

平成22年度実施方針

バイオテクノロジー・医療技術開発部

1. 件名：(プログラム名) 健康安心イノベーションプログラム

(大項目) 幹細胞産業応用促進基盤技術開発

(中項目) iPS細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発

2. 根拠法

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第2号

3. 背景及び目的・目標

幹細胞は様々な組織に分化する能力を有しており、その性質を用いることで神経、心筋、膵臓β細胞等の様々な細胞を試験管内で得ることができる。これを用いることで従来は治療することが困難であった神経疾患や心臓疾患の根本的治療法の開発や、創薬分野におけるヒトの細胞を用いた薬効評価や安全性薬理試験などの創薬スクリーニングに利用できる利点を有する。iPS細胞(人工多能性幹細胞)は、皮膚等の組織から作製可能であることから倫理的な障壁が低く、加えて遺伝的に多様な細胞が得られること、免疫拒絶反応を回避、あるいは軽減可能であること等から、有用な細胞源として期待が大きい。しかし、iPS細胞等幹細胞を産業で利用するためには、細胞の効率的な作製方法、腫瘍化の問題、様々な状態が混在したヘテロな細胞集団からの標的細胞の評価・選別、品質管理方法の確立、機能発現のための細胞から組織への再構築技術の開発など、様々な解決すべき課題がある。

iPS細胞の早期な産業応用が期待される創薬分野においては、近年、研究開発費が大幅に伸びている一方で、新薬の承認数は低下する傾向にある。特に、臨床開発の最終フェーズにおいて、有効性が確認できないことや、安全性等が原因となって開発中止となるケースが増加している。また、従来の非臨床試験及び臨床試験において安全性に何ら問題のなかった薬物でも、市販後において患者に実際に投与されてから初めて致死性不整脈を誘発することが判明したため急遽市場から撤退した事例もある。さらに制ガン剤や抗菌剤などの人体に毒性を持つことが知られている薬剤では、薬効と副作用は表裏一体の関係にあり、ヒトに対する安全域の程度が許容範囲となるかどうかを的確に推測することが開発候補薬として臨床開発に進めるかどうかを判断する上で非常に重要な技術課題となっている。このような事態を改善し、より安全性の高い医薬品を効率良く開発するためには、創薬研究のより早い段階で、開発候補薬のヒトでの薬効と安全性をより精度高く予測する基盤技術の開発を行うことが求められている。

こうした状況を踏まえ、本研究開発は、様々な細胞組織に分化できるヒトiPS細胞等幹細胞の産業利用を促進することを目的として、iPS細胞への効率的な誘導因子の探索を行う。同時に、多様な幹細胞操作技術の成果を活用し、iPS細胞の新規誘導法開発に結びつける。また、細胞源としてiPS細胞等幹細胞を一般に供給する上で必要となる、細胞の性質や品質を評価する技術や細胞

の安定供給を可能とする基盤技術を確立する。さらに、iPS細胞等幹細胞から心筋などの細胞に効率よく分化させ、これを利用して、開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を、ヒト個体と高い相関性をもって予測する創薬スクリーニングシステムの開発を行う。

これにより、我が国が世界を先導している科学的成果である iPS 細胞等幹細胞を、いち早く産業応用に繋げることが期待できるとともに、創薬研究のより早い段階において、開発候補薬の効率的で的確な絞り込みを行うことが可能となる。そのため、創薬研究の短縮や研究開発費の削減、さらにはより安全な医薬品の開発の促進が期待される。

なお、本研究開発は、「健康安心イノベーションプログラム」の中の「幹細胞産業応用促進基盤技術開発」の一環として実施する。これは、遺伝子やタンパク質等の生体分子の機能・構造解析等を行うとともに、それらの研究を強力に推進するためのバイオツールやバイオインフォマティクスの開発、成果を高度に利用するためのデータベース整備や先端技術を応用した高度医療機器開発等により、個別化医療・予防医療・再生医療の実現や画期的な新薬の開発、医療機器、福祉機器等の開発・実用化を促進することによって健康寿命を延伸し、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的とするものである。

(1)最終目標(平成 25 年度末)

安全で均質な形質を持ち、高い効率で心筋細胞へ誘導可能なヒト iPS 細胞等幹細胞を活用し、性質と品質がそろったヒト心筋細胞等へ効率的に分化を行い、これを用いて開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を、ヒト個体と高い相関性をもって予測する、産業上利用可能な創薬スクリーニングシステムを確立する。

(2)中間目標(平成 23 年度末)

従来法に比べ、より安全で高効率なヒト iPS 細胞の誘導を可能とする新規誘導因子、新たな細胞操作技術を含む新規誘導法を少なくとも1つ以上見いだす。また、iPS 細胞等幹細胞や分化誘導細胞の性質を規定する有用なマーカーの開発及び取得したマーカーを活用した選別、評価のための要素技術の開発に目途をつける。さらに、心筋細胞への誘導効率が高い分化技術の開発に目途をつけるとともに、同じ性質を持った細胞を選別し、毒性評価のための創薬スクリーニングツールとして活用する。毒性評価のための創薬スクリーニングシステムについては、ハードウェア及び解析ソフトウェアの試作を完了し、産業上実際に利用できるシステム構成となるよう目処をつける。

4. 実施内容および進捗状況

京都大学大学院医学研究科 鍋島陽一 教授をプロジェクトリーダーとして、以下の研究開発を実施した。また、研究開発推進委員会を半期に一度の割合で開催し、研究開発目的・目標と照らし合わせながら、研究進捗の確認をおこなった。

4.1 平成21年度事業内容

研究開発項目①「安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発」

山中 4 因子として発見された4遺伝子のうち、3遺伝子でマウス三胚葉分化、キメラマウスの作製が確認され、ヒト線維芽細胞でも iPS 細胞が確認された。また、山中 4 因子以外に代替因子候補を新たに数個発見した。さらに、世界最大の天然物ライブラリーから、ヒト正常細胞で山中4因子の遺伝子発現を上昇させる新規化合物を発見した。

山中4因子の順番を並び替え、一つのベクターに搭載した持続発現型センダイウイルスベクターを作成し、外来遺伝子が染色体に挿入されていないマウスおよびヒト iPS 細胞を作成することに成功した。

また、ウイルスベクターを使用しない iPS 細胞作製技術として、細胞質へ蛋白質を導入するセミインタクト細胞シーリング法をシステム化し、山中 4 因子の蛋白質を導入したところ iPS 様コロニー形成に成功した。

(実施体制: J B I C、東京大学)

研究開発項目②「細胞の選別・評価・製造技術等の開発」

(1) iPS細胞等幹細胞の評価・選別技術の開発

平成 21 年度は、4種類の異なる器官から iPS 細胞を多数樹立し、100検体以上に対して網羅的遺伝子発現解析、細胞表面の糖鎖プロファイリング等を実施した。その結果、iPS 細胞間の遺伝子発現の違いを同定し、親株と iPS 細胞を識別するレクチンの抽出に成功した。また、生殖幹細胞から多能性幹細胞への転換系を用いて、効率的な iPS 生成機構を構築し、この系により新規リプログラミング因子を発見した。さらに、経時的解析が可能となり、iPS 形成細胞を培養 3 日目で捉えることに成功した。

(実施体制: J B I C、(独)産業技術総合研究所、国立成育医療センター、アルブラスト(株)、東京大学)

(2) iPS 細胞等幹細胞の品質管理、安定供給技術の開発

平成 21 年度は、iPS 細胞の選別に用いる広視野と詳細画像の両方を取得できる平行光を使った細胞観察装置を開発し、それを用いた画像処理により iPS 細胞の選別を自動的に行う技術の開発に着手した。また、凍結溶解後の iPS 細胞の生存率を向上させる「緩慢凍結法」を考案した。さらに、自動培養装置に用いる技術として、iPS 細胞を回収するためトリプシン等の酵素を用いない温度応答性培養機材が使用できることを確認した。

(実施体制: 国立成育医療センター、川崎重工業(株)、太陽日酸(株)、(株)セルシード)

研究開発項目③「iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発」

(1) iPS細胞等幹細胞から心筋細胞への高効率な分化誘導技術の開発

従来法の30倍の効率(世界最高レベル)でiPS細胞を心筋細胞に誘導するプロトコールの構築を行い、さらにオンチップ創薬支援評価システムで利用するための品質の安定

したiPS細胞由来心筋細胞の大量供給体制の構築に成功した。

(実施体制: J B I C)

(2) iPS細胞等幹細胞を活用した創薬スクリーニングシステムの開発

オンチップ心筋細胞ネットワークの環状回路(リエントリーモデル)への誘発刺激による致死性頻脈発生の再現に成功し、チップ上での除細動刺激(AMD) による回復の再現にも成功した。また、この技術を用いて、既知薬剤での検証を行った。さらに、細胞の応答ゆらぎに基づいた「致死性頻脈発生予測法」を新たに考案し、その実用開発に成功した。この手法により、原理的には細胞ベースでの毒性検査法についての目途が立った。

(実施体制: J B I C)

4.2 実績推移

	H20 年度	H21年度
	委託	委託
実績額推移		
一般勘定:補助金(百万円)	1,000	-
交付金(百万円)		1,010
特許出願数(件)	-	7
論文発表数(報)	-	9
フォーラム等(件)	-	0

5. 事業内容

京都大学大学院医学研究科 鍋島陽一 教授をプロジェクトリーダーとして、以下の研究開発を実施する。実施体制については別紙を参照のこと。

5.1 平成22 年度事業内容

研究開発項目①「安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発」

iPS 細胞の誘導に関わる新規因子(遺伝子及び化合物)の探索を行うとともに、従来法に比べて誘導効率を向上させることが可能となる適切な組み合わせに関する検討を行う。樹立される細胞源としての安全性を向上させ、将来の再生医療用途の細胞源としても活用可能とするため、宿主細胞の染色体上にランダムに遺伝子が導入されることによって生じる腫瘍化の懸念がない遺伝子導入技術の開発を進める。

(実施体制: J B I C、東京大学)

研究開発項目②「細胞の選別・評価・製造技術等の開発」

(1) iPS細胞等幹細胞の評価・選別技術の開発

由来が異なる細胞から誘導されたiPS細胞等の様々な多能性幹細胞間における性質の差

や、その差がもたらす特定の誘導法に対する感受性の違い等を明らかにするため、ゲノムの修飾、誘導因子のゲノム上の挿入箇所、遺伝子発現プロファイル解析、エピゲノム解析等を組み合わせた手法、あるいは新規手法を用いて、細胞の性質や特徴さらに機能を評価し、選別するために有用なマーカーの開発を行う。また、これらを用いて効率的に細胞を操作し、評価・選別する技術の開発を進める。

(実施体制: J B I C、(独)産業技術総合研究所、国立成育医療センター、川崎重工業(株)、東京大学)

(2) iPS細胞等幹細胞の品質管理、安定供給技術の開発

上記で開発した手法を用いて得られた特定の均質な細胞源を、均一な性質と品質を保持したまま長期間安定した維持・管理を行うとともに、利用者への安定した供給を可能とするために必要となる、細胞の安定供給技術の開発を進める。

(実施体制: 国立成育医療センター、川崎重工業(株)、大陽日酸(株)、(株)セルシード)

研究開発項目③「iPS細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発」

(1) iPS細胞等幹細胞から心筋細胞への高効率な分化誘導技術の開発

入手可能な健常人由来のヒトiPS等幹細胞及び心毒性等評価に有用な心疾患等患者由来のヒトiPS細胞等幹細胞から、心筋細胞への誘導効率を高める因子の探索を進めるとともに、心筋への効率的な分化誘導技術の開発をさらに進める。

(実施体制: J B I C)

(2) iPS細胞等幹細胞を活用した創薬スクリーニングシステムの開発

心毒性等が報告されている既存薬等を用いて、既存法と比較等行うための心毒性評価システムの構築を引き続き進めるとともに、ヒト心筋細胞の機能検証を進める。

システム開発においては、実用化プロトタイプとなりうる装置システムの開発を最短で実現するため、チップ上にリエントリーモデルを構築し、その伝達速度や薬剤への応答特性を計測することで、よりヒトの応答に近いモデルの構築をさらに進める。特に、ポワンカレ・プロットイング法(第一世代型計測法)を採用した実用化プロトタイプシステムの試作・評価を行うとともに、TdP発生メカニズムをより精緻に再現し、検証できる構成的オンチップ心筋細胞ネットワークモデルの構築と細胞間の伝達状態を評価する手法の開発(第2世代計測技術)を行う。

(実施体制: J B I C)

5.2 平成22年度事業規模

委託事業

一般勘定(交付金) 910百万円(継続)

(注) 事業規模については、変動があり得る。

6. その他重要事項

(1) 評価の方法

NEDOは、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義並びに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成23年度に実施する。

(2) 運営・管理

当該プロジェクトの実施にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(平成18年7月3日厚生労働省)、「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」(平成12年法律第146号)、「特定胚の取扱いに関する指針」(平成13年文部科学省告示第173号)、「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」(平成19年文部科学省告示第87号)等、関連指針を厳守する。また、本研究開発成果の事業化においては、「経済産業分野のうち個人情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン」(平成16・12・24製局第1号)を厳守する。

7. スケジュール

本年度のスケジュール

平成22年7月	第3回研究開発推進委員会開催
平成23年1月	第4回研究開発推進委員会開催

8. 実施方針の改訂履歴

- (1) 平成22年3月9日、制定。
- (2) 平成22年6月1日、加速予算の追加に伴う変更。

(別紙)

