

ヒト iPS 細胞を用いた新規 in vitro 毒性評価系の構築

研究代表者 水口 裕之 (独)医薬基盤研究所

プロジェクトの背景・意義

- ヒト iPS 細胞は再生医療だけでなく、創薬への応用も強く期待されている。なかでも、iPS 細胞から分化誘導した肝・神経・心筋細胞は、薬物の毒性評価や動態評価への応用が期待でき、産業界からの需要が最も高いものの一つである。従来は、株化細胞や動物(ヒトを含む)由来の初代培養細胞が用いられてきたが、生体組織の細胞との機能の乖離や、種差、ロット差、安定供給等の観点で問題を抱えていた。医薬品の開発プロセスの早期に、iPS 細胞から分化誘導した肝・神経・心筋細胞を用いて肝・神経・心毒性を精度高く予測することは、創薬コスト削減・期間短縮・創薬シーズのヒット率の向上をもたらし、我が国の基幹産業のひとつである製薬産業の国際競争力向上に繋がると期待される。
- 将来的には、本スーパー特区研究を活用して、上記評価系を新薬承認申請のガイドライン(案)に反映することを目指しており、世界に先立ち日本発の国際規制基準が提案されるだけでなく、臨床試験へのよりスムーズな移行、臨床試験の簡素化がなされると期待される。これらは合理的な医薬品審査へも寄与し、もって国民の健康の増進に資することにもなる。

プロジェクトの背景・意義

動物実験等に変わる新規スクリーニング系の構築

- 動物実験は「種差の壁」があり世界的に制限の傾向にある
- ヒト培養細胞によるスクリーニングは生体組織との性質・機能の乖離がある
- ※ヒトiPS細胞はあらゆる細胞に分化でき、倫理上の問題点も少ないことから新規評価系のツールとして最適
- ⇒これまでの創薬プロセスの改善

日本の製薬企業の国際競争力の強化

- 医薬品の安全性の向上
- 医薬品開発の成功率の向上、医薬品開発期間の短縮
- ⇒開発コスト削減(数千億円)
- ※医薬品開発中止原因の20%が「毒性の判明」

テーラード医療実現の基盤整備

- 個々人の体質の違いによる医薬品の副作用を事前に予測
- ⇒ヒトiPS細胞の体外診断薬への応用へ

プロジェクトの目標

本プロジェクトでは、創薬研究の加速化および非臨床データのヒトへの外挿性向上等のため、ヒト iPS 細胞を用いた in vitro 毒性評価系を開発する。本系により、各目的細胞(肝細胞、神経細胞、心筋細胞等)毎に毒性をハイスループットで一度にスクリーニングすることが期待される。

- 具体的には、
- ① 性別、年齢、病態、人種等種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞コレクションの作製
 - ② 再現性のある安定したヒトiPS細胞培養系の確立のための品質管理・品質評価法の開発
 - ③ 遺伝子導入技術の応用によるヒトiPS細胞から目的細胞(肝細胞、神経細胞、心筋細胞等)への高効率分化誘導技術の開発と分化誘導細胞コレクションの構築、及び生体機能類似細胞評価手法の開発
 - ④ トキシコゲノミクス解析等に応用した新規 in vitro 医薬品毒性評価システムの開発
 - ⑤ 創薬研究として実用性・汎用性の高い新規細胞評価系の確立と薬事申請のための毒性ガイドライン案の作成を行った。

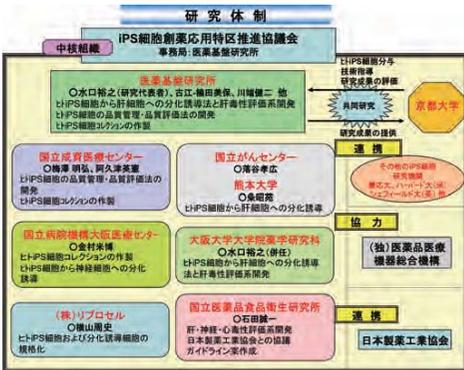
プロジェクト期間の目標

1. (ヒト臍帯血細胞、胎盤組織由来細胞、月経血由来細胞等を用いて)性別、年齢、病態、人種等種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞コレクションの作製を行う。
2. 再現性のある安定したヒトiPS細胞培養系の確立のための品質管理・品質評価法の開発と標準化を行う。
3. 遺伝子導入技術の応用による目的細胞(肝細胞、心筋細胞、神経細胞等)への高効率分化誘導技術の開発と分化誘導細胞コレクションの構築を行う。
4. トキシコゲノミクス解析による新規 in vitro 医薬品毒性評価システムの開発を行う。
5. 創薬研究として実用性・汎用性の高い in vitro 新規毒性評価系の確立と薬事申請のためのガイドライン案の作成を行う。



- ・iPS細胞は、あらゆる細胞に分化でき倫理上の問題点も少ないことから新規 in vitro 毒性評価系開発のための最適な細胞ソースとなり。
- ・世界トップクラスの分子毒性解析技術
- ・多種多様なヒト細胞・組織の収集体制
- ・高効率細胞分化誘導技術
- ・高品質の細胞管理技術

プロジェクトの実施体制



各機関の役割

- **医薬基盤研究所**
種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞コレクションの作製、再現性のある安定したヒトiPS細胞培養系の確立のための品質管理・品質評価法の開発、ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導法と肝毒性評価系開発
- **国立医薬品食品衛生研究所**
肝・神経・心毒性評価系開発、日本製薬工業協会(製薬協)との協議、ガイドライン案作成

- **国立成育医療センター**
種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞コレクションの作製、再現性のある安定したヒトiPS細胞培養系の確立のための品質管理・品質評価法の開発
- **国立がん研究センター**
ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導法開発
- **熊本大学発生活医学研究センター**
ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導法開発
- **国立病院機構大阪医療センター**
種々のバリエーションを有したヒトiPS細胞コレクションの作製、ヒトiPS細胞から神経細胞への分化誘導法と毒性評価系開発
- **大阪大学大学院薬学研究科**
ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導法と肝毒性評価系開発
- **リプロセル**
ヒトiPS細胞および分化誘導細胞の規格化

5年間の研究成果(全体図)

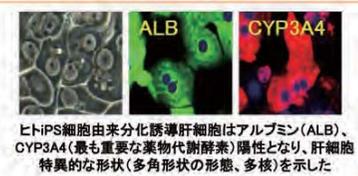
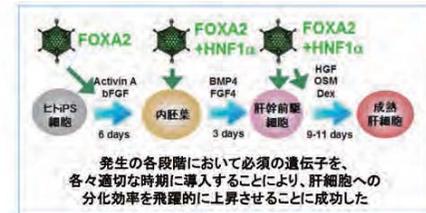


5年間の研究成果(主な研究の具体的な成果)

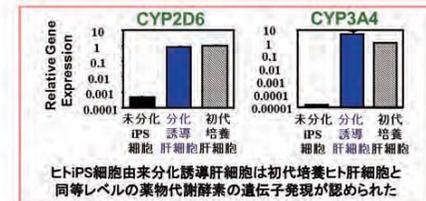
- iPS細胞コレクションについて、MRC-5由来iPS細胞、胎盤、子宮内膜、月経血、血管内皮細胞、肝細胞等由来のヒトiPS細胞を作製し、その一部について医薬基盤研究所に移管し、バンクから分譲を開始した(成育C、基盤研、がんC、国立病院機構、阪大)。
- 各種iPS細胞株を安定して培養できるプロトコル、品質管理法を策定した(基盤研、成育C)。
- ヒトiPS細胞から神経幹細胞/神経細胞への高効率分化誘導法の開発を行った。抗がん剤および抗てんかん薬がヒトiPS細胞由来薬物安全性評価試験用標準ヒト神経幹細胞に及ぼす細胞毒性の評価を実施した。これら情報を基に、ヒト神経幹細胞に毒性を有する薬物のドラフトデータベースの構築を実施した(国立病院機構)。ヒト iPS 細胞由来神経細胞標本が神経細胞特有の細胞死である興奮毒性の評価に使用可能かどうかの判定基準を複数のiPS細胞によって定め、興奮毒性評価の試行を行った(国衛研、国立病院機構)。
- ヒトiPS細胞から心筋細胞への高効率分化誘導法の開発を行った。ヒトiPS細胞由来分化誘導心筋細胞の活動電位は個々の細胞でバラつきが認められること、陽性対照化合物であるIK₂阻害剤E-4031の処理によって活動電位が延長する傾向が認められること、そして活動電位のバラつきを抑えるために同期する心筋シートを作製法を構築し、心毒性評価系構築に向けた基盤整備を行った(国衛研)。
- 製薬協と分化誘導細胞の開発、規格の評価や規格化で話し合いを進め、指針等の策定を進めた。ガイドライン案作成に向けて、製薬協との協議会を継続的に行った。製薬協から「ヒトiPS細胞応用安全性評価タスク

フォースJ」の設立の報告を受け、引き続き特区参加機関と連携し、指針等を策定していくことを確認した(国衛研)。

- 本特区の進捗報告、ガイドライン作成への啓発を兼ね、本特区構成メンバーを中心に、各種学会(日本薬学会、レギュラトリーサイエンス学会、DDS学会、日本学術会議シンポジウム、スーパー特区フォーラム等)にて、シンポジウム等を開催した。



ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞はアルブミン(ALB)、CYP3A4(最も重要な薬物代謝酵素)陽性となり、肝細胞特異的な形状(多角形状の形態、多核)を示した



ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞は初代培養ヒト肝細胞と同等レベルの薬物代謝酵素の遺伝子発現が認められた

成果の実用化・産業化への貢献

- 9株のヒトiPS細胞の分譲を行うとともに(基盤研、成育C)、定期的な技術講習会を開き、ヒトiPS細胞の普及に大きな貢献をした。
- 基盤研が開発・特許出願した肝関連転写因子遺伝子を導入することによるヒトiPS細胞から肝細胞への高効率分化誘導法をリプロセル社に技術移転し、リプロセル社が2012年5月に世界初のヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の製品化に成功した(基盤研、リプロセル社)。
- 内胚葉マーカであるCerberus1の分泌量がヒトiPS細胞由来内胚葉の割合と相関することを見出し、内胚葉の分化状態を簡単に評価可能なELISA kitを作製した。本キットは内胚葉分化評価キットとして同仁株式会社(熊本)から2013年夏発売予定である(熊本)。
- メチオニン除去培地を利用した肝臓分化誘導に関する特許出願した。高効率肝細胞分化誘導に向けた今後の応用が期待される(熊本)。
- ヒトiPS細胞由来肝幹細胞の維持・増殖法を開発し、分化誘導肝細胞の大量調製のための基盤技術開発に成功した(基盤研、阪大)。本技術は特許出願済みであり、分化誘導肝細胞の大量調製にむけて、今後の応用が期待される。
- 胚性幹(ES)細胞マーカーと肝細胞マーカーを同時に発現する細胞(ヒト誘導肝幹細胞)を作製し、特許出願した(がんC)。



2012年5月に世界初のヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞「ReproHepato」の製品化に成功した