承認された方法に準じて行った。

C. 研究結果

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

委託業務成果報告（総括）

<p>① tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術の開発：</p> <p>i. Good Laboratory Practice (GLP)に準拠したコンパニオン診断技術の確立</p> <p>a. 血液保存状態が tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾に及ぼす影響について</p> <ul style="list-style-type: none">・氷上で30分、1時間、2時間、24時間・室温で30分、1時間、2時間、24時間の8条件で保存した血液からRNAを精製し、チオメチル化修飾について比較検討した。いずれの条件でも tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾に有意な差は認められなかった。 <p>b. RNA精製法の標準化</p> <p>トリゾールを用いたフェノールとグアニジンイソチオシアネートの単相溶液精製法と miRNeasy Mini kit を用いたシリカスピンカラム法で、tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾において、有意な差は認められなかった。いずれの方法を用いても、十分な Ct 値が得られた。</p> <p>c. tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾解析に用いる定量 PCR 機器の選定</p> <ul style="list-style-type: none">・Veriti 96 皿サーマルサイクラー（アップライド・バイオシステムズ社）・サーマルサイクラー ダイスレッドシステム TP800（タカラバイオ社）・サーマルサイクラー ダイスレッドシステム TP870（タカラバイオ社） <p>上記3機種の tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾検出感度について比較検討した。その結果、</p>	<p>3機種間の検出感度に有意な差は認めなかった。</p> <p>ii. tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標的としたコンパニオン診断技術に関する臨床研究について PMDA との事前相談</p> <p>下記のとおり PMDA と事前相談</p> <p>相談日：2014年11月6日13時～14時</p> <p>相談者：富澤一仁、井上謙吾</p> <p>相談内容：</p> <ul style="list-style-type: none">・臨床研究で行うべきか、医師主導の治験で実施すべきか。・コンパニオン診断薬の臨床研究（医師主導治験）の進め方についてご指導いただきたい。 <p>助言内容：</p> <ul style="list-style-type: none">・既存承認用量で効果が十分に得られるかどうかを検討し、もし、用量を変更するとなった場合は、非臨床試験を実施する必要がある。・将来的な製造販売元を決めた上で必要な試験を行う方が良い。もし、熊本大学で製造販売を行うとなると非臨床試験から全てのデータを取り直す必要があるため、薬剤の現販売元であるエーザイに協力を求め安全性データや薬剤に関するデータ提供を受ける方が現実的である。・本試験は、臨床研究と言う位置付けとして GCP 対応で行う方が、将来的にメーカー側で本試験データを使用出来る可能性が残る。このことより、申請時の安全性データとして使用可能にするためにも、可能な限り GCP 遵守で行う。なお、この際、治験届は不要で
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

委託業務成果報告（総括）

ある。また、PMDA としては GCP 対応で行う販売承認目指した試験に関してのみ相談を受け付けているため、上記のような対応を取るのであれば、今後も相談を受けることが可能である。

② 2型糖尿病に対する新規治療薬の開発

i. エペリゾンの2型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究についてプロトコール作成

「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」プロトコールを完成させた。詳細なプロトコールは、資料1を参照。

ii. エペリゾンの2型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究についてPMDAとの事前相談

下記のとおり、PMDAと事前相談を実施した。

相談日：2014年11月6日13時～14時

相談者：富澤一仁、井上謙吾

助言内容：

・まずはPOCにて試験の感触を確かめることを勧める。

・患者の組み入れに汎用の試薬を使用することは、バリデートされていない（信頼性のない基準で診断する）ものなので難しいと考える。もし、汎用の試薬を使用する場合は、別の試薬を併用するなど、クロスチェックを行い最低限のバリデーションを行う必要があると考える。コンパニオン診断薬メーカーと共同でバリデートされたキットの開発を行い、そのキットを用いて医師主導試験を実施すべきである。

・コンパニオン診断薬のガイドラインは5つ出

ているので、PMDAのHPからダウンロードして参照すること。

iii. エペリゾンの2型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究の準備

i、iiで作成したエペリゾンの2型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究プロトコールに準じた臨床研究について、学内臨床研究・医療技術倫理委員会、ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会、ならびに臨床研究利益相反審査委員会に申請した。申請書類についてこれら委員会で審議が行われ、また学内臨床研究・医療技術倫理委員会とヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会ではヒアリングも行われ、下記のとおり、承認された。

a. 臨床研究・医療技術審査結果

受付番号：先進第1927号

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めざした臨床研究

実施責任者：富澤一仁

決定日：平成27年2月9日

決定内容：許可

b. ヒトゲノム・遺伝子解析研究審査結果

受付番号：ゲノム第275号

ゲノム第275号（変更）

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めざした臨床研究

実施責任者：富澤一仁

決定日：平成26年7月28日

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

委託業務成果報告（総括）

一部変更申請決定日：平成 26 年 8 月 14 日

決定内容：許可

c. 臨床研究利益相反審査結果

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めざした臨床研究

実施責任者：富澤一仁

決定日：平成 26 年 7 月 28 日

審査結果：問題なし。

D. 考察

① tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標的とした
コンパニオン診断技術の開発

採血した血液は、24 時間常温で保存しても、
tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾の結果に影響しな
いことが明らかになった。このことから、病院で
採血後、検査ラボに輸送し、tRNA^{Lys}(UUU)チオメ
チル化修飾について解析することが可能である
ことが示唆された。tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修
飾の解析を各病院検査部で実施することは、機器
の設置などから困難であることが予想されるた
め、検査ラボで実施するようになると思われる。
その場合、血液サンプルの保管方法と輸送時間に
制限があると、検査が困難である。本結果から、
本技術は、検査ラボで実施するコンパニオン診断
技術として問題無いことが示された。

RNA 精製方法で、トリゾールを用いたフェノー
ルとグアニジンイソチシアネートの単相溶液
精製法と miRNeasy Mini kit を用いたシリカ
スピンカラム法では、tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修
飾の解析結果に差は認められなかった。単相溶液
精製法のほうが、コストがかからないが、シリカ

スピンカラム法を用いたほうが、自動化でき
るメリットがある。多数検体を一度に効率的
に測定できることから、キットでは、シリカ
スピンカラム法を用いることとした。

3 機種を用いて定量 PCR を行ったが、機器
間で解析結果に差はなかった。このことから、
tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾解析技術は、定
量 PCR 解析機器の性状に影響を受けないこと
が明らかになった。

今回臨床研究プロトコールを作成している
途中に、「人を対象とする医学系研究に関する
倫理指針」が刷新されるということが判明し
た。当初、同倫理指針が公布されるのを待つ
て、その指針に沿ったかたちで臨床研究を実
施することを考えていた。しかし、新倫理指
の公布が遅れたため、公布されるのを待つ
ていると本研究の進捗が図れないため、医師主
導治験に準じたプロトコールを作成した。労
力はかかったが、将来的に製薬企業と提携し
て上市を目指すためには良かったと思われ
る。

当初の計画どおり本臨床研究について倫理
委員会の承認が得られたことは、来年度以降
速やかに臨床研究に移ることができる。

E. 結論

① tRNA^{Lys}(UUU)チオメチル化修飾を標
的としたコンパニオン診断技術の開発：ヒト
末梢血から分離した血球成分から
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

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

委託業務成果報告（総括）

方法、逆転写酵素の最適化、定量 PCR 機器の設定が終了した。また、PMDA との事前相談を行った。

② 2 型糖尿病に対する新規治療薬の開発：エペリゾンの 2 型糖尿病治療薬としての有効性に関する臨床研究についてプロトコールの作成が終了した。作成したプロトコールについて、PMDA と事前相談を行った。そして、そのプロトコールを基とした臨床研究について、学内臨床研究倫理委員会ならびにヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会に申請し、承認を得た。臨床研究チームを発足し、臨床研究の手順書の作成が完了した。

F. 健康危機情報

業務主任者ならびに業務担当者の健康に危機を及ぼすようなことは無かった。

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Zhou, B, Wei, F.-Y., Kanai, N., Fujimura, A., Kaitsuka, T., and Tomizawa, K. Identification of a splicing variant that regulates type 2 diabetes risk factor CDKAL1 level by a coding-independent mechanism in human. **Hum. Mol. Genet.** 23, 4639-4650, 2014.

2. 学会発表

該当無し

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当無し。

資料 1

臨床研究実施計画書

臨床研究実施計画書

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

熊本大学大学院生命科学研究部

臨床研究実施計画書番号
第 1 版

EPE-001
2015 年 2 月 10 日

本臨床研究実施計画書の取扱い上の注意

この臨床研究実施計画書に記載された情報は、EPE-001 の試験に参加する医療機関の関係者（実施医療機関の長、研究責任医師、研究分担医師、研究協力者、試験薬管理者、倫理審査委員会の委員、その他適切に指名を受けたもの）に限定して提供するものです。研究への参加を希望する被験者の方々から同意を取得する目的で必要事項を開示するなど、研究の実施上必要な場合を除き、本計画書に記載された情報を研究責任者の書面による許可なしに第三者に開示することはできません。また、本計画書に記載された情報を学会又は医学雑誌等に発表する場合は、事前に研究責任者の文書による承認が必要となります。

本計画書の複製（コピー、電子媒体等）を禁止します。

DRAFT

1. 試験実施計画の概略

【研究の目的】
 2 型糖尿病と診断され治療を受けている患者を対象に、tRNALys(UUU) の 37 番目のチオメチル化修飾率と血糖値改善効果に相関が認められるか検討することを目的とする。

【試験の方法】
 エペリゾン錠（商品名ミオナール錠）50mg を 1 日 3 回毎食後、12 週間継続して経口投与したときの安全性の検討、及び遺伝子多型に関する薬効比較試験。

試験デザインを下図に示す。

試験デザイン

・試験終了まで投与する糖尿病治療薬の決定
 ・一塩基多型の検査
 ・tRNAチオメチル化修飾検査
 ・HbA1c、肝機能検査

・有害事象の有無について検査(問診、視診、触診、血液検査)
 ・HbA1c、空腹時血糖値、1,5AG測定

・グルカゴン負荷試験

・グルカゴン負荷試験
 ・tRNAチオメチル化修飾検査

来院1 -4週
 来院2 0週
 来院3 4週
 来院4 8週
 来院5 12週
 来院6 13週

エペリゾン50 mg投与期間 (1日3回、食後)

後観察

【被験者の割付】
 本臨床研究では、2 型糖尿病患者の Cdkal1 遺伝子型、及びチオメチル化修飾を調査し、の 3 群に割り付ける。

- 1) Cdkal1 遺伝子のリスクアレル保有群
- 2) ヘテロ・非リスクアレル保有群
- 3) ホモ・非リスクアレル保有群

各群の患者にエペリゾン錠（商品名ミオナール錠）50mg を 1 日 3 回毎食後、12 週間継続して経口投与したときの安全性を検討する。さらに、tRNALys(UUU) の 37 番目のチオメチル化修飾率と有効性に相関が認められるか、また各群間において有効性に差が認められるかを検討する II 相臨床研究である。

	<p>【被験者数】 日本人 2 型糖尿病患者 100 名（リスクアレル保有群を次の A~C のように分ける）</p> <p>A) Cdkal1 遺伝子のリスクアレル保有群 : 25 名 B) ヘテロ・非リスクアレル保有群 : 50 名 C) ホモ・非リスクアレル保有群 : 25 名</p> <p>【研究期間】 研究期間は、同意取得時から、観察期 4 週間、治療期 12 週間及び後観察期 2 週間の計 18 週間である。ただし、追跡検査が必要な場合は、追跡検査終了時まで継続する。</p> <p>【試験実施期間】 2015 年 3 月～2017 年 9 月</p>
評価項目	<p>【主要評価項目】 全被験者における tRNA^{Lys}(UUU) の 37 番目のアデニンのチオメチル化修飾率と HbA1c の変化量の相関性</p> <p>【副次的評価項目】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 投与開始前および 12 週後における次のパラメータについて、各群間で比較する 2) A) 群と B) +C) 群間におけるエペリゾン投与開始前から投与終了時までのグリコヘモグロビン (HbA1c) の変化量の差 3) 血糖コントロール指標 (空腹時血糖値、1,5-AG) 4) β 細胞機能 (グルカゴン負荷試験、HOMA-B、プロインスリン/インスリン比) 5) 脂質代謝指標 (総コレステロール、LDL-Chol、HDL-Chol、トリグリセリド)

対象	<p>【選択基準の確認】</p> <p>以下の全ての基準を満たす者を対象とする。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 2型糖尿病と診断された者 2) 20～75歳の者(同意取得日の年齢を基準とする) 3) スルホニル尿素薬、速効型インスリン分泌促進薬、α-グルコシダーゼ阻害薬、ビッグアナイド薬、チアゾリジン薬、DPP-4阻害薬の単剤あるいは多剤で治療中の2型糖尿病患者 4) 適格性判定日4週以内のHbA1cが6.2～7.9%の者 5) HbA1cの変化が適格性判定日の前3ヶ月間1%以内であり、2型糖尿病に対する治療薬を、適格性判定日前3ヶ月間変更(投与量を含む)をしていない者 6) 避妊治療を受けていない男性パートナーを持つ、妊娠する可能性のある女性の場合、同意取得時から研究期間を通して、日常的に適切な避妊実施に同意する者 7) 臨床研究の内容を理解し、それを遵守する能力があると研究責任医師が判断した者 8) 臨床研究手順が行われる前に、同意・説明文書に被験者の署名及び日付記入が出来る者 <p>【選択基準の確認】</p> <p>次のいずれかに該当する患者は対象から除外する。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 重症低血糖または無自覚性低血糖を繰り返し発現する者 2) 重篤な肝疾患(例えば非代償性肝硬変)を有する患者、あるいは観察期の検査でAST(GOT)またはALT(GPT)が100 IU/L以上の者 3) 薬物過敏症の既往歴のある者 4) 妊婦または妊娠している可能性のある女性、妊娠を希望している女性および授乳中の女性 5) 精神的無能力(中等度および重度の認知症含む)のため、研究責任医師により十分な理解と協力が得られないと判断された者 6) 観察期間中に入院した者、又は研究期間中に入院が必要と研究責任医師が判断した者 7) 研究期間中に併用禁止薬による治療が必要な者 8) 適格性判定日の前4週以内に、エペリゾンの投与を受けた者 9) メトカルバモール(商品名:ロバキシシ顆粒90%等)を服用している患者 10) 同意取得時に他の臨床試験に参加している者 11) その他、研究責任医師又は同分担医師が不相当と判断した者
----	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

観察・検査項目スケジュール表

来院	観察期 (来院1)	治療期				後観察	中止時
		来院2	来院3	来院4	来院5		
	-4週~0週	0週	4週	8週	12週	13週	-
来院日許容範囲 (目標)	来院2の前 4週以内	-	-3/ +3日	-6/ +6日	-6/ +6日	-2/ +2日	-
来院日許容範囲 (最大)	来院2の前 4週以内	-	-6/ +6日	-11/ +11日	-11/ +11日	-	-
文章同意取得	○						
選択基準/除外基準	○						
被験者の登録		○					
遵守状況の確認		○	○	○	○		○
診察・問診	○	○	○	○	○	○*3	○
身長	○						
体重	○	○	○	○	○		○
遺伝子解析	○						
tRNA ^{Lys} (UUU)の チオメチル化修飾 解析	○				○		
バイタルサイン	○	○	○	○	○		○
血液一般検査*1	○	○	○	○	○		○
血液生化学検査*2	○	○	○	○	○		○
HbA1c	○	○	○	○	○		○
1,5AG		○	○	○	○		○
インスリン/ プロインスリン		○			○		○
空腹時血糖値		○	○	○	○		○
グルカゴン負荷試 験		○			○		○
併用薬剤	○	○	○	○	○		○
有害事象			○	○	○		○

2. 略語一覧表

略号	省略していない表現
ALP	アルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase)
ALT(GPT)	アラニン・アミノトランスフェラーゼ (alanine aminotransferase)
Cdkal1	Cdk5 活性化因子結合蛋白質 1 様 1 (Cdk5 regulator subunit associated protein 1-like1)
tRNA	転移 RNA (Transfer RNA)
DPP-4	ジペプチジルペプチダーゼ-4 (Dipeptidyl-peptidase-4)
Lys	リジン (Lysine)
HbA1c	ヘモグロビン A1c (Hemoglobin A1c)
AST(GOT)	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (aspartate aminotransferase)
1,5-AG	1,5-アンヒドロ-D-グルシトール (1,5-Anhydroglucitol)
γ GTP	ガンマ-グルタミントランスペプチダーゼ (γ -glutamyltransferase)
LDL-Chol	低比重リポ蛋白コレステロール (Low density lipoprotein Cholesterol)
HDL-Chol	高比重リポ蛋白コレステロール (High density lipoprotein Cholesterol)
BUN	血液尿素窒素 (Blood urea nitrogen)
BMI	体格指数 (Body mass index)
TG	中性脂肪 (トリグリセリド)
HOMA-B	HOMA-B 指数 (Homeostasis model assessment-B)
GLP-1	グルカゴン様ペプチド-1 (Glucagon-like peptide-1)
NGSP	米国グリコヘモグロビン標準化プログラム (National glycohemoglobin standardization program)
SU	スルフォニル尿素 (Sulfonylurea)
SGLT-2	ナトリウム・グルコース共役輸送体-2 (Sodium glucose cotransporter-2)
SNP	一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism)
DMSO	ジメチルスルホキシド (Dimethyl sulfoxide)

3. 目次

1.	試験実施計画の概略	I
2.	略語一覧表	V
3.	目次	VI
4.	背景情報	1
4.1	背景	1
4.2	本臨床研究を計画した根拠	2
5.	試験デザイン	2
5.1	試験の目的	2
5.2	試験の方法	2
5.3	被験者の割付	3
5.4	被験者数	3
5.5	研究期間	3
5.6	試験実施期間	4
6.	被験者の選択、除外、中止基準	4
6.1	被験者の選択、除外の確認	4
6.2	臨床研究開始後の中止	5
7.	試験薬	6
7.1	試験薬の剤型及び製造	6
7.2	試験薬の包装および表示	6
7.3	試験薬の貯法	7
7.4	被験薬の交付及び管理	7
8.	併用療法	7
8.1	併用可能な糖尿病治療薬	7
8.2	併用禁止薬	8
8.3	合併症に対する治療薬	8
8.4	観察期（スクリーニング期）の手順	8
8.5	治療期（試験薬投与開始日）のスケジュール	11
8.6	治療期（試験薬投与開始日以降）のスケジュール	12
8.7	後観察（13週）の手順	13
8.8	中止時の手順	13
8.9	観察・検査項目スケジュール表	14
9.	観察・検査の詳細	15
9.1	観察・検査項目	15
9.2	総採血量	18
10.	被験者の管理	18
10.1	併用薬の使用	18
10.2	被験者の遵守事項	18

11.	効果安全性評価委員会.....	19
11.1	効果安全性評価委員会の設置.....	19
11.2	効果安全性評価委員会の開催時期.....	19
12.	有害事象.....	19
12.1	用語の定義.....	19
12.2	有害事象の取扱い.....	21
13.	症例報告書.....	22
13.1	症例報告書の特定.....	22
13.2	症例報告書作成の手順.....	22
13.3	症例報告書中の記載内容を原資料とすべき項目の特定.....	23
14.	原資料等の直接閲覧.....	23
14.1	原資料の特定.....	23
14.2	直接閲覧の方法.....	23
15.	統計解析.....	24
15.1	目標症例数.....	24
15.2	症例数設定根拠.....	24
15.3	症例固定.....	24
15.4	解析対象集団.....	24
15.5	統計解析計画.....	25
15.6	有効性の解析.....	25
15.7	安全性の解析.....	25
16.	データの品質管理及び保証.....	25
16.1	データの品質管理.....	25
16.2	品質保証.....	26
17.	新たな情報の提供.....	26
18.	臨床研究実施計画書の遵守、逸脱又は変更並びに改訂.....	26
18.1	臨床研究実施計画書の遵守.....	26
18.2	臨床研究実施計画書の逸脱又は変更.....	26
18.3	臨床研究実施計画書の改訂.....	27
19.	試験の終了.....	27
20.	倫理.....	27
20.1	本臨床研究の倫理的な実施.....	27
20.2	倫理審査委員会による審査.....	28
20.3	ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認.....	28
20.4	被験者のプライバシーの保護.....	28
20.5	臨床研究の登録.....	28
20.6	健康被害補償.....	28
20.7	金銭の支払い.....	28