

プログラム

13：00～ 開会の挨拶

篠塚和夫（群馬大学 産学連携・知的財産戦略室 副室長）

光岡俊成（厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 国際医薬審査情報分析官）

■座長：白尾智明（群馬大学イノベーションセンター 昭和分室長）

13：10～ **分化誘導肝細胞を用いたヒト特異的有害反応の評価**

石田誠一（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第三室長）

13：40～ **iPS細胞由来神経細胞の薬理的解析**

佐藤 薫（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第一室長）

14：10～ **うつ病と神経栄養因子－新治療と早期診断を目指した神経科学研究－**

小島正己（独産業技術総合研究所 研究グループ長、JST/CREST 研究代表者）

14：40～ 休憩

■座長：杉山 篤（東邦大学医学部 薬理学 教授）

14：50～ **ヒトES/iPS細胞のin vitro分化誘導における心筋分化効率の検討**

吉田善紀（京都大学iPS細胞研究所 初期化機構研究部門 講師）

15：20～ **ヒト心筋細胞を用いた心毒性評価－その有用性と課題**

澤田光平（エーザイ(株) グローバルCV評価研究部長）

15：50～ **分化心筋細胞の安全性薬理試験への応用**

諫田泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第二室長）

16：20～ 休憩

■座長：伊藤正実（群馬大学イノベーションセンター 教授）

16：30～ **ヒトiPS細胞由来分化細胞の産業利用－in vitro model と創薬への応用を目指して**

酒井 明（iPSアカデミアジャパン(株) 研究技術部長）

17：00～ **ヒトiPS由来分化細胞の創薬実用化のためのロードマップ**

関野祐子（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 部長）

17：15～ 閉会の挨拶

今村一之（前橋工科大学 システム生体工学科 教授）

分化誘導肝細胞を用いたヒト特異的有害反応の評価

石田 誠一 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第三室長

ヒト初代培養肝実質細胞は、薬事申請に係る非臨床試験の様々な場面で用いられ製薬業界での需要は高いが、その供給はほぼ100%を海外に頼っているのが現状である。そのため、iPS細胞等から分化誘導された肝実質細胞が供給されることが希求されている。また、初代培養肝実質細胞にみられるドナー間差やロット間差が少なくなり、試験結果の再現性が増す点や研究倫理の観点からも望ましい試料として期待されている。

本演題では、iPS細胞等から分化誘導された肝実質細胞が満たすべき要点を薬事申請に際して作成される承認申請書（ICH Common Technical Document: CTD）に沿って整理する。

CTDにおいて、肝実質細胞を用いた試験系が用いられている、または、代替できる可能性があるのは、モジュール2：非臨床試験のうち、2.6.4 薬物動態試験の主に2.6.4.5 代謝と2.6.4.7薬物動態学的薬物相互作用試験、並びに2.6.6 毒性試験であり、複数の項目に及ぶ。そのため、必ずしも各試験で用いられる評価指標は同じではなく、分化誘導肝細胞にも評価指標に応じた活性が求められる。すなわち、それぞれの試験に応じて、分化誘導細胞の満たすべき要点を設定する必要がある。

更に毒性試験では、肝実質細胞だけではなく非実質細胞が引き起こす炎症反応との関係を見ることが、発症率は稀であるが重篤になりやすいアレルギー性肝障害の評価の観点から重要となってきている。

これら試験系に適した「分化誘導肝細胞とは、どのようなものか」について、具体例を交えつつ議論したい。

iPS細胞由来神経細胞の薬理的解析

佐藤 薫 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第一室長

倫理的問題を解決したヒト幹細胞として、iPS細胞研究の裾野が爆発的に広がってきた。神経系分野においては、再生医療への応用はもとより、*in vitro* の安全性評価系に、これまでほとんど使用することができなかったヒト神経細胞標本の適用を可能にすることから、ヒト予測性の向上、創薬の高速化・高効率化を実現し、創薬過程に大きな変革をもたらすことが期待されている。しかし、iPS細胞の基となった細胞種やiPS化プロトコル、さらには神経細胞を分化誘導するプロトコルが非常に多岐にわたることが平成22年度厚生労働省科学研究補助金医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への応用可能性のための調査研究」調査研究により明らかとなった。

iPS細胞を目的臓器の細胞に分化させるためには、iPS細胞から胚様体を作り、胚様体から目的臓器幹細胞からなる幹細胞塊を作り、これを分化誘導培地内で接着培養する必要がある。神経系はその他の臓器と異なり、幹細胞塊（neurosphere）の状態を増殖、凍結、融解が可能という大きなメリットがある。そこで、各研究機関が保有しているヒトiPS細胞由来neurosphereの供与を受け、neurosphereから分化誘導した神経細胞の性質、生理的特徴について薬理的プロファイリングを継続中である。ヒトiPS細胞由来neurosphere（大阪医療センター樹立fibroblast由来osaka株、京都大学山中研樹立fibroblast由来201B7株、253G1株）を、single cellにて播種し、分化誘導し、細胞分化マーカー・シナプス機能成熟マーカー発現、ならびに細胞内Ca²⁺変動測定法を用いて機能的な受容体発現、神経回路形成について比較検討を行った。本シンポジウムでは、これらの比較検討結果について報告し、ヒトiPS細胞由来神経細胞の安全性評価系構築の方向性、実現性について議論を深めたい。

うつ病と神経栄養因子 －新治療と早期診断を目指した神経科学研究－

小島 正己 (独)産業技術総合研究所 研究グループ長、JST/CREST 研究代表者

我々は、一塩基多型がヒト脳機能を修飾する分子・細胞メカニズムの解明を目指している。我々が注目している分子は、神経栄養因子BDNFと呼ばれる脳の成長因子であり、蛋白質中のアミノ酸を置き換える一塩基多型が複数データベース登録されている。BDNF一塩基多型のノックインマウスを作製したところ、BDNFのプロセッシングメカニズム (proBDNF→BDNF) が不全となり、うつ病の様々な細胞病態を有するモデルマウスができた。

その細胞病態の詳細を解明するうえで、バンカー法と呼ばれる低密度神経細胞培養技術が有用であった。成熟型BDNF (BDNF) は神経伝達に重要な構造スパインの高密度化、安定化に寄与する。しかし、うつ病モデルマウスで増加しているproBDNFはスパイン構造の不安定化を促すことを見出し、臨床研究でも検証が始まっているうつ病におけるシナプス仮説を支持した。

一方、行動薬理実験では、作製したモデルマウスが抗うつ薬抵抗性であることが明らかになった。これまでの抗うつ薬はモノアミン仮説に基づき開発されてきたものがほとんどであった。本発表では、これらの研究に加え、1) BDNF創薬の可能性、2) バンカー法をはじめとする神経細胞培養技術の有用性、3) 精神疾患の診断確度の向上を目指した新診断技術などを紹介議論する。

ヒトES/iPS細胞のin vitro分化誘導における心筋分化効率の検討

吉田 善紀 京都大学 iPS細胞研究所 初期化機構研究部門 講師

ES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞は自己複製能と分化多能性をあわせもち、再生医療や創薬などの分野で期待されている。循環器領域においても、心筋再生医療や分化ヒト心筋細胞を用いた創薬のためのスクリーニング、薬剤の副作用検査、あるいは疾患特異的iPS細胞を用いた心疾患の発症メカニズム研究などに有用であると考えられている。

iPS細胞は、体細胞にリプログラミング因子を遺伝子導入することにより誘導されるが、レトロウイルス、レンチウイルス以外にもセンダイウイルス、プラスミドベクター、RNAなど様々な方法で誘導可能であることが知られており、さらに線維芽細胞、ケラチノサイト、あるいはTリンパ球などの血液細胞など様々な細胞から誘導することが可能である。

これらの多能性幹細胞は、細胞株によってin vitro分化誘導における分化指向性が異なっていることが知られており、また分化誘導を行っても未分化な細胞が残存する分化抵抗性を持つ細胞株が存在することも知られている。多能性幹細胞を用いた再生医療や分化細胞を用いた薬理試験を行うにあたり、これらの細胞株間のふるまいの違いを解析し、どのような細胞株が臨床応用において最適であるかを検討することが重要であると考えられる。

我々は、これら様々な組織の細胞から様々な方法により樹立された多能性幹細胞を用いて、in vitroでの心筋細胞分化誘導を行い、それぞれの細胞株の心筋細胞への分化能を評価し、多能性幹細胞株の比較を行っている。

本発表では、これまでの心筋分化誘導研究で得られた結果について報告したい。

ヒト心筋細胞を用いた心毒性評価－その有用性と課題

澤田 光平 エーザイ株式会社 グローバルCV評価研究部長

新薬を開発する上で不整脈、心不全、心筋虚血などの心毒性は直接生命にかかわることから、それらのリスクを軽減することが探索研究初期の段階から強く求められている。分子レベルの検討はヒトDNA由来のタンパク発現細胞を用いて実施されるようになったが、生理的機能を有したヒト細胞や組織は入手が困難であり、現在も主に動物由来の細胞を用いて安全性の評価が行われている。しかし、最近になりヒトES/iPS由来の心筋細胞が入手できるようになり、分子からin vivo実験への橋渡し、更に臨床におけるヒト心毒性予測へ利用できる期待が一段と高くなってきた。われわれは購入可能なヒトES/iPS由来心筋を用いて、心毒性評価への応用可能性に関し検討を開始した。

まず手始めとして、QT延長リスク評価系の構築を試みた。心筋細胞としてはCellartis社から入手したヒトES由来心筋細胞塊を用い、MED64システムによって細胞外電位、field potential duration (FPD)を記録した。心筋塊の大きさ、拍動数、電気生理的指標など種々のパラメータを用いて同じような心筋塊を選んでも、hERGチャンネルブロッカーに対しFPDの延長作用は心筋塊ごとに大きく異なり、条件としては不十分であった。

In vivo、特にヒトの場合と同じようなQT延長作用を示す心筋塊を選ぶことが重要であるとの考えから、薬理的反応性を選択の条件に追加した。心筋塊の選択にはpotencyおよびwashoutし易さからcisaprideをhERGチャンネルブロッカーとして用いた。

このようにして選ばれた心筋塊はhERGのみでなく、Iks、CaあるいはNaチャンネルブロッカーなどに対しても確実に反応し、複数のチャンネルに作用する薬物も信頼性をもって評価できることが明らかとなった (Toxicology in Vitro, 26,335, 2012)。探索化合物のQT延長リスク評価にも応用を開始したが、in vivoの実験結果とよい相関を示した。また、由来の異なったヒト心筋細胞でも同じような戦略が取れるか確かめるために、iPS由来心筋であるiCellを用いた検討も進めており、その結果も併せて紹介したい。

分化心筋細胞の安全性薬理試験への応用

諫田 泰成 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第二室長

ヒトiPS細胞の創薬への応用は、動物実験では検出できない医薬品の副作用予測、動物実験数の削減、臨床試験実施の迅速化など強い期待がある。その創薬応用を推進するためには、ヒトiPS細胞由来分化細胞を用いた安全性薬理試験法を開発し、多施設におけるバリデーションなどを行い、最終的にはガイドラインとして提案することにより国際的な賛同を得ることが必要と考えられる。

心筋の副作用に関しては、心室性再分極遅延（QT延長）による致死的不整脈が最も重要である。ヒトiPS細胞由来心筋細胞は、現在国内外の数社で販売が開始されており、また大学や製薬企業も独自にヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価系の開発に取り組んでいる。しかしながら、現在のところ、分化心筋細胞の品質に関する統一的な基準がなく、品質がばらばらという問題点がある。従って、ヒトiPS細胞由来心筋細胞の品質に関する標準化を行い、安全性薬理試験を行う上で評価基準を設定する必要がある。

本シンポジウムでは、公的バンクから入手可能な201B7株を用いて心筋細胞への分化誘導を行い、その品質特性について紹介する。ヒトiPS細胞を用いた安全性薬理試験のロードマップにむけて考慮すべきポイントなどを議論したい。

ヒトiPS細胞由来分化細胞の産業利用 -in vitro model と創薬への応用を目指して

酒井 明 iPSアカデミアジャパン株式会社 研究技術部長

幹細胞の利用は大きく分けて①創薬支援と②再生医療の二つに分けることができる。間葉系幹細胞のように既に人体への投与が行われている幹細胞もあるが、ES細胞は治験が開始され、iPS細胞は治験の計画が進行中で、今後急速に進展すると期待されている。しかし、ES細胞・iPS細胞の場合、再生医療に必要な安全性の確認には時間がかかる。そこで、幹細胞のビジネス化としては創薬支援を対象としたビジネスモデルが先行している。

ヒト幹細胞から誘導される様々な細胞群は新規薬剤開発プロセスで利用が可能である。しかし、創薬企業が自ら幹細胞から分化細胞を誘導させることは誘導法の選択、効率、人的資源、経費等の観点からできれば避けて通りたいことである。そこで、幹細胞から分化誘導されたヒト細胞を購入して使用することが第一選択となってきている。創薬における安全性の問題としては、心臓に対する副作用（不整脈やQT延長）があり、この確認のためにヒト心筋細胞の利用が可能になりつつある。既にヒトES細胞やヒトiPS細胞から分化誘導した心筋細胞が販売されており、創薬の安全性試験に利用されはじめている。最近世界的に使用されつつあるiPS細胞由来心筋細胞を販売している米国CDI社のビジネス戦略を分析することで、将来の幹細胞ビジネスの参考にしたい。

幹細胞ビジネスモデルを考える上でポイントとなるのは、強力な特許（少なくとも実施権）を保有していること、人材、資金導入、商品の必要性などがある。関連して世界的に動物実験の規制が厳しくなっており、in vitroモデルとして幹細胞由来ヒト分化細胞の利用が増加している。このような状況下、日本が世界に伍して良いものを生み出してゆくために、研究面での産官学連携のみならず、規制分野や人材育成、投資環境、IPの有効利用など多くの分野での協力体制が欠かせないと思われる。

ヒトiPS由来分化細胞の創薬実用化のためのロードマップ

関野 祐子 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 部長

安全性薬理試験は、新医薬品候補である被験薬を臨床試験に移行する上で、とりわけ重要な役割を担っている。安全性薬理試験では、コアバッテリー試験として被験薬の心血管系、中枢神経系、呼吸器系への影響を評価する。試験に利用される動物モデルは、被験薬に対する反応性のヒトと動物の種差の影響が極力少なくなるように慎重に選択されてはいるものの、ヒトに対する被験薬の有効性・安全性評価には限界がある。特に近年、バイオテクノロジー応用医薬品が登場し、化学薬品を対象とする安全性試験による評価の限界はさらに深刻な問題となるため、これまでも増して被験薬のヒト特異的な反応を予測する試験法の開発が望まれるようになる。例えば、ヒト型タンパクを発現する遺伝子改変動物の利用、ヒト細胞を用いた *in vitro* 試験法などによる追加情報が求められるようになってくる。

5年前のヒト由来人工多能性幹細胞（iPS細胞）作製技術の開発には、医薬品の承認申請に必要とされる種々の試験系にヒト細胞を利用することを可能にすると期待された。しかし、ヒトiPS細胞の実用化に関しては、再生医療への応用に重きが置かれ、医薬品開発への応用の実態が不明であった。そこで、厚生労働省科学研究補助金／医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への応用可能性のための調査研究」により、平成22年から23年にわたって実態調査を行った。現在、安全性薬理試験への応用を視野に入れた研究が最も進んでいるのは、ヒトiPS細胞から分化誘導された心筋細胞を利用した研究である。

ヒトiPS細胞から分化誘導したヒト細胞を用いて医薬品の特性を解析し、安全性薬理試験における有用性を確認するためには、標本や実験プロトコルの標準化に関する研究をレギュラトリーサイエンスとして戦略的に推進して、関連情報の共有化を行い、多施設間で実験データの再現性を確認できる環境をいち早く整備することが必須である。実用化のためのロードマップの最初のゴールは、多くの試験施設で同じ細胞特性を示す分化細胞を利用することである。そのためには、分化細胞の配給システムを構築し、多施設間で試験結果をバリデーションできる試験プロトコル整備を行う必要がある。

公開シンポジウム in 前橋

ヒトiPS細胞を用いた医薬品の有効性・安全性評価試験法へのロードマップ

発 行 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

TEL：03-3700-1141（代表）

薬理部 TEL：03-3700-9692 FAX：03-3700-1452

制 作 有限会社 健康と良い友だち社

〒108-0073 東京都港区三田2-14-4

TEL：03-5765-4891 FAX：03-5765-4892

2012年5月11日 発行

本書の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。