

「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発／ヒト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」
事後評価報告書

表紙

平成27年2月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構
研究評価委員会

平成27年2月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構
理事長 古川 一夫 殿

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構
研究評価委員会 委員長 西村 吉雄

NEDO技術委員・技術委員会等規程第33条の規定に基づき、別添のとおり評価結果について報告します。

「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発／ヒト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」
事後評価報告書

平成27年2月

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構
研究評価委員会

目次

はじめに	1
分科会委員名簿	2
審議経過	3
評価概要	4
研究評価委員会におけるコメント	6
研究評価委員会委員名簿	7
第1章 評価	
1. プロジェクト全体に関する評価結果	1-1
1. 1 総論	
1. 2 各論	
2. 個別テーマに関する評価結果	1-14
2. 1 ヒト i P S 細胞等幹細胞から心筋細胞への高効率な 分科誘導技術の開発	
2. 2 ヒト i P S 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	
3. 評点結果	1-19
第2章 評価対象プロジェクト	
1. 事業原簿	2-1
2. 分科会における説明資料	2-2
参考資料 1 評価の実施方法	参考資料 1-1
参考資料 2 分科会議事録	参考資料 2-1

はじめに

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構においては、被評価プロジェクトごとに当該技術の外部専門家、有識者等によって構成される研究評価分科会を研究評価委員会によって設置し、同分科会にて被評価対象プロジェクトの研究評価を行い、評価報告書案を策定の上、研究評価委員会において確定している。

本書は、「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発／ヒト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」の事後評価報告書であり、NEDO技術委員・技術委員会等規程第31条に基づき、研究評価委員会において設置された「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発／ヒト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」（事後評価）研究評価分科会において評価報告書案を策定し、第41回研究評価委員会（平成27年2月20日）に諮り、確定されたものである。

平成27年2月
独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構
研究評価委員会

「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発／ヒト 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」

事後評価分科会委員名簿

(平成26年10月現在)

	氏名	所属、役職
分科会長	ごとう としお 後藤 俊男	独立行政法人 理化学研究所 社会知創成事業 創薬・医療技術基盤プログラム プログラムディレクター
分科会長 代理	なかにし あつし 中西 淳	武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 基盤技術研究所 主席部員 湘南インキュベーションラボ ディレクター
委員	くれぼやし よういち 樽 林 陽一	独立行政法人 医薬基盤研究所 創薬支援戦略室 理事 兼 室長
	なかむら ゆきお 中村 幸夫	独立行政法人 理化学研究所 バイオリソースセンター 細胞材料開発室 室長
	みずぐち ひろゆき 水口 裕之	大阪大学 大学院薬学研究科 分子生物学分野 教授 独立行政法人医薬基盤研究所 招へいプロジェクトリー ダー
	よこやま ちかふみ 横山 周史	株式会社リプロセル 代表取締役社長

敬称略、五十音順

審議経過

● 第1回 分科会（平成26年10月14日）

公開セッション

1. 開会、資料の確認
2. 分科会の設置について
3. 分科会の公開について
4. 評価の実施方法について
5. プロジェクトの概要説明

非公開セッション

6. プロジェクトの詳細説明
7. 全体を通しての質疑

公開セッション

8. まとめ・講評
9. 今後の予定
10. 閉会

● 第41回研究評価委員会（平成27年2月20日）

評価概要

1. 総論

1. 1 総合評価

iPS 細胞の登場後まもなくスタートした本事業は、iPS 細胞の創薬利用の可能性を早期に検証する上でも非常に重要なプロジェクトであった。中間評価後に創薬における安全性評価での活用、特に心臓毒性評価に絞り込んだことは慧眼で、iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導する技術の開発に成功し、また、従来法よりも優れた新規の心筋細胞の機能評価系を構築した点は高く評価できる。本事業によって、これまでは構想の域を出なかった iPS 細胞の創薬での実用化の進展が期待される。

プロジェクト途中で iPS 細胞の創薬研究分野への応用に焦点を絞った点は適切であったが、心毒性検査技術開発グループと iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導技術開発グループの連携がうまく取れなかったのは残念である。連携を図る予定であった民間企業がチームを外れた時点で、研究協力体制について考えることが必要であった。

1. 2 今後に対する提言

本研究で開発された技術（心毒性検査技術、分化誘導技術の両方）の実用化に向けて、日本製薬工業協会で活動しているヒト iPS 細胞応用安全性評価コンソーシアムとの連携を進めるとともに、薬事規制に向けた標準化も視野に入れ、産学連携による更なる実用化研究の発展に尽くして頂きたい。

疾患 iPS 細胞からの心筋細胞は、心毒性評価だけではなく有効性薬理評価にも使うことができるので、この面での展開を期待する。疾患 iPS 細胞の樹立は開始されているが、今後は、健常者由来 iPS 細胞の樹立・整備を含めた国家プロジェクトが必要である。

2. 各論

2. 1 事業の位置付け・必要性について

iPS 細胞を用いた医薬品の新たな安全性評価は、製薬企業の単独の取組では達成不可能である。新産業創出も含め、創薬基盤技術の開発を目指す健康安心イノベーションプログラムとも合致している。国家プロジェクトとして実施することには十分な意義がある。

iPS 細胞が発明されたばかりであり、市場や技術の動向も不確定な状況の中で、先進的な取り組みとして本プロジェクトを開始したことは大きく評価できる。プロジェクト終了時である現時点において、iPS 細胞の創薬応用は既定路線となっており、当時の先進性の正しさを裏付けている。

2. 2 研究開発マネジメントについて

iPS 細胞由来の心筋細胞を創薬分野に応用することを目指したプロジェクトであり、世界の最先端となる戦略的な目標であった。

実用化を意識した試験材料および機器の開発から測定方法、解析手法の開発、事業化に至るまで、合理的かつ合目的な研究開発計画が策定されていた。

iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導すること、当該細胞を利用した機能評価系を確立することの双方において適任者が採択されていた。事業統括責任者および3名の研究開発代表者は十分に計画実施能力を備えているとともに、本事業に対する強いコミットメントを有している。ただし、心毒性検査技術グループと分化誘導技術グループとの連携をとれる体制をとるべきであった。

中間評価以降、心筋細胞に特化して実用的な創薬スクリーニング構築を目指したスリムな体制に移行し、心筋細胞の開発、測定技術の開発、測定結果のバリデーションの3つの要素技術に対して、効率的な研究開発マネジメントがされ、FDA や製薬協とのコンタクトなど、実用化に向けた取り組みもなされていた。ただし、より多くの企業への情報提供が不足した面がある。

2. 3 研究開発成果について

T 細胞を用いた iPS 細胞からの心筋細胞の高効率の作製方法の確立、および iPS 由来心筋細胞を用いた臨床予測性の高い心毒性評価方法の確立など、いずれをとっても世界最高水準の技術開発であり、最終目標を十分達成した。

特許は適切に取得されており、海外への出願もなされている。論文発表も十分にされている。

学会でのシンポジウムやメガファーマを巻き込んだ国際共同評価グループを立ち上げるなどの活動が展開されてきたことは高く評価される。今後も引き続き、iPS 細胞を用いた創薬の実際の担い手である製薬企業安全性評価担当者に向けたより一層の情報発信が重要となる。製薬協コンソーシアムとの連携強化も期待する。

iPS 細胞の創薬研究への貢献の情報発信が不足している。今後は、関連学会や研究会での情報発信に注力されたい。また、NEDO としても情報発信をして欲しい。

2. 4 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

事業会社が参加しており、実用化に向けた成果の具体的な取り組みも実用化の見通しも明確である。今回の成果の実用化が進めば、細胞試料、測定機器および評価方法に関する受託研究など、新たな市場の創造につながることを期待できる。

LSI メディエンスにおけるキットの市販、受託事業の開始などは評価できる。また、バリデーションデータは、製薬企業が本システムを導入するために必要なデータパッケージであり、十分に実用化を意識した取り組みとなっている。

実用化のための最重要課題としては、パネル細胞の整備があげられる。今後、本事業で作製した iPS 細胞由来心筋細胞や毒性評価システムについて、広く企業が活用できる取り組みを期待する。

研究評価委員会におけるコメント

第41回研究評価委員会（平成27年2月20日開催）に諮り、本評価報告書は確定された。研究評価委員会からのコメントは特になし。

研究評価委員会

委員名簿（敬称略、五十音順）

職 位	氏 名	所 属、役 職
委員長	西村 吉雄	技術ジャーナリスト
委員長 代理	吉原 一紘	オミクロンナノテクノロジージャパン株式会社 最高顧問
委員	安宅 龍明	独立行政法人産業技術総合研究所 つくばイノベーション アーリーナ推進本部 共用施設調整室 招聘研究員
	伊東 弘一	学校法人早稲田大学 理工学術院 招聘研究員 公立大学法人大阪府立大学 名誉教授
	稲葉 陽二	学校法人日本大学 法学部／大学院 法学研究科 教授
	小林 直人	学校法人早稲田大学 研究戦略センター 副所長／教授
	佐久間一郎	国立大学法人東京大学大学院 工学系研究科 附属医療 福祉工学開発評価研究センター センター長／教授
	佐藤 了平	国立大学法人大阪大学 産学連携本部 名誉教授／特任 教授
	菅野 純夫	国立大学法人東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻 教授
	宮島 篤	国立大学法人東京大学 分子細胞生物学研究所 教授
	吉川 典彦	国立大学法人名古屋大学 大学院工学研究科 マイク ロ・ナノシステム工学専攻 教授

第1章 評価

この章では、分科会の総意である評価結果を枠内に掲載している。なお、枠の下の箇条書きは、評価委員の主な指摘事項を、参考として掲載したものである。

1. プロジェクト全体に関する評価結果

1. 1 総論

1. 1. 1 総合評価

iPS 細胞の登場後まもなくスタートした本事業は、iPS 細胞の創薬利用の可能性を早期に検証する上でも非常に重要なプロジェクトであった。中間評価後に創薬における安全性評価での活用、特に心臓毒性評価に絞り込んだことは慧眼で、iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導する技術の開発に成功し、また、従来法よりも優れた新規の心筋細胞の機能評価系を構築した点は高く評価できる。本事業によって、これまでは構想の域を出なかった iPS 細胞の創薬での実用化の進展が期待される。

プロジェクト途中で iPS 細胞の創薬研究分野への応用に焦点を絞った点は適切であったが、心毒性検査技術開発グループと iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導技術開発グループの連携がうまく取れなかったのは残念である。連携を図る予定であった民間企業がチームを外れた時点で、研究協力体制について考えることが必要であった。

〈肯定的意見〉

- ・プロジェクト開始当時は、iPS 細胞の創薬応用に関する認知度もあまり高くなく、その中での先進的な取り組みとして高く評価できる。
- ・iPS 細胞の登場後まもなくスタートした本事業は、iPS 細胞の創薬利用の可能性を早期に検証する上でも非常に重要なプロジェクトであった。
- ・最近の iPS 創薬研究への期待、特に心毒性評価がまさに実用化されようとしている状況を考えると、これらの潮流に先んじて NEDO プロジェクトが開始されたことは大いに評価できる。
- ・iPS 心毒性を評価する新しい評価系が構築できたところは大きく評価できる。
- ・実際の研究成果に関しても、世界最先端の結果であることは間違いなく、参加機関の多大な貢献が認められる。
- ・創薬スクリーニングにフォーカスした開発により、世界に先駆けた成果が複数出ており、プロジェクトとして成功であったといえる。
- ・成果として、iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導する技術の開発に成功し、また、当該技術を応用して、従来法よりも優れた新規の心筋細胞の機能評価系を構築するに至った点は高く評価できる。
- ・iPS からの効率的な心筋細胞分化誘導法の確立、ヒト幹細胞由来心筋細胞を使った心毒性評価法の確立、そして事業者による毒性評価試験ビジネスの構築という 3 つの要素が一体となって、実用化戦略に沿った研究開発が実行されたことは高く評価できる。本事業によって、これまでは“構想”の域を出なかった iPS 細胞の創薬での実用化が大きく進展することが期待される。
- ・ヒトのプライマリー細胞（癌細胞株のような長期培養細胞でなく正常に近い細胞）は、創薬分野では以前から需要が非常に高い細胞でありながら、日本には入手する方法がなかった。製薬企業等は、米国から脳死者に由来する肝臓細胞等を入手して使用してきた実

態があり、それは今でも変わっていない。そのような中、ES/iPS 細胞に由来する細胞（心筋細胞、肝臓細胞等）が注目を浴びていることは当然のことであり、中胚葉系の心筋細胞という内胚葉系細胞（肝臓細胞）よりも分化誘導効率が良い細胞に焦点を絞って本プロジェクトの対象とした点は、先見性もあり優れたものであった。

- この iPS プロジェクトがスタートした時は、再生医療も含めた全方向指向であった。中間評価後は、疾患 iPS ということも含めて、安全性の iPS 創薬、特に心臓毒性評価に絞り込んだことは慧眼で、実用化に向けたアウトプットが得られている。
- 日本で開発された iPS 細胞樹立技術を含め、幹細胞関連技術を世界に先駆けて社会に還元することが目的で開始されたプロジェクトであった。細胞の種類に関しては ES/iPS 細胞と体性幹細胞を二本柱にし、応用分野としては再生医療分野と創薬研究分野に焦点を絞ったプロジェクトであった。ES/iPS 細胞の再生医療分野への応用に関しては、まだ基礎的研究がかなり必要であること、逆に体性幹細胞（間葉系幹細胞）の再生医療分野への応用に関しては、既に世界的にも始まっていることから、プロジェクト期間の途中で「ES/iPS 細胞の創薬研究分野への応用」に焦点を絞った点は、適切であり、結果としての成果も高く評価できるものとなった。
- FDA や製薬協との協議など、実用化に向けた取り組みも進めている点も評価できる。

〈問題点・改善すべき点〉

- 心毒性検査技術開発 G が iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導技術開発 G と、実質的にチーム内での連携がうまく取れなかった（1社がチームから外れたとは言え、取れないようなチーム体制になっていた）ことは大変残念である。
- 心毒性検査技術開発 G と、分化誘導 G の連携を図る予定であった民間企業がチームを外れた時点で、もう少し今後の研究協力体制について考えることが出来たのではないかな？
- 心筋分化系と評価システムの2つの開発テーマについて、それぞれ並行して研究を実施して成果を創出したが、前者において作製した心筋細胞を後者の評価系に活用しておらず、相互の連携やフィードバックが十分とはいえない。
- 予算規模を考慮するともう少し多くの企業が参加して、事業化をより推進する体制が構築できて良かったように思う。また、特許戦略に関して専門家を入れた議論をもう少し進めても良かったように思う。

〈その他の意見〉

- 本事業で確立された我が国発の iPS 由来心筋細胞が、新たな心毒性評価法確立およびビジネス構築に使用されず、外国企業の心筋細胞が使用されていた。本事業で確立した新技術について我が国発 iPS 由来心筋細胞を用いたバリデーションが待たれる。
- iPS 細胞由来の心筋細胞を用いて候補薬物のスクリーニングを行う受託解析を 2014 年に開始したとの報告であったが、現状の受託解析内容では大きな需要は見込めず、実用化に向けたさらなる努力が必要である。

1. 1. 2 今後に対する提言

本研究で開発された技術（心毒性検査技術、分化誘導技術の両方）の実用化に向けて、日本製薬工業協会で活動しているヒト iPS 細胞応用安全性評価コンソーシアムとの連携を進めるとともに、薬事規制に向けた標準化も視野に入れ、産学連携による更なる実用化研究の発展に尽くして頂きたい。

疾患 iPS 細胞からの心筋細胞は、心毒性評価だけでなく有効性薬理評価にも使うことができるので、この面での展開を期待する。疾患 iPS 細胞の樹立は開始されているが、今後は、健常者由来 iPS 細胞の樹立・整備を含めた国家プロジェクトが必要である。

〈今後に対する提言〉

- ・本研究で開発された技術（心毒性検査技術、分化誘導技術の両方）は、現在日本製薬工業協会で活動されている「ヒト iPS 細胞応用安全性評価」コンソーシアムとの連携がなければ実用化に結びつかない。本コンソーシアムとの連携を期待する。
- ・成果の普及に向け、製薬協コンソーシアムとの連携など、さらに積極的なアピールを期待する。
- ・iPS 細胞を用いた創薬の実際の担い手は製薬企業であるが、今回の事業のポイントである心毒性評価も含め、製薬企業からは創薬現場での iPS の有用性についてまだまだネガティブな意見が多いと聞いている。しかし、今回発表された成績は従来の方法以上の臨床予測性能を明示しており、企業の安全性評価担当者の興味を十分に引きつけるだけのインパクトを持った内容になっていると確信している。今後は、関連する学会や研究会等での積極的な情報発信に努め、ICH を含めた薬事規制に向けた標準化も視野に入れ、産学連携による更なる実用化研究の発展に尽くして頂きたい。
- ・心毒性評価だけでなく、疾患 iPS 細胞からの心筋細胞は有効性薬理評価にも使うことができるので、この面での展開を期待する。
- ・評価に使用している細胞が輸入品なので、日本発の iPS 由来心筋細胞の実用化も進めて欲しい。
- ・薬剤の反応性には個人差があり、薬剤のスクリーニングには多数の人間に由来する細胞を使用することが必要である。そして、そのことこそが iPS 細胞技術に期待されていることである。即ち、iPS 細胞は末梢血からでも容易に樹立できる細胞であり、多数の人間に由来する細胞を整備することは技術的に容易であり、iPS 細胞由来の心筋細胞を多種類（多数の人間に由来する心筋細胞を）整備することで、候補薬物のスクリーニングを行うことに有益となる。
- ・整備すべき iPS 細胞は、健常者由来の iPS 細胞のみでなく、QT 延長症候群等の薬剤の副作用で重篤な不整脈を発症し易い患者に由来する iPS 細胞の整備もきわめて重要である。従って、健常者由来及び疾患（QT 延長症候群等）由来の iPS 細胞のパネルを双方とも少なくとも 100 人規模で整備するような国家プロジェクトが必要である。
- ・イギリスでは、健常者由来 iPS 細胞を 500 人分整備する計画が既に始まっている。また、疾患由来 iPS 細胞（疾患特異的 iPS 細胞）に関しても 500 人分整備する計画が同時に

始まっている。日本でも、疾患特異的 iPS 細胞の樹立は国家プロジェクトとして開始されているが、健常者由来 iPS 細胞の整備が遅れている。今後は、健常者由来 iPS 細胞の樹立・整備を含めた国家プロジェクトが必須である。

- 研究成果としては非常に優れているので、今後、この成果をいかに実用化につなげていくかが課題と思われる。新たな国家プロジェクトにおける当該技術の応用、企業へのライセンスも含め、具体的な取り組みを開始していただきたい。
- 国際競争力の観点から、この分野で日本が主導権を取れるよう本プロジェクトの終了後も継続的な予算投下が必要である。
- プロジェクトは終了しているが、今後、別プロジェクトの中で、開発された要素技術を取り込み実用化に活かしていただきたい。
- 他省庁の同様のプロジェクトとの棲み分けが今後重要になる。

1. 2 各論

1. 2. 1 事業の位置付け・必要性について

iPS 細胞を用いた医薬品の新たな安全性評価は、製薬企業の単独の取組では達成不可能である。新産業創出も含め、創薬基盤技術の開発を目指す健康安心イノベーションプログラムとも合致している。国家プロジェクトとして実施することには十分な意義がある。

iPS 細胞が発明されたばかりであり、市場や技術の動向も不確定な状況の中で、先進的な取り組みとして本プロジェクトを開始したことは大きく評価できる。プロジェクト終了時である現時点において、iPS 細胞の創薬応用は既定路線となっており、当時の先進性の正しさを裏付けている。

〈肯定的意見〉

- ・iPS 細胞を用いた医薬品の新たな安全性評価パラダイムの構築は、製薬企業の単独の取組では達成不可能である。特に今回の事業の目標であった臨床予測性の高い心毒性評価法の確立は、無用な薬害リスクの大幅な低減に直接結びつくものである。新産業創出も含め、創薬基盤技術の開発を目指す「健康安心イノベーションプログラム」の基本的な事業理念とも合致している。
- ・重要な分野でありながら、世界的なメガファーマの出現に伴い、日本の製薬企業がこうした最先端分野にまで先行投資をできる状況にはなく、国家プロジェクトとして実施することには十分な意義があり、また日本の産業の発展に必要である。
- ・創薬課題解決法へのアウトプットであり、「健康安心イノベーションプログラム」の目標達成のために寄与している。
- ・iPS 細胞の登場から早期に本プロジェクトを開始したことは、iPS 細胞の実用化に向けた検証の観点から非常に意義が大きい。中間評価後に創薬スクリーニングに特化したことにより、明確な効果が得られた。
- ・日本発の iPS 細胞技術を応用する研究分野は世界を席卷しており、事業の目的は妥当であったと言える。
- ・プロジェクト開始当時は、iPS 細胞が発明されたばかりであり、創薬応用のアイデア自体もまだ認知度は低かった。市場や技術の動向も不確定な状況の中で、先進的な取り組みとして本プロジェクトを開始したことは大きく評価できる。プロジェクト終了時である現時点においては、iPS 細胞の創薬応用はすでに「既定路線」となっており、当時の先進性の正しさを裏付けている。
- ・本プロジェクトの成果は、薬剤の副作用として重篤な副作用の一つである心毒性を、従来よりも迅速に、かつ、従来よりも正確に判定することに貢献するものであり、大きな寄与が期待できる。
- ・iPS 創薬への応用を目指した研究であるが、厚労省等のプロジェクトとは異なり主に機器技術開発が主なテーマであったため、棲み分けの点でも有意義であった。

1. 2. 2 研究開発マネジメントについて

iPS 細胞由来の心筋細胞を創薬分野に応用することを目指したプロジェクトであり、世界の最先端となる戦略的な目標であった。

実用化を意識した試験材料および機器の開発から測定方法、解析手法の開発、事業化に至るまで、合理的かつ合目的な研究開発計画が策定されていた。

iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導すること、当該細胞を利用した機能評価系を確立することの双方において適任者が採択されていた。事業統括責任者および3名の研究開発代表者は十分に計画実施能力を備えているとともに、本事業に対する強いコミットメントを有している。ただし、心毒性検査技術グループと分化誘導技術グループとの連携をとれる体制をとるべきであった。

中間評価以降、心筋細胞に特化して実用的な創薬スクリーニング構築を目指したスリムな体制に移行し、心筋細胞の開発、測定技術の開発、測定結果のバリデーションの3つの要素技術に対して、効率的な研究開発マネジメントがされ、FDA や製薬協とのコンタクトなど、実用化に向けた取り組みもなされていた。ただし、より多くの企業への情報提供が不足した面がある。

(1) 研究開発目標の妥当性

〈肯定的意見〉

- ・ iPS 細胞由来の心筋細胞を創薬分野に応用することを目指したプロジェクトであり、世界の最先端となる戦略的な目標であった。
- ・ iPS 事業の研究開発目標を創薬、特に心筋細胞での安全性評価に絞ったのは妥当。
- ・ 各実施項目のすべてにおいて明確な目標を設定し、ほとんどすべてにおいて最終目標を上回る成果を出していることは評価できる。
- ・ 目標は、iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導することと、当該細胞を利用した機能評価系を確立することにより、目標達成度を測定・判断できる具体的かつ明確な開発目標を設定していた。

〈その他の意見〉

- ・ 他省庁の大型経費で行った研究成果との棲み分け、区別はしっかりするべきであり、再度の確認が必要。
- ・ 日本発のヒト iPS 細胞からの心筋細胞の実用化には、さらなる開発努力が必要。

(2) 研究開発計画の妥当性

〈肯定的意見〉

- ・ 実用化意識した試験材料および機器の開発から測定方法、解析手法の開発、事業化に至るまで、合理的かつ合目的な研究開発計画が策定されていた。
- ・ ヒト iPS 細胞等幹細胞の【心筋細胞への高効率な分化誘導技術の開発/創薬スクリーニングシステムの開発】との研究開発計画は妥当。

- ・成果の応用に関してはスケジュールとして困難であったと思うが、予算的には概ね妥当なものであったと考える。

(3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

〈肯定的意見〉

- ・事業実施体制も適切であり、事業統括責任者および3名の研究開発代表者は十分に計画実施能力を備えている事に加え、今回の発表全体を通じて、本事業に対する非常に強いコミットメントが現れていたことは高く評価できる。
- ・iPS細胞から効率よく心筋細胞を誘導すること、当該細胞を利用した機能評価系を確立することの双方において、適任者が採択されており、必要となる要素技術も適切に取り上げられていた。
- ・技術要素としては、心筋細胞の開発、測定技術の開発、測定結果のバリデーションの3つに分けられるが、それぞれの要素技術に対して、慶応大学、東京医科歯科大学、LSIメディエンスと開発担当として配置されており、効率的な研究開発マネジメントがされていたことは大きく評価できる。
- ・事業計画に基づき、企業との共同研究開発体制による事業体制は妥当。
- ・心筋細胞に特化して実用的な創薬スクリーニング構築を目指したスリムな体制に移行し、集中的に開発に取り組むことが出来た。
- ・LSIメディエンスの実施体制が少し弱かったような印象があるが、他の指揮命令系統及び責任体制に関しては問題なかったと考える。
- ・実施者間で連携する要素が少なかったと思われるが、全体としては積極的に特許等の申請をしており、適切に実施されたと評価できる。

〈問題点・改善すべき点〉

- ・予算規模を考えると、心毒性検査技術Gと分化誘導技術Gとの連携を行う企業がなくても、ある程度の連携をとれる体制をとるべきであった。また、研究室レベルで分化誘導技術Gが作った細胞を心毒性検査技術Gが使い、そのパイロット評価を市販細胞(CDI製)と比較・検証することは十分可能であったと思われるが、それがなかったことは残念である。
- ・分化誘導技術Gとの連携をきっちりとれるチーム体制にするべきであった。
- ・LSIメディエンス以外の複数(多数)の企業の参加があって欲しかった。

〈その他の意見〉

- ・投じられた予算規模を考慮すると、もう少し参加機関(特に企業)を増やしても良かったのかもしれない。
- ・(1)iPS細胞から効率よく心筋細胞を誘導すること、(2)当該細胞を利用した機能評価系を確立すること、(3)それを実用化すること、の3点が本プロジェクトの目標であったが、(1)の成果を(2)に導入し、(2)の成果を(3)に導入するという連携であり、個々の研究開発に

においてあまり多くの連携がなかったことはやむを得ないことと思う。

(4) 研究開発の実用化に向けたマネジメントの妥当性

〈肯定的意見〉

- FDA や製薬協とのコンタクトなど、実用化に向けた取り組みもなされている。
- 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントは妥当。
- 実用化に関する取り組みは少し不足していたように思われるが、全体としては適切なマネジメントが実施されたと評価できる。

〈問題点・改善すべき点〉

- 前半でユーザーフォーラムという形で構築していた製薬企業との関係が、後半では特定の企業との関係強化に移行したため、より多くの企業への情報提供が不足した面がある。

(5) 情勢変化への妥当性

〈肯定的意見〉

- 網羅的な計画から、創薬に絞り込んだ情勢変化への対応は妥当。

1. 2. 3 研究開発成果について

T 細胞を用いた iPS 細胞からの心筋細胞の高効率の作製方法の確立、および iPS 由来心筋細胞を用いた臨床予測性の高い心毒性評価方法の確立など、いずれをとっても世界最高水準の技術開発であり、最終目標を十分達成した。

特許は適切に取得されており、海外への出願もなされている。論文発表も十分にされている。

学会でのシンポジウムやメガファーマを巻き込んだ国際共同評価グループを立ち上げるなどの活動が展開されてきたことは高く評価される。今後も引き続き、iPS 細胞を用いた創薬の実際の担い手である製薬企業安全性評価担当者に向けたより一層の情報発信が重要となる。製薬協コンソーシアムとの連携強化も期待する。

iPS 細胞の創薬研究への貢献の情報発信が不足している。今後は、関連学会や研究会での情報発信に注力されたい。また、NEDO としても情報発信をして欲しい。

(1) 目標の達成度と成果の意義

〈肯定的意見〉

- T 細胞を用いた iPS 細胞からの心筋細胞の高効率の作製方法の確立、および iPS 由来心筋細胞を用いた臨床予測性の高い心毒性評価方法の確立およびその事業化、いずれをとっても世界最高水準の技術開発である。現在、心毒性の評価は動物材料を用いた代替法に頼らざるを得ない状況であり、臨床予測性の高い評価方法の確立が待たれている。
- iPS 細胞から効率よく心筋細胞を誘導すること、当該細胞を利用した心筋機能評価系を確立すること、この 2 点のマイルストーンは達成できたと評価できる。
- 各実施項目において、最終目標を十分達成した。とくに、末梢血 T 細胞からの iPS 細胞作製技術の確立、複数の遺伝性 QT 延長症候群患者 iPS 細胞由来心筋細胞を用いた病態フェノタイプ解析、臨床への外挿性の高い心毒性評価システムの構築など、世界に先駆けた成果である。
- 研究開発については、いずれも世界最先端の成果であることは間違いなく、高く評価できる。慶応大学の患者由来の疾患細胞を使った QT 延長モデル、医科歯科大の「ゆらぎ」の測定技術の開発は極めて先進的であり、また LSI メディエンスのバリデーションに関してもしっかりしたデータが取得されている。
- 心筋の新規機能評価系は世界をリードする最先端のものであり、世界の中で優位性を確保していると高く評価できる。
- iPS 細胞から誘導した心筋細胞が薬剤のスクリーニング等の創薬分野に応用されることは確実であり、市場の創造につながる成果をあげたと高く評価できる。
- 本事業で取り扱った分野は欧米との激しい競争があるものであるが、今回発表された成果の実用性は非常に高く、世界標準としての確立に十分繋がりうるポテンシャルをもっているものと評価される。緻密な知財化を図り、我が国発の心筋細胞を利用した評価方法のバリデーションを早急に実施すれば、iPS の創薬応用領域での日本の国際競争力強化に繋がることが期待される。

- ・成果は目標を達成しており、参加企業での実用化の見通しが立っている。
- ・応用や実用化は今後のさらなる進展が求められるが、費用対効果は決して悪くなかったと評価できる。
- ・要素技術の開発に関しては、投入された予算に見合った成果が得られていると評価できる。
- ・論文等の対外的な発表が将来の産業につながる観点から戦略的に行われているか否かは判断の難しいところではあるが、心筋の機能評価系は新規なものであり、産業界からの注目を浴びるものと思われる。

〈問題点・改善すべき点〉

- ・創薬スクリーニングの解析システム構築や実用化の検証において市販の iPS 細胞由来心筋細胞を使用した。本プロジェクトで作製した iPS 細胞由来心筋細胞を使用し、市販の細胞との比較検証を行う必要があった。

〈その他の意見〉

- ・本成果の事業化には、iPS 由来細胞の標準化課題が残っており、「当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか」の判定には更なる期間が必要となる。
- ・開発された技術については十分であるが、研究費総額の規模の大きさを考えた場合、それに見合った成果であるかどうかについては検証が必要と思われる。
- ・投入された予算に見合った成果が得られるかどうかは、本事業を単独に展開する事業会社の収支だけでなく、本事業成果を利用する医薬品企業への間接的な貢献も評価すべきである。
- ・実用化に関する成果は不十分であると思われるが、その点は本プロジェクトの開始時点から想定していたことなので、やむを得ない。
- ・時間的な制約もあったかと思うが、3者の開発した技術の組み合わせの結果があればベストであろう。

(2) 知的財産権の取得及び標準化の取組

〈肯定的意見〉

- ・特許は適切に取得されており、海外への出願もなされている。
- ・プロジェクト実施者はその重要性をしっかりと認識しており、特許等の申請数から判断しても、適切に実施されたと評価できる。
- ・論文発表、特許出願とも十分な成果をあげている。
- ・論文、特許も適切に取得されている。

〈その他の意見〉

- ・大学と企業の共同プロジェクトの難しいところではあるが、知財戦略について、もう少し深いディスカッションがあっても良かったかもしれない。オープン/クローズ化、標準化

など、通常ではない高度な戦略が要求されるので、そのあたりの専門家をアサインするのも良いと思われる。

- ・海外企業からの成果利用の問い合わせに対する対応が本当にそれで適切であったのかは疑問である。どういう要素技術はライセンスアウトが可能なのかを早期に見極めて、世界中の多くの企業に利用してもらい、という戦略も重要ではないかと考える。

(3) 成果の普及

〈肯定的意見〉

- ・これまでにトキシコロジー学会でのシンポジウムやメガファーマを巻き込んだ国際共同評価グループを立ち上げるなどの活動が展開されてきたことは高く評価される。今後も引き続き、iPS 細胞を用いた創薬の実際の担い手である製薬企業安全性評価担当者に向けたより一層の情報発信が重要となる。関連学会や研究会での情報発信に注力されたい。
- ・成果の発表は適切になされている。

〈問題点・改善すべき点〉

- ・一般には iPS 細胞の再生医療分野への応用が注目されており、創薬研究への貢献の情報発信が不足している。今後はもっと積極的に、NEDO としても情報発信をして欲しい。

〈その他の意見〉

- ・論文発表、特許出願は適切なタイミングで行われたが、成果の普及のためのユーザーへの啓蒙活動など、さらに積極的にアピールすることが課題。製薬協コンソーシアムとの連携強化も期待する。
- ・成果の普及に関しては今後期待したい。
- ・成果が本当に産業界で必要なものになるかどうかは、産業界でのユーザーの評価による。

1. 2. 4 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

事業会社が参加しており、実用化に向けた成果の具体的な取り組みも実用化の見通しも明確である。今回の成果の実用化が進めば、細胞試料、測定機器および評価方法に関する受託研究など、新たな市場の創造につながることを期待できる。

LSI メディエンスにおけるキットの市販、受託事業の開始などは評価できる。また、バリデーションデータは、製薬企業が本システムを導入するために必要なデータパッケージであり、十分に実用化を意識した取り組みとなっている。

実用化のための最重要課題としては、パネル細胞の整備があげられる。今後、本事業で作製した iPS 細胞由来心筋細胞や毒性評価システムについて、広く企業が活用できる取り組みを期待する。

〈肯定的意見〉

- ・事業会社が課題に参加しており、実用化に向けた成果の具体的な取り組みも実用化の見通しも明確である。
- ・今回の成果の実用化が進めば、細胞試料、測定機器および評価方法に関する受託研究など、新たな市場の創造につながることを期待できる。
- ・実用化にむけたマイルストーンは明確にされている。本事業で確立された方法が広く用いられるようになれば、心毒性に関わる医薬品の安全性評価は大幅な進展を遂げるものと思われる。
- ・LSI メディエンスにおけるキットの市販、受託事業の開始などは評価できる。
- ・LSI メディエンスのバリデーションデータは、製薬企業が本システムを導入するために必要なデータパッケージであり、十分に実用化を意識した取り組みとなっており高く評価できる。
- ・受託サービスを開始した点は評価できる。
- ・FDA や製薬協との協議など成果普及への努力が見られる。

〈その他の意見〉

- ・その先の実用化に関しては今後の進展を期待したいが、実用化のための最重要課題としては、パネル細胞の整備があげられる。
- ・現在の心毒性評価の実用化研究で、細胞供給の点でも、評価法の点でも、主流となって欲しかったが、そうならないことは少し残念である。
- ・本事業で作製した iPS 細胞由来心筋細胞や毒性評価システムについて、広く企業が活用できるような取り組みを期待する。
- ・LSI メディエンスのみでなく、複数（多数）の企業の参画が望ましい。
- ・国内企業との連携を期待したい。
- ・実用化された場合の利用範囲は、創薬段階での安全性評価の一領域に限定されることから、世界規模で展開できたとしても市場規模は限定的なものになる可能性がある。
- ・実用化がまだ実現できていないと判断されるが、時間的にはやむを得ないかと考える。し

かし、本プロジェクトでの成果を決して無駄にしないように、参画関係機関のさらなる継続的努力を期待したい。

2. 個別テーマに関する評価結果

2. 1 ヒト 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 研究開発成果、今後に対する提言について

疾患 iPS 細胞由来の心筋細胞の分化誘導に末梢血の T 細胞を用いることを一般化し、学術的な意味でも高い成果を出した。さらに、複数の遺伝性 QT 延長症候群患者 iPS 細胞由来心筋細胞を用い、世界に先駆けて病態フェノタイプ解析に成功したことも重要な成果であり、十分目標を達成した。微量の血液から効率的に iPS 細胞を作製する技術も、その応用を考えると意義は大きい。他の研究機関と比較した場合の分化誘導効率や心筋の生産性の比較などのデータが明確化されれば、なお良かった。

今後、本事業の成果を活用して多数の健常人、患者から iPS 細胞を作製し、薬剤の反応性の個体差を検証するパネル試験系の開発を期待する。

(1) 目標の達成度と成果の意義

〈肯定的意見〉

- ・疾患 iPS 由来の心筋細胞の分化誘導に末梢血の T 細胞を用いることを一般化し、学術的な意味でも高い成果を出した。このアウトプットは、疾患 iPS を用いた薬理学、その疾患をどう治すかという面にも出口がある。
- ・末梢血 T 細胞から iPS 細胞作製技術は、すでに世界的に多くの研究に活用されており、特筆すべき成果である。さらに、複数の遺伝性 QT 延長症候群患者 iPS 細胞由来心筋細胞を用いて、世界に先駆けて病態フェノタイプ解析に成功したことも重要な成果であり、十分目標を達成した。
- ・患者由来 iPS 細胞の研究は注目度の高い最先端の研究分野であり、QT 延長の領域で、明確な研究成果を示すことができたことは大いに評価できる。また、微量の血液から効率的に iPS 細胞を作製する技術も、実際の応用を考えると意義は大きい。
- ・血液からの T 細胞を利用した iPS 細胞の効率的作製方法の開発と遺伝性心筋疾患患者の iPS 細胞の樹立に成功したことは高く評価されるべき成果である。
- ・iPS 細胞から、心筋細胞を効率よく誘導する方法論を確立した。また、当該心筋細胞が、薬剤の心筋への影響を解析するためにも活用できることが示されており、目標を達成したと評価できる。
- ・他の研究資金との仕分けを明確にすることは難しいと思われるが、総じて、予算に見合った成果をあげたと評価できる。
- ・センダイウイルスベクターを用いた血液細胞からの iPS 細胞作製技術の開発、G-CSF を用いた細胞増幅技術の開発、QT 延長症候群患者からの iPS 細胞の樹立、および心筋細胞の分化誘導の成功は大いに評価できる。

〈問題点・改善すべき点〉

- ・iPS 細胞から心筋細胞への高効率な分化誘導系を構築しているが、独自の方法であるため、他の方法で作製した心筋細胞や市販の心筋細胞と比較検討しその優位性を明らかにすべ

きであった。

- ・ iPS 細胞から特定の組織細胞を誘導する研究は世界的にも盛んに行われており、心筋細胞の誘導に関しても様々な研究成果報告が出ている。現時点では、成人型でなく、胎児型の心筋しか誘導できていないという点が、この分野共通の大きな課題のようであるが、その点でブレークスルーとなるような成果であれば申し分なかったと言える。形態的に大きさが成人型の心筋を誘導することはかなり難しそうではあるが、発現している分子に関しては、成人型の心筋に近い細胞を誘導する技術開発を目指してほしい。
- ・ 基礎研究の成果を一般に向けて発信することは、どの基礎分野でも難しいことではあるが、応用・実用化を目指した基礎研究であるので、もう少し工夫してほしい。
- ・ 他のグループが開発した iPS 細胞由来心筋細胞（CDI 社の細胞等）との機能性の評価、あるいは positive control となるべき細胞との比較 data がいないため、実際にどの程度の機能をもった細胞が作製されたのか？ が不明。この評価は極めて重要だと思われる。

〈その他の意見〉

- ・ 既に実施済みかもしれないが、他の研究機関と比較した場合の分野誘導効率や心筋の生産性の比較などのデータが明確化されれば、なお良かった。
- ・ 本事業の成果を活用して多数の健常人、患者から iPS 細胞を作製し、薬剤の反応性の個体差を検証するパネル試験系の開発を期待する。
- ・ 分化誘導の安定性・再現性はどうか？
- ・ 分化細胞の凍結は可能なのか？

(2) 知的財産権等の取得及び標準化の取組

〈肯定的意見〉

- ・ 実施者はその重要性をしっかりと認識しており、特許の申請数から判断しても、適切に実施されたと評価できる。

(3) 成果の普及

〈肯定的意見〉

- ・ 本課題はかなり基礎的な部分であり、論文等の対外的な発表に対する将来の産業につながる観点からの評価は難しいが、基礎研究としては十分な論文発表がなされたと評価できる。

2. 2 ヒト 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 研究開発成果、実用化に向けての見通し及び取り組み、今後に対する提言について

ヒト幹細胞由来心筋を用いた FPD 方法、それを実行するハードウェアおよびソフトウェアの開発を行い、臨床予測性の高い心毒性スクリーニングシステムを確立したことは、従来の技術ではなしえなかった新たなブレークスルーを提供するもので、高く評価できる。

心筋の薬剤評価方法として、「ゆらぎ」という新しい測定方法の概念を提案し、証明したことは画期的である。LSI メディエンスが行ったモデル化合物を用いたバリデーションについても有用なデータとして評価できる。

薬剤の評価には多数の人間に由来するパネル細胞の整備が必須である。今後、本事業で作製した iPS 細胞由来心筋細胞を用いた検証が必要である。また、複数の iPS 細胞を用いて個体差が再現性よく検出できるか比較検討することも重要である。

(1) 目標の達成度と成果の普及

〈肯定的意見〉

- ・ヒト幹細胞由来心筋を用いた FPD 方法ならびにそれを実行するためのハードウェアおよびソフトウェアの開発を行い、臨床予測性の高い心毒性スクリーニングシステムを確立し得たことは、従来の技術ではなしえなかった医薬品の毒性リスク評価に新たなブレークスルーを提供するもので、非常に高く評価できる。
- ・1細胞の測定法を開発すると同時に、多細胞における QT 延長の原因も解明し、学術的な意味と同時に実用化を支える基盤を構築した。
- ・心筋の薬剤評価方法としては、パッチクランプ、細胞外電位 (MEA) など、いくつか提案されているが、「ゆらぎ」という新しい測定方法の概念を提案し、証明したことは画期的である。また、特許、論文化にも積極的に取り組んでおり、高く評価できる。LSI メディエンスが行ったモデル化合物を用いたバリデーションについても有用なデータとして評価できる。
- ・心毒性へのスクリーニングシステムでは、原理からデバイス・OS まで踏み込んでいるので、実用化に良い形でバトンタッチできる状態にある。
- ・既存の方法に比較して、本事業で開発した解析手法により、臨床への予測が格段に向上することが確認されたことは非常に素晴らしい成果である。
- ・事業者による実用化に向けた取組も順調であり、1年以内の実用化が見込まれていることも高く評価すべき点である。
- ・iPS 細胞から誘導した心筋細胞を用いて、薬剤の影響を解析する評価系を開発することに成功しており、目標を達成したと評価できる。ただし、創薬研究分野において、心筋細胞や肝臓細胞を用いた試験は必須のものであり、該当するヒト細胞の入手には困難を極めているのが現状であり、iPS 細胞から誘導した心筋細胞を利用しての機能評価系を開発したことで、市場の創造につながる成果をあげたと高く評価できる。
- ・薬剤の心毒性は、細胞への直接的な障害 (細胞破壊等) ではなく、伝導障害であることに着目して、この伝導障害を検出する機能評価系を開発した点は、きわめて優位性が高い

ものと高く評価できる。

- ・開発された技術は新規性があり、また、応用の実現可能性も大きく、投入された予算に見合った成果をあげたと評価できる。
- ・得られた技術は大変有意義である。

〈問題点・改善すべき点〉

- ・今後の課題としては、薬剤の評価には多数の人間に由来するパネル細胞の整備が必須であり、喫緊の課題と思われる。
- ・本事業で作製された iPS 細胞由来心筋細胞を用いた検証が必要である。また、複数の iPS 細胞を用いて個体差が再現性よく検出できるか比較検討することも重要である。
- ・プロジェクト期間中に本格的な実用化を目指したものではないが、今後の本格的な実用化に関しては、様々な課題が残されているものと思われる。まずは、参画機関が LSI メディエンスのみでは不十分と思われる。大きな国家プロジェクトとして実施したものであり、複数（多数）の企業の参画を促すべきであった。

〈その他の意見〉

- ・得られた技術の第三者による客観的評価を期待したい。

(2) 知的財産権等の取得及び標準化の取組

〈肯定的意見〉

- ・論文発表、学会発表、特許等の外部への情報発信も十分である。
- ・実施者はその重要性をしっかりと認識しており、特許等の申請数から判断しても、適切に実施されたと評価できる。

(3) 成果の普及

〈肯定的意見〉

- ・論文等の対外的な発表は適切に実施されたと考える。その内容も、心筋細胞の機能評価系の開発であり、将来の産業につながることを目的に行われていると評価できる。

〈その他の意見〉

- ・応用・実用化を目指した研究であるので、もう少し工夫してほしかった。積極的な広報活動に関しては、研究者の不得手な分野であり、実施研究者のみならず、NEDO の支援も必要と思われる。

(4) 成果の実用化の見通し及び取り組みについて

〈肯定的意見〉

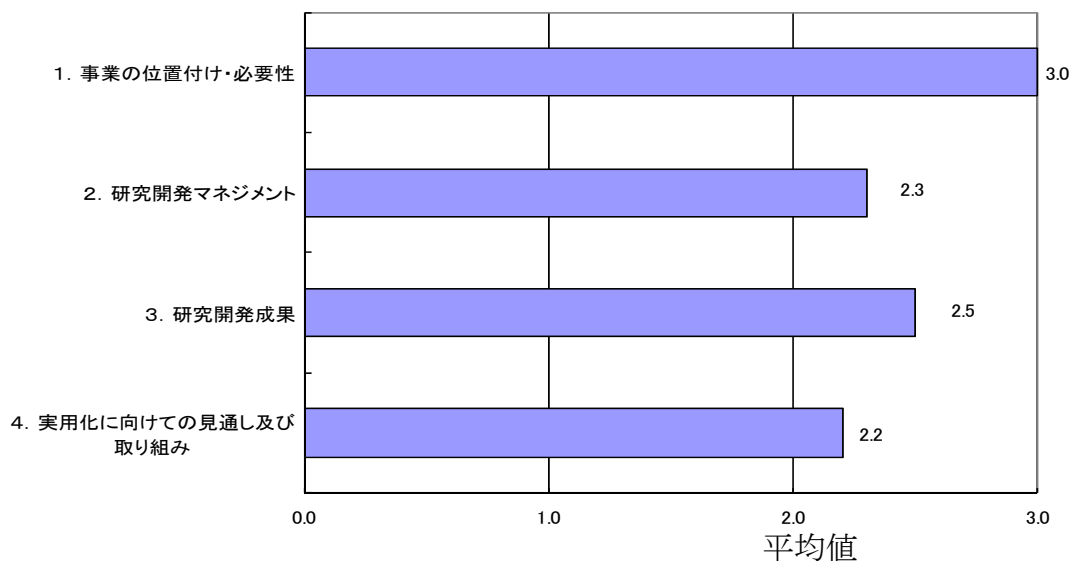
- ・プロジェクト期間中に本格的な実用化を目指したものではないが、実用化イメージに基づいた戦略が立てられ、その課題目標を着実に達成したと評価できる。

〈その他の意見〉

- 本課題の範疇を越えることではあるが、実用化に関しては、パネル細胞の整備等の大きな課題が残されている。
- 今回開発された新評価技術の日本発 iPS 細胞由来心筋細胞を用いた技術バリデーションが待たれる。
- 新しく開発された測定方法に関して、今後、ハイスループット化を進めていただければ、より普及が進むように思われる。

3. 評点結果

3. 1 プロジェクト全体



評価項目	平均値	素点 (注)					
1. 事業の位置付け・必要性について	3.0	A	A	A	A	A	A
2. 研究開発マネジメントについて	2.3	B	A	B	B	B	A
3. 研究開発成果について	2.5	B	A	B	B	A	A
4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて	2.2	B	A	C	B	A	B

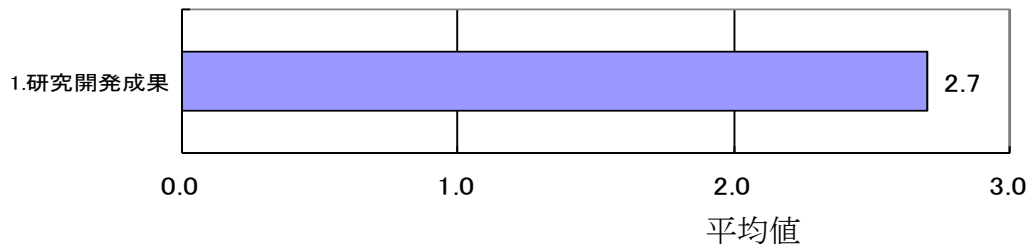
(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

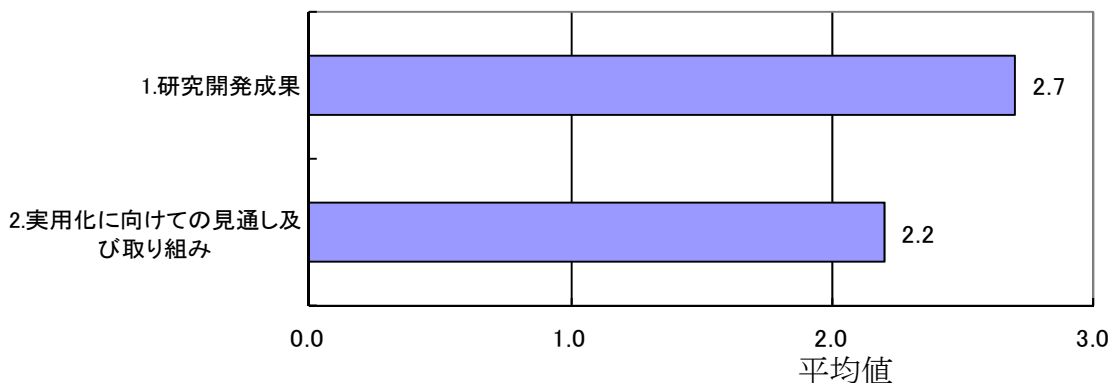
1. 事業の位置付け・必要性について	3. 研究開発成果について
・非常に重要 →A	・非常によい →A
・重要 →B	・よい →B
・概ね妥当 →C	・概ね妥当 →C
・妥当性がない、又は失われた →D	・妥当とはいえない →D
2. 研究開発マネジメントについて	4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて
・非常によい →A	・明確 →A
・よい →B	・妥当 →B
・概ね適切 →C	・概ね妥当であるが、課題あり →C
・適切とはいえない →D	・見通しが不明 →D

3. 2 個別テーマ

3. 2. 1 ヒト 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



3. 2. 2 ヒト 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



個別テーマ名と評価項目	平均値	素点 (注)					
ヒト 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							
1. 研究開発成果について	2.7	A	A	B	B	A	A
ヒト 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. 研究開発成果について	2.7	B	A	A	B	A	A
2. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて	2.2	B	A	C	B	A	B

(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

1. 研究開発成果について

- ・非常によい →A
- ・よい →B
- ・概ね適切 →C
- ・適切とはいえない →D

2. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

- ・明確 →A
- ・妥当 →B
- ・概ね妥当 →C
- ・見通しが不明 →D

第2章 評価対象プロジェクト

1. 事業原簿

次ページより、当該事業の事業原簿を示す。

「ヒト 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」

(旧名称 : 「iPS 細胞等幹細胞産業応用促進
基盤技術開発」)

事業原簿【公開版】

担当部	独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 バイオテクノロジー・医療技術部
-----	--

目次

概要	3
プロジェクト用語集	7
I. 事業の位置付け・必要性について	10
1. 事業の背景・目的・位置付け	10
2. NEDO の関与の必要性・制度への適合性	10
2.1. NEDO が関与することの意義	10
2.2. 実施の効果	11
II. 研究開発マネジメントについて	12
1. 事業の目標	12
2. 事業の計画内容	12
2.1. 研究開発の内容	12
2.2. 研究開発の実施体制	12
2.3. 研究開発の運営管理	14
2.4. 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性	14
3. 情勢変化への対応	14
4. 中間評価結果への対応	14
5. 評価に関する事項	15
III. 研究開発成果について	16
1. 事業全体の成果	16
2. 研究開発項目毎の成果	19
研究開発項目②-1 「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」	19
(a) 「ヒト iPS 細胞から効率よく心筋細胞を分化誘導する方法の開発」	19
(b) 「スクリーニングシステムへのヒト iPS 細胞由来心筋細胞の供給」	21
研究開発項目②-2 「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」	26
(a) 「心筋毒性を検出する装置システム（ハードウェア）の開発」	27
(b) 「解析・判断プロトコール・データベース（ソフトウェア）の開発」	38
(c) 「システム評価」	50
(d) 「バリデーション体制構築」	65
IV. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて	110
1. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて	110
添付資料	115
健康安心イノベーションプログラム基本計画	116
プロジェクト基本計画	126
【研究発表・講演（口頭発表も含む）】	135

概要

		最終更新日	平成 26 年 10 月 7 日	
プログラム（又は施策）名	健康安心イノベーションプログラム			
プロジェクト名	ヒト 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	プロジェクト番号	P08030	
担当推進部/担当者	バイオテクノロジー・医療技術部 担当者氏名 吉羽 洋一（平成 21 年 3 月～平成 21 年 9 月） 担当者氏名 上村 研一（平成 21 年 3 月～平成 23 年 11 月） 担当者氏名 大友 純（平成 21 年 10 月～平成 24 年 9 月） 担当者氏名 平林 集（平成 22 年 8 月～平成 25 年 7 月） 担当者氏名 知場 伸介（平成 25 年 4 月～平成 26 年 2 月）			
事業の概要	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り、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。			
I. 事業の位置付け・必要性について	○ 事業の位置付け 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に、低迷している国内外の創薬業界の活性化とこれにより期待されるバイオ・医療産業の発展に資する重要な課題であり、NEDO が関与し「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」の一環として本プロジェクトを実施する。また、「医療イノベーション 5 か年戦略」（平成 24 年 6 月医療イノベーション会議策定）においても、「新薬開発の効率性の向上を図るため、iPS 細胞を用いた医薬品の安全性評価システムを開発」することが重要と位置づけられている。 ○ 事業の必要性 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。			
II. 研究開発マネジメントについて				

事業の目標	<p>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り、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、我が国バイオ産業の競争力強化・新産業の創出を図り、国際的優位性を確保する。</p> <p>(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。</p> <p>(2) 中間目標 (平成 23 年度末) 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。</p>							
事業の計画内容	研究開発項目	H20fy	H21fy	H22fy	H23fy	H24fy	H25fy	
	②-1 ヒト 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							
	②-2 ヒト 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							
開発予算 (百万円) (契約種類)	会計・勘定	H20fy	H21fy	H22fy	H23fy	H24fy	H25fy	総額
	交付金	-	335	637	648	554	448	2,634
	補助金	550*	-	-	-	-	-	550
	総予算額	550	335	637	648	554	448	3,184
	* 平成 20 年度は補正予算。							
	(委託)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	(助成)							
	: 助成率△/□							
	(共同研究)							
	: 負担率△/□							
	経産省担当原課	製造産業局生物化学産業課						
	プロジェクトリーダー	財団法人先端医療振興財団先端医療センター センター長 鍋島 陽一 (平成 23 年 3 月 31 日まで) 国立大学法人東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授 安田 賢二 (平成 23 年 4 月 1 日から)						
	チームリーダー	研究開発項目 ①	慶應義塾大学医学部 教授 福田 恵一					
		研究開発項目 ②	東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授 安田 賢二					

	委託先	○ (国) 東京医科歯科大学生体材料工学研究所 ○ (学) 慶應義塾大学医学部 ○ (株) 三菱化学メディエンス
情勢変化への対応		○ 平成 23 年 4 月「ヒト幹細胞産業応用促進技術開発」として基本計画を見直し、本研究開発項目のみに集中し、創薬スクリーニング装置の実用化を目指した創薬応用へ向けた実施体制を変更した。プロジェクトの責任体制を明確にするため、PL を安田賢二教授に変更した。 ○ 平成 24 年 3 月、事業化に向けてより責任体制を明確にするため研究開発マネジメント体制を変更し、NEDO と各事業者の直接契約とした。
中間評価結果への対応		平成 23 年度当初に基本計画を見直し、本研究開発項目のみに集中し、創薬スクリーニング装置の実用化を目指した創薬応用へ向けた実施体制を変更していた。また、HESI(Health and Environmental science)活動、およびユーザーフォーラムも取組を行っていた。中間評価において指摘を受けた事項は、既にその時点で措置済みとなっていたことから、「概ね現行どおり実施」として対応することにした。
評価に関する事項	事前評価	なし
	中間評価	平成 23 年度実施
	事後評価	平成 26 年度実施
Ⅲ. 研究開発成果について		<p>研究開発項目②「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」</p> <p>新規化合物の毒性を早期に確認することは新規薬剤開発の重要なステップであるが、特に QT 延長、不整脈の発生等、心毒性、心筋細胞への影響を調べることは重要である。本プロジェクトでは ES あるいは iPS 細胞から誘導した心筋細胞を用いて心毒性を効率よく検出するシステムの開発に取り組み、以下の成果を得た。</p> <p>②-1 ヒト 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</p> <p>以下の技術開発を実現したことにより、全てのヒトから非侵襲的に iPS 細胞を非侵襲的、効率的、短期間で樹立する方法として血液 T リンパ球から iPS 細胞を樹立する方法を開発した。さらに、健常者、遺伝性 QT 延長症候群患者より、作出した再生心筋細胞を用いて不整脈解析モデルを構築した。</p> <ol style="list-style-type: none"> ヒト iPS 細胞の効率的な心筋細胞の誘導法を確立した。 健常者 10 例から iPS 細胞の樹立に成功した。さらに、皮膚生検を必要とせず、末梢血の T 細胞を利用して iPS 細胞を樹立する方法を開発した。 遺伝性 QT 延長症候群 1 型、2 型、3 型、7 型、ブルガダ症候群の症例からヒト iPS 細胞を樹立に成功した。 <p>②-1iPS 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</p> <p>以下の技術開発を実現したことにより、従来の「細胞電位」計測に加えて、催不整脈性の原因である「細胞の応答性のゆらぎ」、細胞間の興奮伝導をモデル化した「細胞ネットワーク」の観点からの興奮伝導の異常/ゆらぎに着目し、従来の細胞/動物実験等の非臨床系では予測困難であった偽陽性/偽陰性薬剤の正確な計測技術の原理開発に成功した。</p> <ol style="list-style-type: none"> MEMS 技術を駆使した「ノイズ低減技術」「心筋細胞ネットワーク」による興奮伝導計測技術、「リエントリ」計測チップ概念、張力発生異常計測の概念など、従来の in vitro 系では計測できなかったより in vivo に近い情報の取得技術の開発に成功した。 「細胞電位」パターンの変化と応答の時間的ゆらぎ解析技術、「細胞ネットワーク」の興奮伝導ゆらぎ、「発生張力」ゆらぎの計測からの総合的評価による催不整脈

	<p>性解析技術の開発およびその自動化に成功した。</p> <p>3. 上記1. 及び2. を組み合わせ、「催不整脈性」予測技術によって従来の in vitro 計測系では予測が困難であった偽陰性、偽陽性薬剤 15 薬剤について、すべての薬剤で、「細胞電位」「興奮伝導」「発生張力」の3つの観点から正確かつ定量的に投与量に対する安全域の程度が許容範囲の予測が可能である quasi-in vivo 技術となることを確認した。</p>	
	投稿論文	「査読付き」51 件
	特 許	「出願済」5 件、「登録」1 件、「実施」1 件（うち国際出願1 件）
	その他の外部発表（プレス発表等）	新聞雑誌への掲載 109 件、展示会出展 2 件
IV. 実用化の見通しについて	<p>研究開発項目② 「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」</p> <p>②-1 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 健常者および遺伝性QT延長症候群由来のヒト iPS 細胞由来の樹立と心筋細胞への誘導は順調に経過しており、実用化は直前の状態まで進んでいると考えられる。これまで製薬業界では薬剤開発の際に、CHO 細胞等に hERG 遺伝子を発現させた細胞を用いて Ca⁺、Na⁺、K⁺イオンチャンネルの内K⁺チャンネルへの作用を見ることで、薬剤の催不整脈作用を判定してきた。いままで用いられてきた動物細胞ではなくヒト iPS 細胞由来の心筋細胞を用いることにより、hERG 試験の精度が向上することが期待できる。更に今回の研究で本邦初の健常者、遺伝性QT延長症候群の心筋細胞が流通すれば、各種イオンチャンネルに対する作用を見ることも可能になる。</p> <p>②-2 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 従来の「細胞電位」計測に加えて、催不整脈性の原因である「細胞の応答性のゆらぎ」、細胞間の興奮伝導をモデル化した「細胞ネットワーク」の観点からの興奮伝導の異常/ゆらぎに着目し、従来の細胞/動物実験等の非臨床系では予測困難であった偽陽性/偽陰性薬剤の正確な計測技術の原理開発に成功した。 この技術を基盤に iPS 細胞由来心筋細胞の細胞外活動電位を経時的に記録し、被験薬の影響を評価するシステムを開発し、当該事業を H26 年 7 月より開始する。</p>	
V. 基本計画に関する事項	作成時期	作成時期 平成 21 年 1 月、制定
	変更履歴	<p>(1) 平成 21 年 1 月、制定</p> <p>(2) 平成 23 年 1 月、改訂。内外の研究開発動向に鑑み、研究開発項目①及び研究開発項目②を発展的に統合し、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」を新たに設定。再生医療への応用を可能とする細胞源の確立を目標として、平成 23 年度から 5 年計画で新規に着手すべく改訂。なお、平成 22 年度補正予算により前倒しで着手。</p> <p>(3) 平成 24 年 3 月、改訂。研究開発マネジメント体制の確定等を踏まえて改訂。</p> <p>(4) 平成 25 年 2 月、改訂。幹細胞研究を取り巻く現状を踏まえ、1.(1)研究開発の目的部分に加筆。</p>

プロジェクト用語集

用語	解説
homing	造血幹細胞などで知られた現象で、幹細胞が生まれた場所から移動して組織で定着することをいう
hES 細胞	さまざまな細胞に分化し、増殖する能力を持つ、発生初期のヒト胚由来の全能細胞。ヒトの受精卵の一段階である胚盤胞から取り出した内部細胞塊から樹立される。
hiPS 細胞	ES 細胞と同様に増殖して各種の細胞へと分化することが可能なヒト細胞由来の多分化能細胞。ES 細胞は受精卵から採取して作るため倫理的に問題があるが、この細胞は皮膚細胞などから作り出すことができる。
幹細胞	発生の過程や、臓器・組織・器官の再生・維持の過程で、細胞を供給するもととなる母細胞のこと。別の組織細胞に変化する能力と、分裂しながら同じ細胞を作り出す能力とがある。
QT 延長	心電図上の QRS 群 (Q 波または R 波) の始まりから T 波の終了までを QT 間隔という。QT 間隔は心室の興奮が始まって (脱分極) から終わる (再分極) までの時間を示す。この QT 間隔が長くなることを QT 延長と言う。
QT 延長症候群	QT 延長症候群は種々の原因で生じる比較的稀な疾患であるが、TdP と呼ばれる多形性心室頻拍を引き起こし、失神などの重篤な症状を認める。時に心室細動に移行し、突然死の原因となり得る。
QT 間隔	体表面心電図の PQRST 波の内の、Q 波の開始から T 波の終了までの時間
QT 間隔延長	QT 間隔が長くなる事。薬剤の副作用や遺伝病の結果として引き起こされる。致死性の不整脈等を誘発する場合がある
hERG アッセイ	QT 延長のリスク評価の一般的な非臨床試験、 <i>in vitro</i> IKr 測定として hERG 発現細胞株において薬剤の IKr 阻害作用を評価する試験系。
E-4031	エーザイが開発していた抗不整脈薬であるが、副作用 (IKr 阻害作用) の為の開発を断念した。IKr 阻害作用が強いので QT 延長作用の assay 系において陽性対象薬として汎用されている。
EAD	Early After Depolarization 早期後脱分極の略。心筋細胞が活動電位発生時に脱分極後、静止膜電位まで再分極する前に再び脱分極すること。
FPD	Field Potential Duration の略。細胞外電位持続時間を表し、多電極アレイ (MEA) 等の細胞外電極により記録した電位変化の APD に相当する時間。
TdP	Torsades de pointes の略。致死性の心室頻拍不規則で、通常反復性の心室頻拍の特殊型で、特有の原因をもち、発作時 QRS 軸が連続して変化するため、心電図誘導によっては心室波形が基線を中心に捻じれた形に見えるもの。非発作時には、QT 延長がよくみられる。
イオンチャネル	細胞の生体膜にある膜貫通タンパク質の一種で、受動的にイオンを透過させるタンパク質のこと。
イオンチャネルブロッカー	イオンチャネルに結合するなどして、イオンチャネルのイオンの流れを阻害する物質
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (日米 EU 医薬品規制調和国際会議) の略。
ICH ガイドライン S7B	ヒト用医薬品の心室再分極遅延 (QT 間隔延長) の潜在的可能性に関する ICH の非臨床的評価のためのガイドライン
<i>In vitro</i> 試験	試験管内などの人工的に構成された条件下、すなわち、各種の実験条件が人為的にコントロールされた環境で行われる試験
Node	節、結節、(特に)リンパ節
Pace maker	心臓に周期的な電気刺激を与えて、心拍動を起させる装置。縛生体器官の律動的興奮の起点となる部位。
モデル心筋細胞	生体の心筋細胞のモデルとなる細胞。心筋細胞ではない ES/iPS 細胞から誘導して作製される自律拍動する細胞
モルモット乳頭筋試験	モルモット右心室の乳頭筋を摘出し、活動電位を測定する <i>in vitro</i> 受託試験。APD90 等がパラメーター。

用語	解説
リエントリー	心臓の収縮伝播は通常一方向性で末端まで伝播した後収束する。これが、局所的な伝達異常等の原因により、収縮伝播の旋廻が発生し元の部分へ再流入してくること
リエントリーモデル	円状の構造など、心臓内でリエントリーが起こりやすくなる構造を、細胞を配列する事により再現したモデル
STV	Short Term Variability の略。短時間での揺らぎを示す指標。繰り返し測定される値の前後の差分の絶対値の平均
活動電位	心筋細胞、神経細胞などに認められる、心筋収縮・神経発火等の活動時に起こる電位の変化
期外収縮	異常な刺激によって心臓が本来の周期を外れて早く収縮する不整脈のこと
カレントクランプ	電流を固定して、電圧を測定する方法
ボルテージクランプ	電圧を固定して、電流を記録する方法
アステミゾール	持田製薬からヒスマナールの商品名で販売されている抗ヒスタミン薬。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において hERG アッセイでは陽性を示すが、ブタ乳頭筋 APD アッセイでは陰性を示す
アミオダロン	日本ジェネリックなどからアミオダロン塩酸塩の商品名で販売されている抗不整脈薬。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において陽性を示すが、 <i>in vivo</i> assay 系においてQT延長はあるもののTdPリスクに陰性を示す。QT延長作用の assay 系において偽陽性薬として汎用されている
エバスチン	シオノケミカルからエバスチンの商品名で販売されている抗ヒスタミン薬(持続性選択H1受容体拮抗剤)。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において hERG アッセイでは陽性を示すが、ブタ乳頭筋 APD アッセイでは陰性を示す。ヒトにおいて重篤な症状は報告されていない
シサプリド	消化管運動促進薬。現在、販売中止。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において陽性を示す。ヒトでQT延長が報告されている
シタロプラム	海外で販売されている抗うつ薬(選択的セロトニン再取り込み阻害剤)。日本では未承認。高濃度で、TdPの報告がある。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において hERG アッセイでは陽性を示すが、ブタ乳頭筋 APD アッセイでは陰性を示す
ソタロール	ブリストル・マイヤーズ株式会社からソタロールの商品名で販売されている抗不整脈薬。E4031同様、IKr阻害作用が強いのでQT延長作用の assay 系において陽性対象薬として汎用されている
タミフル	ロシュ・中外製薬からタミフルの商品名で販売されている抗インフルエンザウイルス剤。ヒトでQT延長報告はない
タモキシフェン	アストラゼネカからノルバデックスの商品名で販売されている抗乳癌剤。海外においてQT延長、TdPの発現が報告されている
テルフェナジン	抗ヒスタミン剤。現在、販売中止。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において hERG アッセイでは陽性を示すが、ブタ乳頭筋 APD アッセイでは陰性を示す
ニフェカラン	日本シェーリング株式会社からシンビットの商品名で販売されている抗不整脈薬。E4031同様、IKr阻害作用が強いのでQT延長作用の assay 系において陽性対象薬として汎用されている
パロキセチン	グラクソ・スミスクラインからパキシルの商品名で販売されている抗うつ薬(選択的セロトニン再取り込み阻害剤)。ヒトにおいて高濃度で心電図異常の発生、また他の抗うつ薬との併用によるQT延長、TdPの報告がある
ファモチジン	アステラス製薬からガスターの商品名で販売されている抗ヒスタミン薬。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において陰性を示し、ヒトでQT延長、TdPの報告はほとんどない 第一三共からベプリコールの商
ベプリジル	第一三共からベプリコールの商品名で販売されている抗不整脈薬。カルシウムチャンネルブロッカー。 <i>in vitro</i> assay 系において hERG アッセイでは陽性を示すが、ブタ乳頭筋 APD アッセイでは陰性を示す。ヒトでQT延長、TdPの報告がある

用語	解説
ベラパミル	エーザイなどからベラパミル塩酸塩の商品名で販売されている抗不整脈薬及び虚血性心疾患治療剤。カルシウムチャンネルブロッカー。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において hERG アッセイでは陽性を示すが、ブタ乳頭筋 APD アッセイでは陰性を示す
モキシフロキサシン	バイエル薬品からアベロックスの商品名で販売されている抗菌薬。QT延長作用の <i>in vitro</i> assay 系において陽性を示し、QT延長のある患者においてQT延長、TdP の発生が報告されている
スクリーニング試験	条件に合うものを選び出す為の試験
偽陽性	何らかの効果を判別する為の試験で、本来の効果は陰性であるものを、誤って陽性と判定する事
偽陰性	何らかの効果を判別する為の試験で、本来の効果は陽性であるものを、誤って陰性と判定する事
安全域	薬剤の副作用により、ヒトに危害が現れない濃度範囲の事
安全性薬理試験	非臨床試験のうち、薬物の安全性評価のために行われる試験で、おもに心血管系、中枢神経系、呼吸器系のように生命維持に重要な機能に対する作用を評価する。臨床における目的とする作用を検討する薬効薬理試験とは別に行う
開発業務受託機関	contact research organization, CRO ともいう。製薬企業から、新医薬品の開発にかかわる業務を受託または代行する組織
ユーザーフォーラム	ユーザーフォーラムは、製薬企業（ユーザーメンバー）、受託研究機関（サポートメンバー）および大学（アカデミアメンバー）に所属する社員あるいは研究者より構成し、情報の共有、プロジェクトで得られた iPS 細胞の性能評価、毒性評価技術と手法についての議論を行なう

1. 事業の位置付け・必要性について

1. 事業の背景・目的・位置付け

1.1. 事業の背景

ライフサイエンス研究における近年の技術的な発展によって蓄積されたゲノムの塩基配列情報や遺伝子発現情報、タンパク質の立体構造情報、タンパク質と低分子化合物の相互作用情報など、様々なゲノムサイエンスの成果としての遺伝子情報を活用するゲノム創薬によって創薬プロセスが飛躍的に効率化し、安価な医薬品を迅速に上市することが可能となると期待されていた。

しかし、実際には投入する研究開発費が年々増加していつているにも関わらず、上市される医薬品の数はむしろ減少しており、ゲノム創薬におけるギャップが生じている。これは、近年のポストゲノム研究の進展により見出された創薬ターゲット候補から真の **druggable gene** を絞り込むことが困難であることや臨床試験以前での新薬の安全性評価及び薬理評価の制度が十分でないことが一因と考えられる。創薬プロセスの後期である臨床試験において薬剤候補がドロップアウトしてしまうと、それまでに投入した開発費が回収困難となってしまうことから、創薬プロセスの早い段階から効率的に候補化合物や創薬ターゲットを絞り込むことを可能とし、臨床試験に至るプロセスの効率化に有効な新規技術の開発が重要な課題となっていた。

遺伝子機能の解明や新薬の安全性や薬効を評価する際には、従来、マウスやウサギなどの動物や長期間にわたって培養が継続されている株化されたヒト細胞を用いて評価を行っている。しかし、これらの細胞と実際のヒト生体内の細胞は異なった性質を有しているため、実際の生体内での反応を高い精度で予測することが困難であることから、臨床試験において安全性と薬効評価でドロップアウトする確率が高くなっている。このため、医薬品開発における安全性や薬理評価の確実性の向上等、創薬に向けた研究開発を加速するためには、ヒト生体内における様々な反応や遺伝子の機能をより高い精度で解析し、開発のより早い段階で評価することを可能とする人体の組織や疾病等の様々なヒト細胞株を創製する基盤となる技術開発を行うことが必要であった。

1.2. 事業の目的

このような背景の下、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。

1.3. 事業の位置づけ

本研究開発は、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、テーラーメイド医療・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「健康安心プログラム」の一環として実施されるものであり、ゲノム創薬加速化支援技術開発の一つとして位置づけられている。

2. NEDO の関与の必要性・制度への適合性

2.1. NEDO が関与することの意義

本研究開発は、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「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。

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。中でも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り、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。

これらの目的を達成するためには、基盤的な研究要素が多く、民間企業の力だけではその達成に多大の時間を要し、産学の知見を結集して開発を進めることが必要である。また、諸外国との競争と、当該分野での産業化の状況に鑑み、産学官の力を結集し、短期間で集中的な予算投下のもと早急に整備を行う必要があることから、NEDO事業として実施する意義が非常に高い課題である。

2.2. 実施の効果

本プロジェクトの研究開発成果により、創薬開発パイプライン上の薬剤の心毒性を、従来と比較してより高い精度で評価することが可能となり、製品化までの期間を短縮する効果が充分にあるものと判断される。このことにより、医薬品の迅速かつ安価な提供が可能となり、高齢化社会における国民医療費の高騰化を抑制すると同時に、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現に寄与することが期待される。また、本研究で得られる成果は再生医療の分野にも生かされることが期待され、費用の投入に十分に答える大きな効果が得られると考えられる。

II. 研究開発マネジメントについて

1. 事業の目標

1.1. 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。

1.2. 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な誘導因子、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の目途をつける。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。

2. 事業の計画内容

2.1. 研究開発の内容

研究開発項目②「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」

研究開発項目②-1 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

入手可能な健康人由来のヒト 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や誘導工程の改良を、②-2 の機能評価データを踏まえ、効率的な分化誘導技術を開発する。

研究開発項目②-2 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、既存法との比較等によって心毒性等評価システムの有用性を評価するとともに、②-1 で分化誘導を行ったヒト心筋細胞の機能の検証を行う。また、製薬企業等によるユーザー評価結果を踏まえてシステムの改良を行う。これにより、健康人及び心疾患患者における薬物の心毒性等を高精度に予測可能な創薬スクリーニングシステムの開発を行う。

2.2. 研究開発の実施体制

研究開発の実施にあたっては、策定した基本計画に対する具体的な提案を公募により募り、①外部有識者から構成され NEDO 内に設置される採択審査委員会による主に技術的な視点からの事前評価、及び、②事前評価結果を踏まえ、技術的な視点に加え財務面等、総合的な視点から契約・助成審査委員会による審議により、最終的な採否を決定し、研究開発体制を構築することとしている。

本プロジェクトでは、平成21年1月29日から2月27日の期間で公募を行った結果、25件の応募があった。外部専門家による事前書面審査及び採択審査委員会における審査を実施し、審査結果等を踏まえて、3件の採択候補を選定した。全体提案で採択した一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム (JBIC) チームを中核に、部分提案で採択した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)/太陽日酸(株)/アルプラスト(株)/セルシード連携チームと、東京大学チームの連携を視野に、最終的な体制を構築した。なお、本研究開発に参加する各研究開発グループの有するポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、NEDOが指名した京都大学大学院医学研究科 鍋島陽一 教授を研究開発責任者（以下「プロジェクトリーダー」という。）とし研

究開発を開始した。

その後、内外の研究開発動向に鑑み、研究開発項目を発展的に統合し、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」と、研究開発項目②「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」に統合した。平成23年4月「ヒト幹細胞産業応用促進技術開発」として基本計画を見直し、研究開発項目②「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」に集中することとし、研究開発項目①については、再生医療への応用を可能とする細胞源の確立を目標とする平成23年度から5年計画の新規事業として分離した。実施体制の変更とあわせて、プロジェクトの責任体制を明確にするため、PLを安田賢二教授に変更した。

さらに、平成24年3月、事業化に向けてより責任体制を明確にするため研究開発マネジメント体制を変更し、NEDOと各事業者の直接契約とした。なお、東京医科歯科大学の研究者が、法政大学に職を得たことから、共同実施先として法政大学を追加した。

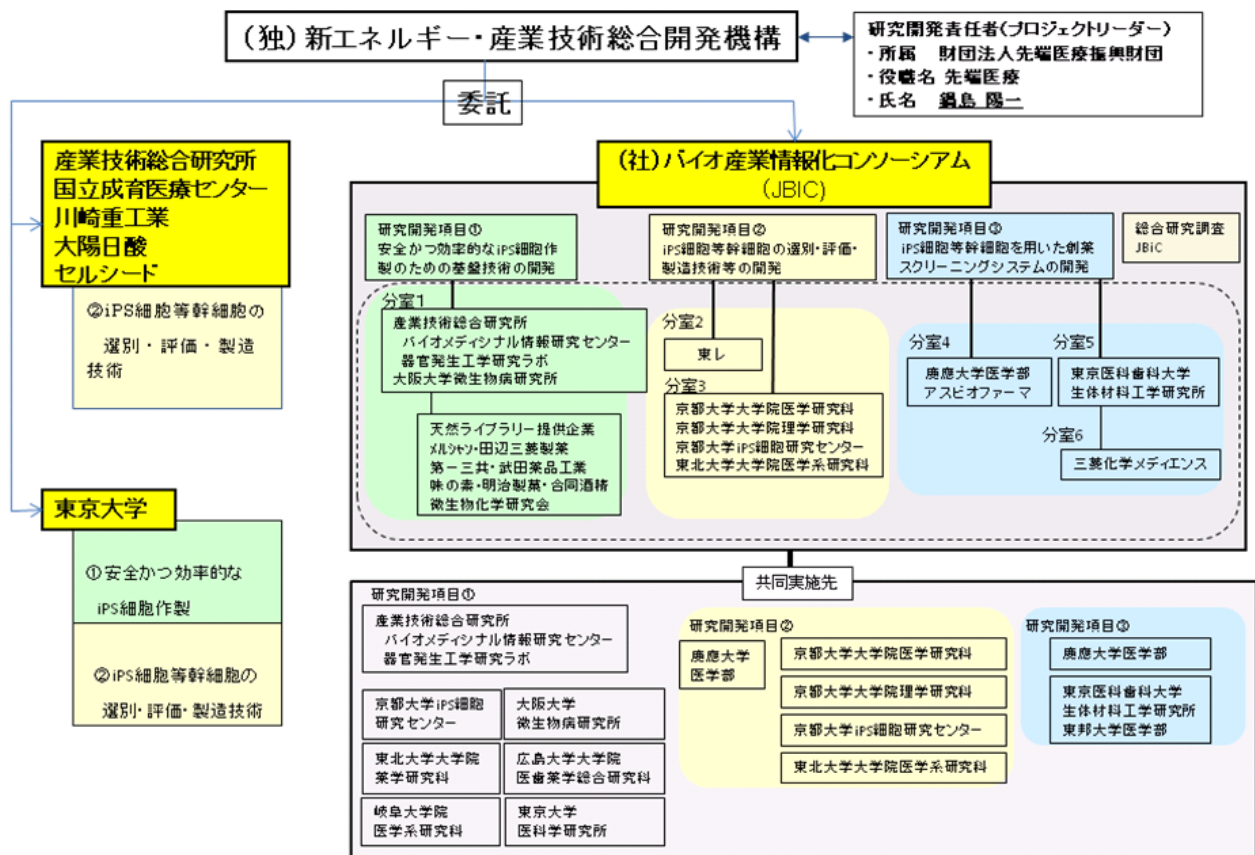


図1 平成20年度～平成22年度の実施体制図
青の背景の部分为本プロジェクトとして継続。

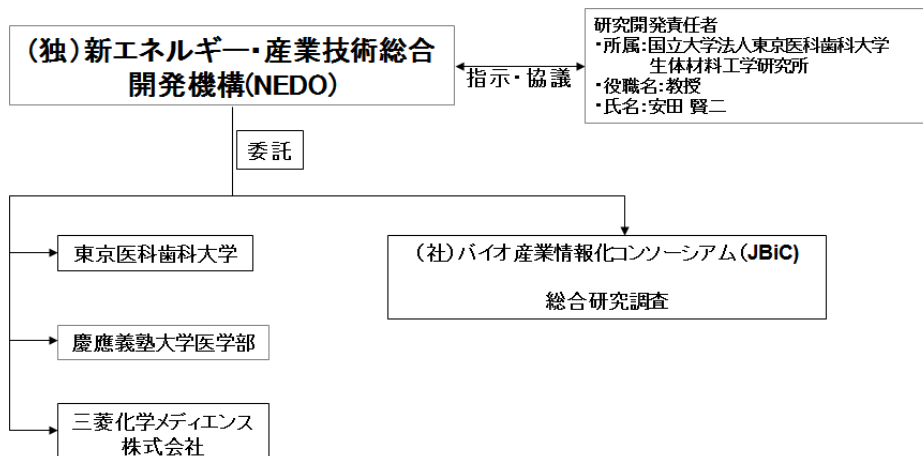


図2 平成23年度～平成24年度の実施体制図

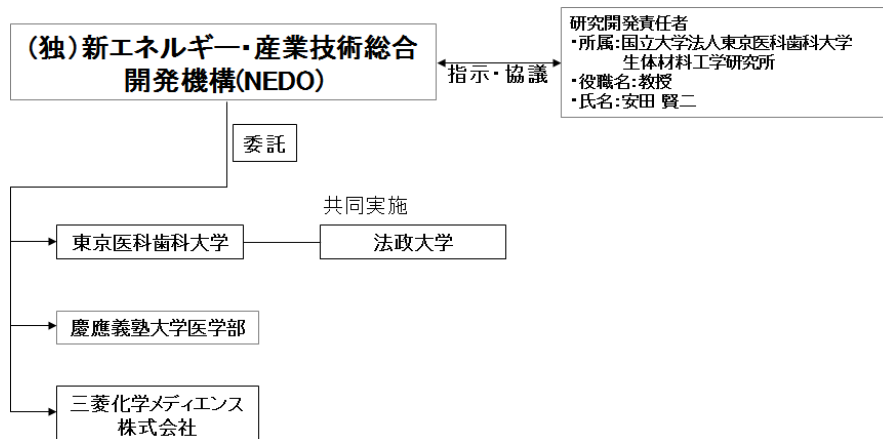


図3 平成25年度の実施体制図

2.3. 研究開発の運営管理

プロジェクト実施者、NEDO関係者および経済産業省関係者で構成される研究開発推進委員会を定期的（年2回）に開催し、本プロジェクトの進捗と方向性の確認、技術内容の議論、情報交換を行い、効率的な事業の推進を図った。体制変更後は成果の最大化に向けて、千葉大医学部中谷教授を委員長とする外部有識者からなる運営委員会を3回開催し、研究開発の進捗・成果の共有と実用化に向けた研究方針の見直しを行った。

2.4. 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性

本プロジェクトで開発される創薬スクリーニングシステムの将来のユーザーである製薬企業から、本システムの開発仕様・操作性、性能評価、毒性評価技術等に関する意見・要望を収集し、これらをも本システムの開発に反映させるために、「ユーザーフォーラム」を設立した。また、早い段階で規制当局との交渉を進められるよう、HESI(Health and Environmental science)グループとの意見交換や国衛研、製薬協との意見交換を行った。

この様に、本システムの事業化へ向け、NEDOとして積極的に推進した。

3. 情勢変化への対応

内外の研究開発動向に鑑み、研究開発項目を発展的に統合し、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」と、研究開発項目②「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」に統合した。平成23年4月「ヒト幹細胞産業応用促進技術開発」として基本計画を見直し、研究開発項目②「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」に集中することとし、研究開発項目①については、再生医療への応用を可能とする細胞源の確立を目標とする平成23年度から5年計画の新規事業として分離した。実施体制の変更とあわせて、プロジェクトの責任体制を明確にするため、PLを安田賢二教授に変更した。

4. 中間評価結果への対応

平成23年度当初に基本計画を見直し、本研究開発項目のみに集中し、創薬スクリーニング装置の実用化を目指した創薬応用へ向けた実施体制を変更していた。また、HESI(Health and Environmental science)活動、およびユーザーフォーラムも取組を行っていた。中間評価において指摘を受けた事

項は、既にその時点で措置済みとなっていたことから、「概ね現行どおり実施」として対応することにした。

5. 評価に関する事項

中間評価を平成23年度、事後評価を平成26年度に実施する。

III. 研究開発成果について

1. 事業全体の成果

研究開発項目② 「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」

新規化合物の毒性を早期に確認することは新規薬剤開発の重要なステップであるが、特に QT 延長、不整脈の発生等、心毒性、心筋細胞への影響を調べることは重要である。本プロジェクトでは ES あるいは iPS 細胞から誘導した心筋細胞を用いて心毒性を効率よく検出するシステムの開発に取り組み、以下の成果を得た。

研究開発項目②-1 「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」

②-1 (a) ヒト iPS 細胞から効率よく心筋細胞を分化誘導する方法の開発

1. 全てのヒトから非侵襲的に iPS 細胞を非侵襲的、効率的、短期間で樹立する方法として血液 T リンパ球から iPS 細胞を樹立する方法を開発した。さらに、皮膚生検を必要とせず、末梢血の T 細胞を利用して iPS 細胞を樹立する方法を開発し、健常者 10 例から iPS 細胞の樹立に成功した。
2. 遺伝性 QT 延長症候群 1 型、2 型、3 型、7 型、ブルガダ症候群の症例からヒト iPS 細胞を樹立に成功した。
3. 健常者、遺伝性 QT 延長症候群患者より、作出した再生心筋細胞を用いて不整脈解析モデルを構築した。

②-1 (b) スクリーニングシステムへのヒト iPS 細胞由来心筋細胞の供給

1. ヒトの心筋細胞を用いたスクリーニング系が待ち望まれており、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いたスクリーニング系を確立するため、定期的に東京医科歯科大学安田研にヒト iPS 細胞由来の心筋細胞を供給し、MEA (Microelectrode Arrays) 法による活動電位の計測を行った。また、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いる事により、心筋細胞特異的 Na 電流、K 電流、Ca 電流を記録し、更に特異的チャンネル阻害薬により電流が阻害されることを確認し、評価班のユーザーフォーラムへ評価用心筋細胞として供給した。

研究開発項目②-2 「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」

②-2 (a) 心筋毒性を検出する装置システム (ハードウェア) の開発

1. ヒト細胞を利用して、バイオチップ上に心臓組織のネットワークモデルを構築して計測することができれば、ヒト個体の不整脈発生/心機能異常のモデルとして利用できる可能性がある。そこで、ヒト iPS 細胞等幹細胞からヒト心筋細胞を誘導し、これをチップ上に 1 細胞単位で構成的に配置することで、細胞間の興奮伝導や協同性 (コミュニティ・エフェクト) をチップ上に再現できる臓器・組織の応答をモデル化した *in vitro* 細胞ネットワークモデル (quasi-*in vivo* 系) を構築し、これを用いて致死性不整脈発生の発生原因となる心筋細胞間の興奮伝導の異常発生を直接定量的に観測できる創薬スクリーニングシステム (オンチップ・リエントリーモデル) の開発をめざした。その結果、「細胞ネットワーク興奮伝導 (空間伝達)」「1 細胞波形ゆらぎ (時間変化)」の 2 つの観点を実現するチップの試作に成功し、更に多面的な課題を解決した第 2 世代装置システムの開発に成功した。
2. 創薬スクリーニングシステムを実用化するためにはハードウェア(装置システム)の開発に続くソフトウェア(プロトコール)開発を必要としており、(a) 1 細胞レベルでの細胞外電位遅延 (FPD) 応答の「時間的ゆらぎ」計測法の開発とその評価、(b)細胞ネットワークを用いた心室 (ST 領域)「興奮伝導」の「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発、(c)強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発に成功した。

②-2 (b) 解析・判断プロトコール・データベース (ソフトウェア) の開発

1. 上記で開発した装置システムを利用して、薬物のヒトでの致死性不整脈誘発リスクの大きさを推

定できる装置システムのプロトコール開発を行った。具体的には、(a)ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた既存 *in vitro* 計測法による偽陰性・偽陽性検査の改善の定量的評価、(b)「時間ゆらぎ」とイオンチャンネルブロックの相関計測による「ゆらぎ」についての原理的解明、(c)1細胞レベルでの細胞外電位遅延 (FPD) 応答の「時間的ゆらぎ」計測法の開発とその評価、(d)強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発、(e)ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いたトラフィック計測技術の開発を進め、正確で再現性のある装置システム、ソフトを開発に成功した。

②-2 (c) システム評価

ヒト臨床データと極めて近い試験結果を供することが期待されるヒト *iPS/ES* 細胞由来心筋細胞を用いて、開発システムの有効性を検証することを目標に設定した。

1. 既に *in vitro/ in vivo* 試験から薬効が明らかにされている化合物を用い、開発システムのデータとこれまで取得された試験データの比較を行うために、(a)東京医科歯科大技術の技術トランスファーを実施し、(b)致死性不整脈 (TdP) を誘発するリスクの大きさが判明している薬剤を含む15薬剤、(c)Na⁺, Ca²⁺, K⁺チャンネルブロッカー、(d) hERG 偽陽性薬剤の評価を進め、(e)ヒト幹細胞由来モデル心筋の性状評価、比較に成功した。
2. これらのデータに基づいてユーザーフォーラムの構築、製薬企業等との情報交換を進め、同時にメガファーマとの交流と技術共同評価を進めた。この結果、当初目標としていた薬剤について、その評価を完了させた。
3. この技術を三菱化学メディエンスに導入し追試に成功し、複数拠点での相同性確認にも成功した。
4. 動物実験との比較評価を行い、本プロジェクトにて開発した2次元 FPD マップによる評価で十分に既存計測法と同等以上の精度での評価が可能であることを確認することに成功した。
5. 国内外の製薬企業との情報交流、メガファーマとの共同評価を開始しており、製薬企業が希望する化合物についての評価を推進している。

②-2 (d) バリデーション体制の構築

1. 国内外の製薬企業との情報交流による技術ニーズの収集・技術の共同評価を行うとともに、国際評価機関である HESI に国際評価を提案し、国際評価プロジェクトの設立に成功した。
2. 外部レギュレーション機関からの評価を受けると共に、社内外においてバリデーション試験を行い、基本的なプロトコールの確立を行った。自律拍動下のヒト *iPS* 細胞由来心筋細胞に関する薬物応答性について36種の既知化合物のデータを、強制刺激下においては11種の既知化合物に関する計測データを、それぞれ集積した。

事業全体の成果のまとめ

目 標	研究開発成果	達成度
事業全体	心毒性検出システムの基幹技術である電気刺激計測技術、薬剤濃度制御・計測技術、ノイズ低減技術等の開発で目標を達成した。ヒト ES 細胞由来およびヒト <i>iPS</i> 細胞由来の心筋細胞を用い自律拍動下および強制拍動下での心毒性評価を行い、既存の計測法では偽陰性薬剤・偽陽性となる薬剤について、臨床レベルと同じ結果を正しく評価できるシステムであることを確認した。	達成
研究開発項目②-1 「ヒト <i>iPS</i> 細胞から効率よく心筋細胞を分化誘導する方法の開発」	心全てのヒトから非侵襲的に <i>iPS</i> 細胞を非侵襲的、効率的、短期間で樹立する方法として血液 T リンパ球から <i>iPS</i> 細胞を樹立する方法を開発した。さらに、健常者、遺伝性 QT 延長症候群患者より、作出した再生心筋細胞を用いて不整脈解析モデルを構築した。	達成

<p>研究開発項目②-2 「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」</p>	<p>従来の「細胞電位」計測に加えて、催不整脈性の原因である「細胞の応答性のゆらぎ」、細胞間の興奮伝導をモデル化した「細胞ネットワーク」の観点からの興奮伝導の異常/ゆらぎに着目し、従来の細胞/動物実験等の非臨床系では予測困難であった偽陽性/偽陰性薬剤の正確な計測技術の原理開発に成功した。</p> <p>iPS 細胞由来心筋細胞の細胞外活動電位を経時的に記録し、被験薬の影響を評価するシステムを用いた受託サービス事業を H26 年 7 月より開始した。</p>	<p>達成</p>
---	--	-----------

年度毎の特許、論文、学会発表の件数

区分 年度	特許出願			論文 (査読付き)	学会発表
	国内	外国	PCT※出願		
H20FY	3 件	11 件	2 件	0 件	2 件
H21FY	4 件	2 件	1 件	12 件	25 件
H22FY	3 件	0 件	0 件	12 件	40 件
H23FY	4 件	3 件	2 件	11 件	31 件
H24FY	3 件	2 件	1 件	15 件	34 件
H25FY	6 件	0 件	1 件	9 件	40 件

※Patent Cooperation Treaty：特許協力条約

2. 研究開発項目毎の成果

研究開発項目②-1 「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」

(a) 「ヒト iPS 細胞から効率よく心筋細胞を分化誘導する方法の開発」

(1) 事業の目的と背景

心筋梗塞、拡張型心筋症などが重症化すると心筋細胞は失われてしまう。皮膚や肝臓など、再生能力を持つ臓器や組織とは違い、ヒトを含む哺乳類がもつ自己再生能力では失われた心筋細胞を元に戻すことはできない。ES 細胞や iPS 細胞のような多能性幹細胞は高い増殖能性と、成体を形成する様々な組織の細胞に分化できる多能性を併せ持つことから、こうした不可逆的な変性疾患に対する細胞移植治療などの、いわゆる再生医療への応用が期待されている。

これまで、マウスやサル、そしてヒトの多能性幹細胞から心筋細胞への分化誘導の成功が報告されており、2005 年には福田らの手により、ES 細胞の培養液中に Noggin というタンパク質を加えることで、効率良く心筋細胞を分化誘導させられることを報告している。

しかし、Noggin 分子を添加することがどのようなメカニズムで心筋細胞への誘導効率を高めているのかは明らかになっていなかった。そこで、Noggin 分子の添加によってどのような遺伝子の活性化がみられるのかを調べたところ、顆粒球コロニー刺激因子受容体 (G-CSFR) という遺伝子の発現が、Noggin を加えていない ES 細胞と比較して顕著に上昇していることが判明した。そこで、心臓の発生において、G-CSFR がどのような役割を果たしているかを明らかにするため、研究を行った。

(2) 事業内容と目標

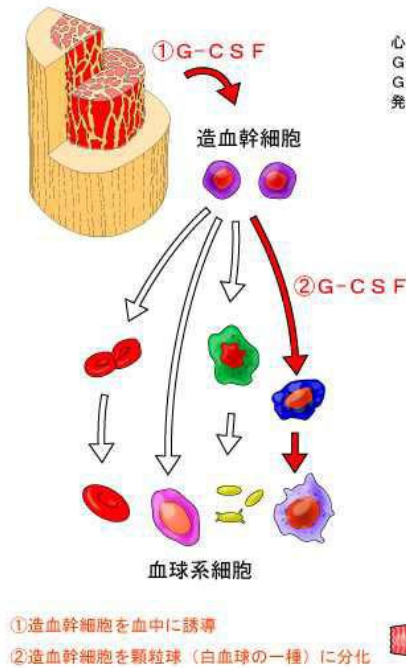
心臓の発生過程における Noggin および G-CSF、G-CSFR の生理的な役割を解明した。またこの知見をヒト iPS 細胞から心筋細胞に分化誘導することに応用し、安定的で大量の心筋細胞供給に貢献する。

(3) ヒト 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

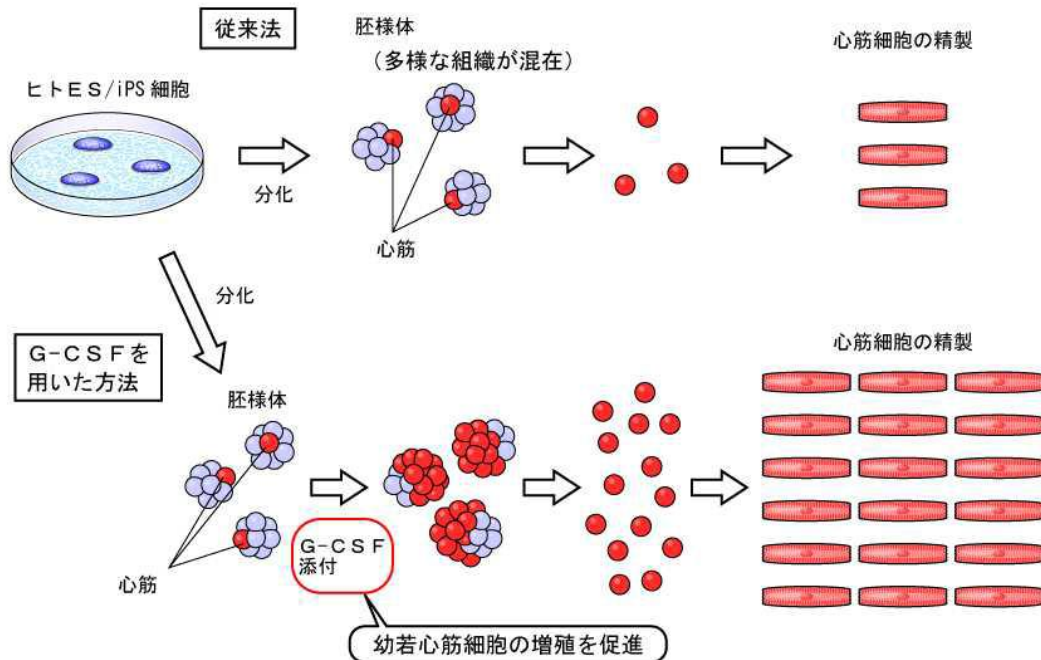
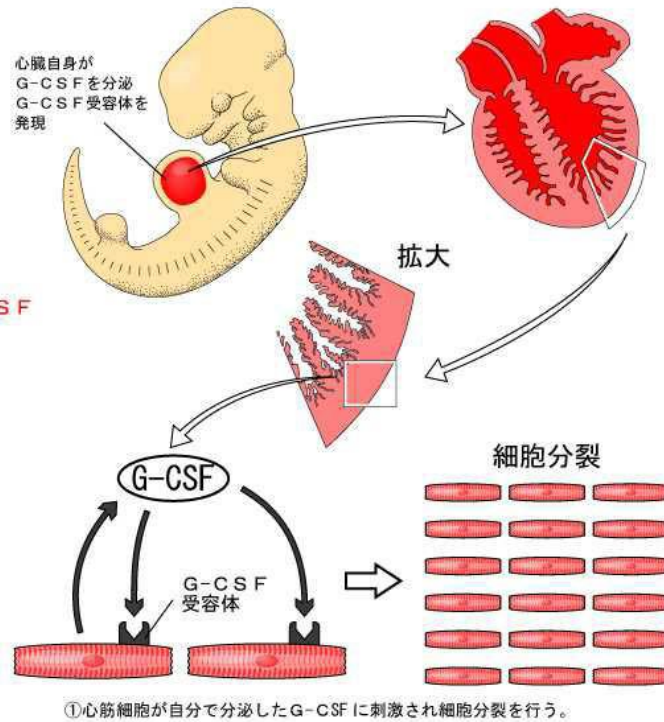
ヒト iPS 細胞を心筋細胞に効率的に分化誘導する方法を開発するとともに、大量の均一化されたヒト心筋細胞を作出する技術を開発することを目的とした。これまでに Noggin, G-CSF, Wnt の組み合わせによる高効率な心筋細胞の分化誘導法を確立した。iPS 細胞は ES 細胞に類似した幹細胞であり、ES 細胞の分化は生理的な臓器発生を模倣していることが知られている。心筋細胞分化誘導方法の開発の為に、心臓発生において重要な因子を同定し応用していく必要があり、同因子のスクリーニングから行った。

マウス ES 細胞を用いて心筋細胞分化誘導過程において顆粒球コロニー刺激因子受容体 (G-CSFR) 遺伝子の発現が特異的に上昇していることを見出した。そこで、マウス発生時の心臓での発現を検討したところ、心臓が発達し始める妊娠 8.5 日目から、徐々に心臓原基の細胞で G-CSFR の発現が見られるようになり、心臓がもっとも増殖し成長する妊娠 10.5 日目に発現のピークを迎え、その後減少していくことを見出した。また、G-CSFR の刺激物質である顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) も同様に発現が上昇していた。また、G-CSFR ノックアウトマウスを用いたところ、同マウス由来心筋細胞においては野生型マウス心筋細胞と比べ細胞分裂が低下していることが判明した。これらより心筋細胞はその発生過程では G-CSF を分泌し、また心筋細胞自身が発現する G-CSFR によって自らその信号を受け取り、細胞増殖を行っている可能性が示された (下図)。さらに ES 細胞分化過程において培養液中に G-CSF を添加すると、分化成熟途中の心筋細胞において増殖活性を有することを見出した (次ページ上図)

従来のG-CSFの役割



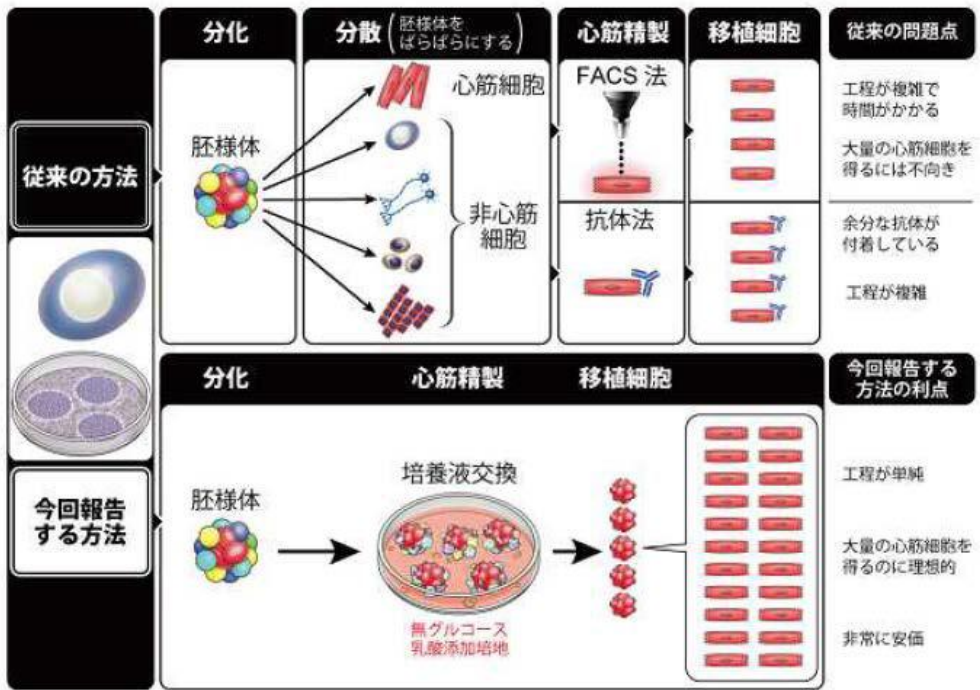
今回発見された役割



(4) 心筋細胞のメタボローム解析、フラクソーム解析

心筋細胞のメタボローム解析、フラクソーム解析を行い、心筋細胞の代謝学的特徴を解析することで心筋細胞の純化精製を行う方法を構築した。iPS細胞はブドウ糖を主たるエネルギー源としているのに対し、心筋細胞は乳酸を主たるエネルギー源として利用することが出来る。この性質の差異を利用して、培養液のエネルギー源を調整することで心筋細胞が生存し、iPS細胞が死滅する条件を見出した(乳酸法)。この乳酸法で純化精製したヒトiPS細胞由来心筋細胞を免疫不全マウスの精巢に移植したが、コントロールの未分化iPS細胞が奇形腫を生じたのに対しヒトiPS細胞由来心筋細胞は奇形

腫を全く生じなかった。また、心筋細胞以外の他の分化細胞も未分化 iPS 細胞と同様に除去することに成功した。



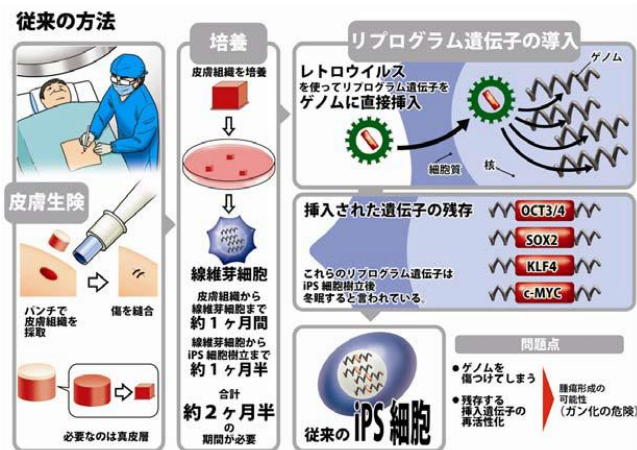
(b) 「スクリーニングシステムへのヒト iPS 細胞由来心筋細胞の供給」

(1) 健康人 iPS 細胞由来心筋細胞の作製

2006年に京都大学の山中伸弥教授らがマウスで、そして2007年にヒト iPS 細胞の樹立を成功させ、体細胞を直接的に初期化することが可能であることを示した。それ以降、iPS 細胞が持つ高い増殖能と、成体を形成する様々な組織の細胞に分化できる多能性によって、ES 細胞同様に不可逆的な変性疾患に対する細胞移植治療、いわゆる再生医療への応用が期待されてきた。

2007年、山中教授らによる最初のヒト iPS 細胞の報告では成人の皮膚由来の線維芽細胞を用いていたが、最近の研究では造血幹細胞や神経幹細胞、ケラチノサイト（角化細胞）など、さまざまな体細胞を用いる iPS 細胞の樹立が報告されている。しかし、これらの細胞を得るためには、生検（バイオプシー）などの外科的な手法を用いて患者から組織を採取しなければならず、ごくわずかとはいえ外科的な侵襲を与えなければならなかった。

また、山中教授らが確立したレトロウイルスベクターを用いて Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc という4つの遺伝子を導入する方法では、導入される細胞の染色体に外来遺伝子がランダムに組み込まれるため、遺伝情報が損傷される可能性もあり、移植を受けた患者の体内で腫瘍化する危険を持っていた。iPS 細胞からさまざまな細胞への分化成功が報告されているが、ソースの確保や安全性の向上という問題をクリアすることも、再生医療の実現化の大きな障壁の一つとなっていた。



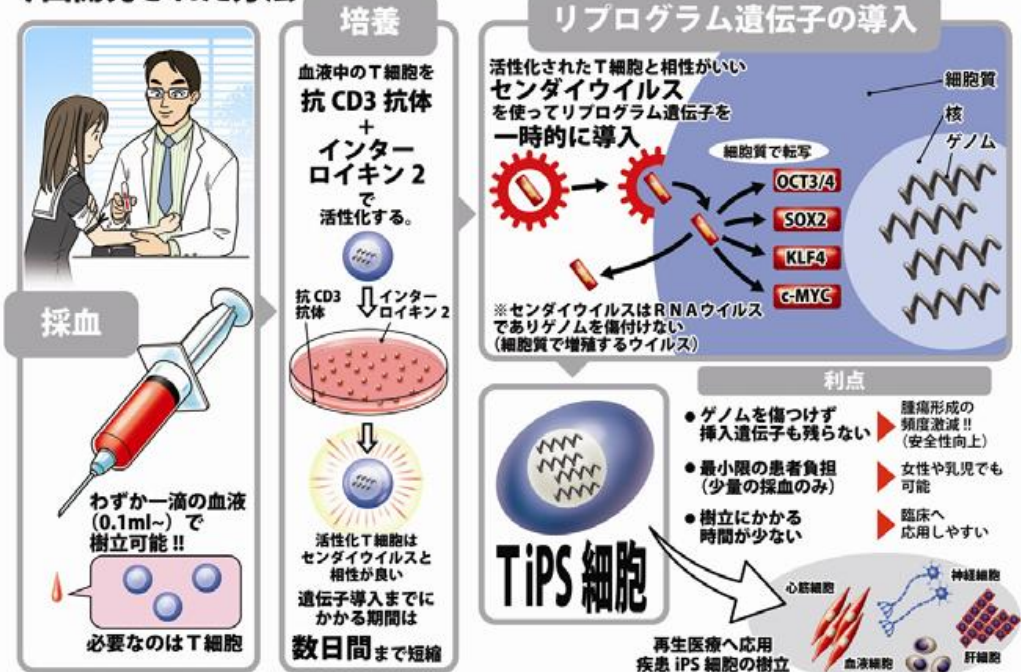
従来法によるiPS細胞作製過程とその問題点

これまでの方法の問題点として、(1)皮膚生検には患者に苦痛を与えること、(2)レトロウイルスではゲノムに損傷を与えるため、遺伝子破壊や腫瘍形成の可能性があること(3)ゲノムに残った遺伝子が再活性化される可能性が否定できず、奇形腫形成の可能性があったこと(4)iPS細胞の樹立に2ヶ月以上の時間がかかること等が挙げられていた。

日常、臨床の現場では広く採血が行われ、さまざまな検査が行われている。しかし、検査で使われなかった分は廃棄されている。今回の研究では、こうした廃棄される血液に着目し、その血液中に豊富に含まれる単核細胞であるT細胞を用いてiPS細胞の樹立を試みた。

細胞は、抗CD3モノクローナル抗体を培養皿の表面に定着させ、IL-2を添加した培養液を用いることで体外において培養や増幅が行えることが知られている。その一方、T細胞は免疫を司る細胞であり、その表面にあるT細胞抗原レセプター(TCR)によって抗原を特異的に認識する機構を持つことも広く知られている。T細胞はTCRが様々なレパートリーを持つことで抗原への特異性を持つのですが、このレパートリーを獲得する際に、1)抗原との結合に関与する遺伝子セグメントの組換え、2)遺伝子セグメント組換えの際に起こる鋳型遺伝子に存在しない塩基の挿入という2つの機構によってダイナミックに遺伝子が再構成されてくる。このため、T細胞の核の中に存在する遺伝情報は、他の体細胞と異なっており、正常なヒトiPS細胞が樹立できるかどうか明らかになっていなかった。

今回開発された方法



今回の技術開発により、

- (1) 少量の採血で細胞を確保出来るため、患者の苦痛が最小限で済む、
- (2) ゲノムに遺伝子が挿入されないため、遺伝子の破壊がなく、腫瘍形成等の可能性が低くなる、
- (3) 挿入遺伝子の再活性化がなく、奇形腫等の心配がない、
- (4) 短期間で iPS 細胞が樹立できる

等の多くの利点がある。

今回、この T 細胞を対象に、センダイウイルスを用いて 4 つの遺伝子、すなわち Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の導入を行った。センダイウイルスは、細胞質にとどまって、RNA を転写、複製して蛋白質を合成することから、導入された細胞の染色体に影響を与えず、挿入による遺伝子の変異や染色体構造変化の危険性もないなどの特徴を持っている。また、哺乳類の多くの細胞、組織に効率良く遺伝子を導入できるため、iPS 細胞の臨床応用に向けて非常に期待される技術とされている。

まず採血された 1ml (最小では 0.1ml) の末梢血から遠心分離により赤血球や顆粒球を除き、T 細胞用の培養皿で培養・増幅を行った (セルソーターで T 細胞のみを単離し培養・増幅をおこなったものと外見的には、T 細胞のみのもと同様であることを確認した)。次いで、前掲の 4 遺伝子をセンダイウイルスベクターによって T 細胞へ導入したところ、ウイルス感染後 20 日後、採血した日から起算して 25 日目には ES 細胞様のコロニーが出現し、こうした細胞を T 細胞由来 iPS 細胞、すなわち TiPS 細胞と名付けました。詳細な解析を行ったところ、センダイウイルスによって導入された 4 つの外来遺伝子は数回の継代を行うことで完全に消失していました。一方で NANOG、Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc, GDF3, REX1, DPPA2, DPPA4 といった内在的な ES 細胞のマーカーが mRNA レベルで発現していることが確認され、免疫染色レベルでも Nanog、Oct3/4, SSEA3, SSEA4, Tra-1-60, Tra-1-81 といった ES 細胞特異的なタンパク質が作られていることが確認した。

また、分子的マーカーによる確認のほか、テロメラーゼの活性も高まっていることが確認した。加えて、他の体細胞からつくられた iPS 細胞と同様に TiPS 細胞もテラトーマ作成能をもっており、ヒトの体を構成するほとんどの細胞へと分化可能であることが示された。興味深いことに、TiPS 細胞では、由来となった T 細胞で起こった TCR 関連遺伝子の組み替えパターンがそのまま維持されており、TiPS 細胞から分化した細胞にもそのパターンが引き継がれることも判明した。

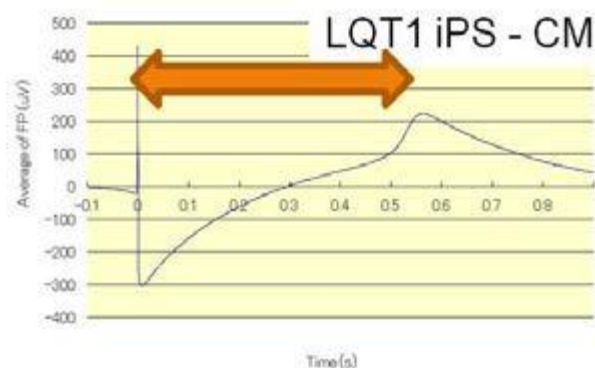
(2) スクリーニングシステムへのヒト iPS 細胞由来心筋細胞の供給

毎週定期的に東京医科歯科大学安田研にヒト iPS 細胞由来の心筋細胞を供給し、MEA (Microelectrode Arrays) 法による活動電位の計測を行った。ヒト iPS 細胞由来心筋細胞から心筋細胞特異的 Na 電流、K 電流、Ca 電流の記録が可能であり、また特異的チャンネル阻害薬により電流は阻害された。その成果は 2010 年 BBRC 誌に発表した。評価班のユーザーフォーラムへの評価用心筋細胞の供給を行った。

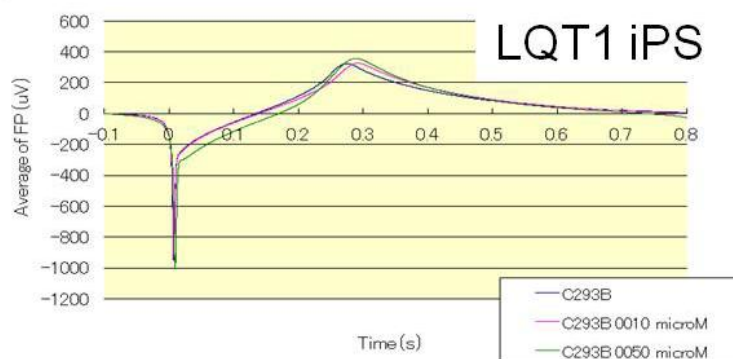
(3) 遺伝性心筋疾患患者の iPS 細胞の樹立と解析

健常者に加え、遺伝性心筋疾患の患者の iPS 細胞の樹立を試みている。具体的には家族性突然死症候群のうち、遺伝性 QT 延長症候群 1 型、2 型、3 型の患者の皮膚細胞あるいは末梢血液中の T 細胞から iPS 細胞を樹立し、心筋細胞への分化誘導を行った。

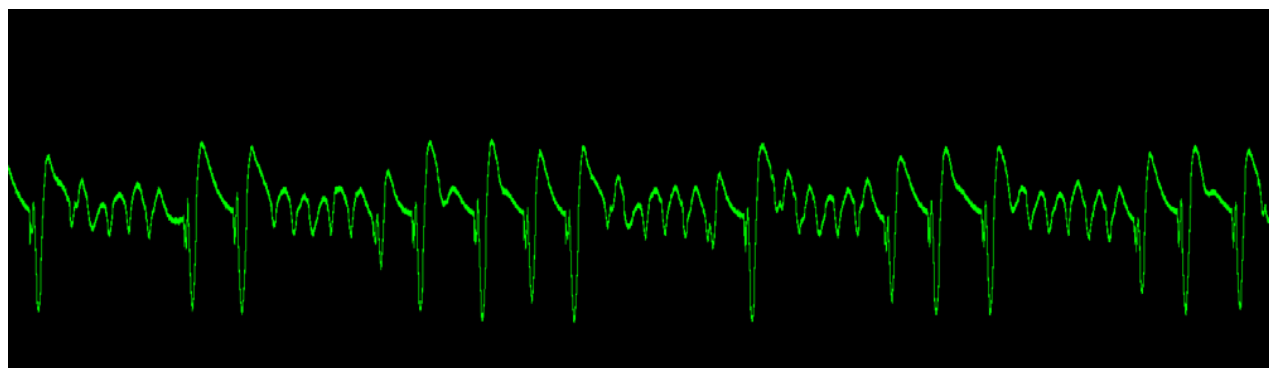
さらに樹立した 1 型遺伝性 QT 延長症候群の iPS 細胞を用いて創薬スクリーニングシステムの開発への利用可能かを検証した。多電極システムを用いた 1 型 QT 延長症候群 iPS 細胞由来心筋細胞の電気生理学的解析を行ったところ、ベースラインで活動電位持続時間の有意な延長が確認された (下図)。



次に詳細な電気生理学的特性を解析するため、各種イオンチャネル遮断薬の投与実験を行い、IKr 遮断薬では活動電位持続時間の延長が観察されたが、IKs チャネル遮断薬では活動電位持続時間の延長は観察されなかった（下図）。



また、IKr チャネル遮断薬を投与してゆくと用量依存性に Torsade de pointes 様の不整脈が誘発された（下図）。さらに β 刺激薬投与で心室頻拍様の不整脈が誘発された。以上の所見は健常人 iPS 細胞由来心筋細胞では見られず、患者 iPS 細胞由来心筋細胞は疾患の臨床所見を忠実に再現できる解析法であることが確認された。また多電極システムを用いた複数の薬物投与試験の系の確立に成功した。



今後の展望

本事業において、iPS 細胞から心筋細胞分化誘導方法、iPS 細胞由来心筋細胞純化精製方法、疾患 iPS 細胞由来心筋細胞の解析基盤技術の開発を行ってきた。今後は、これらの基盤技術を応用して創薬へ向けた大規模スクリーニング系へ移行していくことが想定される。それらの事業は製薬企業と共同で行っていくことにより飛躍的に進んでいくことが予想され、アカデミアと製薬企業との密な連

携が必要とされる。本邦においても、根本的な治療方法が無い遺伝性難治性循環器疾患に苦しんでいる患者は多くいる。なるべく早急に創薬事業に移行していくことが重要である。

研究開発項目②-2 「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」

hES/hiPS 細胞由来のヒト心筋細胞を用いた既存技術での *in vitro* 計測で、偽陰性・偽陽性の薬剤評価がどこまで正しく評価されるか確認し、一部の試薬については評価が正しくなるが、大半の薬剤に対して偽陽性・偽陰性のままであり、新規技術が必要であることを確認した。

1 細胞レベルでの細胞外電位遅延 (FPD) 応答の「時間的ゆらぎ」計測に基づいた TdP 予測法を新たに考案し、これを実現するハードウェアおよびソフトウェア開発を行った。この技術の評価を行い既存技術では偽陽性・偽陰性試薬について識別が困難であったものも正確に測定できることを確認した。

また HERG 細胞を用いたイオンチャンネルブロックによる「ゆらぎ」計測から FPD ゆらぎが、イオンチャンネル閉鎖によって急激に引き起こされることを確認した。

細胞ネットワークを用いて「興奮伝導」の「空間伝導ゆらぎ」計測に基づいた TdP 予測法を新たに考案し、これを実現するための quasi-*in vivo* システムのハードウェアおよびソフトウェア開発を行った。従来の *in vitro* 細胞計測技術では測定がされていなかった実際の心室細動を直接電氣的に観測することが可能であることを原理的に確認することに成功した。

強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法を新たに考案し、これを実現するハードウェアおよびソフトウェア開発を行いヒト幹細胞由来心筋細胞のイオンチャンネルの順応が刺激開始後 30 秒程度で起こること、*in vivo* QT 延長計測で用いられるバゼット型ならびにフレデリシア型の間の値をとることを確認した。また細胞外刺激による細胞刺激の原理を検討し、細胞あるいは細胞集団の末端間電位差が一定となるところで発火することを確認した。さらに強制拍動刺激によって検定の例数設定については 4 例程度での計測が可能であることが示唆された。

ヒト幹細胞由来心筋細胞ならではの技術開発のひとつとして薬剤に由来したイオンチャンネル発現の変化による心毒性発生を測定するトラフィッキング計測法を新たに構築し、良好な結果を得た。

製薬企業等 20 社からなるユーザーフォーラムを構築し平成 21 年度に 2 回、平成 22 年度に 1 回開催し、技術の方向性を確認し、改善のための意見を集約するための意見収集を行った。また平成 22 年度のトキシコロジー学会にて (ユーザーフォーラムの啓蒙活動の一環として) シンポジウムを企画し、本プロジェクト成果の発表を行い、広くトキシコロジー学会会員と意見交換を行った。これらの情報収集の成果に基づいて、第 2 世代機の開発方針を確立し、最終仕様を確定させた。

プロジェクトの目標のひとつであったメガファーマとの共同評価については、国際標準化機関 HESI への研究課題としての提案を行い平成 25 年度より国際共同評価グループを共同で立ち上げる事に成功した。本 NEDO プロジェクトは終了したが、国際評価は引き続き推進されている。

(a) 「心筋毒性を検出する装置システム（ハードウェア）の開発」

(1) 事業目的と背景

hERG イオンチャンネルの遮蔽効果を見積もる *in vitro* hERG 計測や、個体の心電図計測による QT 延長計測は、現在、薬物の心毒性を検証するための主要な計測手法である。しかし既存の hERG 計測や QT 延長計測によって得られる結果から、候補薬が致死性不整脈を引き起こす重大な副作用を持つかどうかを的確に予測することには限界があり、つねに偽陰性 (false negative)、偽陽性 (false positive) の危険性を内在している。また、実際の創薬においてはリスク回避の観点から既存の計測法で陽性と判断されたものについては開発を断念することも多々あり、このように偽陰性／偽陽性をより正確に予測する新しい創薬スクリーニング技術の確立が期待されている。他方、近年のヒト ES 細胞、ヒト iPS 細胞などのヒト幹細胞の出現は、これらヒト幹細胞から分化して無限に供給される品質の揃ったヒト臓器細胞を用いて、薬剤の効果や毒性検査が実用化される可能性を示唆している。

また致死性不整脈は心臓の突然死を引き起こす重大な疾患の一つであるが、特に、心室性頻拍の一種であるトルサードポアンツ (Torsades de Pointes : TdP) は、心臓のポンプ機能を低下させ、突然死を招くことがある予後不良の頻脈性不整脈として知られている。特に、抗がん剤や抗菌薬など、元来、ヒトに毒性がある物質が、心筋細胞のイオンチャンネルを塞ぐことで興奮伝達が異常になり TdP が発生することが薬剤毒性となる。問題はこの TdP の発生が、ヒト固有のイオンチャンネルに由来する場合、従来の動物実験だけでは判断できないという大きなリスクを持っていることである。しかし、ヒト細胞を利用して、バイオチップ上に心臓組織のネットワークモデルを構築して計測することができれば、ヒト個体の不整脈発生のモデルとして利用できる可能性がある。

われわれはヒト iPS 細胞等幹細胞からヒト心筋細胞が再生できるようになったことから、これをチップ上に 1 細胞単位で構造的に配置することで、細胞間の興奮伝導や協同性 (コミュニティ・エフェクト) をチップ上に再現できる臓器・組織の応答をモデル化した *in vitro* 細胞ネットワークモデル (quasi-*in vivo* 系) をバイオチップ上に構築し、これを用いて致死性不整脈発生の発生原因となる心筋細胞間の興奮伝導の異常発生を直接定量的に観測できる創薬スクリーニングシステムの開発を本課題の目的としている。ここでヒト心筋細胞を用いることによって製薬企業等が期待している効果は次の 2 点である。

- 1) ヒト心筋細胞を用いることで「既存」のパッチクランプ系に代表される *in vitro* 細胞計測系での偽陰性／偽陽性の計測の可能性を軽減できるか？
- 2) 従来の手法では困難であったヒト致死性頻脈の発生を定量的に予測することが可能となるか？

本研究は、ヒト心筋細胞を用いることで上記 2 点の実現性を明らかにし、さらに実現させるための具体的「予測」技術 (quasi-*in vivo* 系) を実現し、かつ、その実用化に必要な「(公的で) 客観性を持った」評価結果を提供することを目的とした。

(2) 事業内容と目標

本研究開発では、薬物のヒトでの致死性不整脈誘発リスクの大きさを推定できるヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた創薬スクリーニングシステム (オンチップ・リエントリーモデル) の開発を目的とする。

細胞間の興奮収縮の伝達異常である致死性不整脈の発生を計測するには、従来の細胞膜に発現したイオンチャンネルと薬剤との相互作用を直接計測する「膜たんぱく質レベル」での細胞計測という従来の *in vitro* 計測の階層の計測に加えて、「臓器の応答 (細胞間の情報伝達)」という細胞間の相互作用をバイオチップ上に単純モデル化し、再現性を持って理解するための細胞ネットワークの階層という新しい quasi-*in vitro* プラットホームの利用が重要であり、また、細胞集団のサイズに依存した応答の違い「コミュニティ・エフェクト (集団効果)」の理解を織り込むことが重要である。

本事業では、図 1 の開発計画に掲げられているように、次に述べる 2 つの観点：

- 1) 細胞のイオンチャンネルの応答のゆらぎ解析による拍動安定性の定量化 [時間]

[システム開発②課題]

2) 心筋細胞ネットワークでの伝達状態のゆらぎ解析による伝達異常の定量化 [空間]

[システム開発①課題]

を実現するためのハードウェア（装置システム）ならびにソフトウェア（プロトコル）開発を行うことで、ヒト心筋細胞を使った致死性不整脈発生予測技術を実用化することを目標とした。

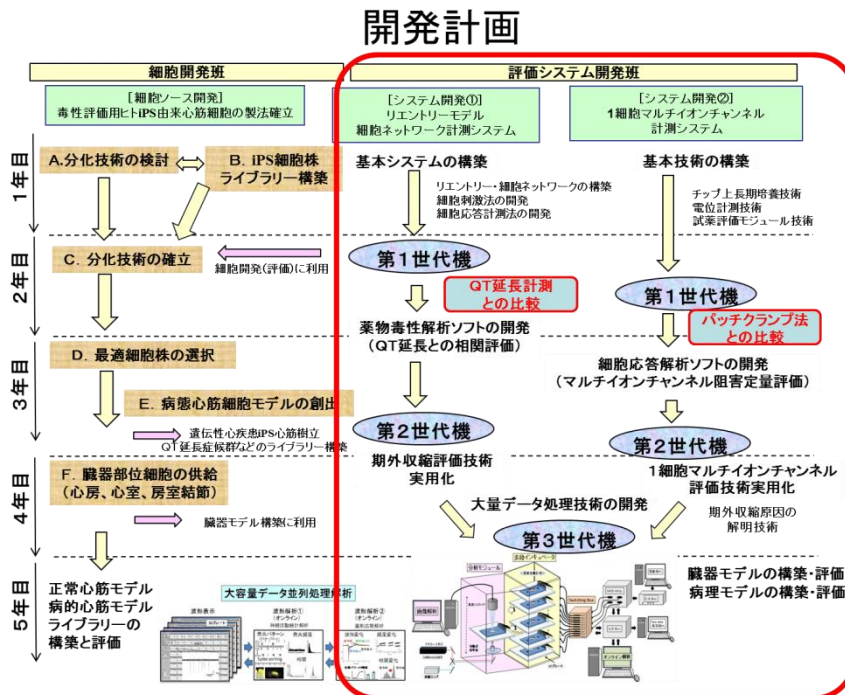


図 1 本課題③の開発計画と、本課題③-2の開発課題（本PJ開始時資料より）

(3) 1細胞レベルでの細胞外電位遅延（FPD）応答の「時間的ゆらぎ」計測法の開発とその評価

現在、薬物の心毒性を検証するための主要な計測手法では常に偽陰性（false negative）、偽陽性（false positive）の危険性を内在している。ヒト幹細胞からヒト心筋細胞が再生できるようになったことから、これをチップ上に1細胞単位で構成的に配置してヒト臓器・組織の応答により近い in vitro 細胞ネットワークモデルを構築し、

- 1) 細胞のイオンチャンネルの応答のゆらぎ解析による安定性変化の定量化 [時間的観点]、
- 2) 心筋細胞ネットワークの伝達ゆらぎ解析による伝達異常の定量化 [空間的観点]

の2つの観点から心筋細胞間の興奮伝導の異常発生を定量的に観測できる心毒性検査法を検討し、そのために必要な装置システムの開発を行った。

致死性不整脈（TdP）が発生する原因のうち、その原因のひとつとして細胞レベルで考えたときの細胞電位の応答の確実性が減少することに由来していることに着目し、1細胞レベル（あるいは心室細胞片の一部の微小領域）での細胞外電位遅延（FPD）応答の「時間的ゆらぎ」計測に基づいたTdP予測法を新たに考案し、これを実現する装置システムの開発を行った。

まずハードウェアについては細胞電位波形について隣接した2波形の応答の比較をするためには、従来の複数の隣接波形の平均化によるノイズ低減処理は行えないため、より高精度で低ノイズの波形計測技術が必要となる。そのため、ハードウェアレベルでのノイズ低減技術として第1世代機にて採用していたアクティブフィルターを組み合わせたノイズ低減法から、直近に参照プローブを置き対象シグナルのみを電氣的に差分抽出する差分型ノイズ低減法を採用し、この回路の最適化を行った。その結果、全周波数に対してフィルターを用いずに高精度（低ノイズ：-40dB以上）のシグナルを計測できるシステムを構築することに成功した。

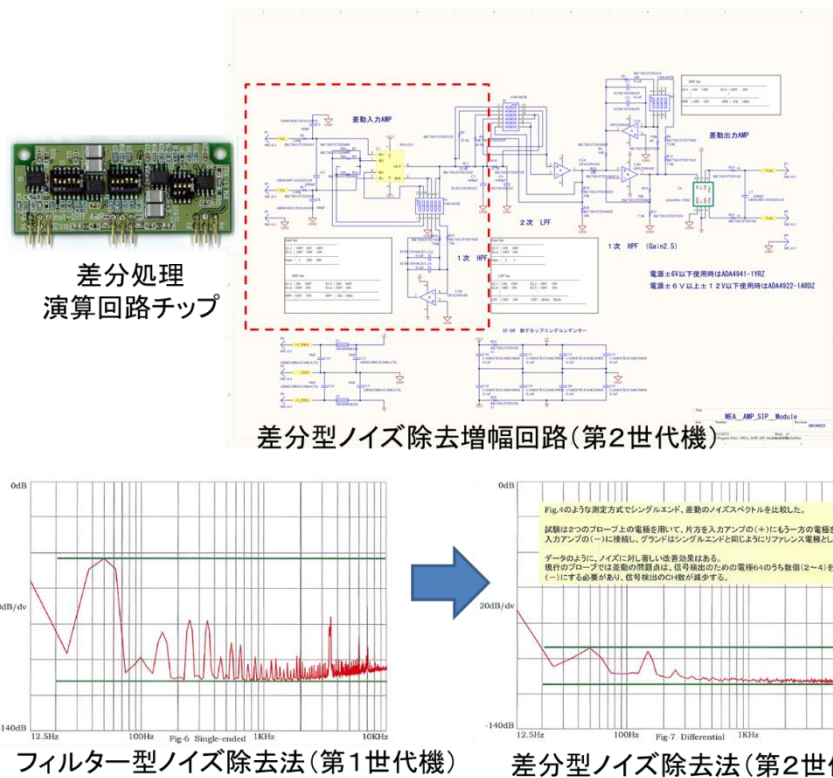


図 2 信号ノイズ除去のためのハードウェア開発 (第2世代機用差分型ノイズ除去回路)

ノイズ除去については、さらにソフトウェアレベルでも従来のフーリエ解析から、新たにウェーブレット理論を利用した新しいノイズ変換手法の導入を行い、開発に成功した。従来のノイズ低減のための手法は、周波数変換のみを使うフーリエ変換を利用してその周波数成分についてのノイズ解析・修正を行うのみであり、時間軸情報は残らない。これに対して、時間軸と周波数軸の両方を変換するようにフーリエ変換を拡大したウェーブレット変換(短時間フーリエ変換では時間周波数分解能に限界がある)をベースとすることによって最適化ウィンドウ抽出技術を検討し解析に必要な時間・周波数成分は除去せずに余分なノイズ成分を除去する、FPD 波形解析に最適なプログラム・アルゴリズムを開発した。ウェーブレット変換にすることで、計算に必要な計算量を指数関数的に減少させることに成功し、高速リアルタイム処理も可能にした。これはサンプリング数 N に対して、フーリエ変換が $N \cdot \log N$ 回の計算が必要なのに対して、ウェーブレット変換が N 回の計算で完了することによる。

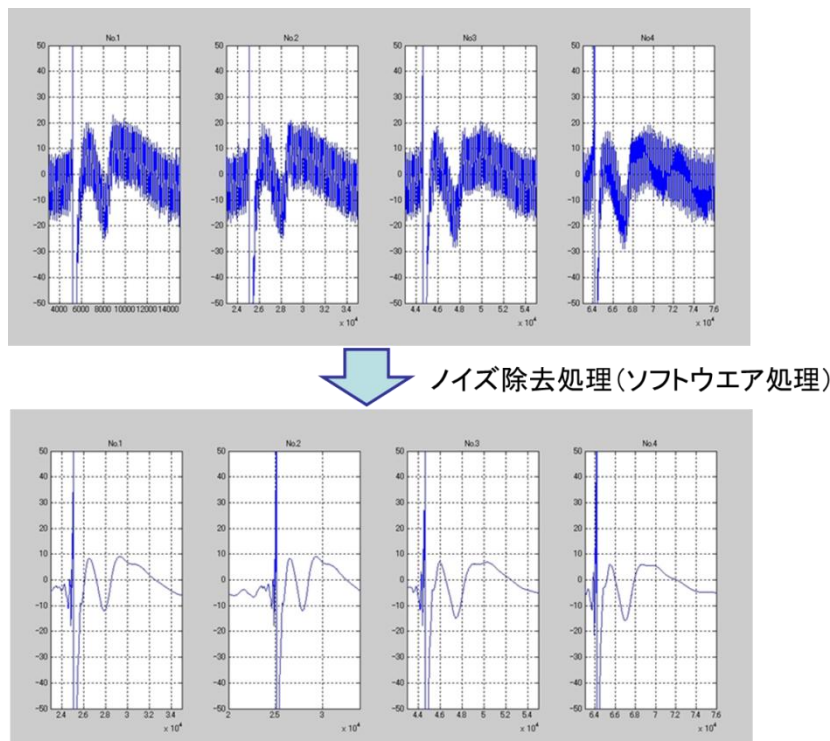


図 3 ソフトウェア（ウェーブレット理論）によるノイズ成分除去技術の採用

また、上記回路を導入したシステム開発についても当初目標としていた第 2 世代機用のシステムならびに培養計測プレートの開発を行った。システムの全体構成としては、以下の 4 つのモジュールからなる（図 4）。

- (1) 培養液と化合物の濃度を適切に調整して、かつ温度制御された状態で 8 ウェル多電極細胞培養プレートの 8 系統の細胞培養槽に脈流の無い形で各々独立に 8 系統の送液を行うことができ、かつ送液・廃液の化合物濃度をモニターできる流液吸光分光光度計が組み込まれたシリンジポンプ送液モジュール
- (2) 多電極細胞培養プレートを保持し、細胞培養を行うための恒温槽機能、飽和水蒸気圧 5% CO₂ 供給機能、光学顕微鏡観察計測機能、微小電極アレイからの電気信号を受け取ることができる電気インターフェイスを備えた細胞培養計測モジュール
- (3) 細胞培養を行う 8 ウェル多電極細胞培養ウェル
- (4) 8 ウェル多電極細胞培養ウェルの中の各微小電極に対して、1 細胞レベルでの脱分極を誘導する刺激を与える機能、上記計測ノイズ低減機能を組み込んだ微小電極からの細胞電位変化計測機能、細胞電位データをリアルタイムでノイズ低減する上記ノイズ低減ソフトウェア機能、波形解析を行う解析機能、解析結果に基づいたフィードバック刺激印加機能を組み込んだ多電極刺激・応答計測モジュール

特に本システムでは、細胞が曝露された化合物濃度をより正確に把握できるように各細胞培養槽に導入された化合物濃度と回収された廃液の薬物濃度を、マイクロ流路中の流液の吸光分光によって定量的に連続計測できる機構を組み込んである。そして、これらのモジュールを組み合わせることで第 2 世代機装置システムとしての動作が正常に機能することを確認した。

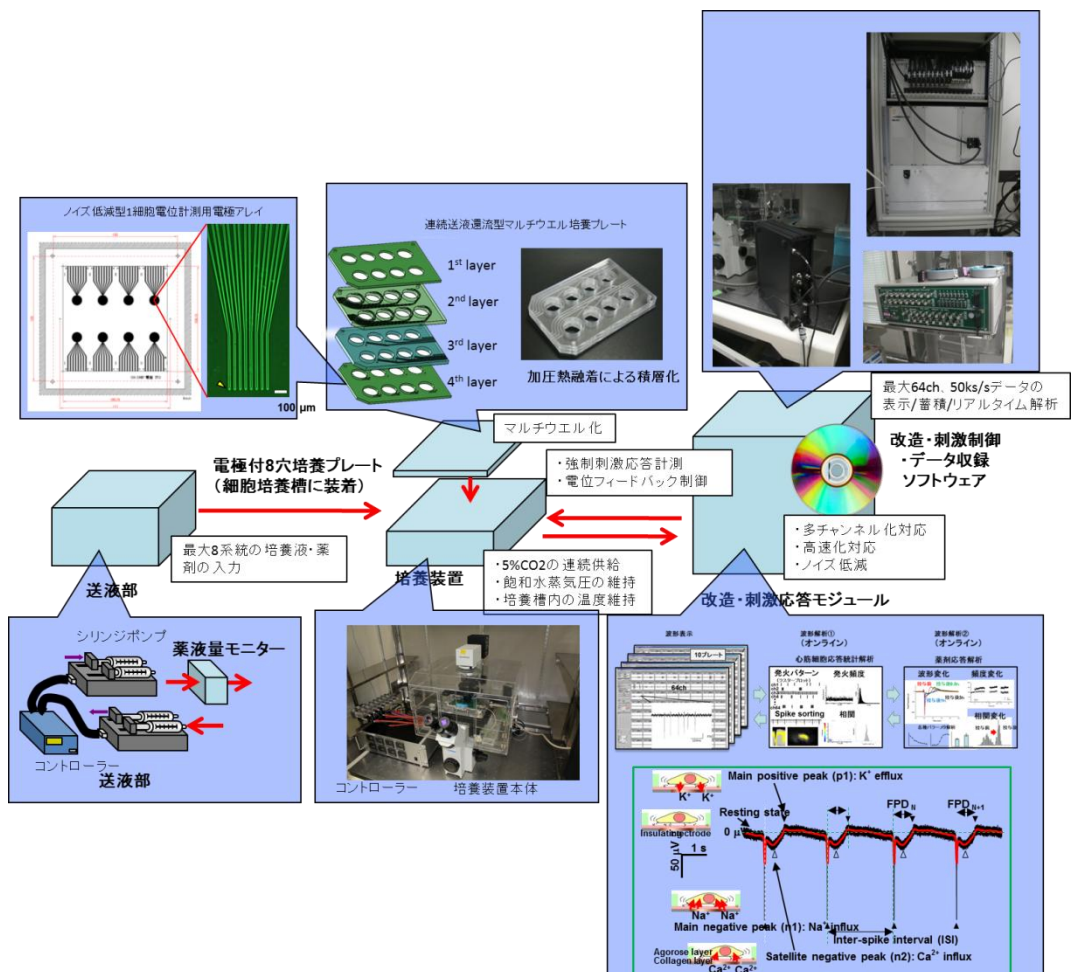


図 4 開発した装置システム (第 2 世代機) の全体構成と各要素の概要



図 5 開発した装置システム (第 2 世代機) の全体写真

また特に(3)の計測用 8 ウェル型多電極細胞培養プレートについては、特に送液系と微小電極計測系についてそれぞれ最新の技術を開発して組み込んだ。まず、送液系については、液の交換をより正確にかつ静かに行う必要がある。このため、送液系のマイクロ流路を複数のレイヤー構造の中に組み

込むことによって、扇状に広がった最下層のレイヤーから化合物を含んだ液を脈流が無い形で層状に底面から供給することができ、また、廃液回収口についても液面高さを保持する高さのレイヤーに扇状に排出口を配置し、底面から上面に上ってきた廃液を液面に振動を与えない形で円滑に回収することができる構成となっている。このため容器内では液の層流・静止状態が維持されており最小限の液の乱流発生によって液交換ができるようになっている。また、微小電極アレイの電気計測ノイズ低減のため、接地電極を計測電極の周囲に面全体として配置する電極配置を取るデザインを採用した。これによって従来の遠隔位置に配置した設置電極に対してより低いノイズレベルでの計測を可能にした。

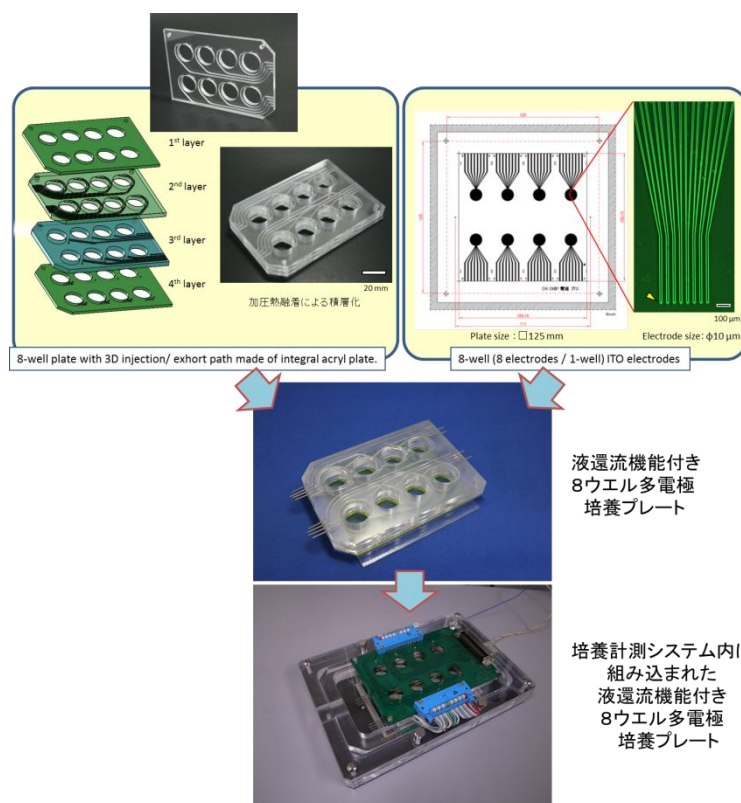


図6 同時に8サンプルを計測できる8ウェル型多電極培養プレートと培養計測システム(8ウェルプレート収納インターフェースモジュール) (第2世代機用試作)

上記技術の採用によって、シグナル/ノイズ (S/N) 比については、第1世代機の4倍以上、サンプリング周波数についても100倍となった。強制拍動刺激系についても、第1世代機では困難であった、任意波形刺激が可能となるFPGA組み込み型波形発生ユニットを各電極に独立して設置し、また計測結果に基づいたフィードバック刺激機能を組み込んだ。さらに装置システムの拡張性についても第1世代機では64チャンネル固定であったが、本システムでは16チャンネル単位で(原理上無制限で)チャンネル数の増設が可能な設計となっている。

(4) 細胞ネットワークを用いた心室 (ST 領域) 「興奮伝導」の「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発

細胞ネットワークを用いて「興奮伝導」の「空間伝導ゆらぎ」計測に基づいたTdP予測法についても新たに考案し、これを実現するための quasi-in vivo システムのハードウェアおよびソフトウェア開発を行った。細胞間の伝導異常を適切に評価するためには、細胞を直列に配置して、興奮伝導の伝導方向が制限された状態を作り出すことが重要である。これは細胞応答の「時間ゆらぎ」が適切に「空間伝導ゆらぎ」計測に反映される quasi-in vivo 系として心室部分の興奮伝導 (ST 領域) の簡素化モデルを構築することに他ならない。

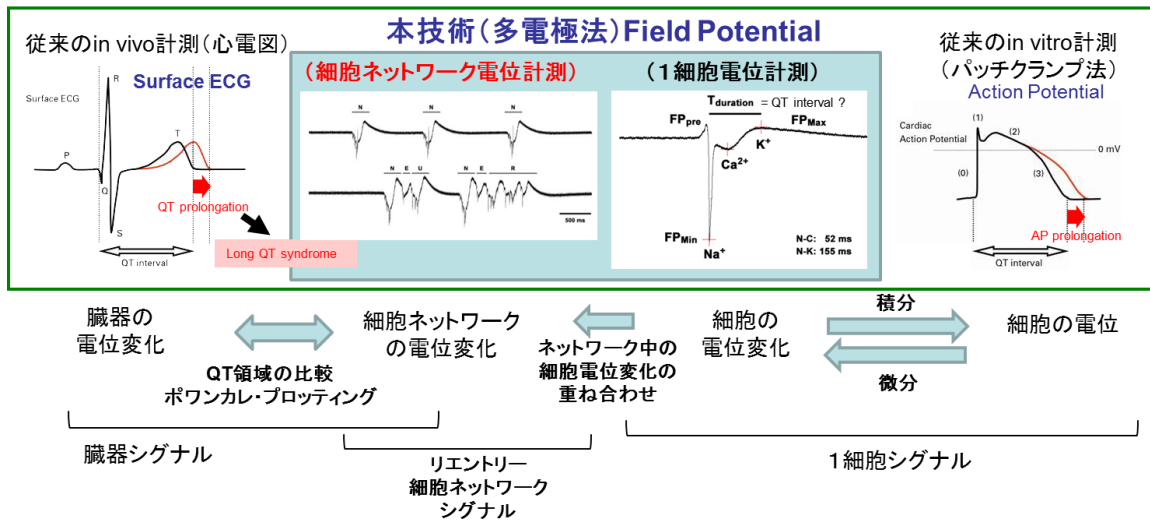


図7 電極上の1細胞の時間応答(時間ゆらぎ)と細胞ネットワークの伝達応答(空間ゆらぎ)との関係

細胞ネットワーク中での細胞間の伝達変化(ゆらぎ)を計測するためには、実際に細胞を直列に配置して細胞ネットワークを構築し、複数の微小電極を細胞ネットワーク中に配置し、細胞間での「興奮伝導」のゆらぎの発生を計測することが必要である。従来の細胞培養では基板上で分散培養を行っているため細胞間のネットワーク構成がランダムな結合となってしまう、そのために心筋細胞自体の細胞電位の応答が不安定になる「ゆらぎ」が、そのまま「興奮伝導」の空間伝達ゆらぎとならないという問題があった。しかし、細胞を(ある一定の幅をもって)直列に配置することができれば、各細胞の「興奮」のゆらぎがそのまま次に配置された細胞に反映されて全体として「興奮伝導」のゆらぎとして再現されることとなる。

我々が開発してきたアガロース微細加工技術によって微小電極配置に合わせた形で心筋細胞ネットワークの空間配置技術を行う技術の原理検討を行い、心筋細胞を実際にネットワーク状に配置し、また、各微小電極から同時に心筋細胞の拍動伝導が計測できることが確認できた。

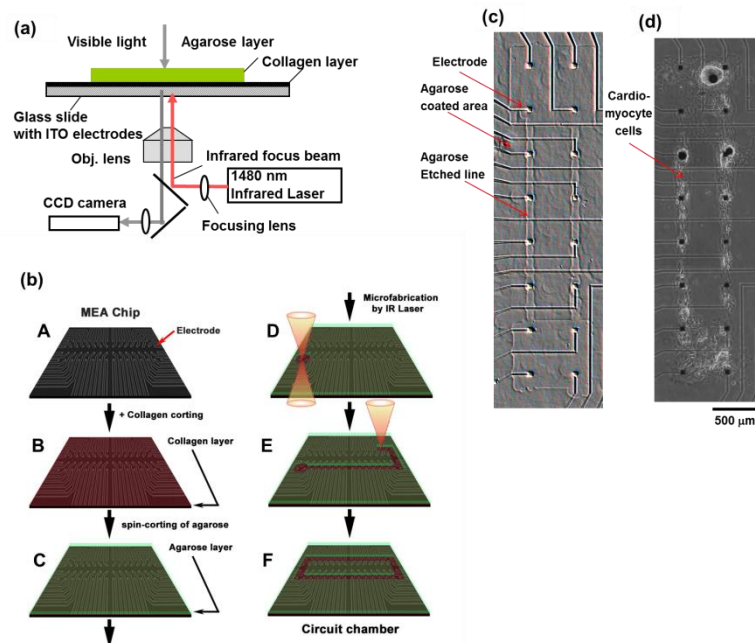


図8 アガロース微細加工技術を利用した心筋細胞ネットワークの構築

実際に各電極の FP 波形の変化を観察すると、単独電極上の 1 細胞の FP 波形の変化だけでは興奮伝導の異常の発生の予測が困難であった状態であっても、実際に伝導状態を各電極データの重ね合わせで評価すれば、リエントリー発生や心室細動発生を計測することが可能であり「空間的な興奮伝導のゆらぎ」計測の有効性を見出すことに成功した。

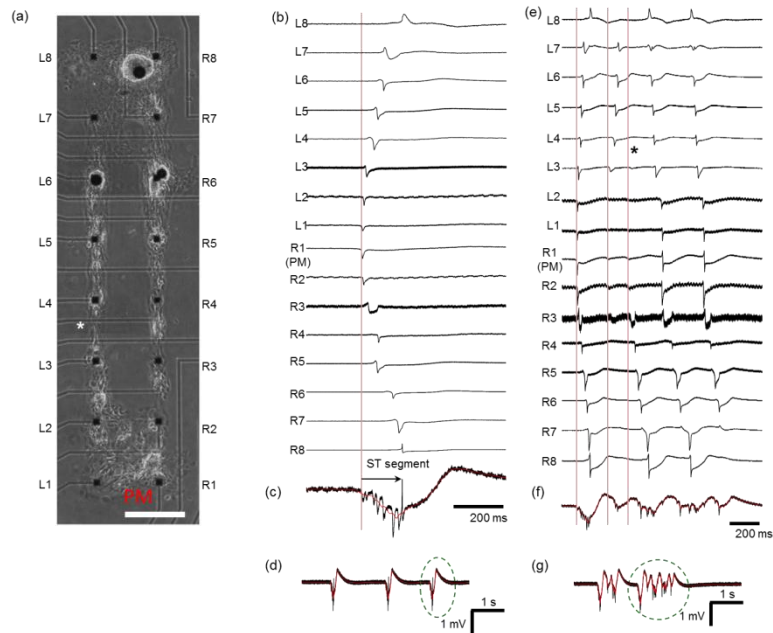


図9 細胞ネットワークでの FP 波形を用いた「興奮伝導」解析

さらに上記図からもわかるように、離散的に配置した電極からの FP 波形を重ね合わせた場合には、電極間の細胞の FP 波形を得ることができないため、細胞ネットワーク中の細胞全体の信号を重ね合わせたものとならず図 (d) (g) などでは、その重ね合わせたものが滑らかにはなっていないことがわかる。

この問題を解決するために、特に「興奮伝導」を計測するための手法として、新たにリング状単一電極を採用して、これによって細胞ネットワークの「興奮伝導」の計測を行った。

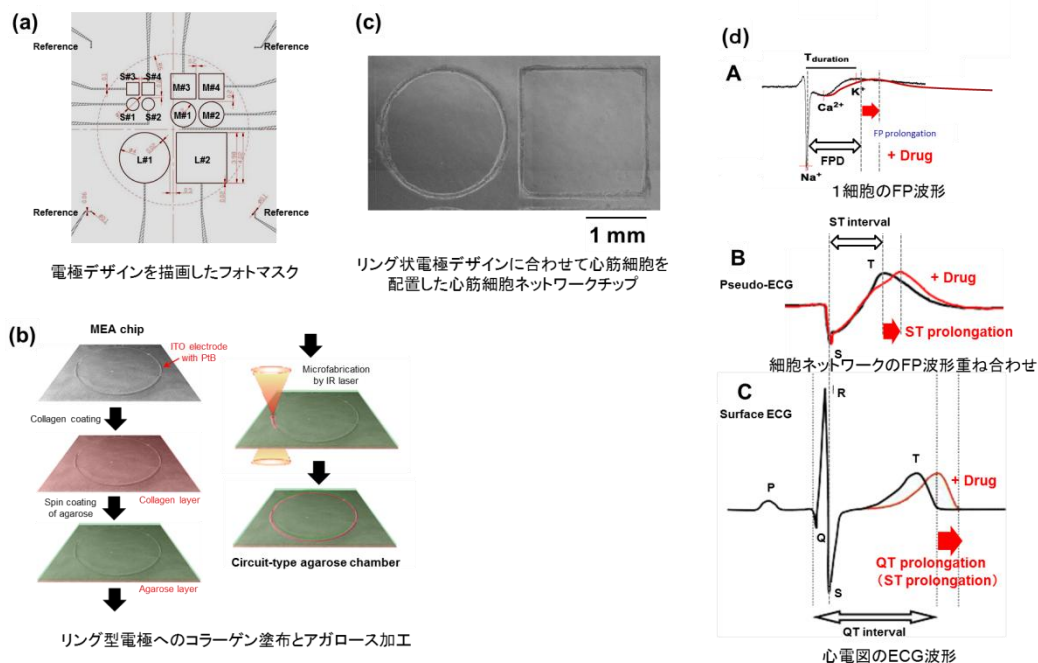


図10 リング型単一電極を用いた心筋細胞ネットワークの「興奮伝導」変化計測

図10(d)からもわかるように、特定の細胞のFP波形の計測(A)は、その細胞のFP情報のみが含まれており「空間伝達」の情報は含まれていない。他方、細胞ネットワークの情報をリング型電極で計測すると、そのFP重ね合わせ波形(B)には、リング型電極上に配置された各細胞のFP波形の重ね合わせとなることから「空間での伝達」を反映した情報となる。これはちょうど心室筋の微小領域での伝達(心電図(C)でのST領域)と同様な情報を含んでいる可能性がある。実際にST領域の情報と同様な情報を含んでいるかを確認するため、上記リング型電極を用いてそのFP重ね合わせ波形について、不整脈が発生することが知られている化合物(Astemizole)を添加して、その計測波形の変化を観察した。

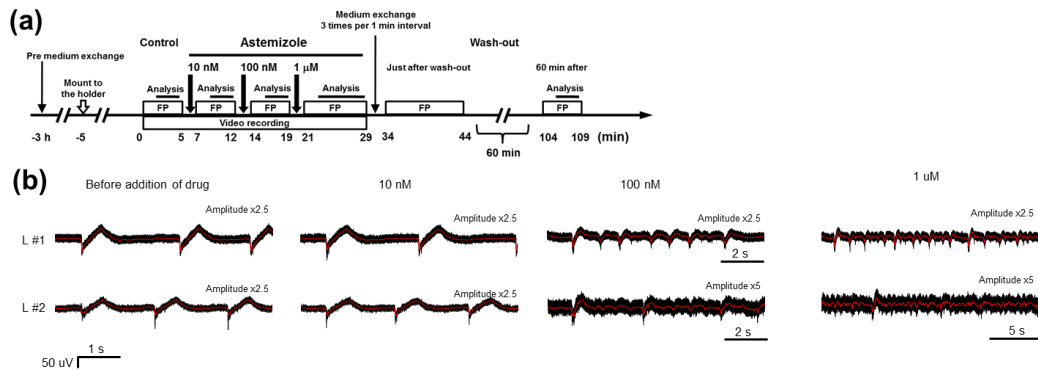


図11 リング型細胞ネットワークへのAstemizole添加プロトコールと観測波形の例

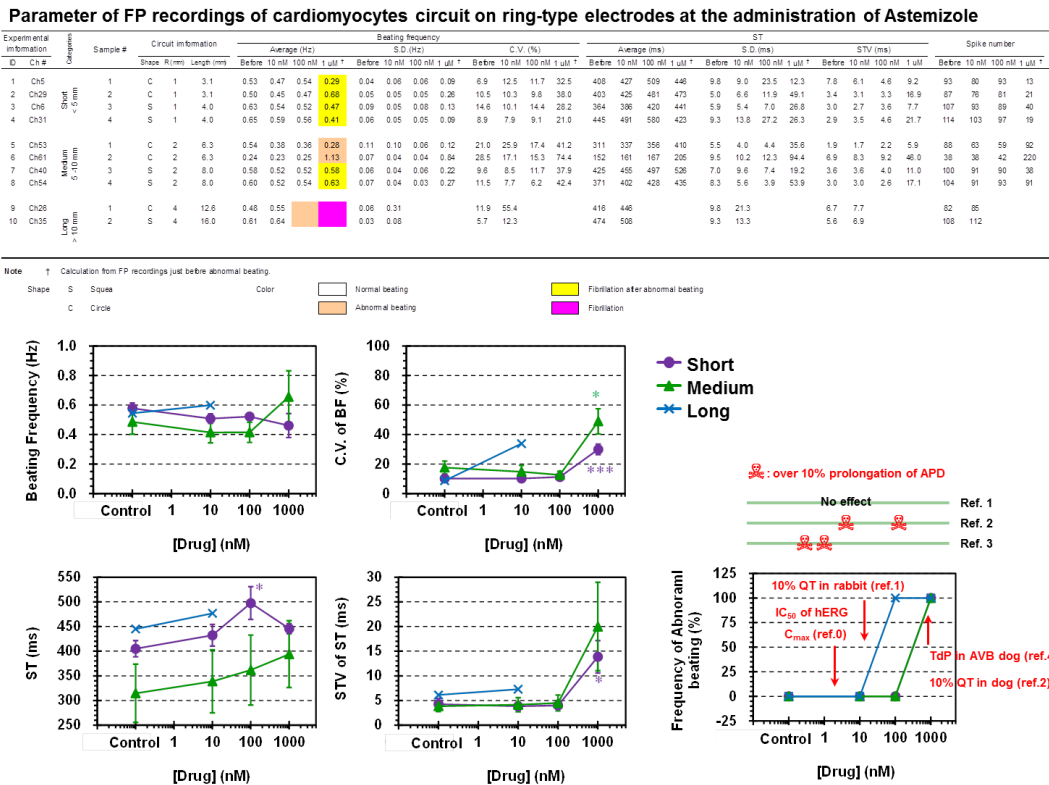


図12 ECG計測と同様の解析によって(ST領域と換算して)リング型細胞ネットワークの薬剤応答特性の評価結果

図に示したように、Astemizoleの添加に伴って心室細動型の波形を観測することができた。また、実際に心電図のST領域の応答と見做して、ECG計測によって結果を解析したところ論文で報告さ

れている既存の観察結果と同様な結果が得られた。このことは、細胞ネットワークの配置形状に沿った1つの電極上に細胞を配置することで、各細胞の細胞電位と興奮伝導が重ねあわされた心室領域断片の興奮伝導波形（ST領域波形モデル）を直接計測することにも原理的に成功したことを示唆しており、これらの結果は、細胞ネットワーク計測によって、従来の特定の細胞のイオンチャンネルの変化に着目した *in vitro* 細胞計測技術では測定されてこなかった実際の心室細胞を直接電氣的に観測すること（*quasi-in vivo*系）が可能であることを原理的に示したものである。

(5) 強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発

ヒト幹細胞由来心筋細胞の自律拍動特性は、各細胞の拍動周期は同一ロットで完全に同一条件にて作成した心筋細胞であっても多様であり、また、拍動周期に依存して細胞の FPD の位置は履歴を持って変化する。そのため細胞の状態（自律拍動周期に依存した履歴）や化合物の影響によって拍動周期が変化することは FPD の変化によって化合物の毒性を見積もる上では好ましくない。また、FPD によって計測する hERG イオンチャンネル等のイオンチャンネルは脱分極することによって活性化するため、自律拍動能を持たない心筋細胞においては外部からの強制拍動刺激が必要となっている。以上のような理由から、細胞になるべく損傷を与えずに長期培養計測できるように外部からの強制拍動刺激を与える技術の実用化が急務である。また、強制拍動刺激を与える操作自体が計測電極に（刺激信号が）ノイズとして重ねあわされ、FPD などの FP 波形でのピーク検出を困難にする可能性があった。これらの問題を解決しながら、高精度に FP 波形を検出できる外部強制刺激系の開発を行った。

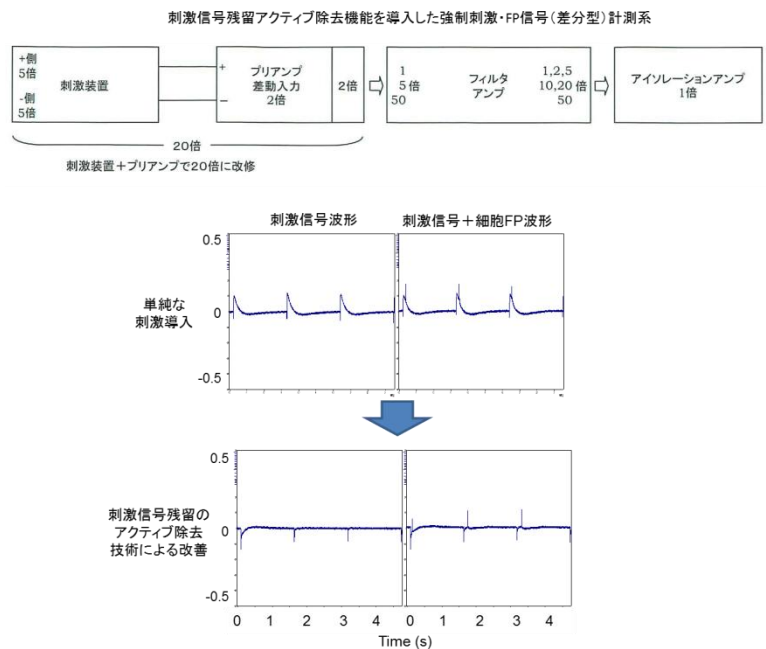


図13 刺激信号残留電荷のアクティブな除去機能を組み込んだ強制刺激・FP計測装置システムの構成（概念図）と、アクティブ除去による残留ノイズ信号の除去成果

心筋細胞の FP 信号波形は、通常、拍動開始後（脱分極後）わずか 100~200ms の範囲でイオンチャンネルの変化を完了し、その中に FPD も存在する。上記図からもわかるように、単純に微小電極に刺激信号を与えると、そこで印加した電荷が自然放電するまでには数百 ms の時間がかかり、微弱な FP 信号は刺激信号と一緒に FPD の位置検出を困難にする。これを解決するためには刺激信号を印加後に最短の時間で印加した電荷をアクティブに（強制的に）除去する手法が有効である。このための試作回路を導入し、この効果を検出した結果、わずか数 ms オーダーで残留電荷を除去することに成功し、FP 波形ならびに FPD 計測に問題が発生しない計測が可能となった。

(6) 目標の達成度と意義

本研究開発では、薬物のヒトでの致死性不整脈誘発リスクの大きさを推定できるヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた創薬スクリーニングシステム（オンチップ細胞ネットワークモデル）のハードウェア（装置システム）開発を最終目標とし、その過程で、第1世代装置システムが持っていた課題を解決した第2世代装置システムの開発に成功した。

また、細胞計測チップについても下記、図に示したように「細胞ネットワーク興奮伝導（空間伝達）」「1細胞波形ゆらぎ（時間変化）」の2つの観点を実現するチップ開発にも成功した。

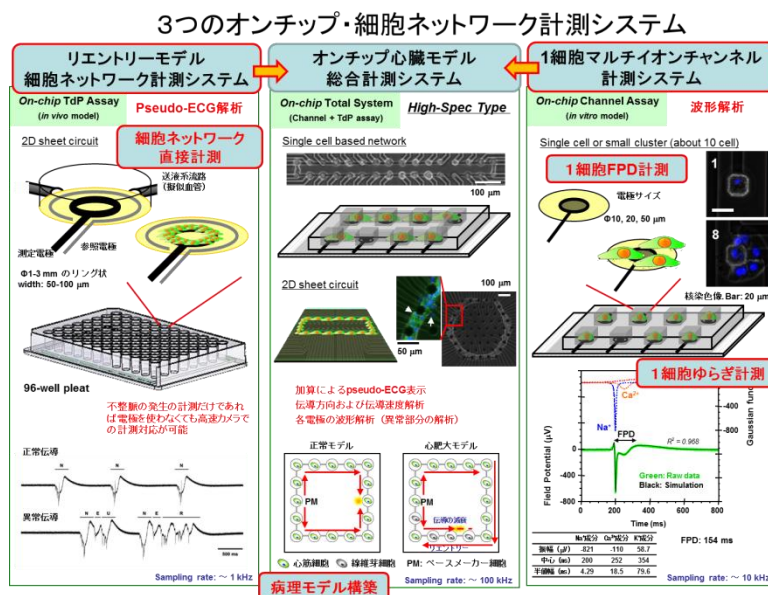


図 1 4 オンチップ計測を実現する細胞チップ技術の開発

また、ハードウェア（装置システム）の開発の成功は、これに続くソフトウェア（プロトコル）開発を可能にし、また、開発したプロトコル評価を通じて、さらにハードウェア（装置システム）の改善課題を明らかにしてゆき、新規ソフトウェア（プロトコル）を実現する新規装置システムの開発、というポジティブ・フィードバックをもたらした致死性不整脈計測システムとしての開発に成功した。

(b) 「解析・判断プロトコール・データベース（ソフトウェア）の開発」

(1) 事業目的と背景

薬物のヒトでの致死性不整脈誘発リスクの大きさを推定できる装置システムの実現を本事業の目的としている。この開発では、従来存在していなかった心筋細胞ネットワークの細胞のFP波形を精密に計測することを可能にする装置システム（ハードウェア）の開発と、実際に計測する手法（ソフトウェア・プロトコール）を開発の両輪として並行して進め、装置システムの実現によって、従来困難であった計測が可能となることで、新規プロトコールの検証が可能となり、この新規プロトコールの検証が、さらに新たなプロトコールの可能性を明らかにするとともに、ハードウェアの改良の必要性を明らかにしてゆくことで開発が推進された。

(2) 事業内容と目標

研究開発項目③-2 (a) で開発した装置システムを利用して、薬物のヒトでの致死性不整脈誘発リスクの大きさを推定できる装置システムのプロトコール開発を行った。具体的には、致死性不整脈誘発リスクの大きさの推定を、「興奮伝導」の異常、という観点で検証し、その程度を見積もるための開発目標として：

- 1) 細胞の興奮応答の「ゆらぎ」の定量的解析法の開発
- 2) 組織の「興奮伝導」をヒト細胞ネットワークで計測できる手法の開発

を設定し推進した。

また、上記1) 2) のプロトコール開発をしている過程で、新たに下記開発目標：

- 3) 強制拍動による細胞応答（FPD）の規格化技術の開発

が必要であることが明らかになり、新たに上記3) の課題を満たすハードウェア開発への課題フィードバックを行い、強制拍動刺激装置系の開発を行った。また、あわせて強制刺激系下での心筋細胞のイオンチャンネルの特性を明らかにして、最適な刺激プロトコールを開発することも目標とした。

さらにヒト細胞ならではの課題として、薬物(化合物)による発現制御系への影響と、その結果生じる心毒性（致死性不整脈誘発リスク）を計測する課題についても下記の通り：

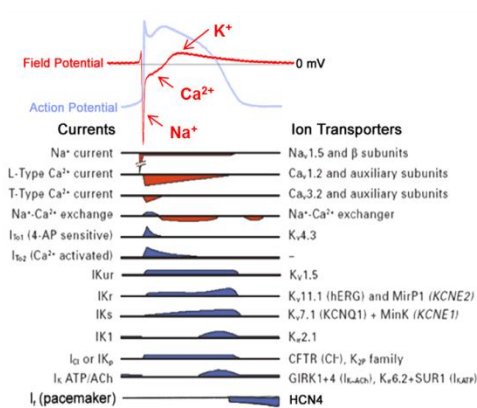
- 4) トラフィック計測手法（プロトコール）の開発と評価

を目標に設定した。

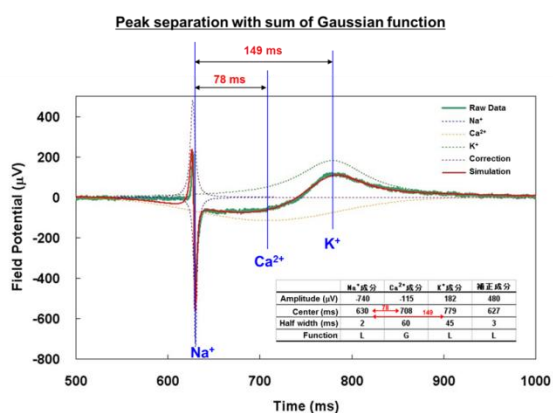
(3) ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた既存 *in vitro* 計測法による偽陰性・偽陽性検査の改善の定量的評価

まず、既存の *in vitro* 細胞計測法において、用いる細胞を、従来の動物細胞あるいはヒトイオンチャンネルを過剰発現したモデル細胞計測から、ヒト幹細胞から分化させたヒト心筋細胞に変更することで、どこまで従来の偽陰性／偽陽性が正しい評価に改善するかを評価することは、新規計測技術の開発の必要性を明らかにするうえで不可欠である。

まず細胞外電位の波形とイオンチャンネルの関係の意味付けを行うため、実験で得られたFP波形と主要なイオンチャンネルを重ね合わせたシミュレーション結果との比較解析を行った（図）。その結果、カリウムイオンチャンネルの放出ピークの位置を細胞外電位遅延（FPD）の位置とし、このFPDの遅延時間の変化として計測することとした。



(a) 各イオンチャンネルの既知の機能特性



(b) 主要イオンチャンネルの実験結果とシミュレーション結果の比較解析

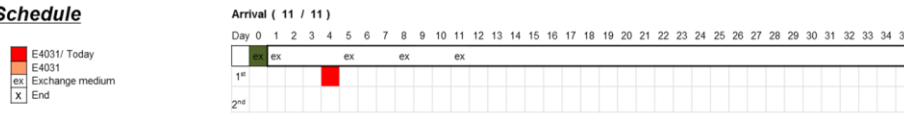
図 15 心筋細胞の細胞外電位 (FP) 波形のシミュレーションによるイオンチャンネル推定

実際に (メガファーマが標準細胞として用いている Cellartis 社のヒト ES 細胞由来心筋細胞を用いて) ヒト心筋細胞の細胞外電位遅延 (FPD) の変化を主要な 15 薬剤 (ブランク含む) について計測し評価を行った。(図)

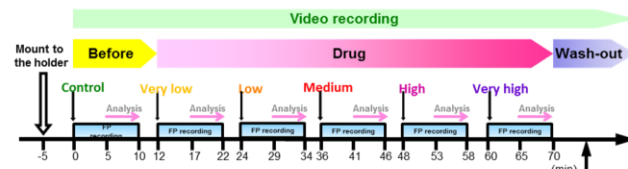
Drug Protocol Sheet Ver.5.1

Data: 2010/11/16	Place: TMD
Sample: hES-CMC, 25 th	Experimenter: Hagiya A
Dish: Dish 3	Analysis: Momose Y
MEA system: On-chip 64 MEA system, NEDO #4	1 st check: Takemura M
Drug: E4031	Sign:
Comments: #25, Ch27	

Schedule



Protocol of drug application



Drug Information		Final concentration
Name:	E4031	
Maker / Provider:	Sigma	Very low : 100 pM
Code:	M5060-0.1MG	Low : 1 nM
Stock:	0.1 mM /L in DDW	Medium : 10 nM
Stock code:	Takemura, 2/1/10	High : 100 nM
		Very high : 1 uM

Medium exchange 5 times/1 min interval

Summary

Beating rate	--
Beating rhythm	Stable
Abnormality	Waveform change, BC-like
FPD	++
STV	++

Appendix 1 Abnormal beating or waveforms caused by the drug

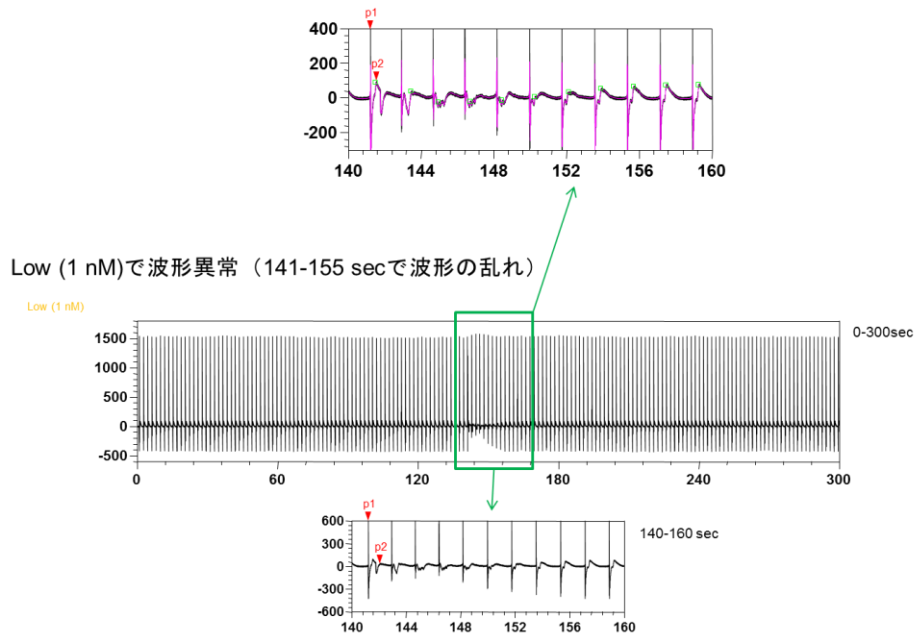


図 16 E-4031 添加スクリーニング手順とこれによって生じた細胞外電位 (FP) 波形 (例)

その結果、図に示したように、既存の *in vitro* 系の APD 検査では偽陽性となることが知られている 5 薬剤のうち 1 薬剤 (Astemizole) がヒト心筋細胞での計測にすることで陽性という正しい応答をするようになったことを除いて、他の 4 薬剤 (Citalopram, Terfenadine, Bepridil, Paroxetine) については偽陰性のままの結果であった。他方、偽陽性の薬剤 3 薬剤についても、hERG 偽陽性の Verapamil については正しい陰性の結果を得たが、他の 2 薬剤 (Amiodaron, Moxifloxiacin) については偽陽性のままであった。また陽性薬剤 3 薬剤については、すべてそのまま陽性という反応結果が出たが、陰性薬剤 4 薬剤のうち 1 薬剤 (Famotidine) がグレーゾーンの結果となった。これらの結果は、単に測定する細胞をヒト心筋細胞に変更しただけで従来の計測方法を用いている場合には、偽陰性・偽陽性の薬剤の判断について改善は一部にしか見られないことを示しており、*in*

in vitro 計測において偽陽性・偽陰性をより正確に陽性・陰性という正しい計測を行うためには、致死性不整脈が発生する原理に立ち戻って、その予測をするための新しい立脚点に立った計測技術の開発が必要であることを確認した。

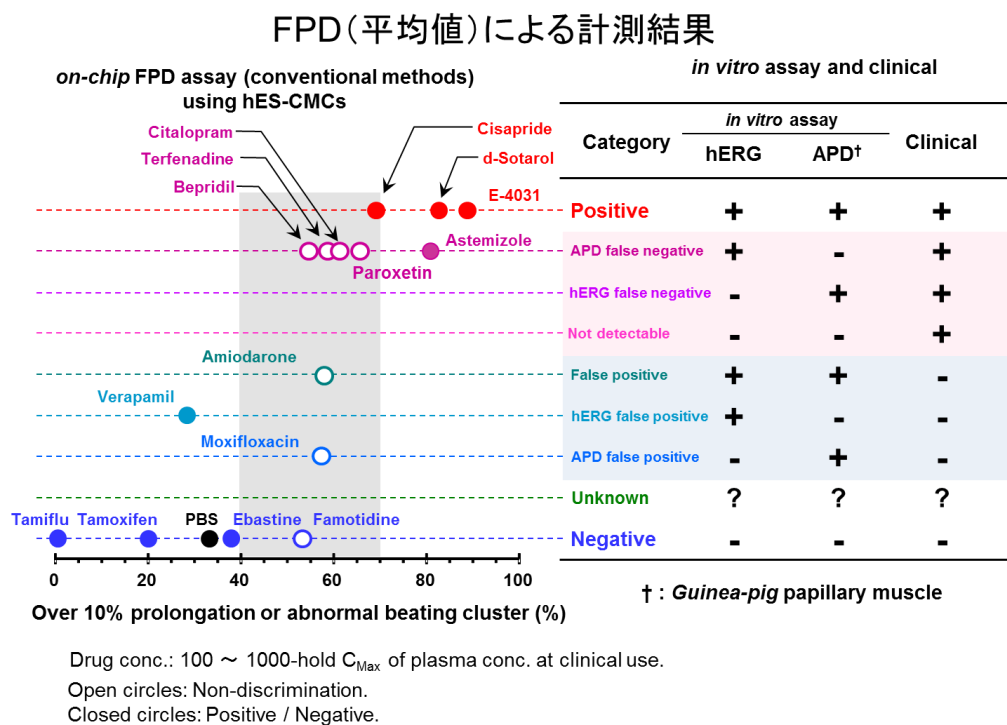


図 1 7 従来の *in vitro* 計測法によってヒト心筋細胞を用いた計測結果

(4) 「時間ゆらぎ」とイオンチャンネルブロックの相関計測による「ゆらぎ」についての原理的説明

致死性不整脈が発生する過程での、細胞レベルでの応答特性の変化を推定するため、hERG イオンチャンネル（カリウムイオンチャンネル）が過剰に発現した CHO 細胞を用いた既存パッチクランプ法による細胞電位計測を行った。ここではカリウムイオンチャンネルブロックによる効果を、実際に hERG（カリウム）イオンチャンネルに対して、このイオンチャンネルを効果的にブロックすることが知られている薬剤 E-4031 によって定量的に段階的にブロックした条件下で、同一条件での複数回の計測の平均値ではなく各回の応答時間の「時間ゆらぎ」を計測解析した（図）。その結果、実際に hERG イオンチャンネルが塞がることによって、集団としての応答のゆらぎがある一定の濃度を越えたところで急激に指数関数的に増大することを観察することができた。この結果は、薬剤によるイオンチャンネルのブロックが、心筋細胞の膜電位変化（興奮伝導）の再現性のばらつき（ゆらぎ）を引き起こすことを直接観察したものであり、細胞電位の変化の「時間ゆらぎ」計測がイオンチャンネルブロックに由来することを示唆するものであった。

hERG block in hERG-CHO cell lines and hES-derived CMs

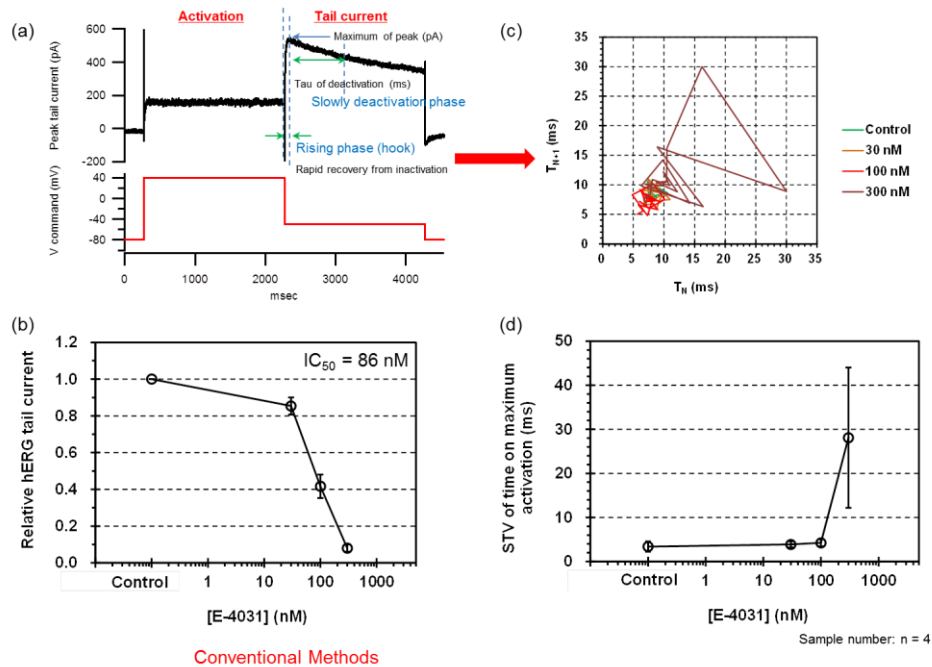


図 18 hERG イオンチャンネル (K イオンチャンネル) のブロックによって引き起こされる指数関数的なイオンチャンネル機能のゆらぎ増大

(5) 1細胞レベルでの細胞外電位遅延 (FPD) 応答の「時間的ゆらぎ」計測法の開発とその評価

ヒト幹細胞由来心筋細胞をチップ上に配置してヒト臓器・組織の応答により近い定量的評価を行う細胞外電位 (FP) 波形計測システムを用いて、まずは (1) 細胞のイオンチャンネルの応答のゆらぎ解析による安定性変化の定量化計測 [時間的観点] 手法についての基礎検討を行った。

この手法は、従来の細胞 (外) 電位計測が、細胞外電位情報を平均化して、平均値としての細胞 (外) 電位の特徴抽出を行うのに対し、細胞電位の時間的な再現性の低下 (消失: ゆらぎ) を計測することに着目し、隣り合った細胞外電位 (FPD 波形) の比較解析を行ったものである (図)。

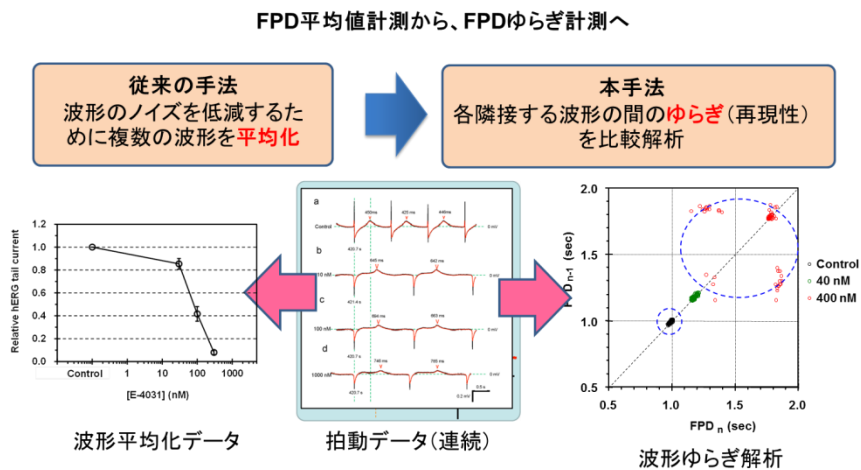


図 19 本研究の評価手法の概念: FPD 平均値計測から FPD ゆらぎ計測へ

下図に示した通り、微小電極によって心筋細胞の興奮によって発生する細胞外電位 (FP) 波形は、たとえば hERG イオンチャンネル (カリウムイオンチャンネル) をブロックする薬剤 E4031 を添加

すると、そのブロックによって細胞内からのカリウムイオンの流出が遅れ、そのピーク（FPD）の位置が遅延するようになる。この遅延の平均値を計測するのが（従来の）FPD計測である。これは実際の *in vivo* 系での QT 延長の由来となる細胞応答を示しており目標とする致死性不整脈誘発リスクを推定する上での重要な指標のひとつであるが、この指標は十分条件の一つでしかなく、致死性不整脈誘発リスクと必要十分条件ではない。これはたとえば致死性不整脈誘発リスクが「興奮伝達」異常であることを考えれば、単なる FPD の延長のみでは、これが安定した延長である限り致死性不整脈誘発リスクは低いものとなる。むしろ致死性不整脈誘発リスクについては、心筋細胞の応答のゆらぎが増大することが致死性不整脈誘発リスクの原因と考えることができる。これら 2 つの指標を 2 次元に展開して評価することが本研究にて検討した評価法である。

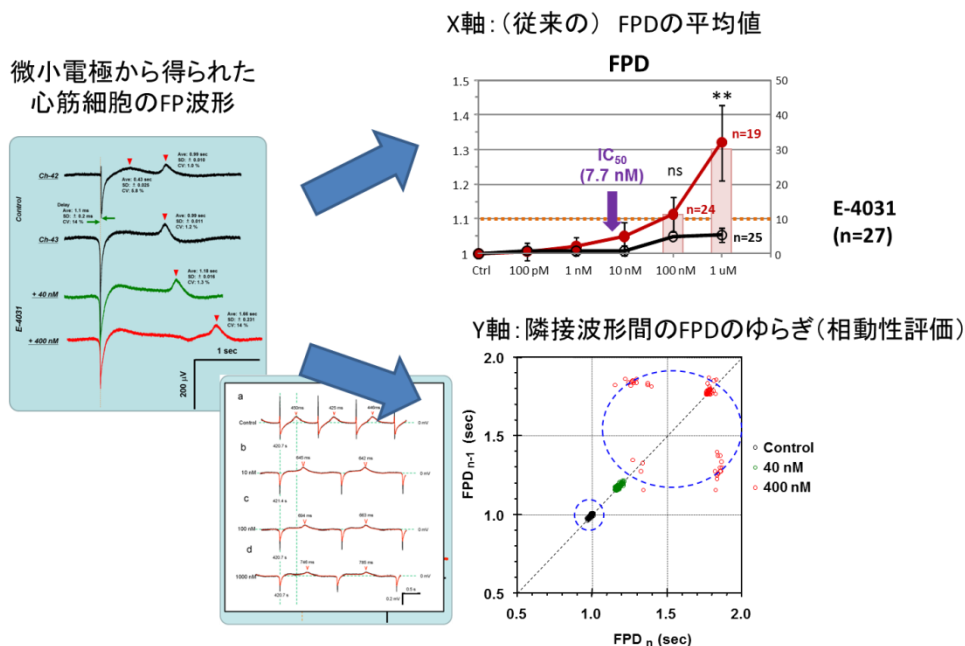


図 20 FPD（平均値）延長と、FPD ゆらぎ計測を組み合わせた 2 次元致死性不整脈誘発リスク評価系

この手法の妥当性を定量的に評価するため 15 薬剤の評価を行った結果、上記、結果 2.③-2 (b) -1 で示したように、2 次元に展開した各化合物の結果については、2 つの領域に分離し、従来の計測技術では識別が困難であった偽陽性・偽陰性試薬を含むすべての薬剤について正確に予測測定できることを確認した。

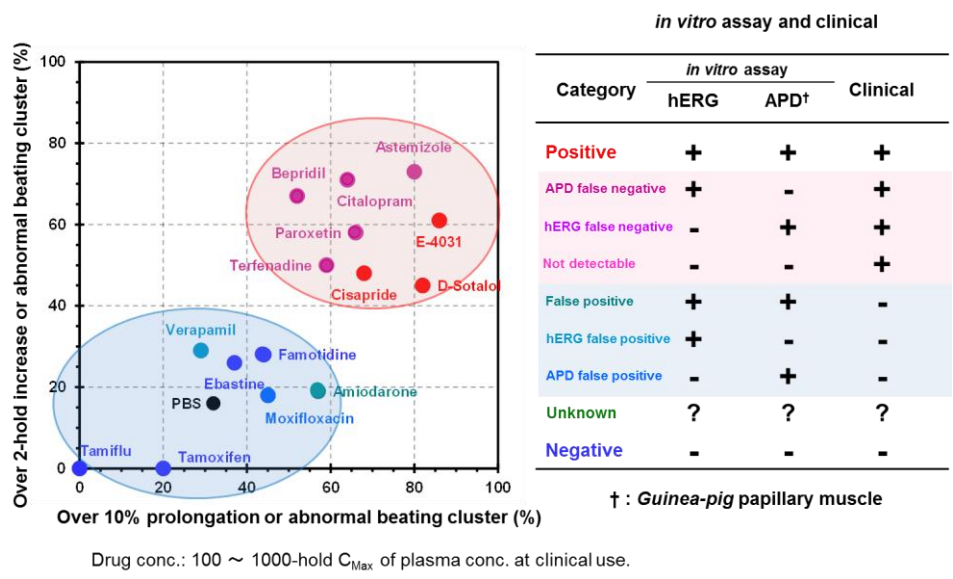


図 2 1 FPD 延長とゆらぎ増大計測を組み合わせた 2 次元マッピングによる評価

この結果は、単純に「FPD(平均値)の延長」と「FPD 時間ゆらぎ」が互いに独立していて致死性不整脈リスクが決まるものではなく、「FPD(平均値)の延長」と「FPD 時間ゆらぎ」との間に相関があることを示唆している。
 また、実際の評価を行うためには、例数設計 (ブライントテストで何例を測れば必ず正しい結果が出るか) についての評価が必要である。15 薬剤について検定評価の結果、下表に示した通り、例数設計の原理より (心筋細胞の自律拍動を利用した系では) 30 例の検定にて正確な評価が可能であることを確認した。

表 1 検定結果に基づいた例数設計数

Statistically significance and sample size estimation on the drug evaluation map

	FPD and STV positive (ratio)			t-test vs PBS		Chi-square vs PBS		Sample size *	P
	positive	negative	n	P value	Summary	P value	Summary		
E-4031	0.50	0.50	27	< 0.0001	***	< 0.0001	***	13.8	0.27
D-Sotalol	0.41	0.59	27	0.0093	**	0.0119	*	18.8	0.22
DL-Sotalol	0.42	0.58	37	0.0009	***	0.0007	***	18.1	0.23
Cisapride	0.35	0.65	25	0.0071	**	0.0047	**	23.5	0.19
Bepridil	0.38	0.62	21	0.0013	**	0.0006	***	21.0	0.20
Terfenadine	0.29	0.71	34	0.0113	*	0.0133	*	30.8	0.16
Amiodarone	0.11	0.89	21	0.1595	ns	0.4498	ns	160.0	0.07
Moxifloxacin	0.08	0.92	33	0.1841	ns	0.4486	ns	290.4	0.06
Famotidine	0.12	0.88	32	0.1134	ns	0.2603	ns	126.4	0.08
Verapamil	0.14	0.86	34	0.0915	ns	0.1788	ns	102.0	0.08
PBS	0.03	0.97	25	-	-	-	-	-	-

* Sample size estimation ($\alpha=0.05, \beta=0.2, 1-\beta=0.8$)
 •80% power for a two-tailed $\alpha = 0.05$ test
 $P = (P_A + P_B) / 2$
 $n = 16 * [P * (1 - P)] / (P_A - P_B)^2$
 P: the difference between the proportions in the two groups
 P_A : the proportion in the group of drug A
 P_B : the proportion in the group of drug B

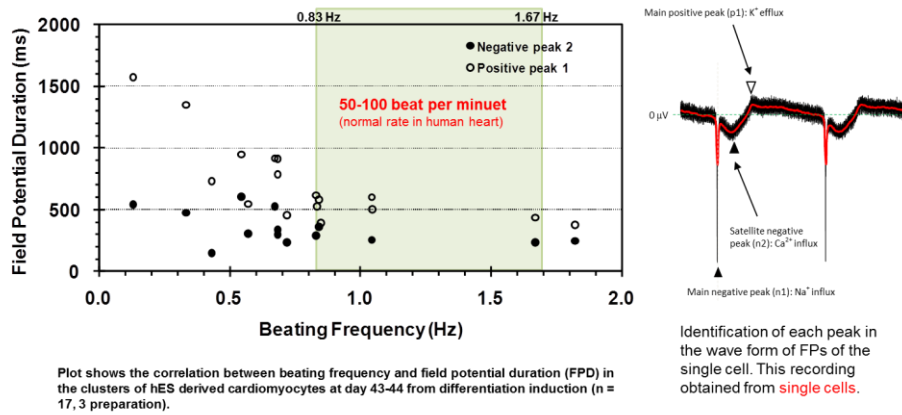
Statistical analysis:
 1) Unpaired t test (Two-tailed) *** < 0.001
 2) Chi-square test (Two-sided) ** < 0.01
 * < 0.05

(6) 強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発

ヒト幹細胞由来心筋細胞の応答計測をより正確に行うために、強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法を新たに考案し、これを実現するハードウェアおよびソフトウェア開

発を行った。まずヒト心筋細胞の自律拍動を用いた計測系を立ち上げるにあたって、ヒト幹細胞由来心筋細胞の自律拍動周期が異なるものについてその性質を確認した。

Correlation between beating rate and field potential duration (FPD) at day 43-44



FPD_{n1 to p1} depend to beating Frequency.

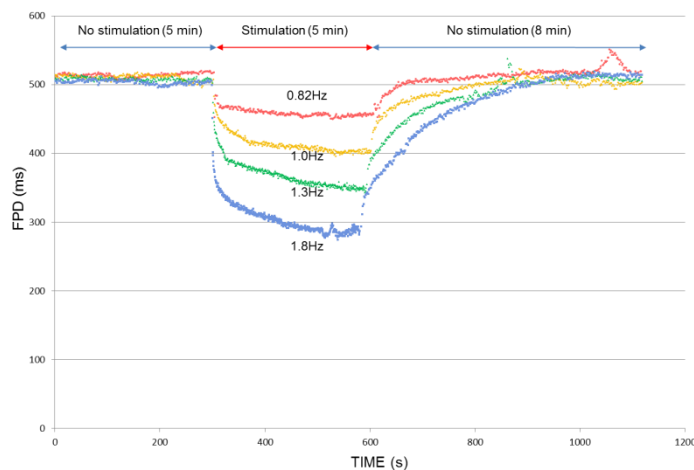
図 2 2 自律拍動（ヒト幹細胞由来）心筋細胞の拍動周期と FP 波形との関係

その結果、図で示したように、細胞の脱分極時間 (t=0) から計測したカルシウムイオンの放出ピーク値 (▲) と、カリウムイオンの放出ピーク値 (FPD : ▽) の自律拍動周期 (X 軸) 依存性についてカルシウムイオンチャンネルは、その自律拍動周期に依存せずほぼ一定の値を取ったが、カリウムイオンチャンネルは自律拍動周期に依存していることが明らかになった。このことから自律拍動を用いた計測については、生体の拍動に近く、かつカリウムイオンチャンネルの応答が安定している毎分 50-100 拍動の心筋細胞を用いて計測を行った。

しかし、単なる自律拍動計測のみでは、自律拍動周期の違いによるカリウムイオンチャンネルの応答の違いが、ヒト幹細胞由来心筋細胞のイオンチャンネルの発現の違いによるものなのか、あるいはヒト心臓の QTc で知られているような、拍動周期の違いによって引き起こされる機能履歴によって引き起こされる結果なのかを明らかにすることはできない。

そのため強制拍動刺激系を用いて細胞の応答について計測を行った。その結果、下図に示したように、強制拍動周波数の違いに応じてカリウムイオンチャンネルのピーク (FPD) の位置が変化し、また、強制拍動刺激を中止すると、FPD の位置は当初あるべき位置に戻ることが確認された。

刺激周波数依存的 FPD 変化 (刺激時間 5 分)



刺激周波数が速くなるほど FPD が短くなる。刺激時間 5 分では定常状態にならない場合がある

図 2 3 外部強制拍動刺激によるカリウムイオンチャンネル (FPD) 応答

このカリウムイオンチャンネル (FPD) の強制拍動刺激周波数に依存した履歴現象の結果についてさらに定量的な評価を行い、下図にあるように以前より知られている QT 延長の心拍数の違いに対する補正手法を、FPD 評価法にそのまま当てはめて最適な cFPD となる数値を求めたところ 2 乗根で強制拍動刺激については規格化できることが判明した。これは、QT 延長の補正についてのバゼット (Bazett) 型と同様であった。このことは、ヒト幹細胞由来心筋細胞のイオンチャンネルの応答特性がヒト個体と一致したということである。

一定間隔刺激による FPD の変化と補正

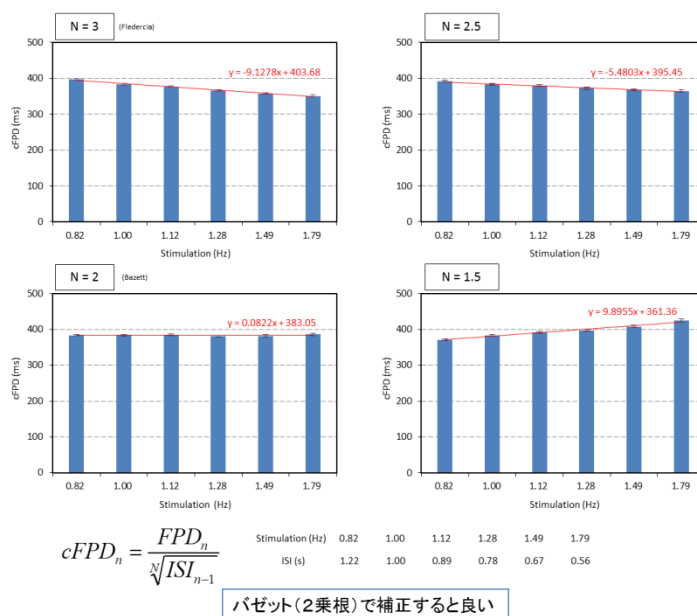


図 2 4 一定間隔刺激による FPD の変化と補正

また上記、強制拍動刺激によるヒト幹細胞由来心筋細胞の FPD の応答が Bazett 型であったことから、再度、自律拍動を行っているヒト幹細胞由来心筋細胞について回帰計算によって確認をしたところ図に示したように 0.424 乗となり、ほぼ Bazett 型 (1/2 乗) となっていることが確認できた。このことはこれらヒト心筋細胞の FPD の位置の違い (カリウムイオンチャンネルの応答の自律拍動周期に依存した違い) は、その自律拍動周期にイオンチャンネルが順応したものであり、強制拍動刺激系を用いることとなれば、細胞の自律拍動周期の違いを気にせずどの拍動周期の細胞であっても利用可能であることを示唆している。

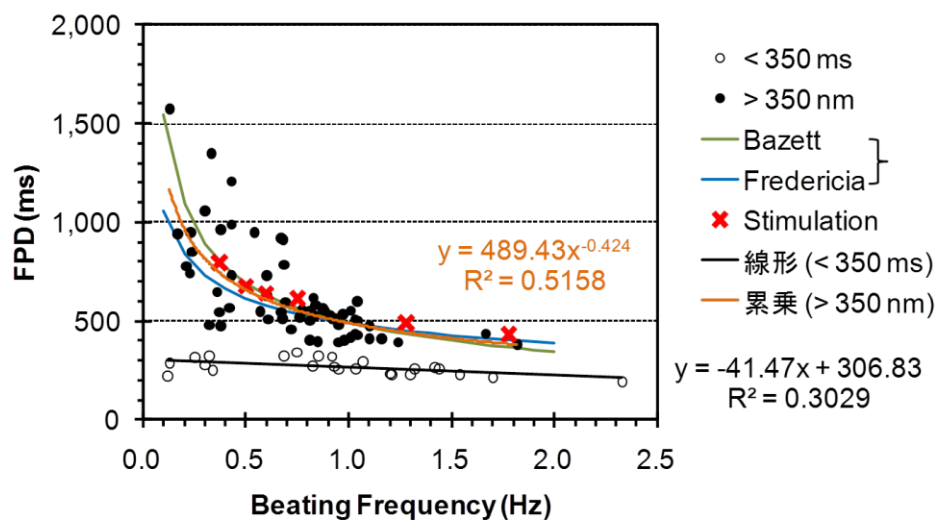


図 2 5 ヒト幹細胞由来心筋細胞の自律拍動周期と FPD の関係と規格化との関係

次に、細胞外電場による強制拍動刺激に対する効果的な応答の機構を解明するために、細胞のさまざまな配置や形状に対する外電場刺激の効果を検討した。

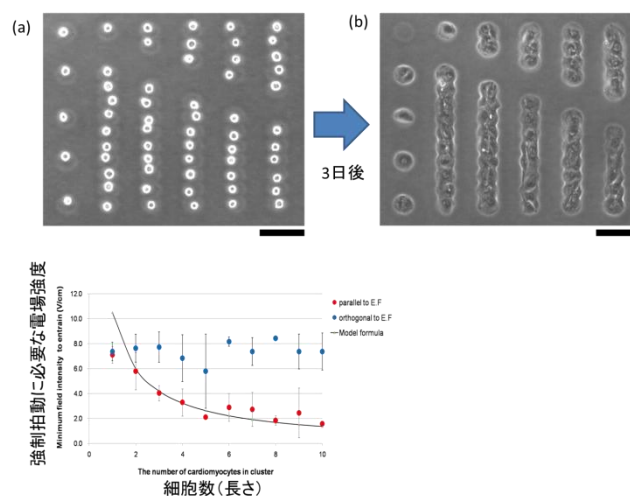


図 2 6 強制拍動応答の心筋細胞の直列配置細胞数と印加電場方向・強度依存性

その結果、

1. 電場勾配の方向と細胞配列方向が一致する場合には、細胞数が増えて長さが長くなるほど細胞を刺激するために必要な外電場強度は小さくて済むこと、
2. 円場勾配の方向に直交するかたちで細胞が配置している場合には、細胞数や長さが増加しても細胞に刺激を与えるのに必要な外電場の強度がほとんど変わらないことが明らかになった。このことは、細胞ネットワークの両末端の電位差の大きさが一定値に達することが細胞刺激応答に重要であることを示唆していた。これを確認するために、アガロースマイクロチャンバーを利用して、1細胞の形状を丸型と桿状にして、同様に外電場刺激を与えたところ、1細胞孤立系の場合でも桿状に伸長した細胞が電場勾配の方向に配置された場合に、刺激に必要な外電場が減少することを確認した。

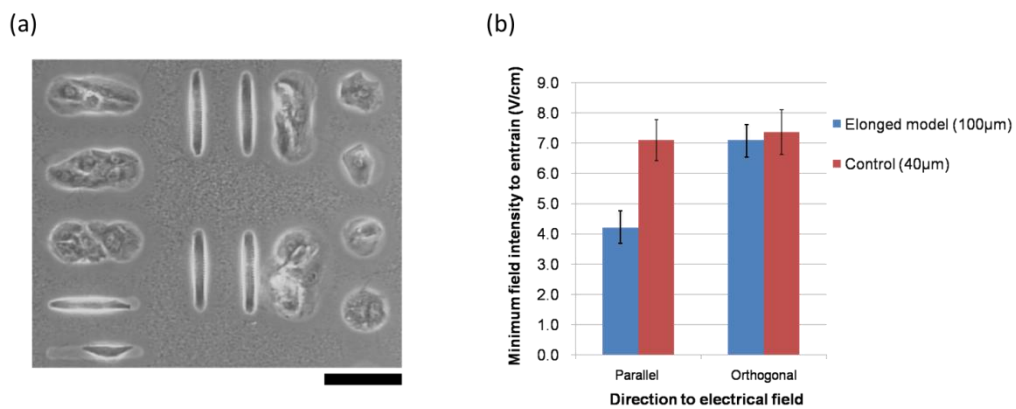


図 2 7 細胞形状と配置と電場強度

(7) ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いたトラフィック計測技術の開発

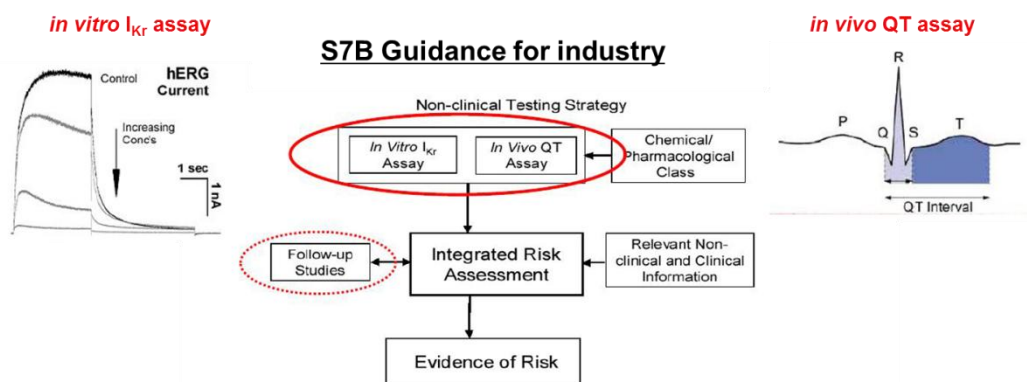
ヒト幹細胞由来心筋細胞ならではの技術開発のひとつとして薬剤に由来したイオンチャンネル発現の変化による心毒性発生を測定するトラフィック計測法を新たに構築し、既知のトラフィック阻害効果が知られている薬剤を用いて評価を行った。ここでは上記成果 2.③-2 (b) - 3. で開発した細胞ベースでの「時間ゆらぎ」計測技術をヒト幹細胞由来心筋細胞に適用し、長期培養を行いながら、定期的に細胞の応答の変化を計測する手法を用い、測定の結果から良好な結果を得た。

(8) 目標の達成度と意義

装置システム（ハードウェア）の開発と一体となってソフトウェアの開発も第2世代機として開発に成功し、また、解析ソフトの開発は、外部ユーザーの意見を取り入れることにより、正確で再現性のあるものとなり目標は達成された。

以上、成果 2.③-2 (a) ならびに成果 2.③-2 (b) の成果、ならびにユーザーフォーラム会員主要製薬企業との直接の開発課題や達成状況の調査（成果 2.③-2 (c) -6.参照）によって、今後の技術として既存のガイドライン技術では計測ができない「ヒト致死性不整脈リスク」を推定することを可能にする技術の開発について、今まで存在しなかった既存の *in vivo* でも *in vitro* でもない新しい評価系 *quasi-in vivo* 系の実用化の可能性が十分あると考えられる。

Preclinical Testing : Regulatory perspective



Represents *minimal* approach to addressing repolarization safety.

S7B does not consider global cardiac electrophysiologic effects (S7A).

図 2 8 心毒性安全性検査に対する既存のガイドライン

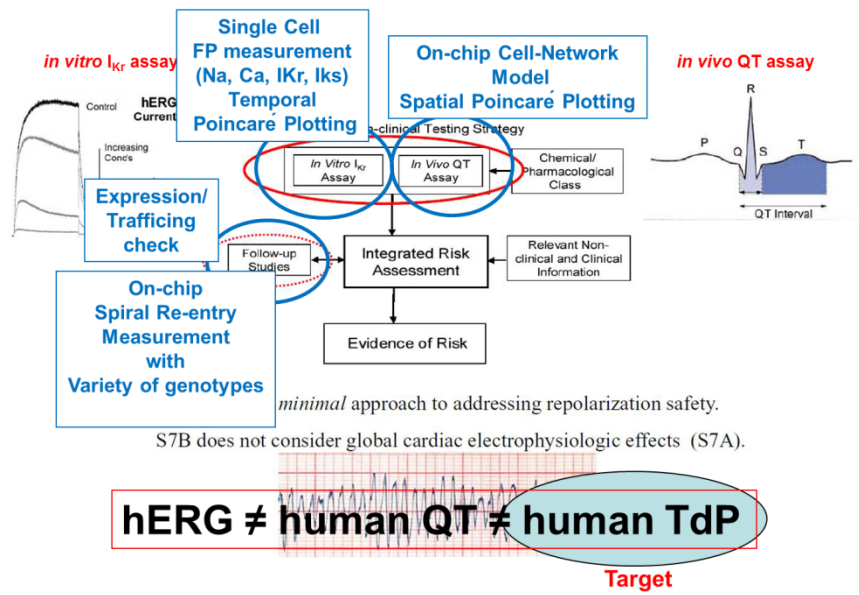


図 2 9 本プロジェクト成果が可能にする「ヒト細胞」を用いたオンチップ *quasi-in vivo* 系による致死性不整脈リスク評価の実現

(c) 「システム評価」

ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた創薬スクリーニングシステムについては、ヒト iPS 細胞を用いる利点、およびそれを測定する動作原理を、既存法について下記のように比較することができる。本プロジェクトでは細胞外電位法を動作原理とした心・循環器の重要な評価項目である不整脈予測を効果的に簡便に精度よく予測できる創薬スクリーニングシステムの確立が開発目的と位置付けた。

	iPS	hERG + α	APD etc.
メリット	ヒト由来細胞	定量的 高スループット	直接的評価
課題	品質・測定法の標準化	シミュレーションモデルの構築	低スループット 動物

	細胞外電位	MVP	impedance	バッチクランプ
メリット	<ul style="list-style-type: none"> ヒト心電図との対応が容易 簡便 	収縮力評価	高スループット	定量的評価 高スループット
課題	低スループット ノイズ	データ解釈	データ解釈	データ解釈

図1. ヒトiPS細胞由来心筋を用いるメリットおよび、測定法としての細胞外電位法のメリットのまとめ。

平成20、21年度に、当該研究のために必要な、多電極測定装置一式（多電極計測システム一式とアガロース微細加工システム一式、および光学顕微鏡一式）およびヒト iPS 細胞培養装置一式を導入した（図2）。

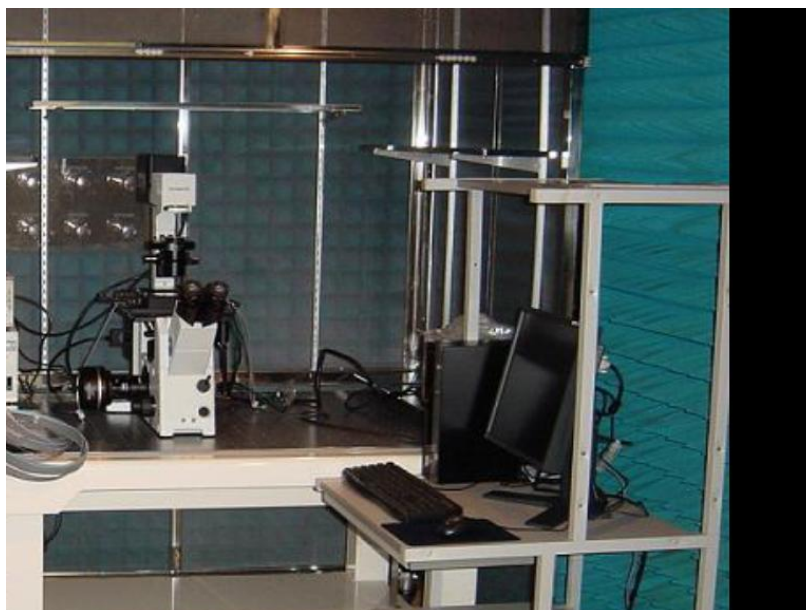


図2. 創薬スクリーニングシステム第1世代機の全容

導入した機器を用いて取得した細胞外電位波形から、毒性評価に使用できる波形中のパラメーターの検討や、波形データから、評価に必要な各指標（詳細は後述）を算出するための各ピーク（図3）の抽出のためのソフトウェアに必要な仕様内容の検討を実施した。

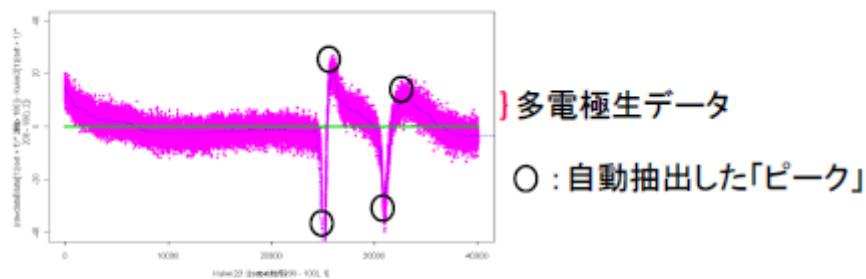


図3. 創薬スクリーニングシステムから取得される細胞外電位波形(ピンク)と、評価値 (FPD,STV) 算出のために抽出する「波形ピーク(○)」

創薬スクリーニングシステムの動作原理は細胞外電位計測に基づいた評価系である (図4)。多電極基板上に細胞 (図4においては細胞塊) を積載し、心筋の拍動に伴って発生するイオン濃度の変化に伴う電位差を細胞に隣接する電極 (図4、■) から細胞外電位波形が取得できる (図4)。

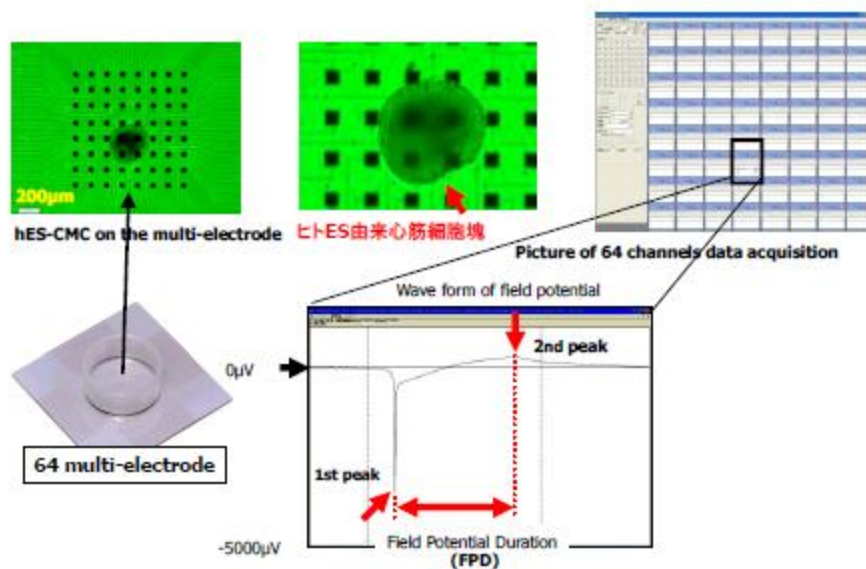


図4. 細胞外電位測定から得られる心筋塊由来波形と評価指標 (FPD) 算出に必要な波形 (ナトリウムチャンネルによる電位差 (1st peak)、カリウムチャンネルによる電位差 (2nd peak))

細胞外電位波形から、体表心電図のQT、活動電位 (Action potential (AP)) のAPD に対応するField Potential Duration (FPD) (ナトリウム受容体開閉による細胞内外のイオン濃度の変化により発生する電位差 (1st peak (図4)) から、カリウム受容体開閉による電位差 (2nd peak (図4)) が発生するまでの時間を示す) や、隣接した波形から取得できるFPD のバラツキを示す、Short Term Variability (STV)、拍動数 (Beat per Minute (BPM)) が評価指標として算出される。

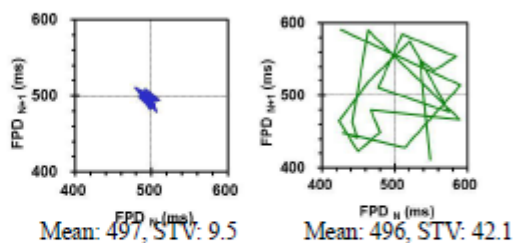
現在の安全性薬理領域の心・循環器系ガイドライン (ICH S7B) において評価される、IKr 阻害効果 (hERG 試験) については、FPD 延長という形で示される。また、主に再分極遅延による催不整脈作用を予測するための指標として、隣接波形の FPD 値が分散されていく様子を反映する STV 値が挙げられている (図5)。これらの指標の組み合わせにより、催不整脈作用をより正確に予測できる可能性を本プロジェクトでは提唱した。

STV of FPD =

$$\sum \frac{|FPD_n - FPD_{n+1}|}{N \times \sqrt{2}}$$

N = Total number of FPD

Right Graph's STV is bigger than Left.



MB Thomsen, et al. (2008) Beat-to-beat variability of QT intervals is increased in patients with drug-induced long-QT syndrome: a case control pilot study. *Eur Soc Cardiology*

図5. Short term variability (STV) の概説。STV値が小さい場合、隣接波形のFPDの差が小さいため、ポアンカレプロットはある一定の領域に集中したイメージとなる(左図)。一方、STV値が大きい場合は、隣接波形のFPDが一定でないため、不規則なプロット図となり、催不整脈リスクが高いと評価される(右図)。

ヒト、動物いずれも催不整脈作用が明らかな E-4031 を用いて、上記指標を用いた評価を行った(図6)。当時入手できる幹細胞由来心筋はヒト ES 細胞由来心筋であり、数千の心筋細胞から成る細胞塊であった。オンチップ創薬スクリーニングシステム第一世代機を用いて適正な結果が得られるように、東京医科歯科大からの技術トランスファーを行った。

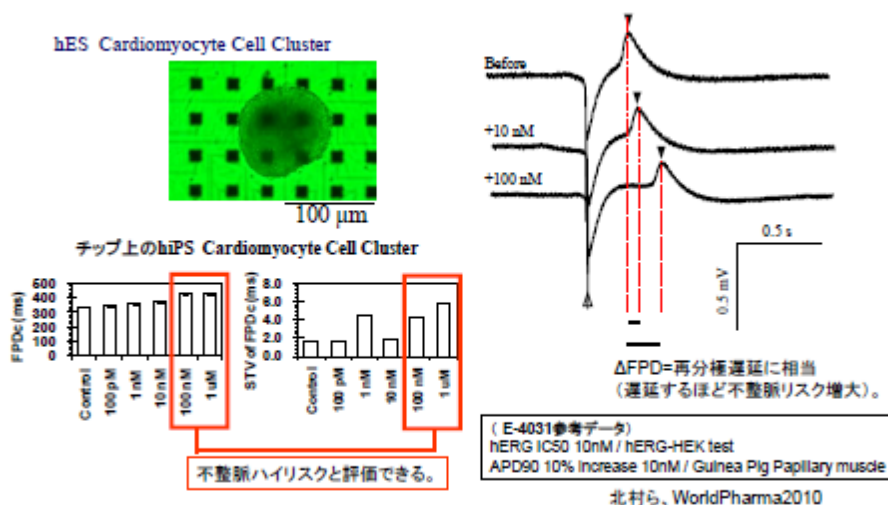


図6. オンチップシステムから計測される補正FPD(cFPD)値、STVによりE-4031 (IKrチャンネル阻害剤)のQT延長作用を計測できる可能性が示唆された。

FPD および STV などの指標により、催不整脈作用を予測する評価の可能性が示唆されたことから、より多くの薬剤を用いて評価精度を向上させる方向とともに、再現性のよい評価系とするため、標本の均一性の評価を行った(図7、8)。各ロットの違いもさることながら、同一ロット内の標本間の拍動数(BPM/60 = Hz)も異なること、その分布には偏在していることが判った。

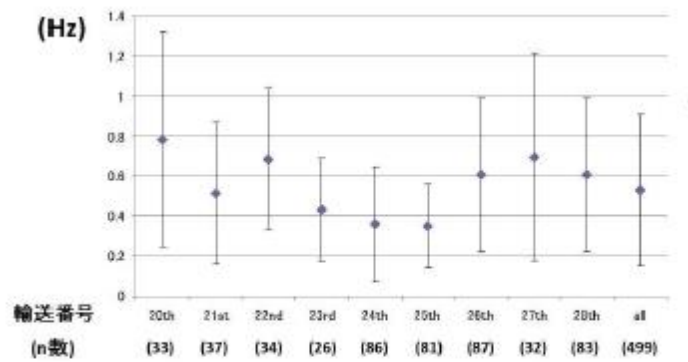


図7. ヒトES細胞由来心筋塊の(拍動数から見た)2010年度の細胞ロット差の検証

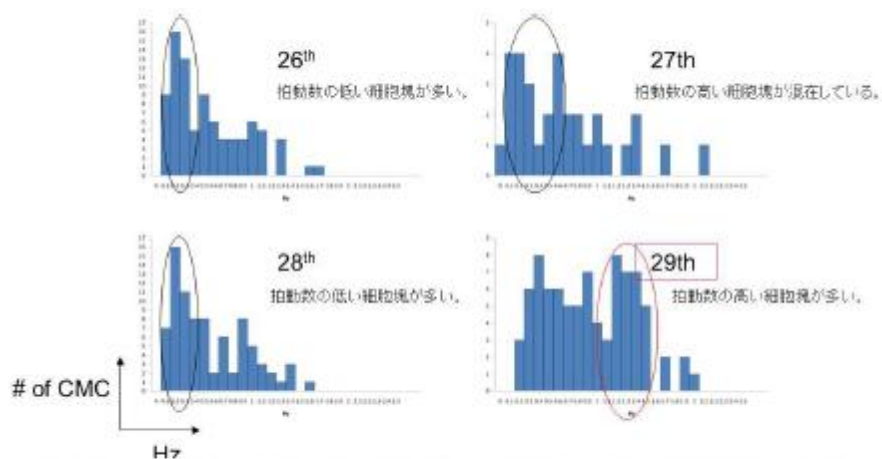
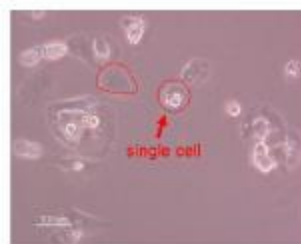


図8. 各細胞塊(CMC)サンプルの拍動数に関するロット内の拍動数の分布と各ロットの特徴

一方、電気生理学的考察を行ったところ、単一細胞(図9、10、11)および細胞塊のレベルにおいて(図12、13)、主要イオンチャネル(IKr)が機能していることは示唆される電流を検出できた。

使用細胞 : ヒトES由来心筋細胞(hES-CM)-single cell
 電極抵抗値 : 2.0 - 4.0 MΩ
 測定温度 : 35.0 - 38.0 °C
 測定方法 : ホールセルパッチクランプ(voltage-clamp)
 測定装置 : パッチクランプ用アンプEPC-8 (HEKA社)
 データ解析 : pClamp9 及び Microsoft Excel 2007
 検討薬剤 : IKr<E-4031(3×10^{-9} M, 1×10^{-7} M)>
 IKs<Chromanol293B(50μ M), E-4031(1×10^{-7} M)>
 外液遊流 : 有り



電極内液	標準細胞外液	High K ⁺ 細胞外液
130 mM KCl	137 mM NaCl	15 mM NaCl
1 mM MgCl ₂	4 mM KCl	140 mM KCl
5 mM EGTA	1.8 mM CaCl ₂	1.2 mM CaCl ₂
5 mM ATP	1 mM MgCl ₂	1 mM MgCl ₂
10 mM HEPES	10 mM Glucose	10 mM Glucose
(pH 7.2 with NaOH)	10 mM HEPES (pH 7.4)	10 mM HEPES (pH 7.4)

図9. ヒト幹細胞由来心筋の性状評価と比較(ボルテージクランプ法)

実験プロトコール

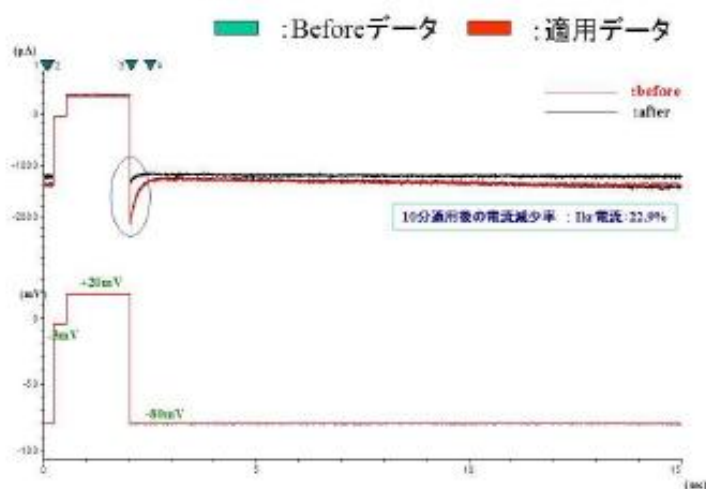
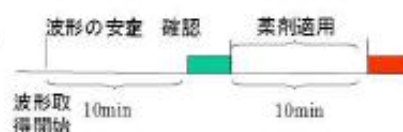


図10. E-4031 (IKr阻害剤)を用いたヒト幹細胞由来心筋の性状評価

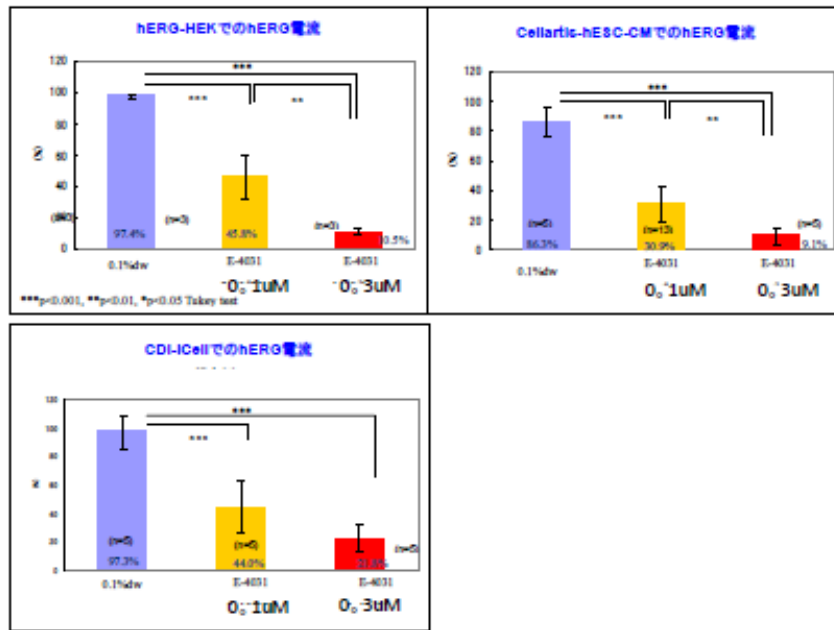
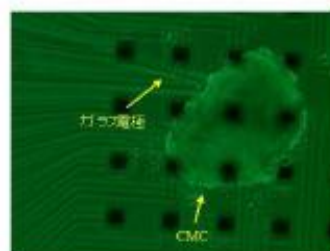


図11. E-4031 (IKr阻害剤)を用いた既存法, ヒトES細胞由来心筋, ヒトiPS細胞由来心筋の濃度依存的なIKr阻害評価

- 使用細胞: Cellartis-CMC
- 使用外液: 20 %FBS -培養液
- 使用電極: 40~65 MΩ filled with 3M KCl
- 検討薬剤: E-4031 (1 μM)



CMCにガラス電極が刺さっている様子

実験プロトコール

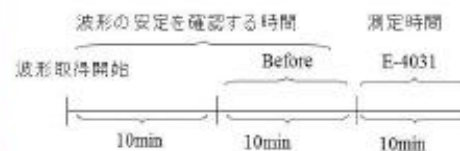


図12. ヒト幹細胞由来心筋塊(CMC)の活動電位測定プロトコール(カレントクランプ・微小電極報)

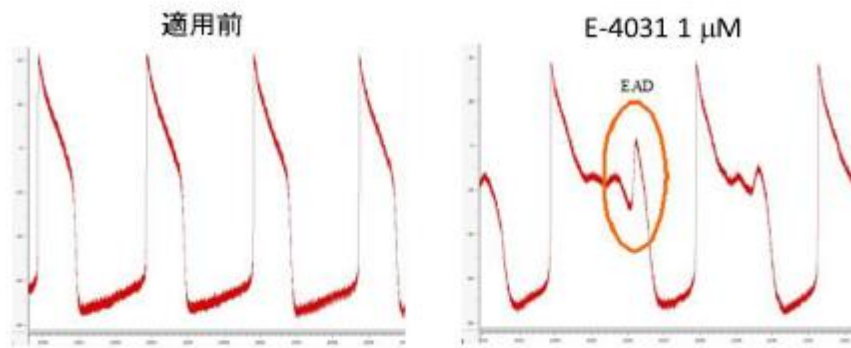


図13. ヒト幹細胞由来心筋塊(CMC)のE-4031に対する反応性の検討(Early after depolarization (EAD)出現波形例)

単一細胞レベルの検討においては、Ifも検出されることが示唆されている。一方、細胞塊を用いた微小電極（カレントクランプ）法による、ヒト幹細胞由来心筋細胞塊に関するE-4031に対する反応性については、E-4031 1 μ M においてEarly after depolarization (EAD)が発生した。乳頭筋APDにおいて、EADが発生しにくいのはモルモット、サル、ウサギの順で、動物種特異的の不応期が主な起因と考えられる。E-4031 1 μ M においては、モルモット乳頭筋ではAPD延長は認められるものの、EADは検出されないため、ヒト幹細胞由来心筋の感受性の高さが示唆される。ヒト臨床治験では、E-4031は10 μ Mで不整脈が誘発される。以上の結果から、幹細胞由来心筋について主要イオンチャネルに関する電気生理的特性は機能していることは示唆された。

次に、ICH S7B ガイドラインに記載され、現在最も汎用されている試験法（hERG 阻害試験）との比較を検討した（図14、15、16）。

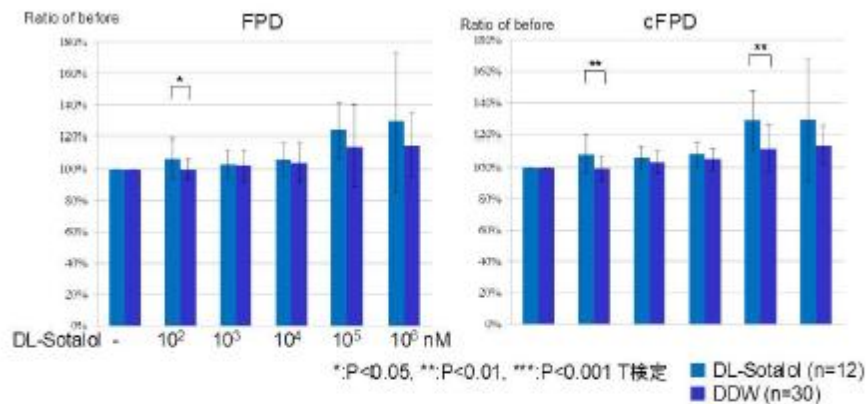


図14. hERG試験偽陰性薬剤(dl-Sotalol)による評価

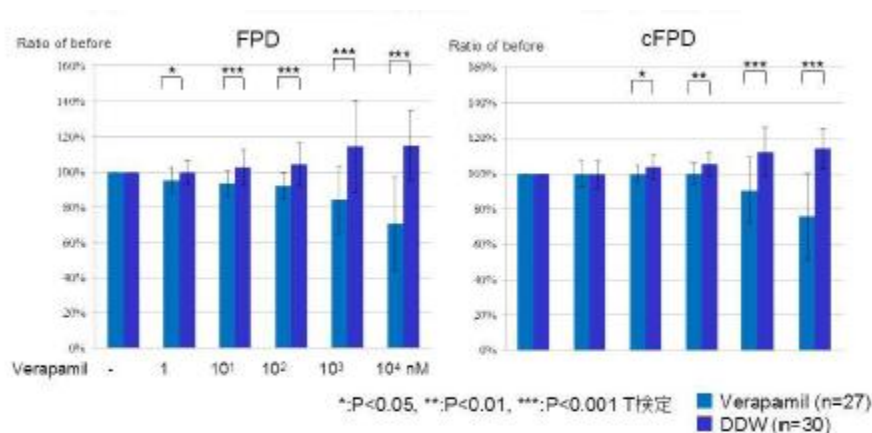


図15. hERG試験偽陽性薬剤(Verapamil)による評価

	本開発試験系	臨床データ	hERG-HEK
E-4031	+	+	+
DL-Sotalol	+	+	-
Verapamil	-	-	+

図16. 偽陰性・偽陽性薬剤に関するデータまとめ

これは催不整脈作用に最も関連するIKr電流阻害効果を評価する方法である。一方で、hERG試験は偽陽性が多いことが議論されていると共に、偽陰性を示す化合物も知られている。これらに該当する化合物をそれぞれ1種ずつ選択して、ヒト幹細胞由来心筋塊を用いた評価を実施した(図14、15、16)。上述した、dl-Sotalol、Verapamilについては、ヒト幹細胞由来心筋細胞塊は、ヒト臨床情報と一致した評価結果が得られた。

上述したケースを踏まえ、チャンネル阻害作用が異なる各種化合物に対する反応性についてデータの集積をさらに進めた(図17、18、19)。

	Vehicle	Dose (μ M)	0.001	0.01	0.1	0.3	1	3	10	30	100	Ref.
E-4031	DDW	APD ₉₀	-	+	++							①
		cFPD	-	-	-	-	++					
Quinidine	Ethanol	APD ₉₀					-		++		-	①
		cFPD			+		++		++		++	
Lidocaine	Ethanol	APD ₉₀					-		-		-	①
		cFPD			+		+		-		+	
Flecainide	Ethanol	APD ₉₀					-	-	+			①
		cFPD				-	+	++	+			
Diltiazem	DDW	APD ₉₀					-		-	-	-	②
		cFPD	-	-	-		-		-			
Verapamil	DDW	APD ₉₀					-		-		-	①
		cFPD	-	-	-		-		-			

-: no prolongation (less than 5% vs before (FPD) or vehicle (APD₉₀))
 + and ++: significant prolongation of 5-10% and more than 10%, respectively
 + and ++: no significant prolongation of 5-10% and more than 10%, respectively

図17. 既存法(モルモット乳頭筋APD試験)との比較による、ヒト幹細胞由来心筋細胞塊を用いた創薬スクリーニングシステムによる評価一覧(Sakakibara et al., SPS 2010)

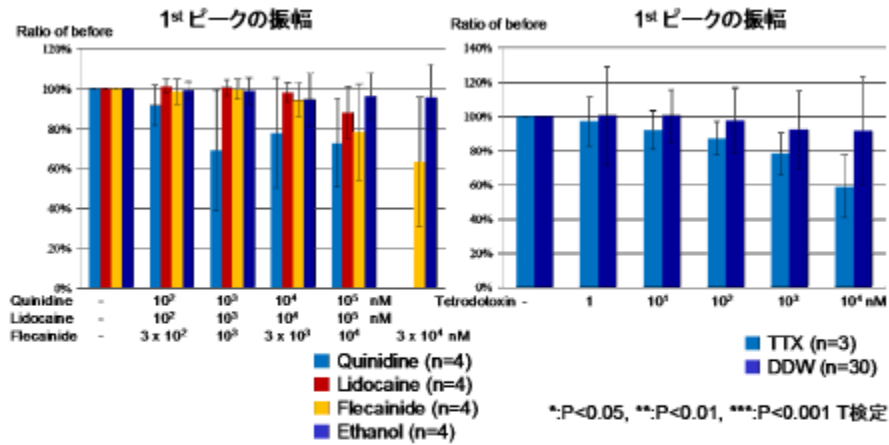


図18. ナトリウムチャンネル阻害剤(Quinidine, Lidocaine, Flecainide, Tetrodotoxin (TTX) の1st peakの振幅の変化による評価

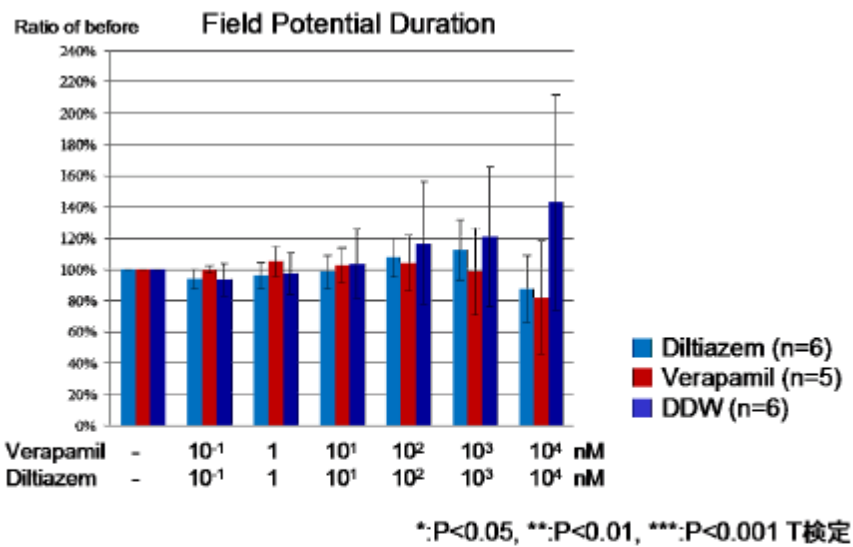


図19. カルシウムチャンネル阻害剤(Diltiazem, Verapamil)に関する、ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた FPDの変化による評価

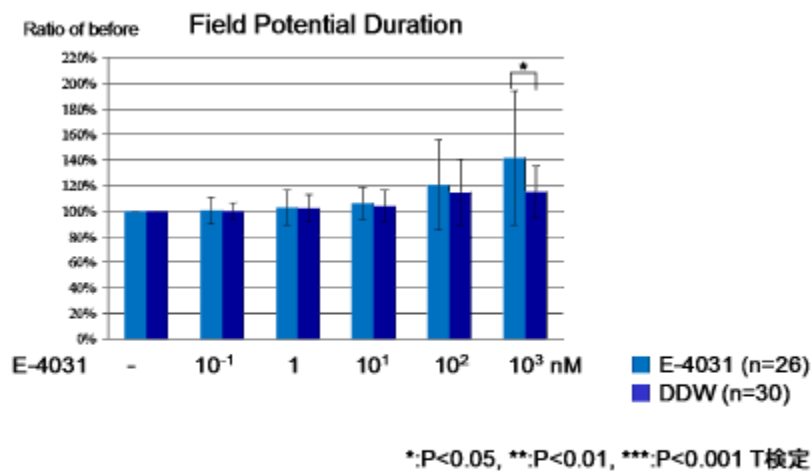


図20. カリウムチャンネル阻害剤(E-4031)に関する、ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いたFPDの変化による評価

FPD または1st peak の振幅といった、単一イオンチャンネル活性阻害の評価について、データの集積を行ったうえで、催不整脈作用というより高次の評価において、FPD とSTV の組み合わせの有効性を検討した。

この組み合わせについては、動物モデルとの相関も報告されている (図 2 1)。

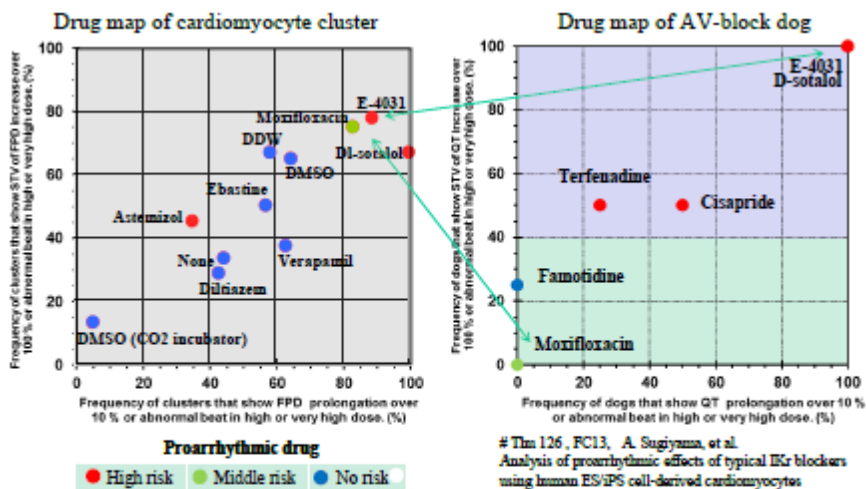


図21. FPDとSTVとの組み合わせによる、催不整脈作用予測に関する、創薬スクリーニングシステムと動物モデル(房室ブロックイヌ)との相関(Kitamura et al. WorldPharma 2010)

当初の検討では、この2つの指標を用いて既知薬剤のリスク評価をした場合、高リスクが低リスクとの混在が認められた (図 2 2)。

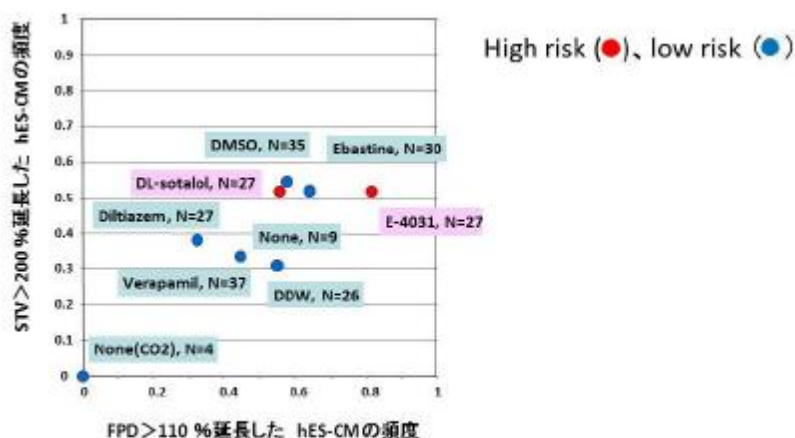


図22. FPDとSTVとの組み合わせによる創薬スクリーニングシステムを用いた催不整脈作用予測評価(初期開発段階)

温度制御に関する実験条件の改善などにより、データ精度が向上することが示唆されたことから、既知薬剤を用いたリスク評価が分類された条件を用いて、陽性/陰性対照剤の分類が出来た状態において、催不整脈作用が発生しドロップアウトした Compound X を用いた検討を行い、不整脈高リスクとして分類された (図 2 3)。

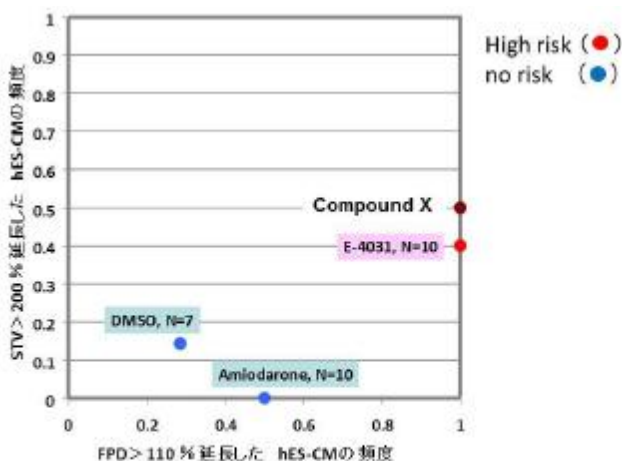


図23. FPDとSTVとの組み合わせによる創薬スクリーニングシステムを用いた催不整脈作用予測評価(改善後評価)

健常人由来の上市されているヒト幹細胞由来心筋を用い、初期段階として細胞塊を用いた検討を行ってきた。既知薬剤を用いた検討を重ねるなかで、催不整脈作用が知られている化合物についても同様な傾向を検出することができた。さらに既存法 (hERG試験) では捉えきれない特性を有する催不整脈作用を有する化合物についても捉えることができた。全てを網羅した段階に至っていないとの認識から評価する化合物数を増やすことが重要と考えられる。一方、標本間の品質の均一性を担保するに至っていない状況で、被験剤を増やすことは難しい判断と思われた。これを回避する方法として、プロジェクト期間中にCisaprideへの応答性による選抜を行ったうえで評価を実施する方法が報告された。この方法では標本の品質の均一性を担保する優れた方法と考えられたが、一方で、評価可能な標本を確保するためのコストが必要なことが課題と思われる。細胞塊を用いた評価法が確立したうえで、慶応大からヒトiPS由来心筋細胞塊の評価も実施した。

細胞塊が持つ課題を解決でき、且つ簡便な評価法になることが期待される方法として、高密度培養 (2次元細胞シート状) が挙げられる (図 2 4)。標本あたり波形シグナルが取得できる電極数は、細胞塊の場合、64電極中5-10電極に止まる。これは細胞塊の接地面が計測基板と細胞塊が設置する面積が狭いためである。

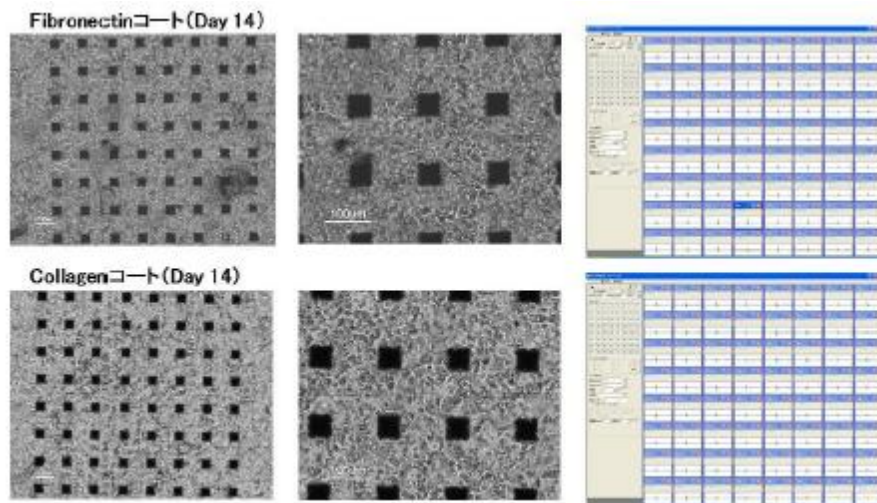


図24. FibronectinコートおよびCollagenコート処理して記録した高密度培養法(2D細胞シート)による細胞外電位波形記録

一方高密度培養の場合は、64電極全てに細胞が覆われるため、波形シグナルが計測基板64電極中ほぼ全てからシグナルが取得できることが見込まれる。播種後、約3日目から波形取得可能で28日程度までは十分測定可能であった。

また、得られる波形については、2nd wave (カリウムチャネル由来電位が主要構成要素)の振幅が高密度培養のほうが小さいことや、2nd ピーク後に特徴的な波形を有するパターンが頻発することなどの特徴はあったが(図25、26)、細胞塊と比較しても大きな変化はない印象であった(図25、26)。

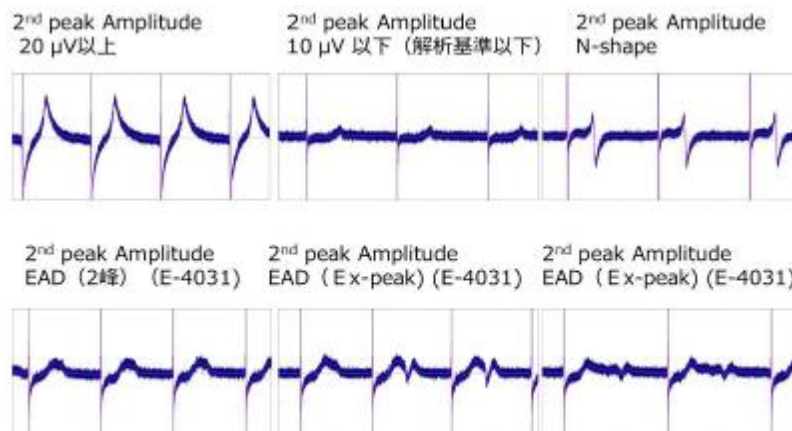


図25. 高密度培養法から得られた細胞外電位波形パターン(1): 拍動毎に発生する波形パターンについて

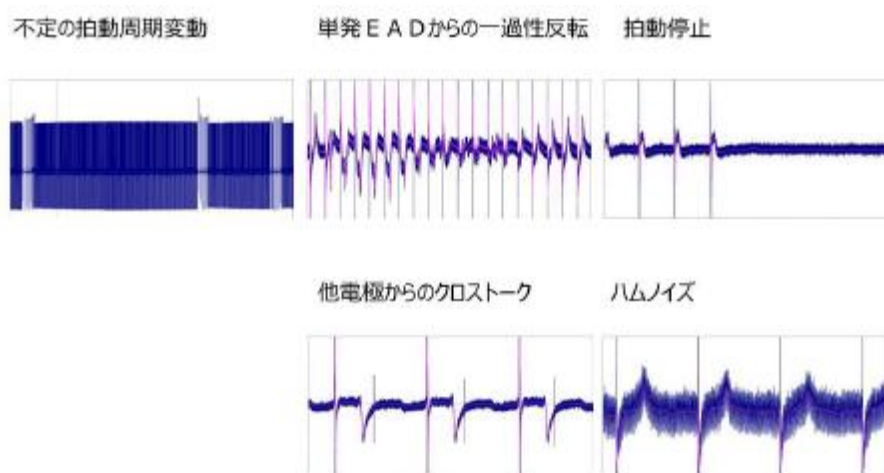


図26. 高密度培養法から得られた細胞外電位波形パターン(2): 10分間測定間に生じる変動(上記が発生した標本からはデータ採用しない)

高密度培養 (2D シート) は、細胞塊と異なり、実験者による細胞調製が必要となり、実験間誤差が生じる起因と考えられたため、細胞調製法の再現性の確認を行った (図 27)。

#Batch	Thawed Cells ($\times 10^6$) (COA)	Viability (COA)	Thawed cells ($\times 10^6$)	Viability	Collected cells ($\times 10^6$)	Collected cells	Plating Efficiency
1022246	4.85	87%	5.13	92.68%	2.16	92.31%	42.11%
1089404	4.61	75%	4.12	87.87%	1.70	88.33%	41.26%
1089404	4.61	75%	4.50	86.97%	1.52	85.65%	33.78%
1089404	4.61	75%	4.73	88.25%	1.28	82.61%	27.06%
1089404	4.61	75%	4.41	84.87%	1.27	85.79%	28.80%
1089404	4.61	75%	4.48	86.21%	1.63	86.11%	36.38%
1089404	4.61	75%	4.43	83.91%	1.28	90.91%	28.89%
1089404	4.61	75%	4.44	83.52%	1.22	85.43%	27.48%
1089404	4.61	75%	5.49	88.62%	1.26	88.56%	22.95%
1089404	4.61	75%	4.81	87.94%	1.40	91.21%	29.11%
1202320	4.41	76%	5.52	88.70%	2.68	90.16%	48.55%
1778267	4.36	72%	7.05	89.35%	2.18	94.47%	30.92%
1778267	4.36	72%	6.03	87.58%	2.46	94.55%	40.80%
1778267	4.36	72%	5.75	90.12%	2.15	91.67%	37.39%
1932525	5.06	80%	5.54	84.63%	2.26	93.77%	40.79%

図27. 高密度培養法の再現性評価。各細胞バイアルに添付文書(COA)に記載している細胞数、生存率(灰色)に対しての実測値(赤色)、前培養から計測プローブに播種した際の細胞生存率をPlating efficiencyとしている。40%前後であれば、1バイアルあたり60ウェル分程度を標本数を確保できる試算。

	1	2	3	4	5
例数 n	30	16	21	27	12
BPM	47.5±5.8	50.8±6.4	46.5±4.8	44.1±4.1	40.3±2.0
STV of ISI (msec)	3.8±2.0	3.1±1.6	5.0±7.9	2.7±2.4	4.2±2.9
FPD (msec)	435.8 ±51.9	417.9 ±52.0	417.2 ±37.9	429.1 ±57.4	460.6 ±30.9
STV (msec)	1.8±0.8	1.9±0.8	1.5±0.6	1.5±0.7	1.2±0.4
FPDcF (msec)	400.7 ±32.0	393.3 ±37.7	382.0 ±25.4	385.5 ±43.3	403.0 ±24.4
STVcF (msec)	1.8±0.8	1.9±0.7	1.6±0.6	1.4±0.7	1.1±0.3

図28. 細胞ロットによる高密度培養法から得られる各指標の纏め

また、後述する実験プロトコールに従った、細胞の各ロット毎に評価指標を纏めた（図28）。ロット毎に各指標は異なるものの、10%以上の乖離を示すことはなく、一定範囲内においてロット毎の違いの大きさは認められない印象を受けた（図28）。

測定を行う際の試験プロトコールは、細胞乖離や前培養期間を最適化したプロトコールを準備して、各評価を行った（図29）。測定時に安定した波形が得られるためには、各細胞間の形態、生理条件を極力平準化することが肝要であり、そのために測定基板（電極）上に播種する前に、一定期間の前培養を行う。前培養および基板上の培養期間は1週間とし、共通の標本作成プロトコールを作成して、評価を行った。

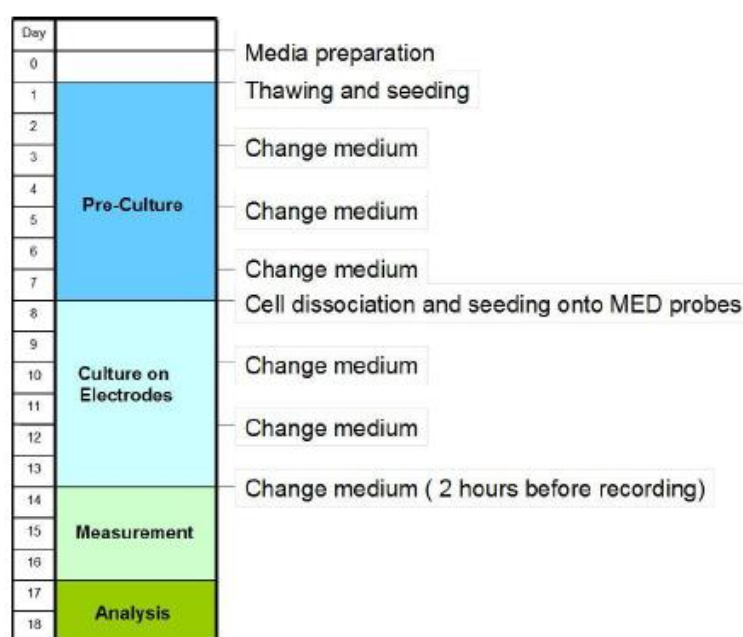


図29. 高密度培養(2D細胞シート)を用いた際の試験プロトコール

抗不整脈化合物に関するWilliamaの分類に沿って、各クラスの化合物に関する細胞外電位田測定波形の変化を記録した（図30）。カリウムチャネル阻害（IKr）の場合、2ndピークが出現するまでの潜時（fpd）が延長することが判明した。化合物によっては、2ndピークの波形や秦副が変化する場合もある。カルシウム阻害剤については、逆に、2ndピークが出現するまでの潜時が短縮するため、FPD

は単出する。ナトリウムチャンネル阻害作用は、1stピークの変幅の変化が反映されることが実験的に判明した。それぞれの現象は、活動電位との対比により妥当なものと考えられた。

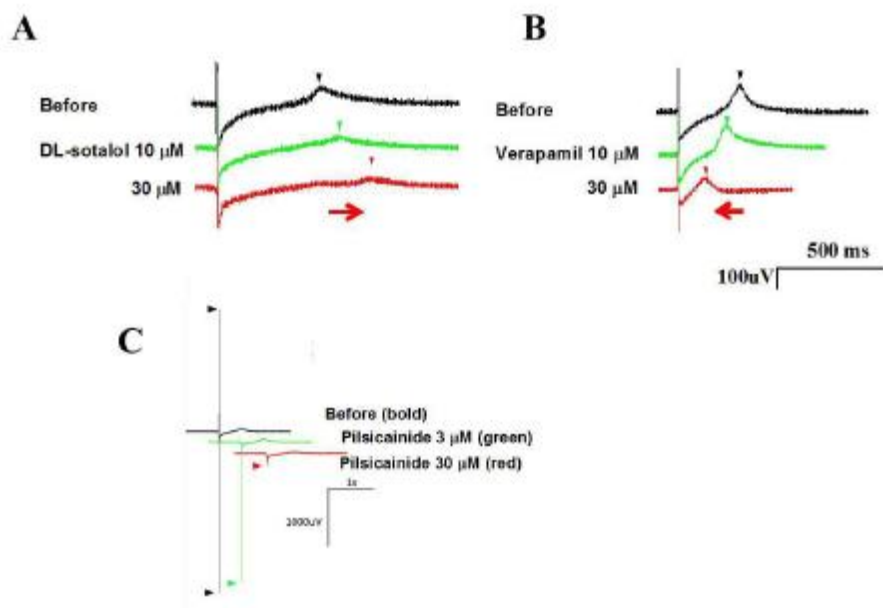


図30. IKr阻害作用を有する化合物 (DL-sotalolol) や、カルシウムチャンネル阻害剤 (Verapamil) や、ナトリウムチャンネル阻害剤 (Pilsicainide) を用いた場合の細胞外電位波形の変化パターン。

(d) 「バリデーション体制構築」

各イオンチャネル阻害効果の波形への影響を把握したうえで、FPD、STVなどの指標を基に、各化合物の評価を行った。各クラスの化合物や臨床開発において催不整脈作用が知られているものを加え、合計で36種の化合物に関する評価を行った(図31~35)。

分類	薬剤名	用量 (μM)					分類	薬剤名	用量 (μM)				
		用量1	用量2	用量3	用量4	用量5			用量1	用量2	用量3	用量4	用量5
Ia	Disopyramide	0.1	0.3	1	3	10	IV	Verapamil	0.01	0.03	0.1	0.3	1
Ia	Procainamide	0.01	0.1	1	10	100	IV	Diltiazem	0.001	0.01	0.1	1	10
Ia	Quinidine	0.1	0.3	1	3	10	IV	Nifedipine	0.001	0.01	0.1	1	10
Ia	Cibenzoline	0.001	0.01	0.1	1	10	IV	Nitrendipine	0.001	0.01	0.1	1	10
Ib	Lidocaine	0.01	0.1	1	10	100	TdP-	Atropine	0.01	0.1	1	10	100
Ib	Mexiletine	0.01	0.1	1	10	100	TdP-	ATP	0.1	1	10	100	1000
Ib	Aprindine	0.001	0.01	0.1	1	10	強心薬	Digoxin	0.0003	0.003	0.03	0.3	3
Ib	Phenytoin	0.001	0.01	0.1	1	10	TdP+	Droperidol	0.001	0.01	0.1	1	10
Ic	Propafenone	0.01	0.1	1	10	100	TdP+	Thioridazine	0.003	0.03	0.3	3	30
Ic	Pilsicainide	0.3	1	3	10	30	TdP+	Paliperidone	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
Ic	Flecainide	0.003	0.03	0.3	3	30	TdP+	Moxifloxacin	0.01	0.1	1	10	100
II	Nadolol	0.01	0.1	1	10	100	TdP+	Sparfloxacin	0.02	0.2	2	20	200
II	Propranolol	0.01	0.1	1	10	100	TdP+	Erythromycin	0.001	0.01	0.1	1	10
TdP+	E-4031	0.001	0.003	0.01	0.03	0.1	TdP-	Cilostazol	0.001	0.01	0.1	1	10
III	Sotalol	0.1	1	3	10	100	TdP-	Dizapam	0.001	0.01	0.1	1	10
III	Nifekalant	0.03	0.1	0.3	1	3	TdP-	Chromanol293B	0.3	1	3	10	30
III	Dofetilide	3*10 ⁻⁷	3*10 ⁻⁶	3*10 ⁻⁵	3*10 ⁻⁴	3*10 ⁻³	TdP-	Famotidine	0.1	1	3	10	100
IV	Bepridil	0.0005	0.005	0.05	0.5	5	Na ₂ S ₂ O ₈	Ranolazine	0.75	2.5	7.5	25	75

■ FPDcF延長 (20%以上) ■ STVcF増大 (200%以上)
■ FPDcF短縮 (20%以上) ■ EAD発生 ■ 拍動停止

ヒト臨床血中濃度付近でのFPDとSTVのプロット図

図31. 高密度培養(2D細胞シート)ヒトiPS由来心筋を用いる創薬スクリーニングシステムの評価化合物(36種)一覧

ナトリウムチャネル阻害を動作原理とする抗不整脈に関するFPDの延長に関して、ヒト臨床血中濃度と比較しながら検証した(図32)。通常、ナトリウムチャネル阻害効果は、1st peakの振幅の変化、または心電図におけるQRSに相当する潜時の延長が考えられ、QT延長に相当するFPD延長にナトリウムチャネル阻害の影響が反映するかは不明確であった。今回の検証からは、高濃度において上昇が見いだされた。一般的に、ピュアなナトリウムチャネル阻害剤とされるPildicanideについては殆どFPD延長が認められなかったが、マルチイオンチャネル阻害効果を有するQuinidineやDisopylamideに関するFPD延長は、ナトリウムチャネル阻害効果ではなく、カリウムチャネル阻害効果と予想することが出来る。

特徴的な効果としては、拍動停止の化合物が見いだされたことが挙げられた。これもまた、マルチチャネル阻害効果と考えられた。

クラスIIに分類されるβ遮断薬については、その主薬効としてFPD延長作用は発生しないと想定していた。培養液中に特殊なホルモン(ノルアドレナリンなど)が添加されるなど特殊な条件下では状況は異なることも想定されるが、今回の検証結果からは想定通りの結果を得ることができた(図33)。

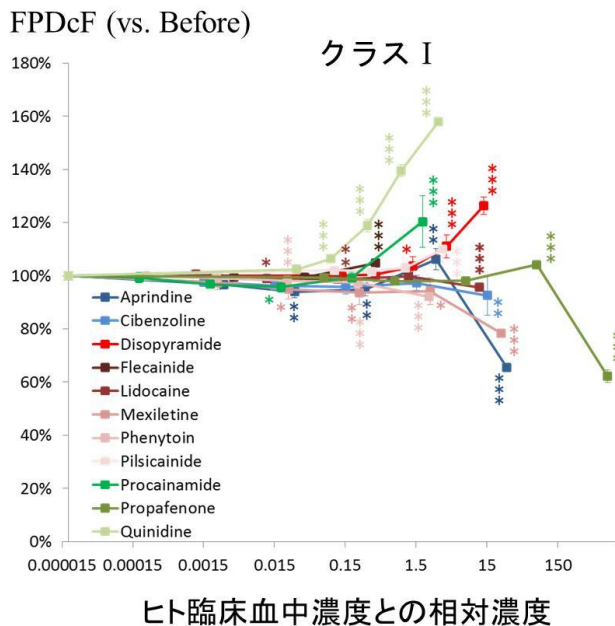


図 3 2. クラス I 化合物の 2D 心筋シートでの FPD 評価

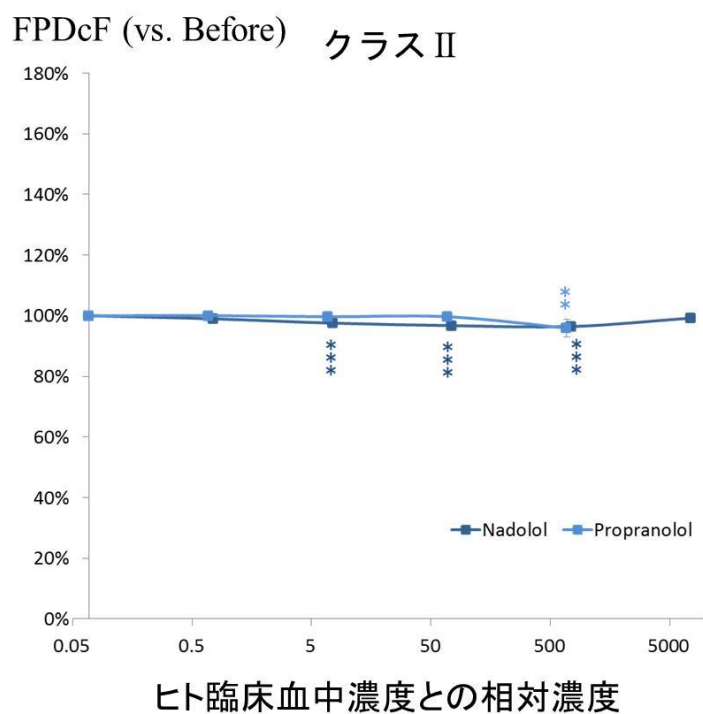


図 3 3. クラス II 化合物の 2D 心筋シートでの FPD 評価

クラス III の再分極遅延を動作原理とする化合物群においては、活動電位延長や QT 延長に相当する FPD 延長効果を想定した。既存の GLP 試験種である hERG 試験偽陰性薬剤である dl-Sotalol についても、FPD 延長を捉えていた。これは、hERG 受容体全てのサブユニットが iPS 細胞由来心筋に発現していることの証左と考えられた。また、検討した 3 剤全てにおいて、ヒト臨床血中濃度と同程度の薬剤濃度の暴露から、FPD 延長が検出された (図 34)。

既存試験 (hERG) については、測定時の培養液組成にタンパク質成分がなく、ヒト臨床血中濃度への外挿から、化合物のアルブミン等のタンパク質結合率の考慮を必要とされている。本研究ではヒ

ト iPS 心筋細胞の培養液（アルブミンなどヒトタンパク質含有）を用いて検討しているため、ヒト血中のタンパク質成分濃度との比較が必要と考えられる。しかしながら、ヒト血中タンパク質濃度からの大幅な乖離は想定しにくく、今回得られた結果は、ヒトでの効果を直接的に予測できる可能性が示唆されたものと考えられる。

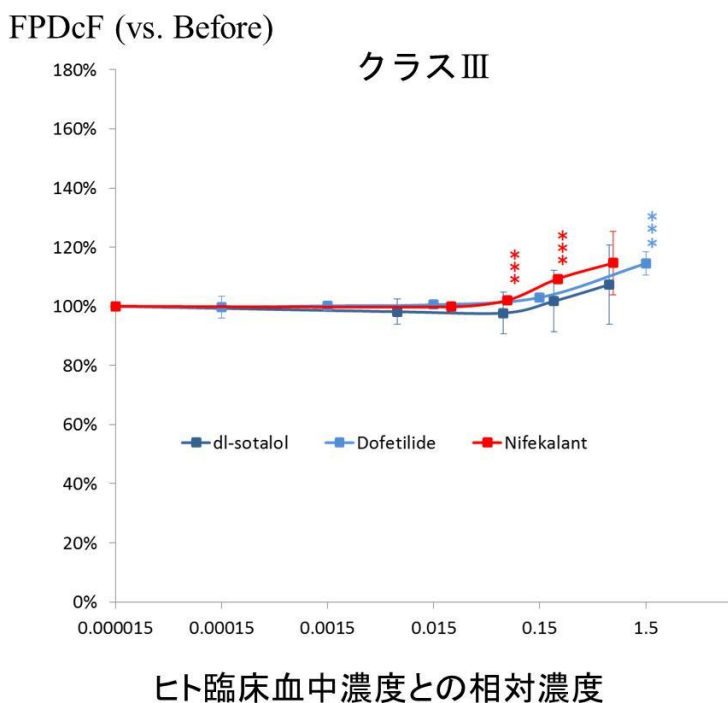


図 3 4. クラスIII化合物の2D心筋シートでの FPD 評価

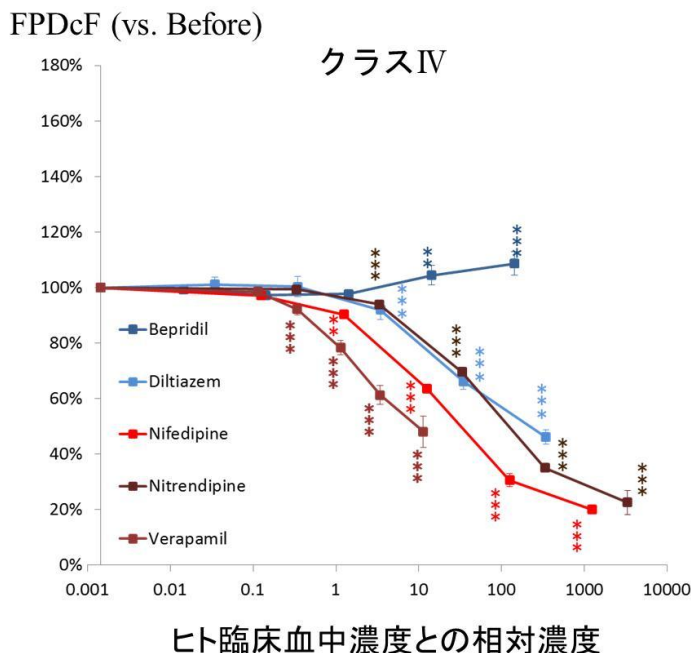


図 3 5. クラスIV化合物の2D心筋シートでの FPD 評価

カルシウムチャネル阻害作用を有するクラス IV に分類される化合物群については、FPD 短縮を想定した。Verapamil については、他チャネル阻害活性も有するため、ヒト臨床において不整脈作用がリスク評価がし難い化合物であるが、本検討においては明瞭な FPD 短縮が認められ、低リスク化合

物として解釈できる結果となった（図 35）。現在上市されているヒト iPS 由来心筋にはほぼ共通した特徴として、カルシウムチャネル阻害活性を有する化合物を暴露した場合、拍動数も上昇する傾向が認められた。その作用機序は現在まで不明であるが、強制刺激下においてコントロールすることが可能であり、その場合でも自律拍動下での計測と同様に FPD 短縮が認められている。

以上の検討結果から

- クラスIaの薬剤におけるFPD延長作用が認められた。
- クラスIIIの薬剤におけるFPD延長作用が認められた。
- クラスVIの薬剤におけるFPD短縮作用が認められた。
- ヒト臨床濃度付近のFPDおよびSTVの挙動は、再分極遅延が起因となる催不整脈リスクのある薬剤において、それぞれ延長・増大する傾向が認められた（図 3 6）。
- EAD発生が確認された薬剤では、STVの増大が大きくなる傾向が認められた。

について考察することができた。

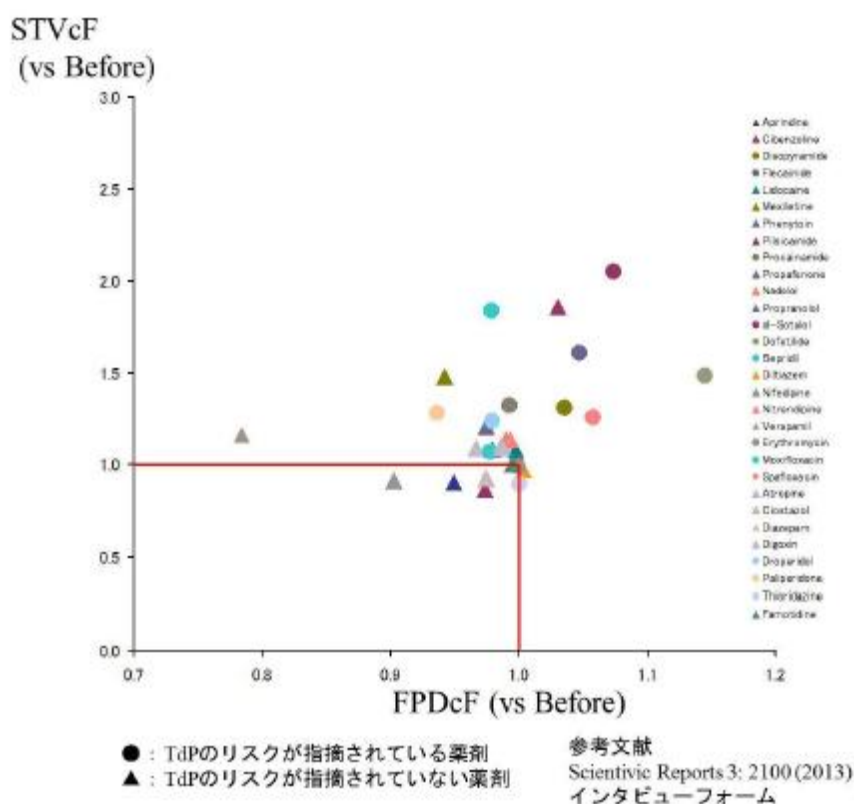
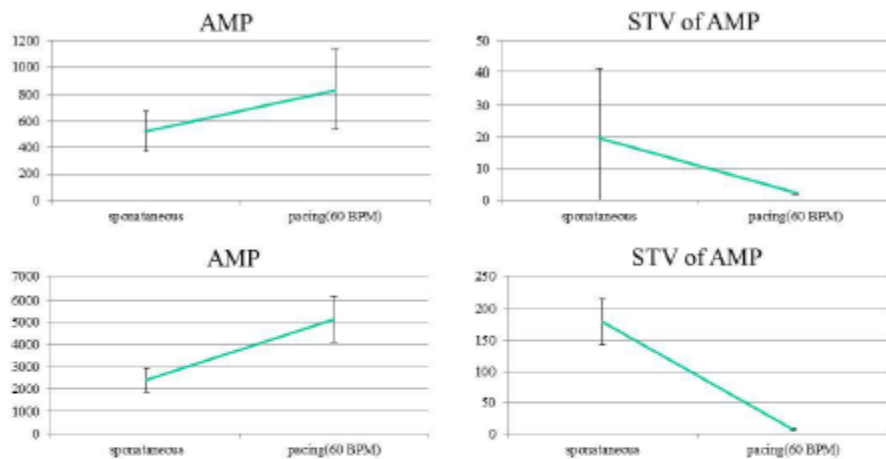


図36. 高密度培養(2D細胞シート)したヒトiPS由来心筋に関する創薬スクリーニングシステムを用いて評価した化合物に関するFPDとSTVとの相関

自律拍動下での評価を踏まえ、強制刺激下での測定・評価を行った。強制刺激下での測定については、データの品質の向上（拍動数の安定、1st peakの振幅の安定）が見込める他、創薬利用において最も価値がある心室型心筋は本来自動拍動能をもたないことから、今後の細胞製造技術の改善により、必須な技術になることが想定されるため、本研究において試験系確立を行った。

強制刺激を行ったところ、刺激強度にも依存するが、概して 1st peak の振幅は大きくなった（図 3 7 左）。さらに、隣接 1st peak の分散度は低くなり（図 3 7 右）、拍動の一定化による効果が実証された。



1st ピークの振幅は大きくなり、ばらつきが減少した

図37. 強制刺激下での測定による効果①: 1ST peakの振幅の変化と安定性

10分間計測の全体を記録した場合、1st peakの振幅の安定性や、図の濃淡による拍動数の安定性を一瞥することができる(図38)。その場合、自律拍動下における1st peakおよび拍動の規則性が不十分で、生体の状況を把握しているとは言い難い(図38)。一方、強制刺激した計測においては改善が認められていることは明白である。ナトリウムチャンネル阻害剤であるDisopyramideによるナトリウムチャンネル阻害効果も認められる(図38)。

図38において、pacingによる波形の安定化に数分かかる様子が認められるが、現状当社仕様においては解消されている。

強制刺激を用いることで、拍動数を一定にすることができるため、補正式を用いずに評価できる可能性を検証した。細胞外電位測定に一般的に用いられている補正式(Bazett、Fridericia)は心電図解析に至適化されている数式なため、細胞外電位計測に適合するかについては検証に至っていない。従って、強制刺激による結果は補正式の考慮を最小限に省くことができると考えられる(図39-42)

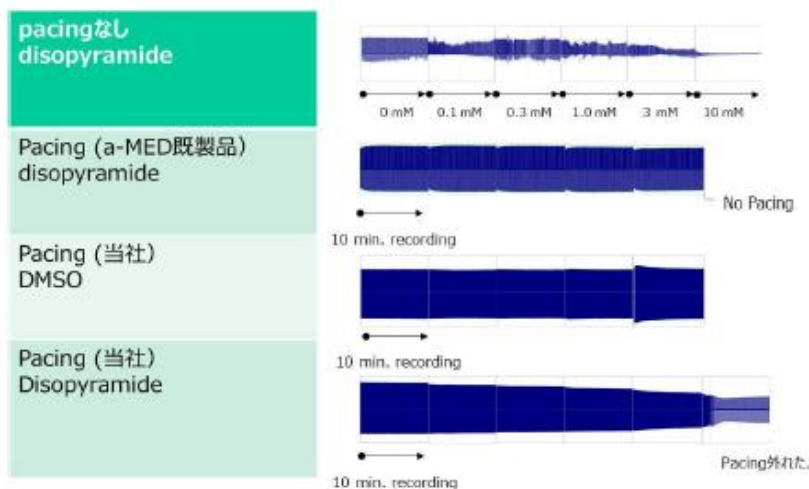


図38. 強制刺激下での測定による効果②: 10分間計測に関する1ST peakの振幅の変化と安定性及びDisopyramideの効果

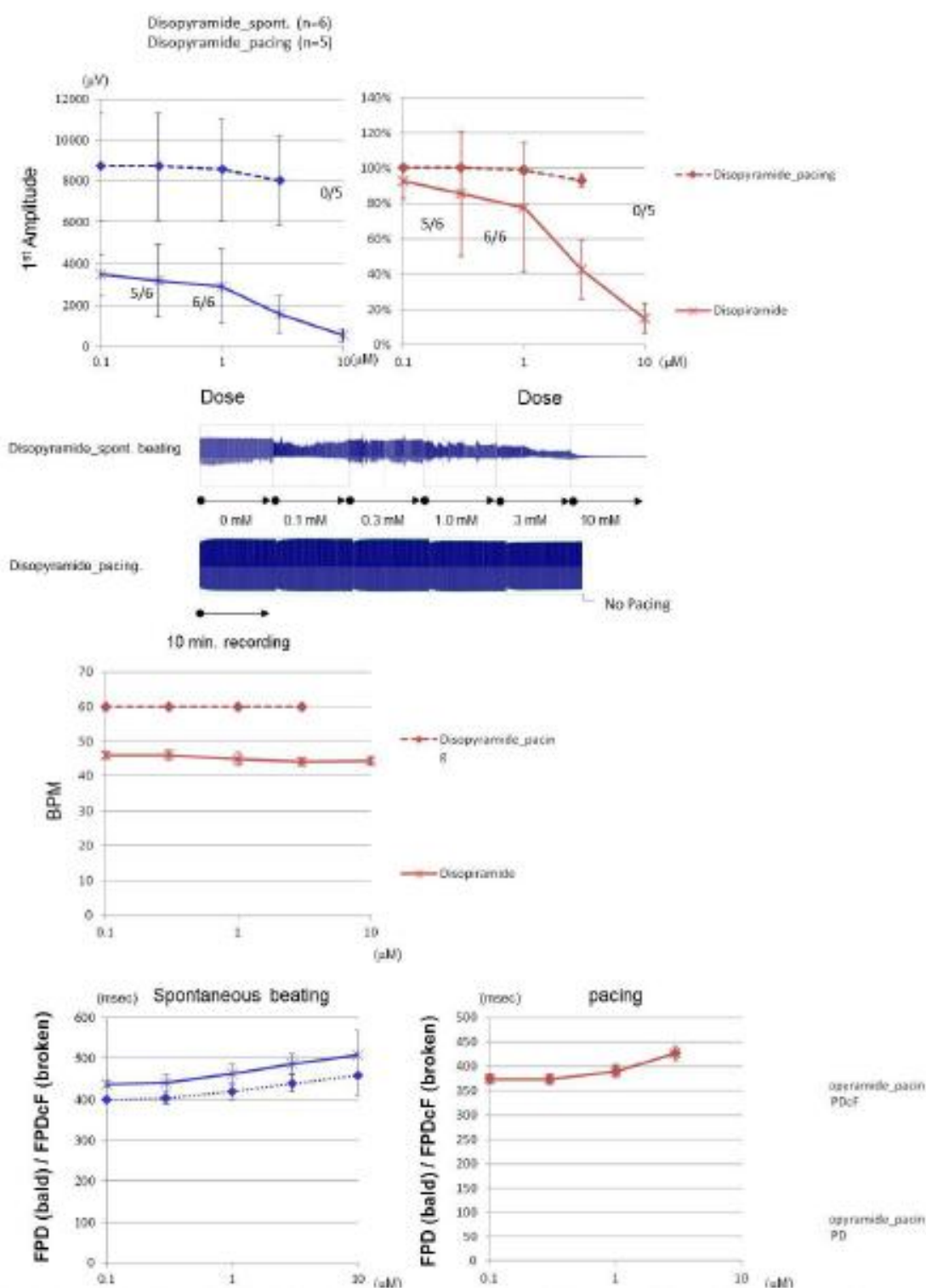


図39. 強制刺激下での測定による効果③: Disopyramideの効果に関する1st peakの振幅およびFPDへの補正の有無に関する比較

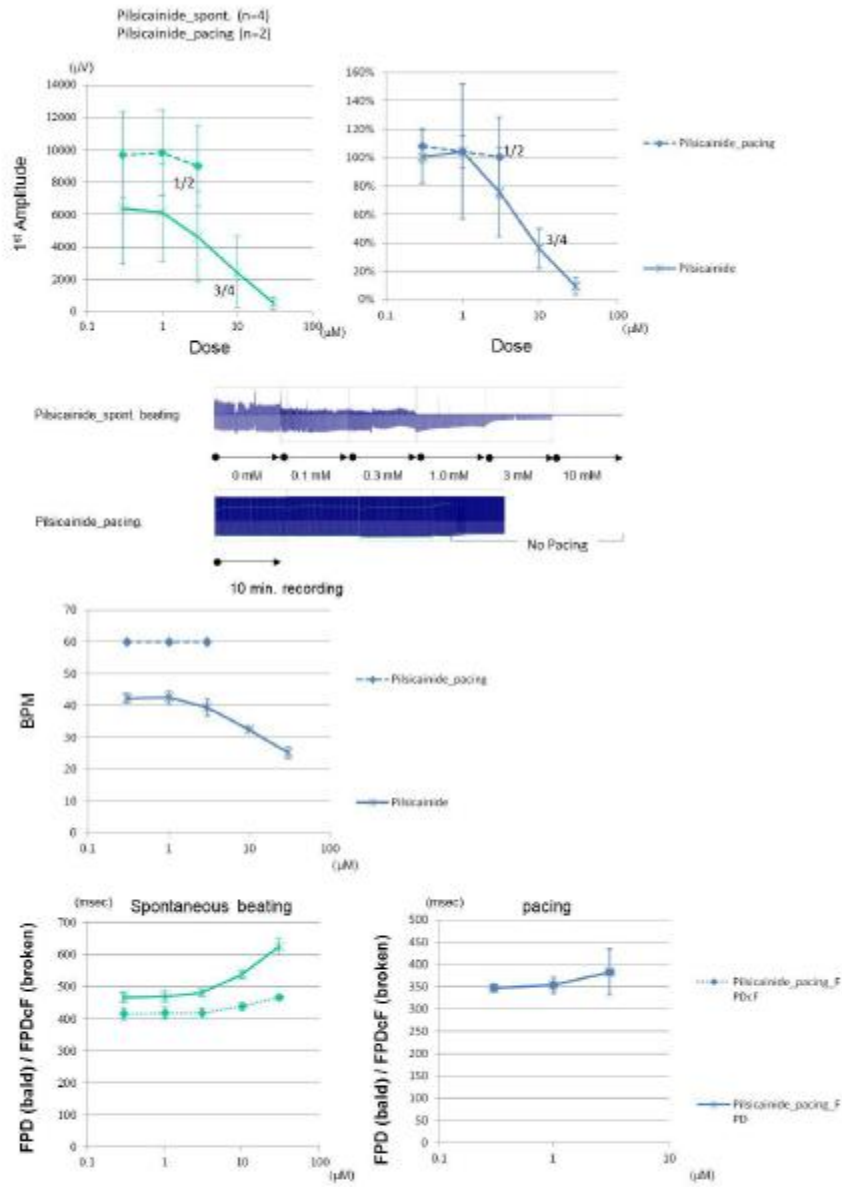


図40. 強制刺激下での測定による効果③: Pilsicainide の効果に関する1st peak の振幅およびFPDへの補正の有無に関する比較

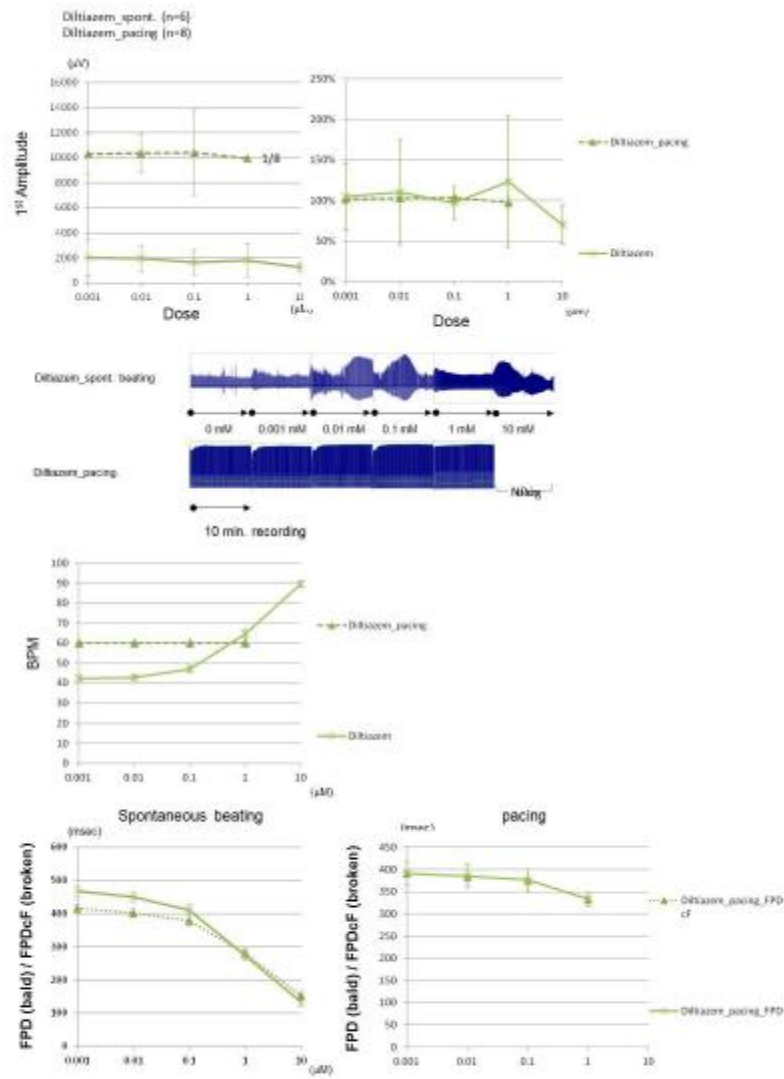


図41. 強制刺激下での測定による効果③: Diltiazem の効果に関する1st peak の振幅およびFPDへの補正の有無に関する比較

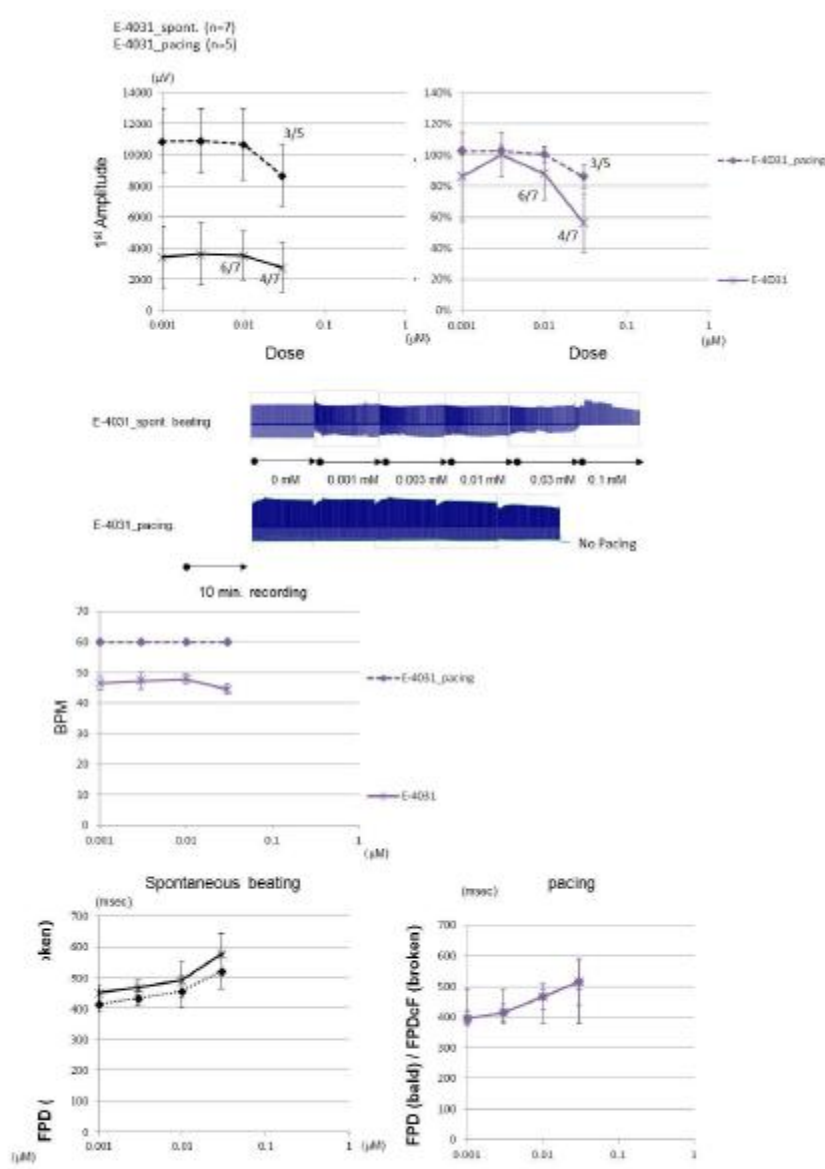


図42. 強制刺激下での測定による効果③: E-4031 の効果に関する1st peakの振幅およびFPDへの補正の有無に関する比較

以上から、強制刺激下での計測に関する有効性が実証されたことから、各クラスの代表的薬剤11化合物を用いたデータベースの構築を試みた(図43)。

自律拍動下での計測との比較も合わせて行った。催不整脈予測の指標となる、early after depolarization (EAD) の出現については、自律と比較してpacingのほうが出現濃度は高めと思われた。これは拍動間隔の短縮に対応した現象と思われる(図43)。

また各化合物の濃度依存的な BPM、FPD、STV、1st peak の振幅(AMP)をプロットした。培養液を無機塩培地に変更すると拍動数が遅延するため、pacing条件下での計測が延長する効果もみられる一方、ヒト血中の再現性については今後の課題と考えられた(図44-46)。

化合物	濃度 (μM)		EAD濃度(μM)		
	自律	ペーシング	自律	ペーシング	
	培地	外液	培地	外液	
Disopyramide	0.1 – 10		10	10	10
Quinidine	0.1 – 10		n.d.	3	3
E-4031	0.001 - 0.1		0.01	0.03	0.01
Moxifloxacin	0.1 – 100		-	-	10
Cisapride	n.d.	0.003 - 0.3	n.d.	0.1	0.3
Astemizole	n.d.	0.001 – 10	n.d.	0.3	1
Terfenadine	n.d.	0.01 – 10	n.d.	-	n.d.
Chromanol 293B	0.3 – 30		-	-	-
Verapamil	0.01 – 1		-	-	-
Ranolazine	0.75 - 75	0.1 – 1000	25	100	100
Isoproterenol	n.d.	0.003 - 0.3	n.d.	-	-
DMSO (%)	10 ⁻⁶ - 0.1	0.01 – 1	-	-	-
N =	5 – 14	2 - 5			

図43. 強制刺激下での細胞外電位計測結果(11剤+媒体)

自律拍動/培地

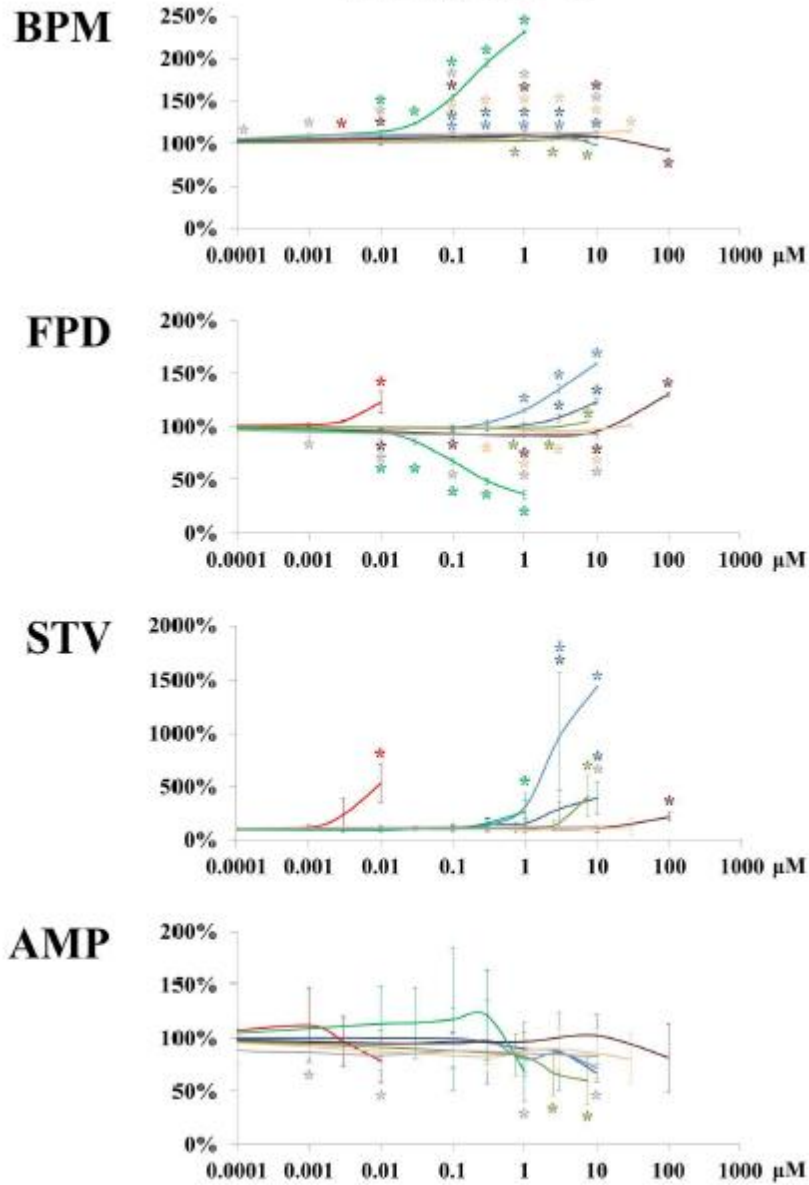


図44. 自律刺激下での濃度依存的な細胞外電位計測結果
(8剤+媒体、測定は細胞培養液を使用)

ペーシング/培地

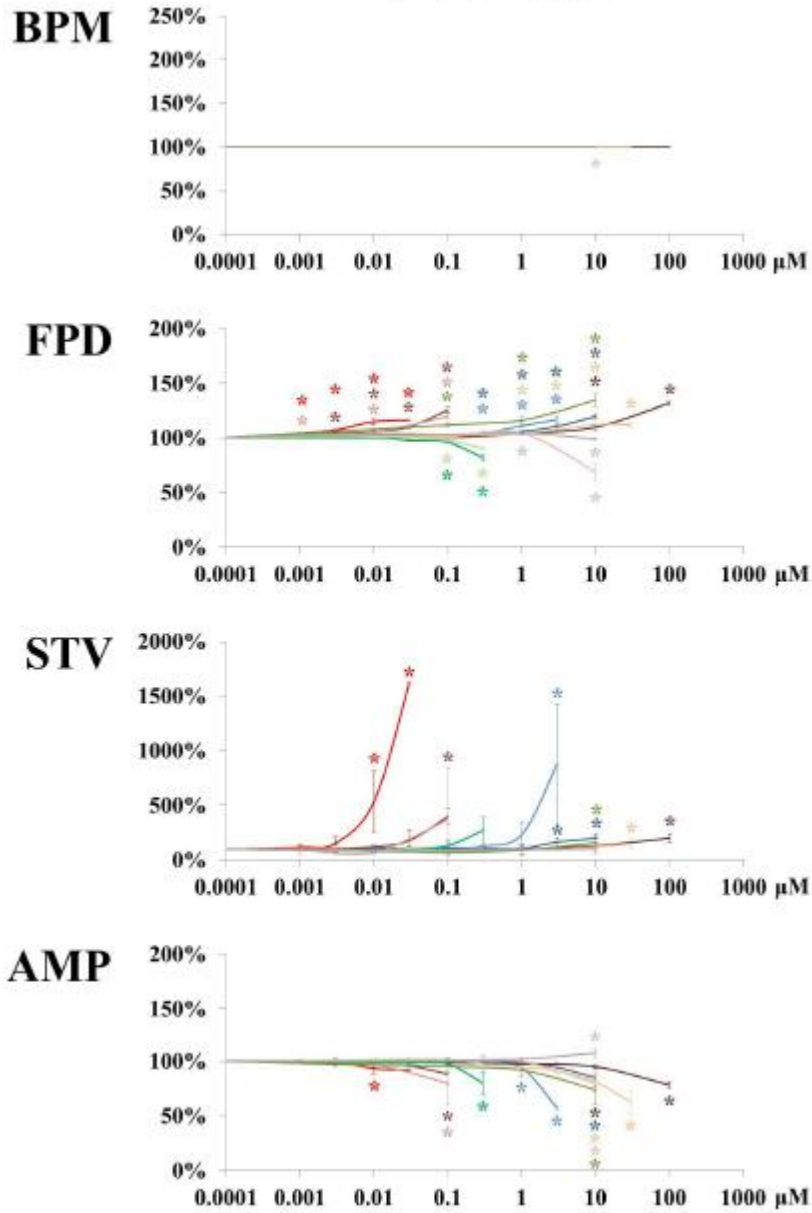


図45. 自律刺激下での濃度依存的な細胞外電位計測結果
(11剤+媒体、測定は細胞培養液を使用)

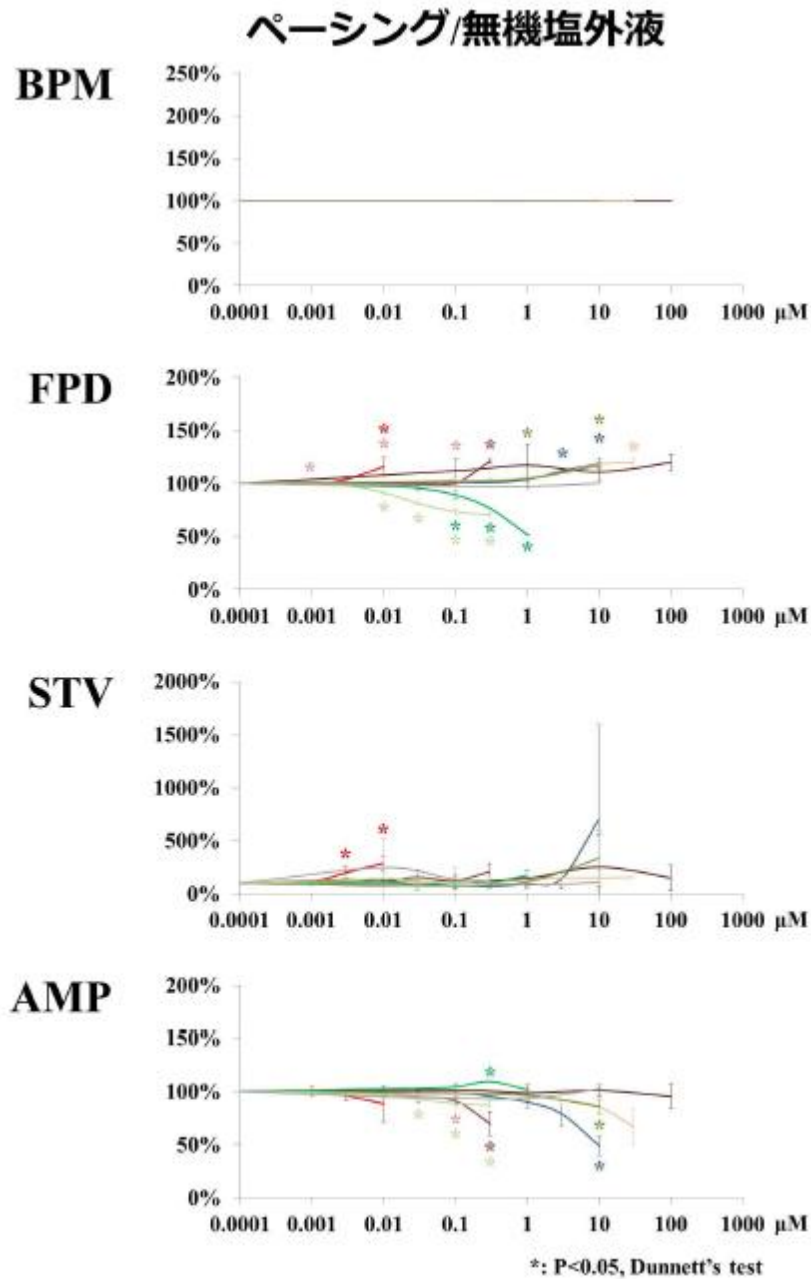


図46. 自律刺激下での濃度依存的な細胞外電位計測結果
(10剤+媒体、測定は無機塩培地を使用)

事業化に向けた、創薬スクリーニングシステムの構築は、測定機器に加え、多検体一括測定を実現するためのマルチウェルチップの他、多検体測定用インキュベータ、簡易型ピーク抽出自動化ソフトウェアから構成される（図47）。

これらの周辺機器については、マルチウェルチップについては、ウェル間でのデータの差や、既存計測プローブとの差を確認することが必要であり、インキュベータについては厳密な温度・CO₂濃度制御が可能となっていることを前提とした FPD 値の変動を確認する必要がある。また、簡易型ピーク抽出ソフトについては、レファレンスデータを用いた動作確認が必要である。以上の記載内容を検証し、データ品質や再現性の確保について実証データを取得した。

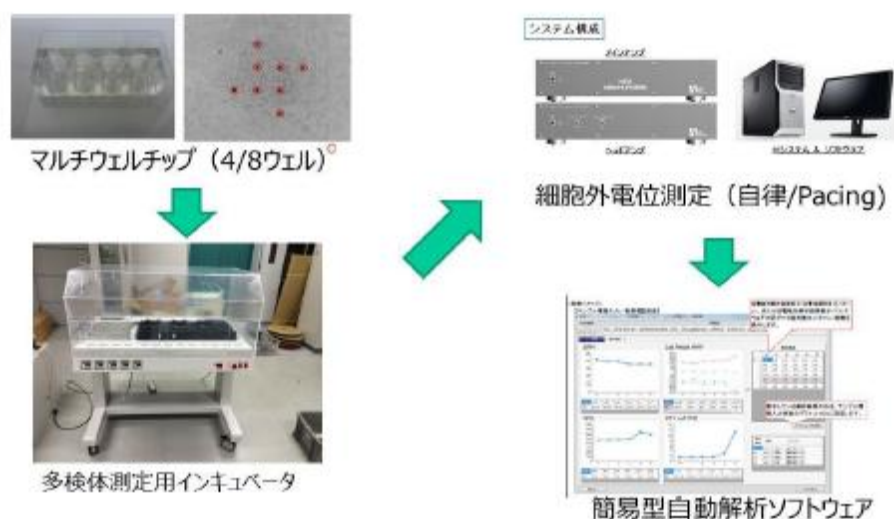


図47. 創薬スクリーニングシステムの構成機器一覧

マルチウェルチップは、チップあたり4ウェルおよび8ウェルの規格を準備した。化合物評価に必要な標本数をN=3またはN=6程度と設定し、各チップから化合物評価に必要な検討数が確保できるようにした。今回のシステム仕様から、ウェルあたりの電極数が、4ウェルの場合は16電極、8ウェルの場合は8電極となるため、各標本から評価可能な波形を安定的に抽出するために確保すべき電極数の検証を行う必要があった。電極の配置についても数種類の検討を行い、正常波形が取得しやすい配置の検討も行った。さらに、安定した測定結果に寄与し、設計上合理的なウェル形状の検討も合わせて行った(図48)。以上の検討結果から、4ウェル、8ウェルともに900 μ Lの培養液が添加できるような設計を行った。

設計したチップを用いて既存のプローブとの比較検討を行った結果、P-515A(既製品)と同等の結果が得られたプローブは、8-well規格で900 μ L添加できる仕様であった。8-well規格で240 μ L添加できる仕様(96-wellと同じ)では、FPDの延長効果が検出しにくい結果が得られた。外部環境の影響を受けやすい規格であることが示唆された。

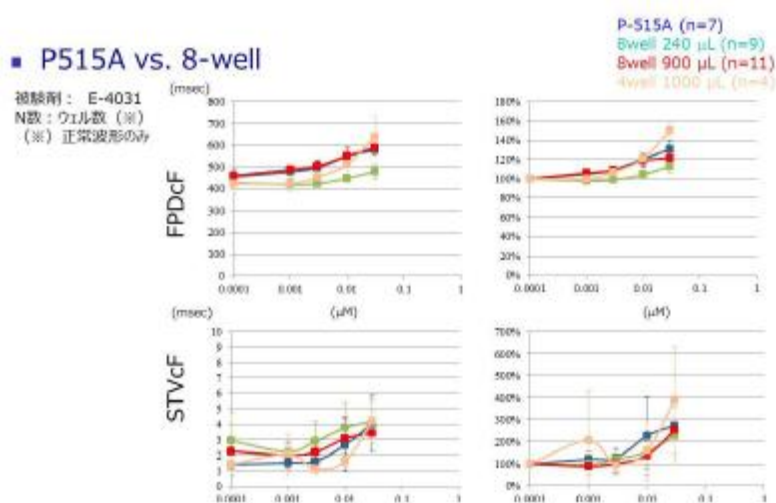


図48. 各種マルチウェルチップと既製品(P-515A)との比較

次に、多検体測定用インキュベータに関する検証を行った。温度調整機能を整備した上で、その影響を受ける拍動数(BR)とFPDの推移について、計測時間に相当する1時間の記録を取得した。当初

温度調整機能は良好に推移したが、取得場所（ヒーター付近や培養液中）によって微細に異なることが判明し、培養液中での記録を取得した。温度調整機能は十分だったが、細胞から得られる指標（BRやFPD）が安定化しない現象が確認されたため、CO₂濃度調製機能や保湿機能も付与して検討を進めた（図49）。

これらの指標を安定化させることにより、第2回目、第3回目の検討から、再現性良く、同時計測した3枚から、同レベルのBR、FPDの安定化が図られた。この結果により、当該試作インキュベータを用いて、3プローブ一括測定（＝最大24例）に活用できることが示唆された。

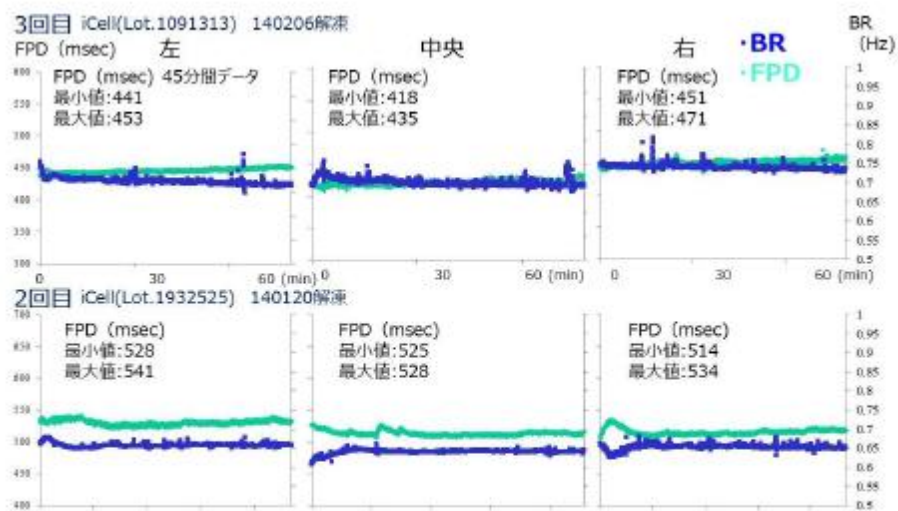


図49. 多検体測定用インキュベータに関するヒトiPS心筋細胞を用いた拍動数(BR)とFPDの1時間の推移

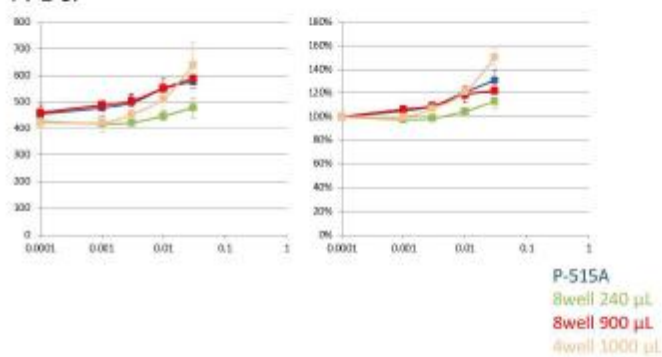
自動解析ソフトについても、取得済データを用いてピーク抽出の正当率を検討し、動作確認を繰り返した。

これらの周辺機器の動作を確認したうえで、既知薬剤を用いた規格比較を行った（図50、51）。検討結果から、8ウェル規格の計測チップはウェル容量が900 μLの溶液を添加できる規格を用いることが妥当と考えられた。

薬剤：E-4031 1-100 nM (公比3)

電極基板	P-515A	8well240	8well900	4well(1000)
細胞lot	1932525	1932525	1932525	1089404
解凍日	131002	131008	131008	130218
Wellあたり細胞数	30000	30000	30000	30000
解析区間	Last30拍	Last30拍	Last30拍	全拍
解析基準 (2^{nd} peak Amplitude(μV))	≥ 20	≥ 20	≥ 20	≥ 20
例数	7	9	11	4

FPDcF



STVcF

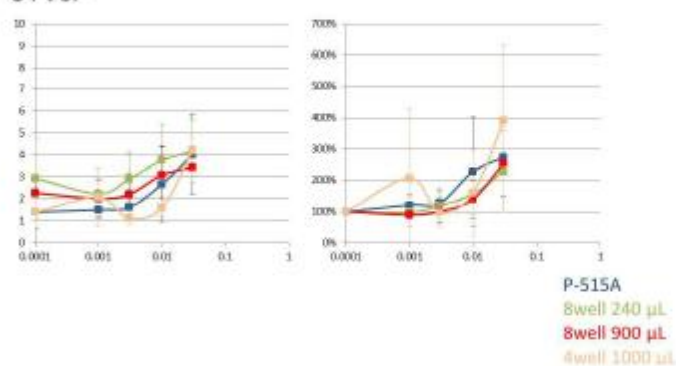
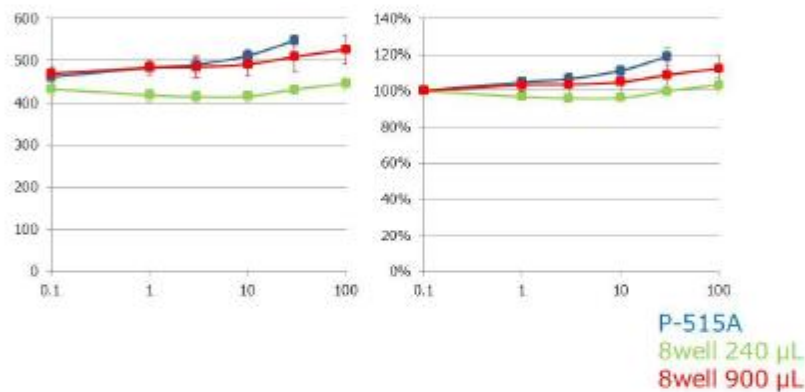


図50. 各種電極基板(チップ)を用いたヒトiPS細胞由来心筋に関するE-4031の応答性評価

薬剤 : Chromanol 293B 1-100 μ M (公比3)

電極基板	P-515A	8well240	8well900
細胞lot	1932525	1932525	1932525
解凍日	131002	131008	131008
Wellあたり細胞数	30000	30000	30000
解析区間	Last30拍	Last30拍	Last30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μ V))	≥ 20	≥ 20	≥ 20
例数	7	9	11

FPDcF



STVcF

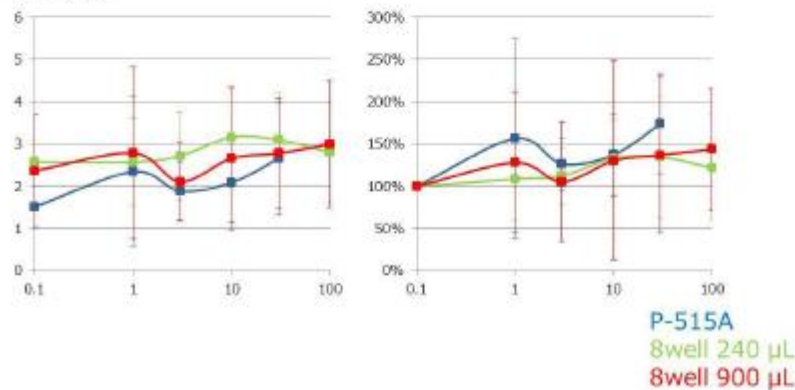


図51. 各種電極基板(チップ)を用いたヒトiPS細胞由来心筋に関するChromanol 293Bの応答性評価

今回の試作で最もスループット性が高い8ウェル規格に関して、正常波形の出現頻度を検証した(図52、図53)。これらの検討結果から、採用可能な波形の取得率は電極ベースとした場合、概ね30%前後と考えられ、ウェルとしては80%に達している。従って、8ウェルチップを用いた場合、4サンプル準備すればn=3の化合物評価は可能なレベルと考えられた。

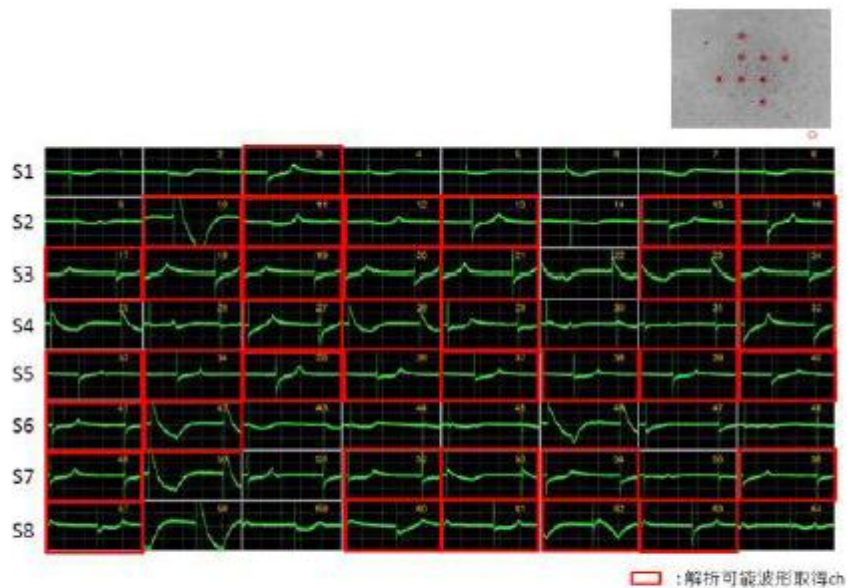


図52. 8ウェルチップから取得した波形一覧。横S1-S8が各ウェルの電極(8ウィンドウ)に対応。8電極x 8ウェルで合計64電極の波形を表示している。赤枠で囲った波形が解析可能な波形として分類された電極チャンネル。右上が、実際の細胞写真(赤枠で囲った箇所が電極部分)

波形分類	チップ	well	電極
採用 (N字除く, 20 uL以上)	56 (98%)	283 (62%)	685 (19%)
採用 (N字除く, 10uL~20uL)	1 (2%)	83 (18%)	341 (9%)
測定可だが不採用 (N字)	0	55 (12%)	882 (24%)
不採用 (波形あり, N字除く, 波形悪い, 10uL以下)	0	34 (7%)	1042 (29%)
不採用 (波形あり, N字, 10uL以下)	0	0	683 (19%)
不採用 (波形なし)	0	1(0%)	15 (0%)
	57	456	3648

図53. 8ウェルチップから取得した波形分類一覧。合計3648電極チャンネルを分類。黄色部分が現行基準で採用としている波形。薄黄色部分は採用かを判断中のもの。薄黄色も採用とした場合は採油率は向上される。

評価系に用いる器材や機器仕様と共に実用化に必要な情報として、測定する細胞に関する評価データが挙げられる。これまで入手可能な iPS 由来心筋細胞は各種挙げられる (図54)。

	CDI	Collectis*	Axiogenesis	ReproCELL
細胞数/vial	4×10 ⁶	2.5×10 ⁶	1×10 ⁶	3.5×10 ⁵ (3 vials)
実験に用いることのできる細胞数	2×10 ⁶	1×10 ⁶	表記無し	0.9×10 ⁶ (3 vials)
プレカルチャー	有 (7日)	有 (4日)	有 (2日)	有 (3日) (細胞塊作成)
MEAへの播種	可	CDI同様	可	可
細胞密度 (MEA)	30000 cells/well	30000 cells/well	20000 cells/well	15000 cells/well
準備できるウェル数	45-50	22-25	30-40	50-60
計測日程 MEA播種後	day7-12	day7-9 (解凍後day12-14)	day2以降でベースラインが安定したら計測可能	Day7-17

* Collectisの細胞は解凍後最低14日間維持可能

図54. 上市済hiPS由来心筋細胞を用いた評価に際しての調製法のまとめ

各社細胞の分化過程は開示されていないため詳細は不明であるが、測定のための調製法も様々であることもわかった。これらの細胞に関する催不整脈作用が既知の化合物 (E-4031) の応答性について評価を行った (図 5 5 ~ 5 8)。E-4031 に関する薬剤応答性については FPD 延長、STV 増大、EAD 出現という傾向は共通していた。一方、同一適用濃度下での FPD 延長率や STV 増大率、EAD の出現頻度については差が見いだされた。これらの結果から、薬剤に対する感受性はそれぞれの細胞において異なることは示唆された。EAD の出現が認められない、または認められるとしても高濃度域の場合、広い濃度域で評価ができるため、リスク予測に適していると思われるが、EAD が出ない標本では、催不整脈不整脈評価自体が実施できないリスクも生じる。一方、EAD が低濃度で出現する場合は、リスク評価できる濃度領域が狭いため、安全性評価としては扱いづらい標本と考えられるが、催不整脈予測指標が出現する担保があるため、評価としては信頼できる標本とも考えられる。これらの細胞についてはそれぞれ利点・課題があると思われたが、使用目的を設定することで評価に活用できる可能性も示唆される。

E-4031_各doseの取得例数

		before	1 nM	3 nM	10 nM	30 nM	100 nM	備考
A社	取得例数	2	2	2	2	2	1	-
	①	○	○	○	○	○	○	
	②	○	○	○	○	○	2倍→×	ベースライン揺れ有り
	③	N	×	×	×	×	×	拍動停止
B社	取得例数	5	5	5	5	4	2	
	①	○	○	○	○	○	2倍	
	②	○	○	○	○	○	2倍→EX	
	③	○	○	○	○	○	○	
	④	○	○	○	○	2倍, ベースライン	2倍→EX	
	⑤	○	○	○	○	2倍	2倍→EX	
C社	取得例数	4	4	4	4	4	4	2/3
	①	○	○	○	○	○	○	実施せず
	②	○	○	○	○	○	○	実施せず
	③	-	×	×	×	×	-	-
	④	○	○	○	○	○	○	○
	⑤	○	○	○	○	○	○	○
* 100 nMで異常波形が見られなかったため、300 nM, 1000 nMを追加で適用した(n=3)								
○: 解析可 -: 解析不可(波の情報は) 赤字: doseの量(1)から発生 ベースライン/ベースラインが不規則に変動 ×: 拍動停止 2倍: 2xだけ2倍性 EX: extra peak								

図55. 上市済各社製ヒトiPS由来心筋細胞に関するE-4031の応答性の纏め

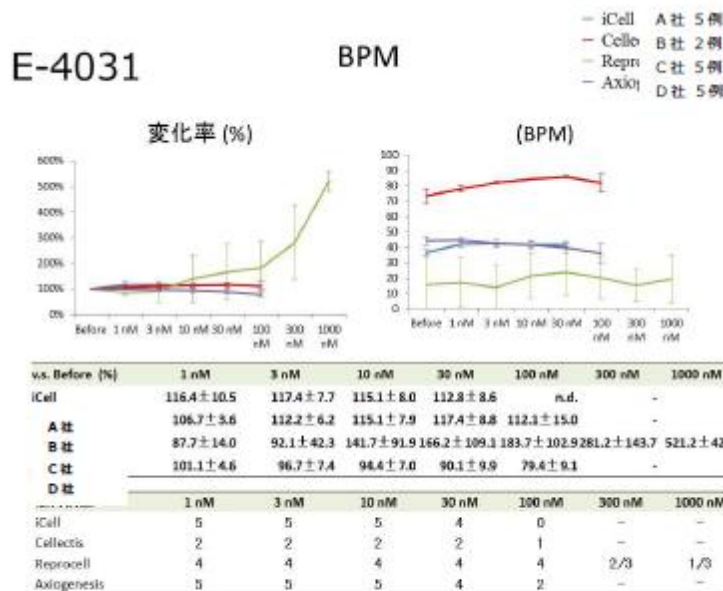


図56. 上市済各社製ヒトiPS由来心筋細胞に関するE-4031の応答性 (①拍動数(BPM))

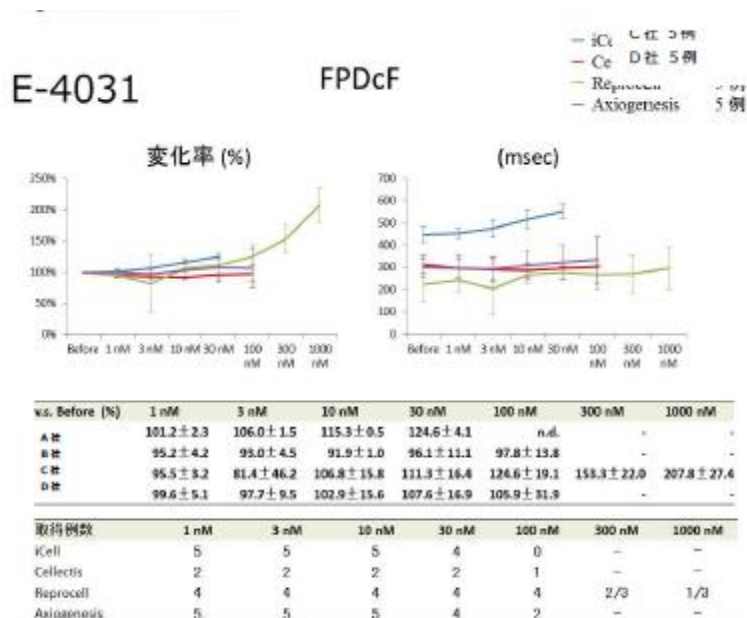


図57. 上市済各社製ヒトiPS由来心筋細胞に関するE-4031の応答性 (②FPDcF)

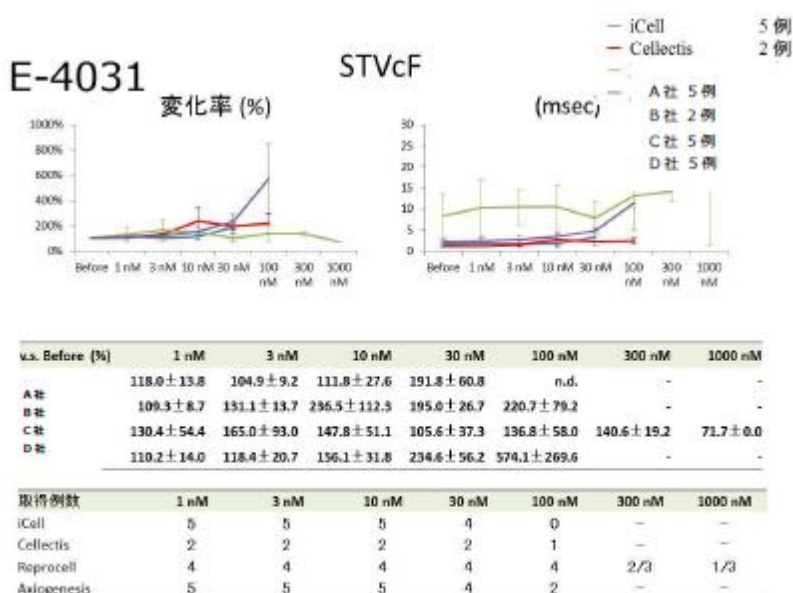


図58. 上市済各社製ヒトiPS由来心筋細胞に関するE-4031の応答性 (③STVcF)

また、同じ細胞製造メーカーから供給される細胞であっても、ロット間の機能的差異に関するデータの蓄積は必要である。スクリーニングや安全性試験を実施する場合、標本によるデータの差が生じることは最小限に抑えること、またはロット差の範囲を把握することは重要である。特に、ヒト iPS 細胞から心筋への分化誘導を各ロットで実施しており、細胞製造過程の各段階においてデータ品質を保つための背景データが必要と考えられる。このような観点から、代表的な既知薬剤 (E-4031、Chromanol 293B) に関するデータ蓄積を試みた (図59～62)。

E-4031

解析可能データ

Lot 1778267, n=4/5例 (解析不可理由 : 拍動不安定: 1例 (*))
 Lot 1022246, n=4/5例 (解析不可理由 : 波形変化 (※) : 1例)
 Lot 1932525, n=5/5例

データ数

Lot	before	1 uM	3 uM	10 uM	30 uM	100 uM
1778267	4	4	4	4	4	4
1022246	4	4	4	2*	0**	0
1932525	5	5	5	5	0***	0

Lot 1022246, (※) が1例 *10 uM : Kpeak 2峰性が1例, Kpeak 波形変化
 Lot 1932525, **30 uM : Ex-peakが2例 ***30 uM : Ex-peakが4例, Kpeak2峰性が1例

図59. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するE-4031を用いた際のロット間評価

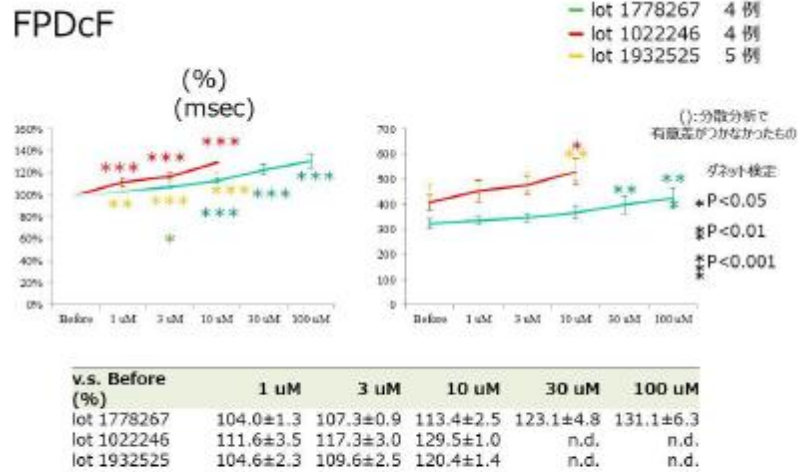


図60. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するE-4031を用いた際のロット間評価(①FPDcF)

Chromanol 293B

解析可能データ

Lot 1778267, n=3/5例 (理由: 拍動不安定: 1例 (*), 波形変化: 1例)
 1022246, n=4/5例 (理由: 波形変化: 1例)
 1932525, n=5/5例

データ数

Lot	before	1 uM	3 uM	10 uM	30 uM
1778267	3	3	3	3	3
1022246	4	4	4	3*	2**
1932525	5	5	5	5	5

Lot 1022246, *10 uM: Kpeak 2峰性。 **30 uM: 一過性波形乱れ

図61. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するChromanol 293Bを用いた際のロット間評価

FPDcF

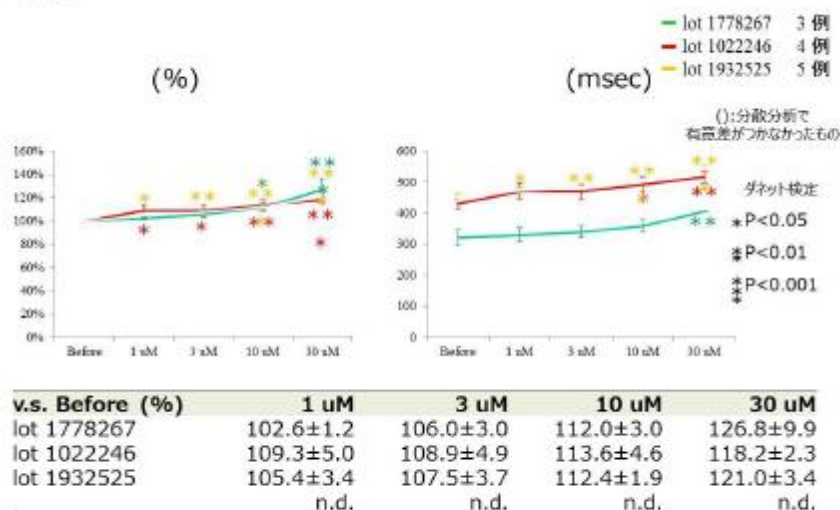


図62. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するChromanol 293Bを用いた際のロット間評価(①FPDcF)

実用化にあたって必要な創薬スクリーニングシステムを用いた評価結果を蓄積するため、iCell cardiomyocyte に関して、さらに代表的既知薬剤 (11剤) に関する薬物応答性について複数ロットの評価結果についてデータ蓄積を行った (図63~84)。細胞ロットは同時期に一括で測定することができなかつたため、各段階の開発システムを用いた結果となっている。従って、今回の結果については、細胞特性に起因する問題と、システムが起因と考えられる問題について考察する必要があった。

1. E-4031

細胞lot	1089404	1778267	1932525	1091313
解凍日	130205	130805	130805	140107- 140131
Wellあたり細数	16000	30000	30000	30000
解析区間	全拍	Last30拍	Last30拍	Last30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥20	≥20	≥20	≥10
例数	4	2	3	7

図63. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するE-4031を用いた際の過去4ロットと評価法

E-4031については、FPD 延長と STV 増大は、各ロット共通して記録された。FPD 延長率や STV 増大率については、ロット間の差が発生している。1089404 や 1778267 は比較的 EAD が出現する濃度が高いため、設定濃度域全てにおいて FPD や STV が算出できたが、1932525 や 1091313 は、30 nM 付近で EAD が出現したため、FPD や STV についてはデータ欠損になっている。

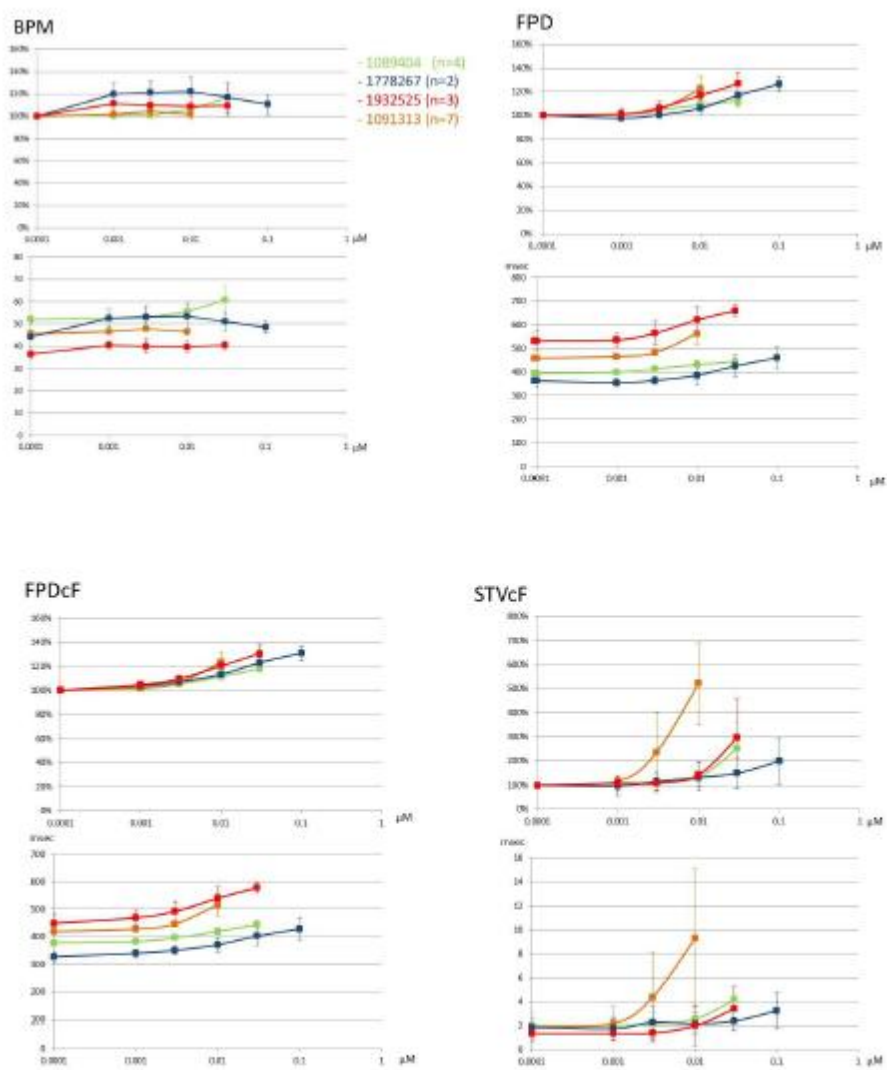


図64. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するE-4031を用いた際の過去4ロット間の評価まとめ(BPM, FPD, FPDcF, STVcF)

2. Astemizole

細胞lot	1089404	1932525
解凍日	130304,13021 8	131018
Wellあたり細数	16000	30000
解析区間	Last 30拍	Last 30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥20	≥20
例数	8	5

図65. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するAstemizolを用いた際の過去2ロットと評価法

Astemizole については催不整脈作用を有する化合物として知られており、IKr 阻害作用を有するため、FPD 延長およびSTV 増大が想定された。本剤は 1089404 については FPD 延長が検出しにくかったが、1932525 では FPD 延長および EAD 発現が認められた。この応答性の違いは、単純にロット差だけに帰着するわけではなく、細胞調製法を含めた開発システムの評価水準が向上した要因も含まれると考えられた。

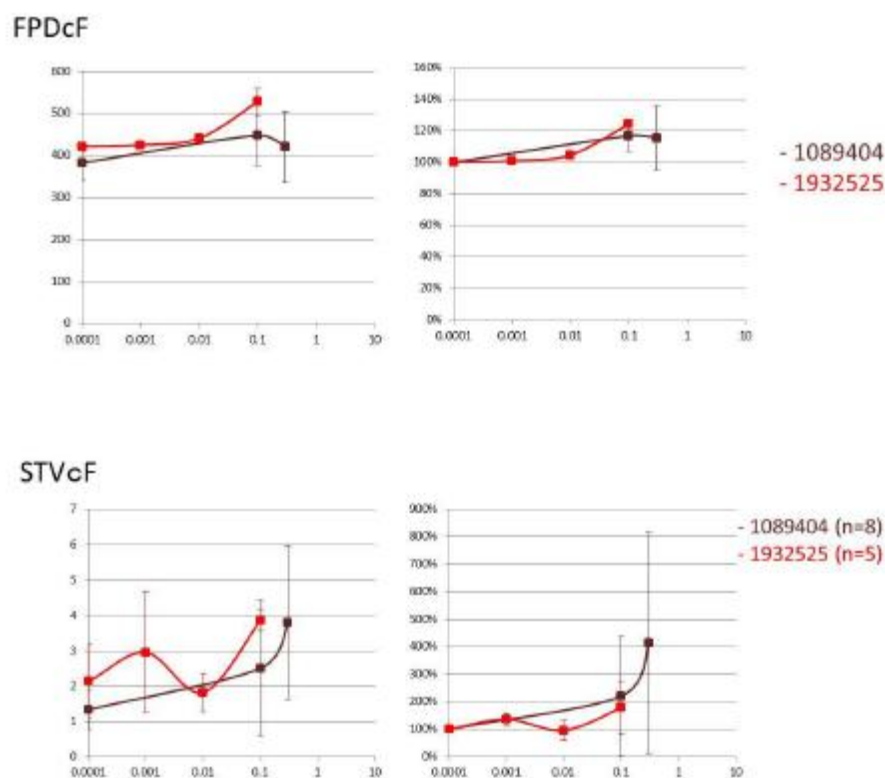


図66. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するAstemizolを用いた際の過去2ロットと評価 (FPDcF, STVcF)

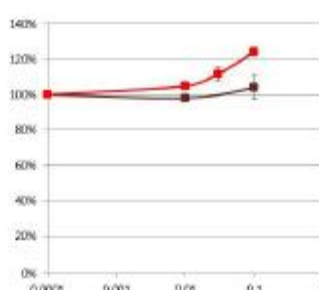
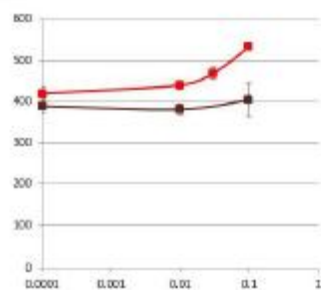
3. Cisapride

細胞 lot	1089404	1932525
解凍日	120920	131018
Wellあたり細数	16000	30000
解析区間	Last30拍	Last30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥20	≥20
例数	2	5

図67. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するCisaprideを用いた際の過去2ロットと評価

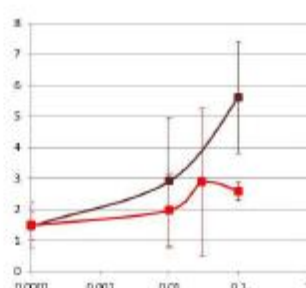
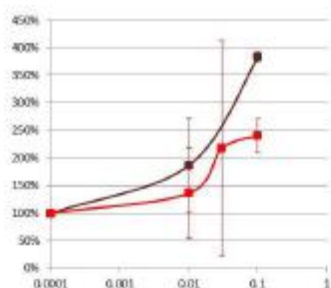
Cisapride については、致死性不整脈による市場撤退した化合物であり、IKr 阻害作用を有する。従って、FPD 延長および STV 増大が想定され、複数ロットにわたってその応答性が確認できた。延長率についてはロットの差が大きいため、Astemizole の結果も含めると、細胞の問題だけでなく、細胞調製法などの測定水準の向上により、1932525 の結果がもたらされた可能性も示唆される。

FPDcF



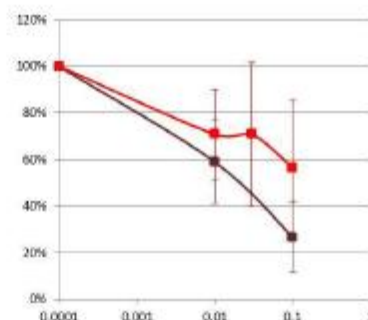
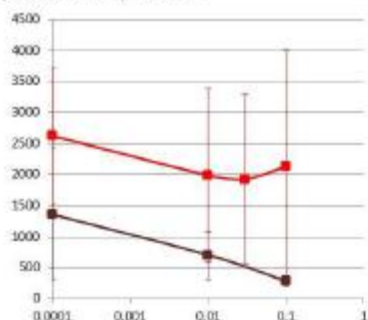
- 1089404
- 1932525

STVcF



- 1089404
- 1932525

1st peak Amplitude



- 1089404
- 1932525

図68. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するCisaprideを用いた際の過去2ロットと評価 (FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

4. Disopyramide

細胞lot	1089404	1932525	1091313
解凍日	130401	131210_Pacin g	140107- 140131
Wellあたり細 数	16000	30000	30000
解析区間	Last30拍	Last30拍	Last30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥ 20	≥ 20	≥ 20
例数	6	4	13

図69. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するDisopyramideを用いた際の過去2ロットと評価法

Disopyramide は、ナトリウムチャネル阻害が主薬効であるが、IKr 阻害も有するとされている。従って、FPD 延長や 1st peak 振幅の短縮が想定された。3 ロット間の傾向は保存されているが、数値の違いは認められた。1st peak の振幅については、peak 抽出ポイントについては、陽極側に振れた部分と陰極側に振れた部分との計測原理としての位置づけなど、議論の余地は残っている。しかしながら、1st peak の振幅の短縮は明瞭に認められるため、細胞外電位波形からナトリウムチャネル阻害評価は可能と思われた。また、FPD 延長も射止められることから、開発システムにより Disopyramide の薬物応答性を精度よく捉えられていると考えられた。

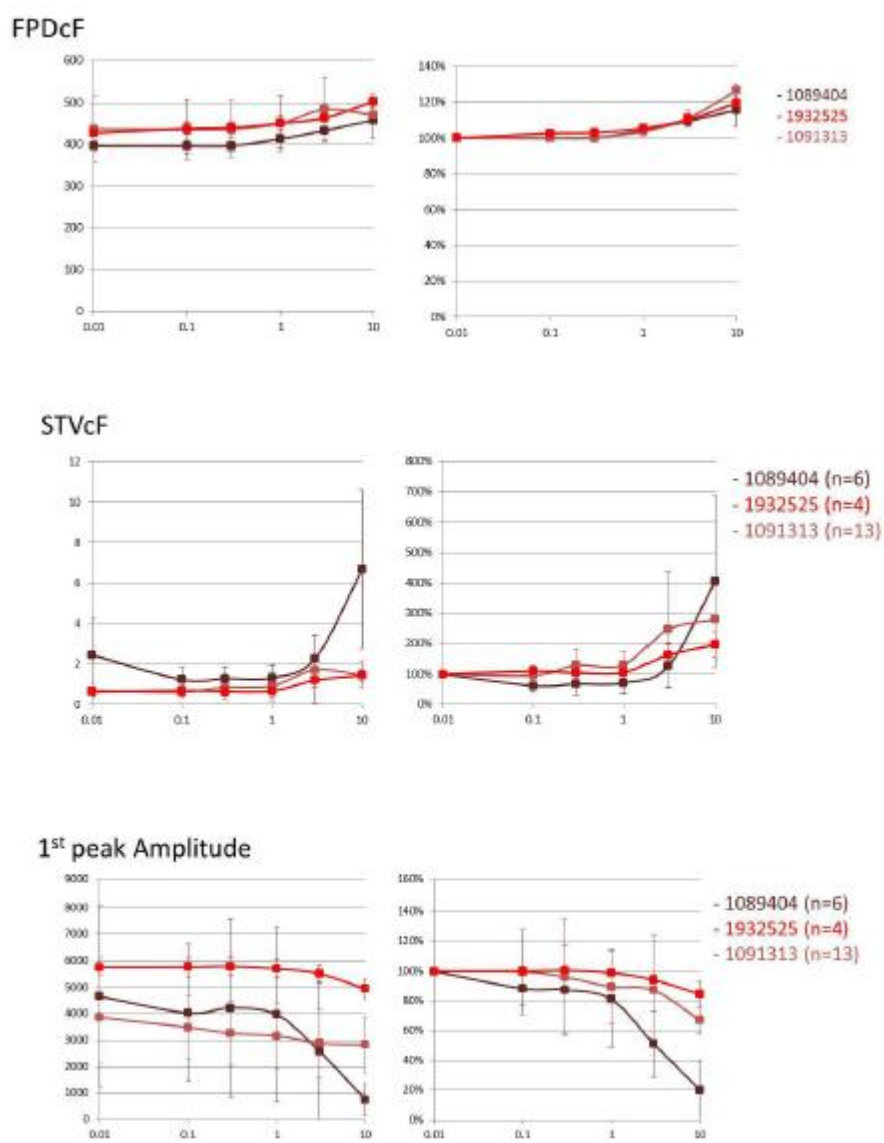


図70. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するDisopyramideを用いた際の過去2ロットと評価(FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

5. Quinidine

細胞lot	1089404	1932525	1091313
解凍日	130219-130311	131018	140107-140131
Wellあたり細数	16000	30000	30000
解析区間	全拍	Last 30拍	Last 30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥20	≥20	≥10
例数	4	5	5

図71. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するQuinidineを用いた際の過去2ロットと評価法

Quinidine は、ナトリウムチャンネル阻害が主な作用であり、IKr チャンネル阻害効果を含め、複数イオンチャンネルに対する阻害作用を有している。従って、FPD 延長、STV 増大、1st peak 振幅の短縮が想定された。1932525 における他ロットと濃度依存的な FPDcF 値の推移は大きく変わっているが、これは EAD が出現したため 10 nM でのデータが欠損したことによる。一方 10 nM では FPD が取得された 1 例についてプロットしているため、FPD 延長効果が見えない、という判断は早計と考えられる。EAD の出現は、1932525、1091313 において検出されたが、1089404 では認められなかった。1st peak の振幅については全てのロットについてほぼ同様の大幅な短縮傾向が認められた。

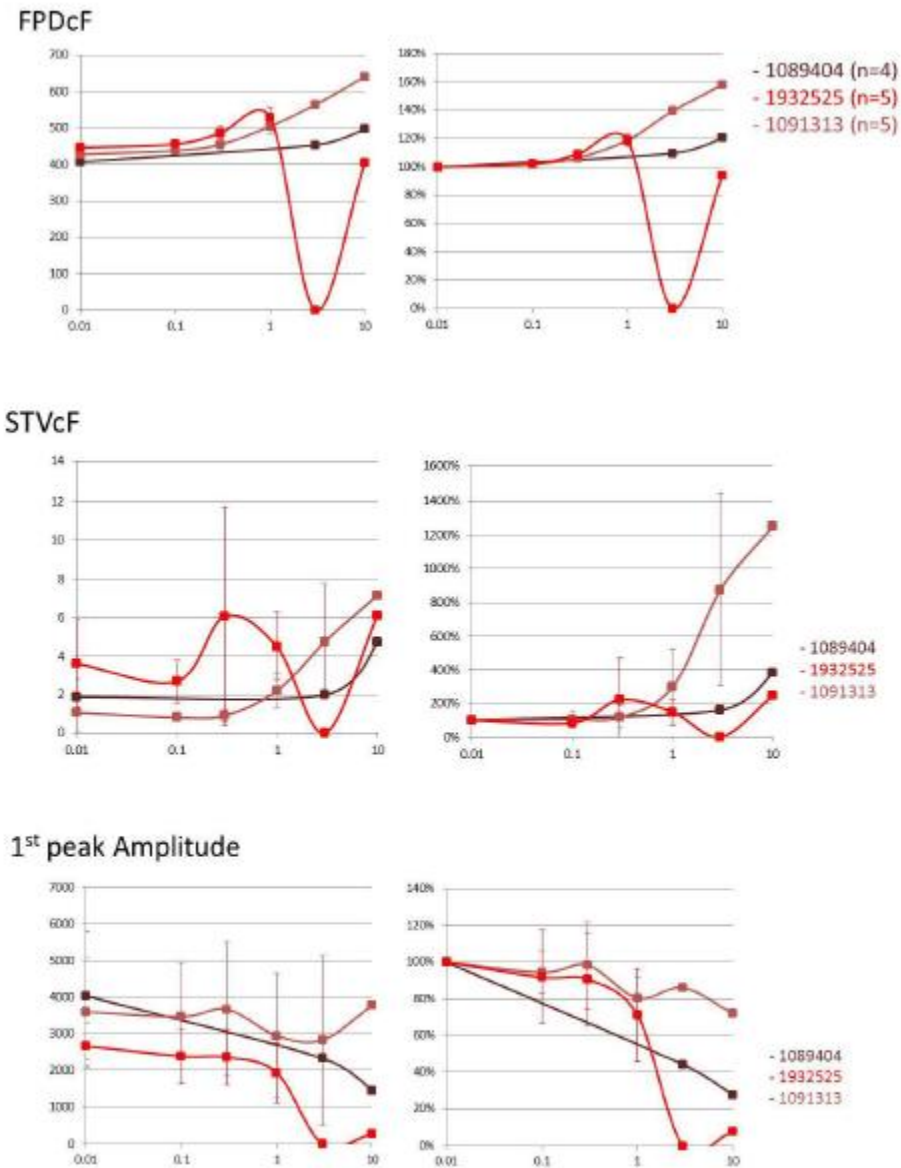


図72. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するQuinidineを用いた際の過去2ロットと評価 (FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

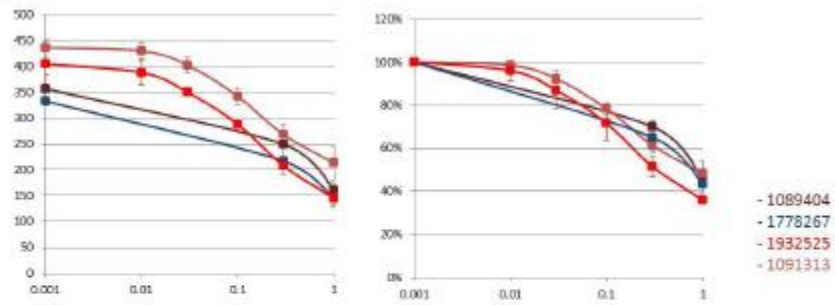
6. Verapamil

細胞lot	1089404	1778267	1932525	1091313
解凍日	130219- 130311	130805	131108	140107- 140131
Wellあたり細数	16000	30000	30000	30000
解析区間	全拍	Last 30拍	全拍	Last 30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥20	≥20	≥20	≥10
例数	4	3	2	6

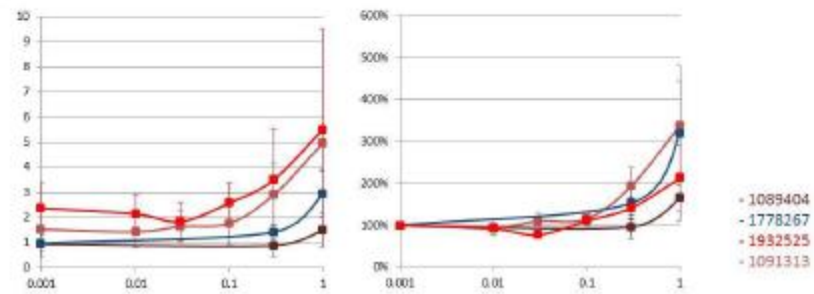
図73. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するVerapamilを用いた際の過去4ロットの評価法

Verapamil は、カルシウムチャネル阻害活性が主作用である。従って、FPD 短縮作用が想定される。合計 4 ロットのいずれも、FPD 短縮作用が認められた。既述したが、カルシウム阻害剤に関して BPM の大幅な上昇を伴うため、補正式を行ったとしても、その傾向は変わらなかった。高濃度における STV 上昇は、弱い作用である IKr 阻害効果に起因することが考えられた。増大率は 200% を超えるロットも認められたものについては、BPM 上昇の影響が考えられる。

FPDcF



STVcF



1st peak Amplitude

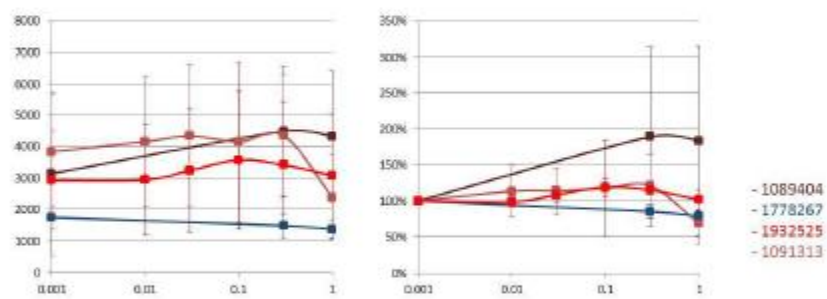


図74. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するVerapamilを用いた際の過去4ロットの評価 (FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

7. Diltiazem

細胞lot	1089404	1091313
解凍日	130219-130311	140107-140131
Wellあたり細胞数	16000	30000
解析区間	全拍	Last30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μV))	≥20	≥10
例数	2	5

図75. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するDiltiazem を用いた際の過去2ロットの評価法

Diltiazemはカルシウムチャネル阻害活性を有する。また Verapamil と比較して IKr 阻害効果は強くないとされる。従って、FPD 短縮、STV 不変、1st peak の振幅は不変、という作用が想定される。検討した2ロットに関して同様な結果を計測された(図75)。STVについては、Verapamilと比較して、増大の程度は低かった。これは上述の作用の証左の可能性が示唆された。Diltiazemについても拍動数の増加は顕著であり、カルシウムチャネル阻害剤に関して拍動数の上昇は特定薬剤に限った現象ではないことが示唆された。

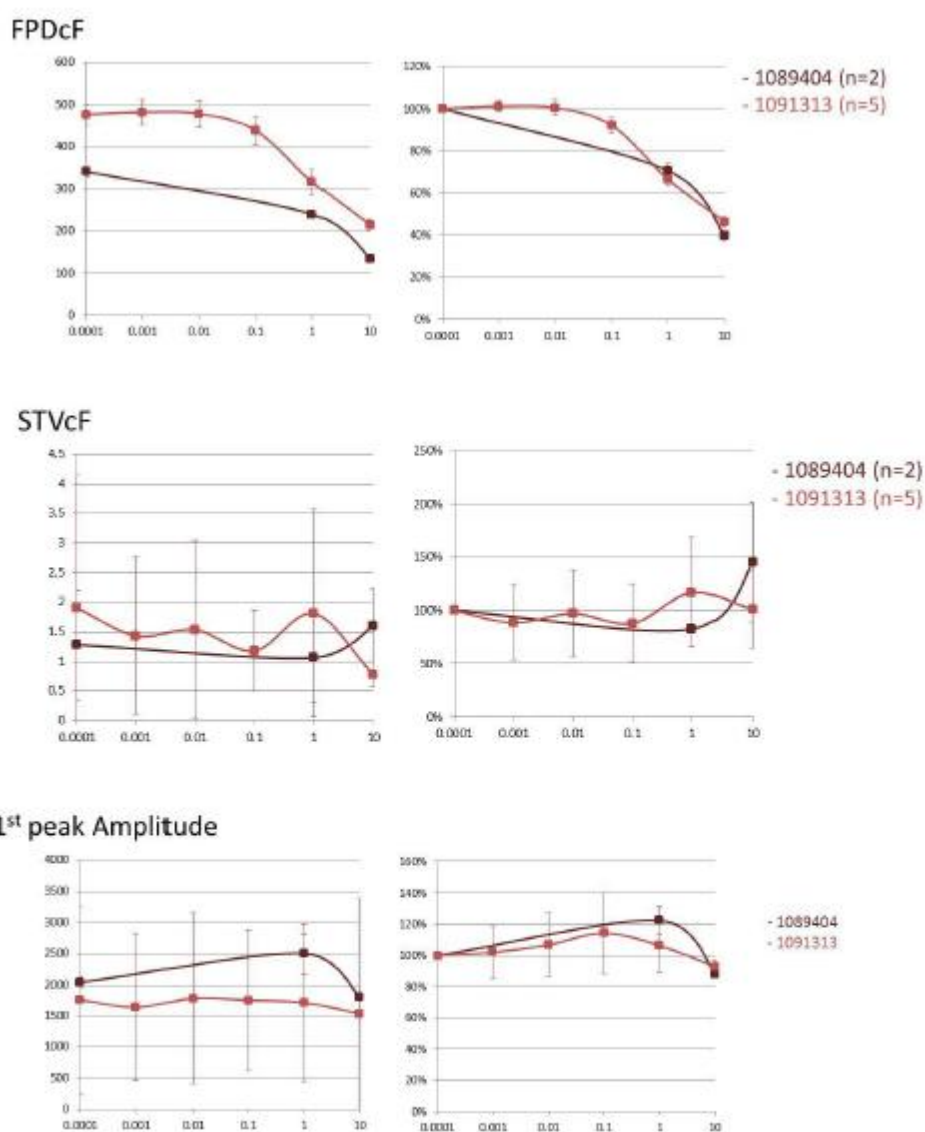


図76. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するDiltiazem を用いた際の過去2ロットの評価(BPM, FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

8. dl-Sotalol

細胞lot	1091313	1778267	1089404
解凍日	140107-140131	130805	1304-1305
Wellあたり細数	30000	30000	16000
解析区間	30拍	Last 30	全拍
解析基準	10個	20個	20個
例数	5	5	6

図77. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するdl-Sotalolを用いた際の過去3ロットの評価法

dl-Sotalol は催不整脈作用が知られている化合物であり、IKr 阻害作用を有する d-Sotalol と・遮断作用を有する l-Sotalol の混合物である。IKr 阻害作用について FPD 延長、STV 増大、EAD 出現が想定される。一方、l-Sotalol の・遮断効果であるが、培養液中にノルアドレナリンが含有している場合は、BPM の低下が考えられる。

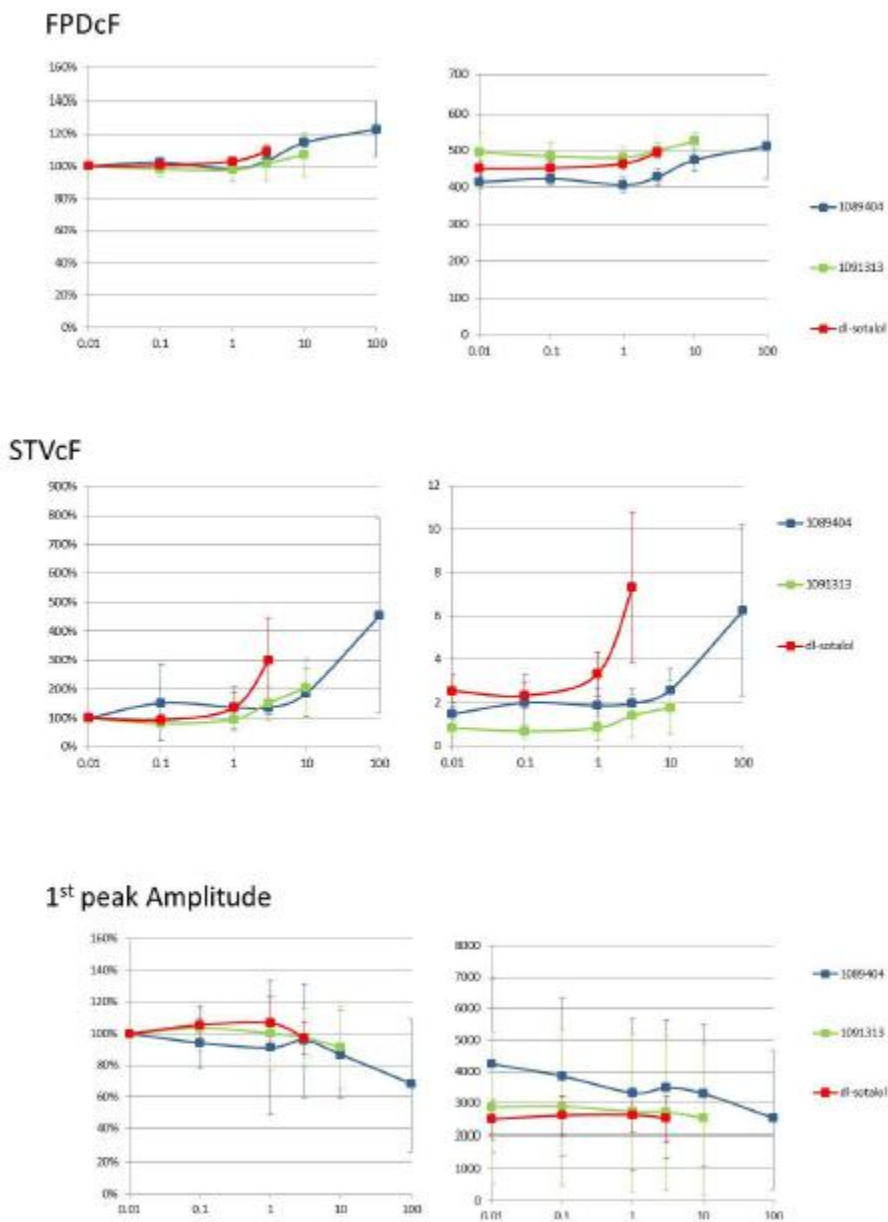


図78. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するdl-Sotalolを用いた際の過去3ロットの評価(FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

9. Chromanol 293B

細胞lot	1089404	1778267	1091313
解凍日	130219- 130311	130805	140107- 140131
Wellあたり細数	16000	30000	30000
解析区間	全拍	Last 30拍	Last 30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude(μ V))	≥ 20	≥ 20	≥ 10
例数	2	4	7

図79. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するChromanol 293Bを用いた際の過去3ロットの評価法

Chromanol 293Bは、IKsチャンネル阻害剤である。FPD延長は想定されるが、STV増大、EAD出現といった催不整脈作用の指標については、大きな変動はないと想定される。IKsチャンネル受容体は細胞調製によってその応答性は大きく異なるため、実験間差が生じやすいと考えられた。これは、IKsチャンネル受容体の発現が細胞調製に依存するためと考えられる。

今回の検討では、FPD、FPDcFの延長は認められ、顕著な(>200%)STV増大やEADの出現は認められなかった。これは、再分極遅延を起因とする催不整脈作用は、IKrは深く関与するものの、IKsの関与は相対的に低い知見と合致する。

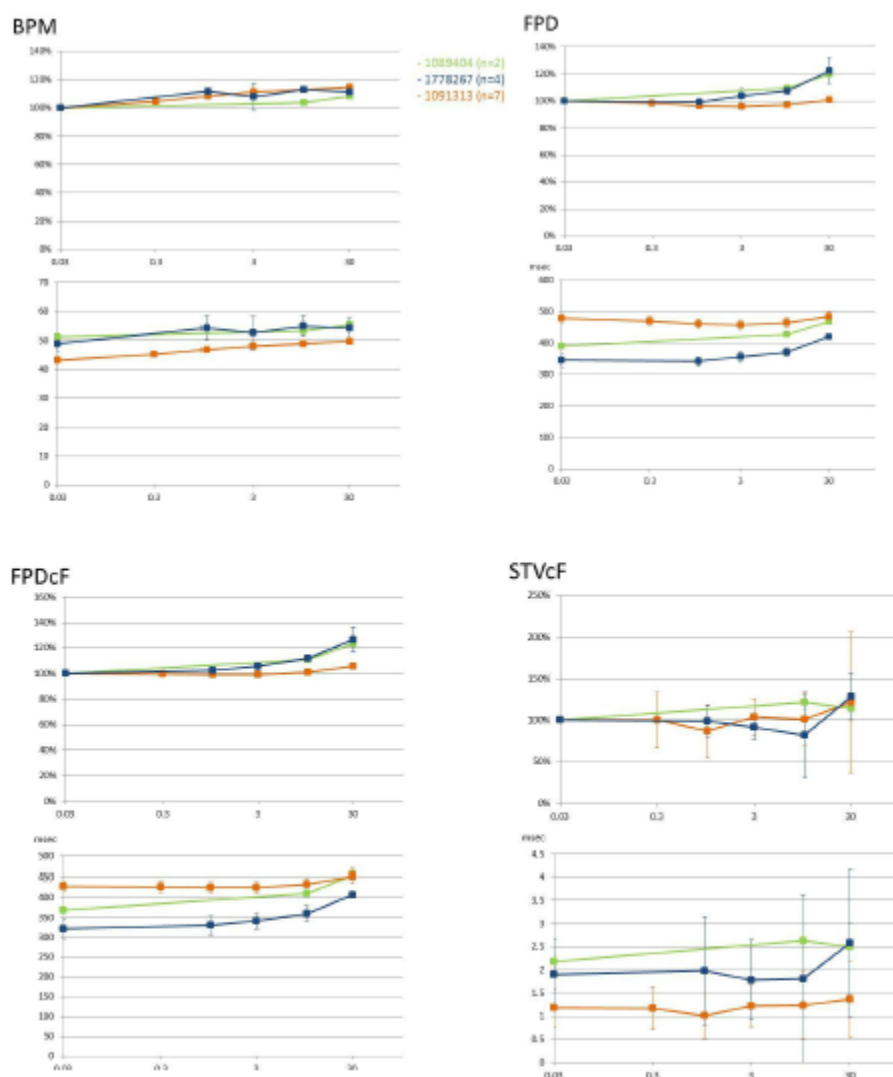


図80. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するChromanol 293Bを用いた際の過去3ロットの評価(BPM, FPD, FPDcF, STVcF)

10. Moxifloxacin

細胞lot	1089404	1932525	1091313
解凍日	130219-130311	131018	140107-140131
Wellあたり細数	16000	30000	30000
解析区間	全拍	Last 30拍	Last 30拍
解析基準 (2 nd peak Amplitude[μV])	≥ 20	≥ 20	≥ 10
例数	2	2	5

図81. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するMoxifloxacinを用いた際の過去3ロットの評価法

Moxifloxacin は臨床治験で使われる QT 間隔延長作用を有する陽性対照剤の一つである。従って、細胞外電位計測においても、FPD 延長が想定される。催不整脈リスクは高くないため、STV 増大や EAD 出現といった催不整脈指標の動きは大きくないと考えられた。今回の評価結果では、高濃度領域において FDP 延長作用が認められた。一方、STV については高濃度領域のみ漸増傾向は認められたものの、EAD の出現は認められず、催不整脈作用は高くないと思われた。

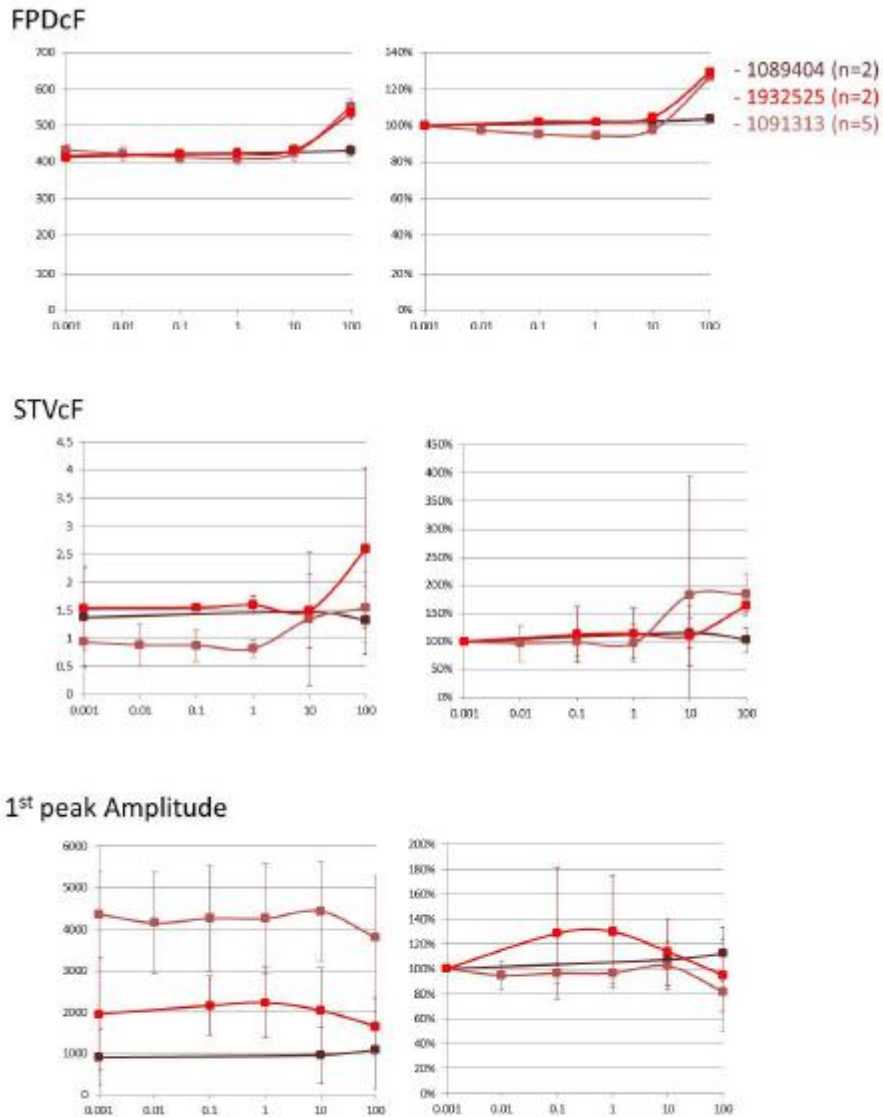


図82. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するMoxifloxacin を用いた際の過去3ロットの評価 (FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

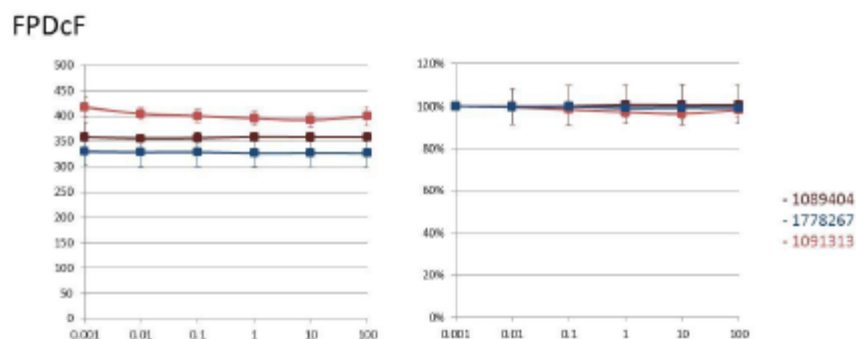
11. Famotidine

細胞lot	1089404	1778267	1091313
解凍日	130805	130805	140107-140131
Wellあたり細数	16000	30000	30000
解析区間	全拍	全拍	Last 30
解析基準 (2 nd peak Amplitude[μV])	≥20	≥20	≥10
例数	3	3	10

図83. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するFamotidine を用いた際の過去3ロットの評価法

Famotidineは、陰性対照剤としてAspirinなどと共に使われる化合物である。従って、薬剤適用しても、BPM、FPD、STVはいずれも顕著な変動はないと考えられ、EADの出現も想定されたかった。

今回の検討結果からも、想定通り、いずれの指標も顕著な変動はなかったと考えられ、非特異的な各指標の変動は検出されない結果だと示唆された。



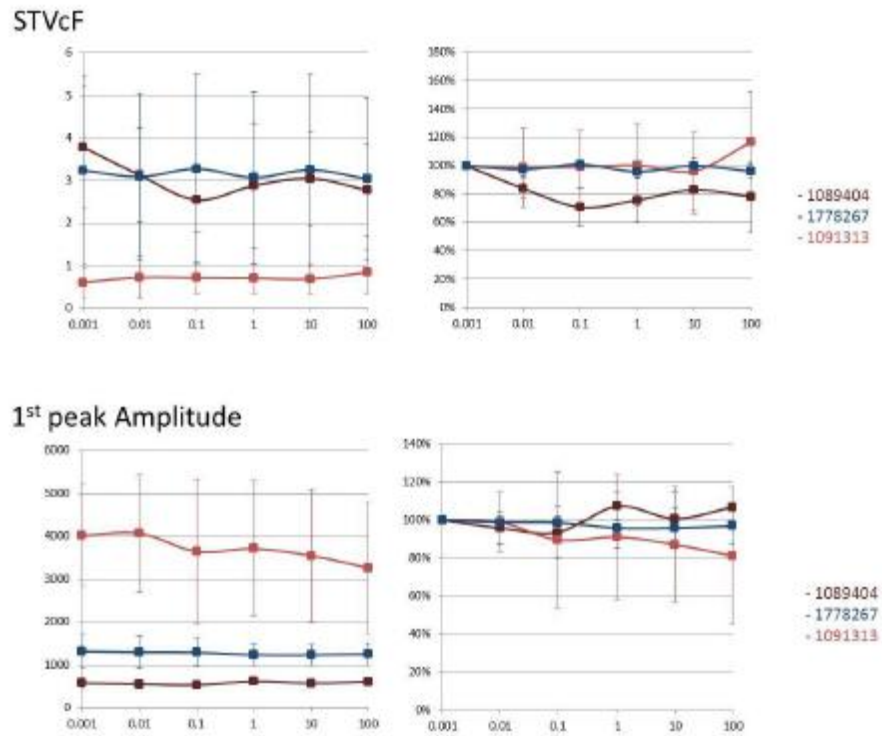


図84. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するFamotidine を用いた際の過去3ロットの評価 (FPDcF, STVcF, 1ST AMP)

開発システムを用いて、各指標の経日的変動を検討した (図85、図86)。同一標本の連続記録を想定した場合、薬効を正しく評価するために必須なデータである。結果として、拍動数の漸増がFPD延長に反映されることが認められた。比較的経日的影響が少ないのがDay7-14の間と考えられた。BPMが安定化する細胞または計測条件を整えることは試験系としては重要な要件と考えられる。一方、pacingによるBPMの安定化が考えられ、pacing下での連続計測が今後すべき課題の一つとも考えられた。

E-4031 添加時についても同様な傾向が認められた。最も培養期間が長い群 (Day21) に関して、EADの出現がなかった。

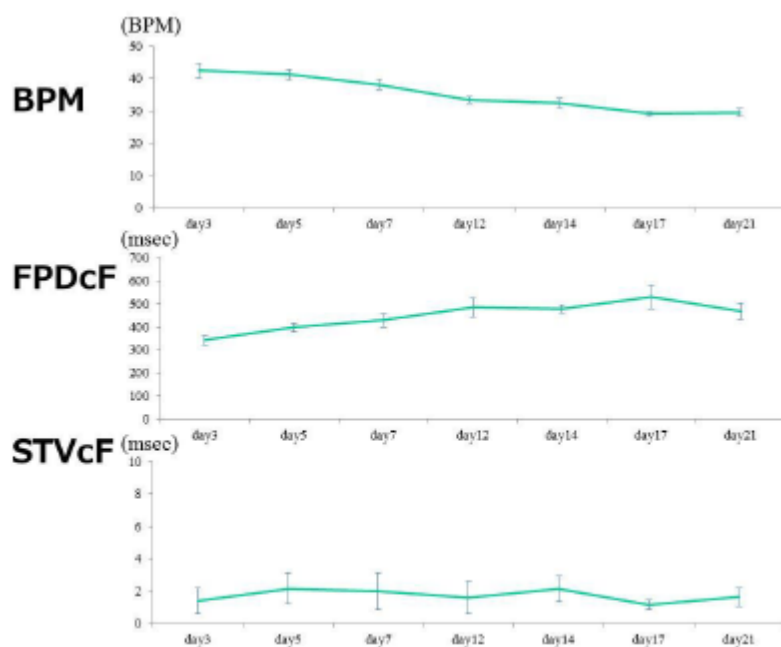


図85. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関する経日的に測定した (BPM, FPDcF, STVcF,)

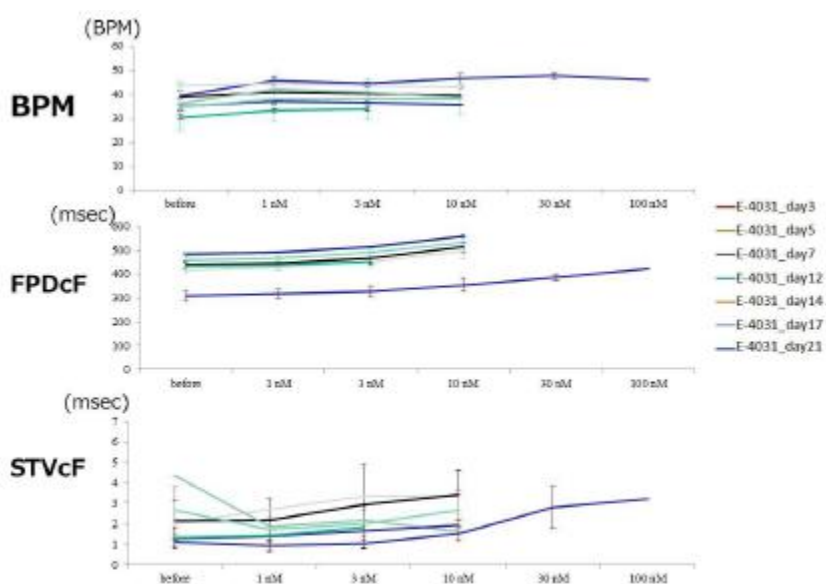


図86. iCell cardiomyocytes (CDI社)に関するE-4031の濃度依存的及び経日的測定結果 (BPM, FPDcF, STVcF,)

当開発システムの事業化について、事業ターゲットを創薬研究および前臨床試験に定め、毒性探索などスクリーニング試験や、将来的なガイドライン化を見込んだ安全性薬理試験 (in vitro) での催不整脈リスク評価が想定される (図 8 7)。

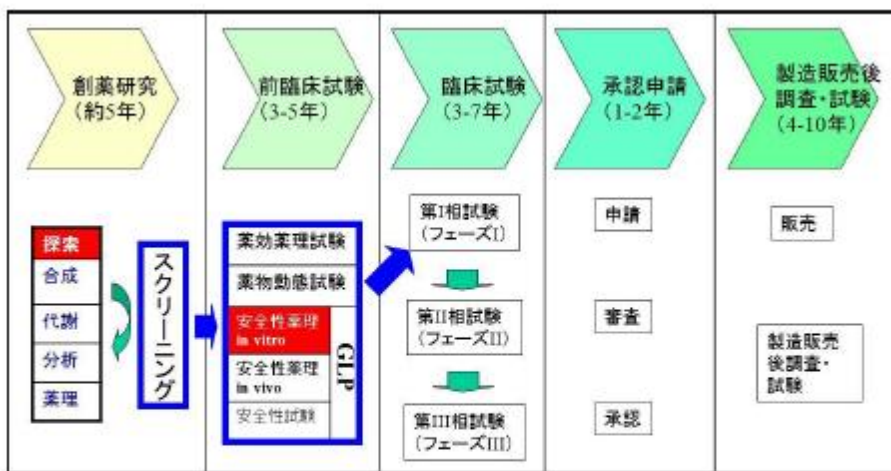


図87. 開発システムの事業領域(探索スクリーニング領域、安全性薬理領域(in vitro: 細胞を用いた化合物評価)に用いられると想定(赤部分)。臨床治験との相関が高いことが望まれている試験群(青枠)

さらに具体的に創薬パイプラインを考えた場合、開発システムの活用はイオンチャネル発現細胞を用いたスクリーニングの後(動物実験の直前)の段階が最も可能性は高いと考えられる。ヒト iPS 細胞由来心筋は、ヒト細胞を用いたマルチイオンチャネル阻害作用を考慮した場合、現状のスクリーニング試験の前段階に導入する可能性も考えられる(図 8 8)。さらに、薬事申請用 GLP 試験としての活用も見込まれるが、それは日・欧・米の規制当局(PMDA、EMA、FDA)の動向に依存する。現在議論されている ICH S7B の改訂にあたって開発システムが標準法に合致したもののかの議論は、現在も続いている。そのために必要な施策は事業化にも直結するものと考えた(図 8 9)。

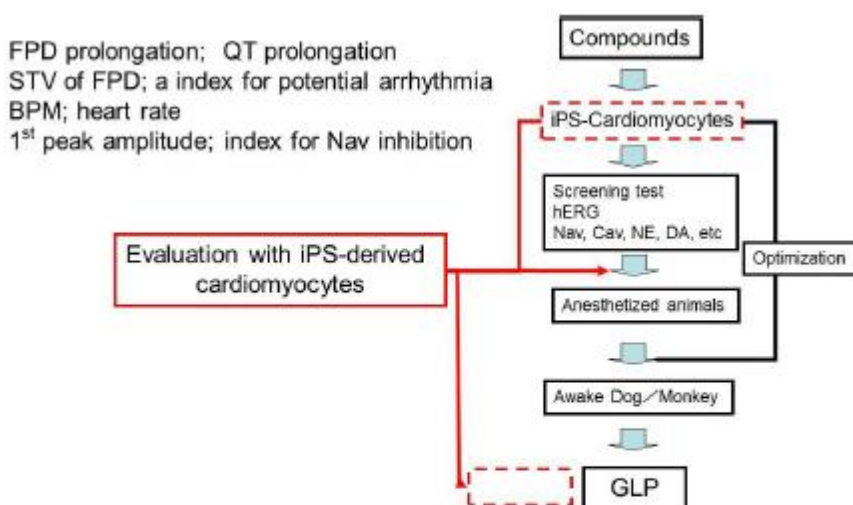


図88. 開発システムが導入される可能性がある創薬開発プロセス(赤(点線)枠)

実用化プランとして、すべき内容を大きく3つに大別し、それら要素技術を組み合わせたシステムとして、ビジネスシーズの可能性を検討してきた(図89)。実用化に必要な要素技術としては、①簡便且つ高精度な計測に適した細胞加工技術(高密度培養(2Dシート))の確立、②多検体一括測定を実現するマルチウェルチップの準備、③得られた大容量データ(10 Gb)を処理・管理するデータ処理ソフトウェアが必要と挙げ、各開発を進めた。これらの開発を踏まえ、既知薬剤を用いた背景データ(データベース)の蓄積を進め、その精度・信頼性を高めることを計画した。背景データの蓄積が進めば、準備したソフトウェアの精度の向上も見込める。社内検討に加え、社外との検討試験を進めることにより、よりユーザーフレンドリーな開発内容としての改善を試みた。

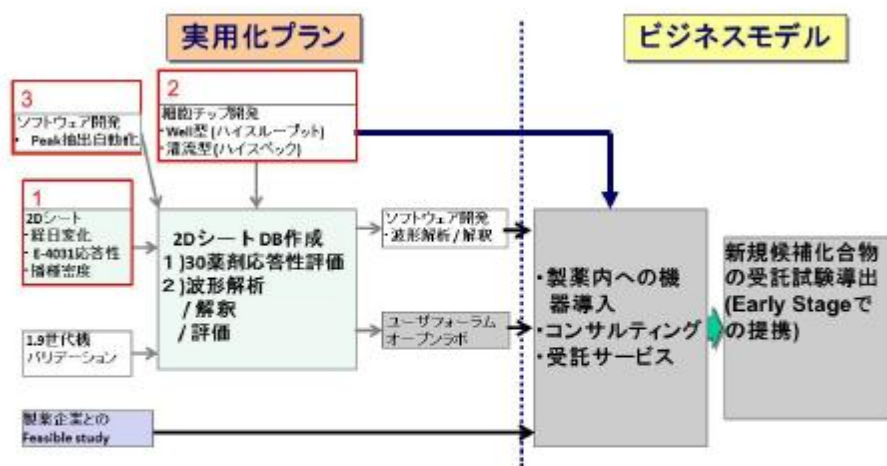


図89. 開発システムの実用化プランとビジネスモデル。各要素技術を組み合わせて、化合物データベースを構築。豊富な背景データを持ったうえでビジネス展開を行う。受託試験だけでなく、顧客への導出も可能性として挙げている。

まずは製品化されている各種幹細胞由来心筋細胞を用いた検討を進め、構築されたプロトコールに基づいて、本プロジェクト内で作製された細胞またはデータを用いた予備的検討を行った。用いる細胞はヒト細胞であるため、得られた評価データ（作用が示された濃度域ほか）とヒト血中濃度情報などの臨床開発情報と照会し、開発システムの信頼性を高める方向性と、多検体同時測定や自動解析ソフトによる生産性向上や競争力のある価格設定を両立させる計画とした。

東京医科歯科大からの移管を受け将来の事業化を想定したユーザーサービスのための基盤整備と、細胞チップ製造サービスの基盤整備とを用い、追加製造したシステム評価用装置の基本的な計測データに基づいて、既知薬剤を用いたバリデーション試験を実施した。本格的なバリデーションを行うにあたって、②-(2)-3から抽出された計測の最適化に寄与する項目を仕様に組み入れた簡易測定システムを構築した。従来型機種を検討課題であった「計測ノイズの低減」および「刺激信号入力時のアーティファクト低減」について改善を図った簡易測定用機器を製造した。基本的な試験プロトコールについては、外部レギュレーション機関からの評価を受けると共に、社内外においてバリデーション試験を行い、基本的なプロトコールの確立を行った。製造した計測装置を中核とした計測システムに関する仕様については、高いデータ精度を保ち、バリデーション時に採用される可能性のある細胞加工に関する試験プロトコールの改良や、温湿度・CO₂濃度を制御した中で測定作業が可能となるインキュベータの試作、多検体一括測定を可能にするための計測チップ及び機器とのCompatibilityを保つための周辺機器の試作と装置改造、及び得られた多量の測定データを解析・管理するためのソフトウェアの試作を実施し、事業化における基盤技術を完成させた。さらに上述の製造した機器・周辺機器を用いた創薬スクリーニングシステムとしての稼働を検証するため、市販のヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いて細胞間連絡が保たれた平面細胞シート状の高密度培養法による細胞調製を実施し、自律拍動下のヒトiPS細胞由来心筋細胞に関する薬物応答性について36種の既知化合物のデータを、強制刺激

下においては11種の既知化合物に関する計測データを、それぞれ集積した。その他に、試験的に東京医科歯科大とクラウドサーバーを活用したネットワークの構築や、試験法については標準作業書(SOP)を定めることを行い、バリデーション体制の構築を推進した。実用化に向けてプロジェクトで整備したiPS心筋細胞を用いる簡易測定システムを図90に示した。

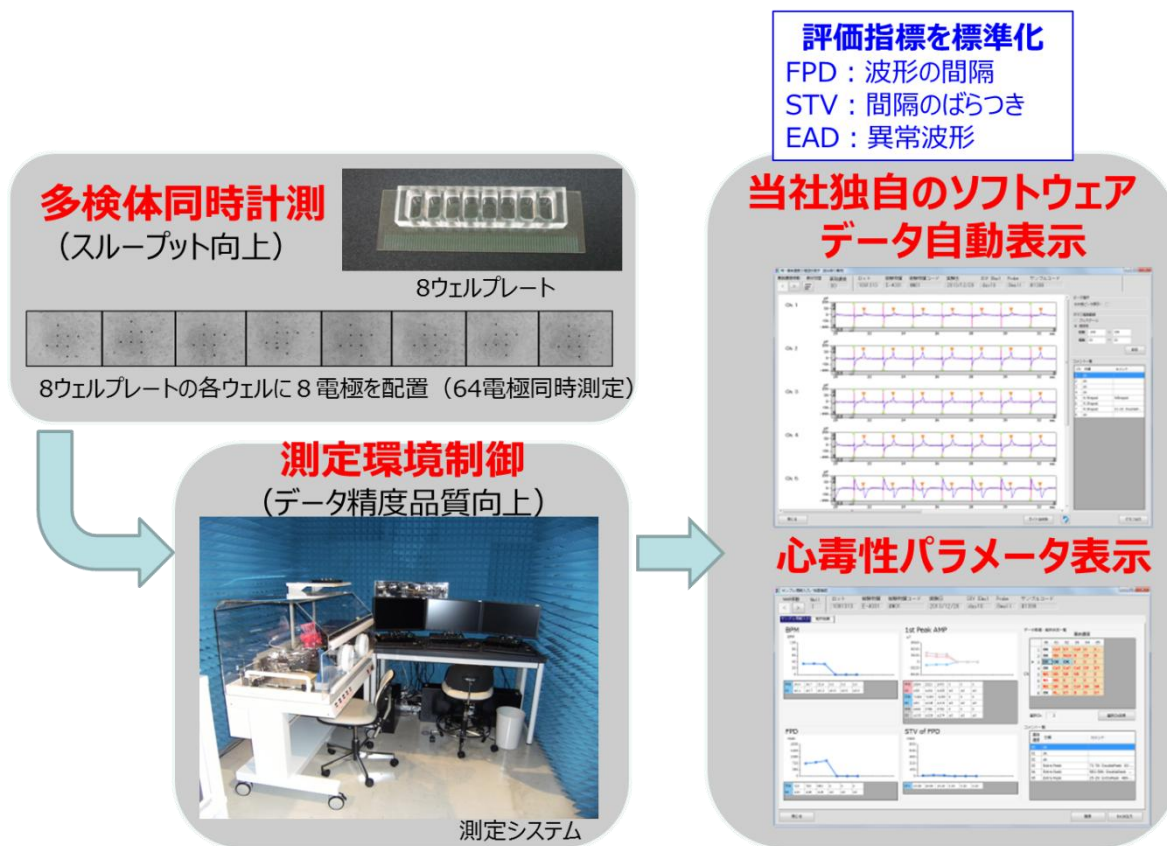


図90. 簡易測定システムとヒトiPS心筋を用いた心毒性評価の流れ

IV. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

1. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

(1) iPS 細胞由来心筋細胞の分化誘導技術

本事業において、iPS 細胞から心筋細胞分化誘導方法、iPS 細胞由来心筋細胞純化精製方法、疾患 iPS 細胞由来心筋細胞の解析基盤技術の開発を行ってきた。今後は、患者 iPS 細胞由来心筋細胞のバンクングを含め、適切に産業界への iPS 細胞由来心筋細胞の分化誘導技術の橋渡しを進めていく。

(2) 受託試験サービス

事業目標とした受託試験サービスに関しては、測定できる機器製造だけでなく、再現性や精度を担保するための実験環境を維持するための周辺機器や、計測後に出力される電子データを適切に管理・保管するためのシステム構築が必要であり、想定以上に開発システムの確立に時間を要したことは、本格的なバリデーション試験の完遂の観点から反省点として挙げられると考える。一方、記述した通り、事業化において無視できない ICH ガイドライン改訂の議論が始まり、最終的な試験仕様が決定されない状況では、どのような試験仕様になっても対応可能な開発システムとするためには相応の時間は必要とならざるを得ない状況下での開発でもあった。幸いなことは、ユーザーフォーラムに限らず、NEDO の枠組みから、外部機関から指導を受けることや、情報共有する機会があったことから、測定法の最適化に向けて重要な要素技術を比較的早期に把握することができ、先般ガイドライン改正の現時点までの議論に対応可能な仕様に基づく開発システムとして確立することができた。これらの実施内容と達成度を下記に纏めた (図 9 0)

	実施項目	達成度	課題	達成度
1	創薬スクリーニングシステムの導入	<ul style="list-style-type: none"> プロジェクト開始時、3年目、4年目に実施。 簡易測定システム準備完了 		○
2	基本データの蓄積	細胞塊、高密度培養(2Dシート)について対照剤に関する基本データ蓄積		○
3	事業化計画	3年目、5年目に実施		○
4	2Dシートによる簡易測定システムの開発	周辺機器を踏まえてシステム一式として完成		○
5	細胞評価	開発項目②-1)で作成されたiPS心筋細胞に関する評価を3年目(細胞塊)、5年目(細胞シート)に実施		○
6	ユーザーフォーラム等外部機関との連携	<ul style="list-style-type: none"> ユーザーフォーラムは合計4回開催。 外部機関との個別対応実施 バリデーションに向けた検討実施 慶応大iPS由来心筋評価実施 	ユーザーフォーラムにおける本格的な技術交流までは至らず。	△

図 91. プロジェクト進捗表 (○: 達成した、△: 課題あり、×未実施)

課題	検討項目	内容
細胞 (ヒト)	ES細胞	心筋 [Cellestis社、リプロセル社]
	iPS細胞	心筋 [CDI社、リプロセル社、Axiogenesis社]
計測法	●装置	●アルファMED社の細胞外電位(FP)計測装置をベースに強制電気刺激モジュールを独自改良。⇒強制拍動刺激の操作性向上
	●電極	●多検体処理用電極プレートを開発。スループットが向上したことにより、薬剤の同時比較、時間比較等の生産性・汎用性の向上が期待される
	●自動解析ソフト	●細胞外電位(FP)計測データの簡便な自動解析ソフトを開発。⇒データ精度(再現性含)、解析スループットの向上
品質	バリデーション	ヒト臨床情報がある薬剤のデータを取得、心臓不整脈予測力を評価。複数施設間で同一プロトコル下でのバリデーション実験を実施し、当社技術の品質を検証
全体	事業化戦略	当社独自のスループットを向上させた不整脈予測技術(FP計測)をコア技術として早期事業化を図る。議論中のガイドライン改訂にも対応

図9 2. 開発システムの実用化プロセスに向けた課題、検討項目とその具体的内容。赤字は開発システムの品質および生産性に関わる項目。

想定したビジネスモデルとしては、製薬メーカーからの受託試験や、製薬企業への機器導出と、その稼働に伴うコンサルティングも想定された。事業内容は、いずれも顧客からの要望を募ったうえで、各ニーズについて事業性を精査したうえで実施することは言うまでもない。最終的には、新規化合物物に関する受託試験に展開することを目標と設定した(図9 2)。

以上の要約は2つに大別することができる(図9 3)

1. 受託ビジネスとしての事業性評価

- 2D心筋シート計測技術とNEDO成果(新規パラメーター: FPD/ STV)を活用し、心毒性を効果的に予測する創薬スクリーニング試験法の受託メニュー化。
- 既存法(hERG/APD試験)との有効的な組合せによる試験メニューの充実を図り、競争力向上による事業展開。

2. 心筋細胞チップ、計測システムの試作・製品化

- 心筋細胞2Dシート製作技術、ノウハウ等の集積と技術基盤(知識を含め)の社内確立。
- 外部機関との連携による実用化簡易計測システムを活用する事業化展開。

図9 3. 事業化に向けた取り組み(要約)

プロジェクト開発した要素技術を踏まえ、事業化に向けた実施内容の進捗を（図 94）に纏めた。

項目	H24年度		H25年度			判断データ
	12	3	6	9	12	
2Dシート・作製プロコール	→		◎			lkr,lks阻害薬 (FPD, STV)
外液検討	→			→		◎ 薬剤濃度実測
ペーシング(プロコール化)	→			→		◎ NaA, FPD, STV
薬剤データ収集	→ QC延長薬			→ 催不整脈薬		◎ TQC DB選択
実用化簡易計測機開発	→			→		◎ BP,FPD, STV
パフォーマンス評価 (スループット, データ品質)		→				◎ 候補対照薬剤評価・検出力
標準試験プロコール確立			◎			自動能/CDI-MC
ユーザー対応				→		◎ 個別ニーズ対応
学会等発表				▲ ▲ ▲		セミナー開催を含む

図 9 4. 事業化に向けた取り組みの進捗

これらを踏まえ、①開発システムを構成する機器を準備し、②評価プロトコルを実施し、③背景データやバリデーションに進み、ヒト iPS 細胞由来心筋を用いた催不整脈作用予測試験サービスを主事業内容として位置付け、開発システムを普及させるために、周辺デバイスの販売も行う計画を立案した。なお、既述した顧客先への導出については個別対応として進める計画としている（図 9 4）。

① 外部バリデーションと標準プロトコルの完成

- (1) 自律/強制拍動下の薬剤評価と標準化試験法の確立
- (2) 2D細胞シート用マルチウェル電極プレートの開発
- (3) 心筋細胞の比較と背景データの蓄積

② 既知薬剤を用いた背景データ集積とDB公開(限定)

当社独自選択薬剤+顧客から要望のあった薬剤
(Feasibility study、Validation等による蓄積)



- 受託試験開始: H26年度(予定)
- 非GLP/スクリーニング試験
- 技術導出:ご要望を受け, 個別対応
- 実用化装置、実用化電極基板等の外販

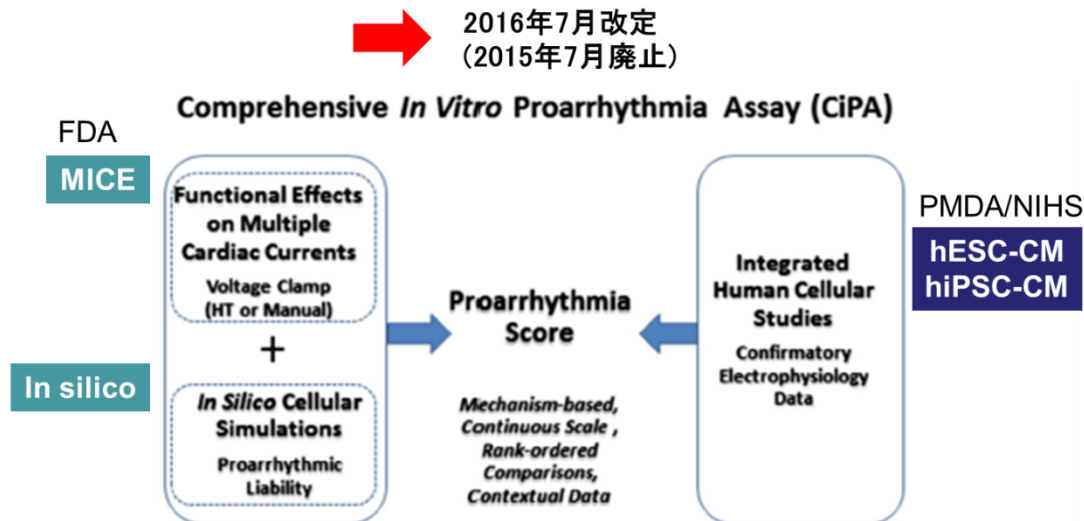
図 9 5. 創薬スクリーニングシステムを用いた事業化のまとめ

プロジェクト研究成果の普及活動に関する実績（予定を含む）を図9 6にまとめた。

- プレスリリース
 - H26年7月2日 副作用を高精度に予測するシステムを開発 –ヒトiPS細胞由来の心筋細胞を使用–
- 学会等で技術紹介
 1. H25年6月19日 第40回日本毒性学会学術年会(幕張)
「自社主催ランチョンセミナーで技術紹介」
 2. H26年7月3日 第41回日本毒性学会学術年会(神戸)
「自社主催ランチョンセミナーでビジネス化紹介」
 3. H26年7月26日 安全性試験受託研究機関協議会 主催セミナーで講演
 4. H26年8月26日 (公財)ヒューマンサイエンス振興財団
第47回ヒューマンサイエンス・バイオインターフェース(東京)で講演
 5. H26年10月16日 バイオジャパン NEDO主催で成果技術紹介(予定)
- 日本安全性薬理研究会主催の情報・技術交流会に参画(H26年年5月開催)
- ICHガイドライン改定に向けての対応
 - H25年年7月13日 FDA担当官がE14廃止とS7B改正を提案
 - CiPA: Comprehensive *in Vitro* Proarrhythmia Assay
 - 複数のイオンチャネルを評価する *In Vitro*アッセイ、*In Silico*モデル、ヒト由来心筋細胞を用いた評価系を活用した医薬品の催不整脈作用評価の新たなパラダイムの検討
 - ICH SE14の廃止、7A/Bガイドラインの改訂を目指す
 - パートナー: FDA, EMA, Health Canada, PMDA, NIHS, CSRC, SPS, HESI
 - 国産iPS-CMを用いる評価にプロジェクト技術をH26年度より提供

図9 6. 成果の普及と実用化への対応

FDA提唱のICH S7B改定(E14廃止)に向けて国内外でデータ集積



Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: A meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium (Philip T. Sager *et al.* American Heart Journal Volume 167, Number 3 292-300)

Schematic of the elements of the CiPA. Abbreviations: HT, high throughput; Manual, manual patch voltage clamp.

図9 7. ICHテストガイドライン改正動向

プロジェクト成果の本格的創薬応用として、FDAを中心とする3極の規制当局が、ICHテストガイドライン改正に向けてH25年より検討を開始した(図96,97)。プロジェクトの完了と相まって、このような規制当局の動きに加え、アカデミア、製薬企業においても、iPS技術の創薬への活用を実行ベースでの検討と議論が本格化しており、当該開発技術の産業活用が期待される。

(3) 次世代システム技術

すでにプロトタイプシステムは第2世代機プロトタイプまで完成しており、開発班としての開発は成功したと。引き続き、評価班、ユーザーフォーラム、外部製薬会社にプロトタイプを実際に評価

してもらいながら、使用に際するさまざまな問題点のフィードバックを受ける。そのフィードバックを基にユーザーフレンドリーでより精度の高い実用機（第3世代機システム）の開発を目指す。更に国際標準化組織である HESI や ICH 等での標準化についての検討対象となることで国際機関とともに標準化を目指すとともに、並行して国内外の有力製薬企業と実用化評価を共同で行い、実質的に世界標準の心筋毒性試験とすることを目指す。すでに実用化されている既存動物実験（AV-block 犬モデル）と同程度以上の精度での結果が得られたことから、現状の技術においてすでに、成果の実用化の可能性は充分高いと思われる。そのためには、最適細胞、システム構築、システム評価を行う共同研究グループが協力して目標を達成することが必要である。創薬という観点では心毒性検査市場の規模は100億円—300億円以上あると考えられる。

強制拍動刺激を心筋細胞に与え、同時に拍動刺激によって発生するノイズを除去した状態で細胞応答の変化を多点で計測できるシステムに改造を行い、細胞電位推定機能、細胞間伝達ゆらぎ計測機能、全自動波形解析機能・分析機能、薬剤濃度制御・モニター機能を有する操作自動化が可能な実用化プロトタイプ機となる第2世代実用化システム（第3世代機プロトタイプ）の構築までを当初計画通り完了させることができた。第2世代システム開発に伴い、ユーザー企業の意見を取り入れながら段階的に全自動波形解析ソフトウェア、細胞電位解析用ソフトウェアの開発を行う事にも成功した。特に、本技術の基本特許が日本および米国で成立し、すでに手法について日本の知財権の確保をするという研究開発担当の最大の役割は果たす事ができたと考えている。現在、さらに継続した分割出願および後続する一連の補強特許の出願によって、技術の優位性を知財敵艦点から確保して、将来の産業化を促進するように引き続き努めてゆく予定である。

今後の産業化については、それを担当する能力を持った企業への技術移転を行う事ができれば、推進することが可能であると考えられる。すでに複数の海外企業からはオファーが来ているが、国産技術として普及させるためにまずは国内企業による産業化の可能性に期待をしている。

添付資料

- 健康安心イノベーションプログラム基本計画
- プロジェクト基本計画
- 特許・文献・外部発表等リスト
- 事前評価関連資料

健康安心イノベーションプログラム基本計画

健康安心イノベーションプログラム基本計画

平成22年4月1日
産業技術環境局
製造産業局

1. 目的

今後、世界に類を見ない少子高齢化が進展する我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現することは喫緊の課題である。具体的には、個の医療を通じて健康寿命の延伸、QOL（Quality of Life：生活の質）の向上を図ることが求められている。

この目的を達成するため、創薬に資する基盤技術の開発、再生医療の確立、医療機器・福祉機器の開発等の手段を適切に組み合わせることによって、健康維持増進、疾患の早期診断、および適切な治療法の提供を実現するほか、関連産業の競争力強化・ベンチャー企業の創出を図る。

2. 政策的位置付け

○新成長戦略（基本方針）（2009年12月30日）

強みを活かす成長分野として「グリーン・イノベーション」分野と「ライフ・イノベーション」分野を策定、人材育成や技術開発を後押しするほか、需要を創造すると同時に利用者の立場に立った社会ルールの変更に取り組む。また、政府は新たな分野に挑戦する人々を支援するとしている。

○革新的医薬品・医療機器創出のための5か年戦略（2009年2月12日改訂）

内閣府、文部科学省、厚生労働省および経済産業省の間において革新的な医薬品・医療機器の創出に向け、研究資金の集中投入、ベンチャー企業の育成、臨床研究・治験環境の整備、アジアとの連携、薬事法における審査の迅速化・質の向上、イノベーションの適切な評価、官民対話等、研究から上市に至る過程の一貫かつ集中的な支援を実施することとしている。

○「ドリームBTジャパン」（2008年12月11日BT戦略推進官民会議）

2002年に策定した「バイオテクノロジー戦略大綱」以降、バイオテクノロジーをめぐる状況が変化してきたことを背景に、新産業の育成・創出、食糧問題解決、バイオマス利用等の課題に対処すべく、イノベーション強化11項目や官民が協働で取り組むべき最重点課題を策定した。

○新経済成長戦略のフォローアップと改訂（2008年9月19日閣議決定）

2006年6月に経済産業省がとりまとめた「新経済成長戦略」を、資源価格の高騰等の構造変化を踏まえフォローアップと改訂を行った。「資源生産性競争」時代における経済産業構造の構築、世界市場獲得と持続的発展のためのグローバル戦略の再構築、地域・中小企業・農林水産業・サービスの未来志向の活性化を3つの柱として、「新経済成長戦略」を強化した。

○「iPS細胞研究の推進について（第一次とりまとめ）」（2008年7月3日総合科学技術会議 iPS細胞研究WG）

iPS細胞研究の成果がもたらす医療への波及効果や新しいバイオインダストリーの進展等について検討を行い、iPS細胞研究を推進するための研究推進体制、国の支援の在り方、知的財産戦略、国際化協力の在り方等を取りまとめた。

○「イノベーション25」（2007年6月閣議決定）

生涯健康な社会形成に向けて中長期的に取り組むべき課題として、治療重点の医療から予防・健康増進を重視する保健医療体系の転換、生命倫理・安全性と医療技術促進政策の調和などをとりあげ、再生医療および在宅医療・介護に係る社会還元加速プロジェクトを実施す

るとともに、臨床研究・臨床への橋渡し研究をはじめとする研究開発ロードマップの提示により所要の措置を講じていくこととしている。

○がん対策推進基本計画（２００７年６月閣議決定）

がん対策基本法に基づき、国、地方公共団体および関係者等が、がん対策を総合的かつ計画的に推進するために策定された基本方針であり、取り組むべき施策の一つとして「がん研究」が取り上げられている。具体的には、現状、診断薬・診断機器の開発、治療薬・治療機器の開発等が推進されているが、さらに、有用な早期診断技術についての研究開発の推進等に取り組むことが提示されている。

○新健康フロンティア戦略（２００７年４月新健康フロンティア戦略賢人会議）、同アクションプラン（２００７年１２月）

健康寿命の延伸や生活の質の向上を図ることを目的として策定された新健康フロンティア戦略および新健康フロンティア戦略アクションプランの中で、「人間の活動領域の拡張に向けた取組」および「医療・福祉技術のイノベーション」において、「先進的予防・診断・治療技術の開発」や「医薬等ベンチャー・基盤産業支援対策」等の施策が提示されている。

3. 達成目標

- ①医薬品開発の成功確率の向上に資する技術開発や、基礎研究から臨床への橋渡し研究等を通じた、医薬品の上市期間の短縮や開発コストの低減を図る。
- ②再生医療の早期実現を目標とし、産業化を促進する。
- ③医療機器¹など先進的な技術開発等の推進による国際競争力の強化、厚生労働省との連携事業（医療機器開発ガイドラインの策定など）による開発から製品に至るまでの期間の短縮等を達成する。
- ④高齢者・障害者の自立促進や介護者の負担軽減等のため、優れた技術や創意工夫のある福祉機器の実用化支援を行う。

4. 研究開発内容

I. 創薬・診断

I-1. 革新的医薬品の創出

（１）糖鎖機能活用技術開発（運営費交付金）

①概要

我が国が強みを持つ糖鎖工学分野において、これまでに取得・開発した「糖鎖遺伝子ライブラリー」「糖鎖構造解析技術」「糖鎖合成技術」を活用し、癌や感染症など様々な疾病に関与する糖鎖の機能を解析する基盤技術を確立し、我が国の優位性を維持するとともに、創薬・診断等の分野における糖鎖機能の産業利用の促進を図る。

②技術目標および達成時期

２０１０年度までに、糖鎖や糖タンパク質などの機能を分子レベルで効率的に解明するための基盤技術、糖鎖の機能解析・検証技術、および、有用性が認められた糖鎖機能を産業利用するための基盤技術を開発する。

③研究開発期間

２００６年度～２０１０年度

（２）ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）（運営費交付金）

①概要

¹ 医療機器は、画像診断システムなどの「診断機器」、内視鏡下手術支援システムなどの「治療機器」、その他家庭用医療機器、歯科材料、眼科用品を含む。

我が国が強みとする完全長cDNAライブラリーやタンパク質相互作用解析技術等を最大限に活用し、重要なタンパク質ネットワーク解析等により創薬の対象となるタンパク質の効率的な絞り込みを行うとともに、疾患等の生物現象を制御する化合物の探索まで、一貫した技術開発を行う。

②技術目標および達成時期

2010年度までに、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術や疾患を制御する化合物の探索・評価技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(3) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）

①概要

創薬上重要な膜タンパク質は複合体を形成していることも多く、その構造解析および相互作用の情報を取得することは創薬研究において重要であるが、その解析は非常に困難である。そこで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造およびその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析および構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。

②技術目標および達成時期

2011年度までに生体内に近い状態での膜タンパク質およびその複合体の構造解析手法、リガンド分子との相互作用解析手法を確立するとともに、当該技術から得られた情報に基づく in silico スクリーニング手法を確立する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(4) 新機能抗体創製技術開発（運営費交付金）

①概要

ポストゲノム研究や診断・創薬等において重要となっている機能を有する抗体を創製するため、創薬標的として産業利用上重要だが、解析が困難な膜タンパク質やタンパク質複合体を特異的に認識できる抗体を系統的に作成する技術や抗体の分離・精製を高効率に行うための技術の開発を行う。

②技術目標および達成時期

2010年度までに、産業上有用と考えられるタンパク質やその複合体を特異的に認識する抗体を創製するための基盤技術、および、製造コスト低減に向けた抗体の分離・精製を高効率に行う技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(5) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）

①概要

がん対策等の国民医療高度化を目指し、急速に発展している多様なバイオ技術の融合と医療現場への円滑な橋渡しによるイノベーションの創出・加速のため、総合科学技術会議のもと文部科学省および厚生労働省と連携し、橋渡し研究の強化に一体的に取り組む。具体的には、民間企業と臨床研究機関（文部科学省や厚生労働省が整備する橋渡し研究拠点等）が一体となって行う、医薬品、医療機器、診断ツール等の開発を推進する。

②技術目標および達成時期

2011年度までに医療現場および臨床研究からのフィードバックに基づく研究開発により、医薬品、医療機器、診断ツール等の研究開発成果を円滑に実用化につなげる仕組みを確立する。

③研究開発期間

2007年度～2012年度

(6) 幹細胞産業応用促進基盤技術開発（運営費交付金）

①概要

創薬プロセス効率化や再生医療への応用が期待されるiPS細胞等幹細胞について、産業応用に不可欠な基盤技術の開発や、iPS細胞に関連した産業応用事例創出の促進を行う。

②技術目標および達成時期

2013年度までに、安全で効率的なiPS細胞の作製技術を開発するとともに、産業応用に繋げるために必要となるiPS等幹細胞の選別・評価・製造技術を開発し、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。

③研究開発期間

2009年度～2013年度

(7) 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発

①概要

がんや生活習慣病などの後天的疾患の原因として重要な因子である「後天的な遺伝子の変化（後天的ゲノム修飾）」を解析する技術や疾患との関連づけにより診断の指標を特定する手法の開発等を実施する。

②技術目標および到達時期

2014年度までに、後天的ゲノム修飾解析技術開発として、極微量サンプルに対応した解析技術の高精度・高感度化、システム化を行うとともに、開発した技術やモデル動物等を活用し、後天的ゲノム修飾と疾患との関連づけを行う。また、探索的実証研究として、制御因子の探索・同定、制御に関する検証を行う。

③研究開発期間

2010年度～2014年度

I-2. 診断ツールの開発

(1) 個別化医療実現のための技術融合バイオ診断技術開発（運営費交付金）

①概要

我が国が有する微細加工技術・表面処理技術といったナノテク等の強みを活かし、染色体異常を高感度、高精度かつ迅速、安価で非コード領域までを検出するゲノムアレイや解析基盤技術開発を行うとともに、診断への応用を可能とする全自動解析システムの開発を行う。

②技術目標および達成時期

2010年度までに、BACを用いた非コード領域を含むゲノム全領域を検出できる高精度ゲノムアレイを開発する。さらに、臨床現場において、微量サンプル（数ナノグラム）から、12時間以内に染色体異常（増幅、欠失、コピー数多型等）を、低コストかつ定量性・再現性を確保して検出ができる自動染色体異常解析システムのプロトタイプを開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) 糖鎖機能活用技術開発（運営費交付金）【再掲】

(3) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）【再掲】

I-3. 創薬・診断に係る基盤整備

(1) 統合データベースプロジェクト

①概要

ライフサイエンス分野では、自身の研究成果と既存の研究成果と対比することにより、自身の研究成果の仮説を考案する手がかりが得られたり、新しい実用化の発想が得られたりする可能性があるため、国家プロジェクト等により産生された研究データを一括して活用できるデータベースが、産業界や社会から要望されている。

このため、政府全体の“生命科学データベース統合化の取組”の一環として、経済産業省関連の公的資金研究から産出される研究データを、産業上の有用性を評価のうえ、統合化し、産業界等に提供する。

②技術目標および達成時期

2010年までに経済産業省関連機関により実施されたライフサイエンス分野の研究開発プロジェクトの成果に関する情報提供サイトを構築・運用する。また、ヒト遺伝子に関連した各種研究成果に関しては、平成17～19年度に実施したゲノム情報統合プロジェクトにおいて構築した「ヒト全遺伝子のアノテーション統合データベース (H-Invitational)」を基礎として、経済産業省関連の研究成果を連携して利用できるシステムを構築する。

③研究開発期間

2008年度～2010年度Ⅱ. 再生医療

Ⅱ. 再生医療

Ⅱ-1. 再生医療の実用化

(1) 次世代機能代替技術研究開発事業（うち、次世代再生医療技術研究開発）（運営費交付金）

①概要

生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスや、少量の細胞により生体内で自律的に成熟する自律成熟型再生デバイスの実用化を促進するとともに、これら再生デバイスにおける有効性・安全性の評価技術等を確立する。

②技術目標および達成時期

2014年度までに、生体内で自己組織の再生を促進するための細胞外マトリクス、幹細胞誘導・分化促進因子等の再生医療技術を確認し、工学的技術との組み合わせにより、セルフリー型再生デバイスおよび自律成熟型再生デバイスを作製する。また、それらを用いて再生した組織等の有効性・安全性に関して、低侵襲で高精度な評価技術の標準化に取り組む。さらに、開発する再生デバイスを低侵襲に植込む技術を確認する。

③研究開発期間

2010年度～2014年度

(2) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）【再掲】

Ⅱ-2. 再生医療に係る基盤整備

(1) 医療機器開発ガイドライン策定事業

①概要

医療機器産業への投資、新規企業参入、医療機器研究開発の促進および薬事法審査の円滑化・迅速化にも資する「医療機器開発ガイドライン」を厚生労働省との連携の下、産学の協力を得て、個別の機器ごとに策定し、国内での機器開発促進の環境整備を図るとともに、医療機器産業に製品として、または部品・部材の供給として参入しやすい環境を整備するための方策を検討し、医療機器分野の活性化・国際競争力の強化を図る。

②技術目標および達成時期

2010年度までに、今後実用化が期待される先進的な医療機器について、工学的安定性や生物学的安定性等に関する詳細な評価基準を策定し、開発ガイドラインとして取りまとめる。また、平成21年度事業において検討・整理された医療機器産業への参入を促す方策や部材供給の活性化方策の具体化を図るため、様々なマッチング機会をコーディネートする人材育成や事業者の海外展開支援策並びに部材供給取引契約にかかるガイドラインの作成およびPL保険のあり方や普及方法等についてさらに検討を加え、医療機器産業の活性化に資するものとする。

③研究開発期間

2008年度～2010年度

Ⅲ. 医療機器

Ⅲ-1. 医療機器の開発

がん超早期診断・治療機器総合研究開発プロジェクト（運営費交付金）

概要

がんの診断・治療の革新を一体の課題として捉え、多様な治療法選択が可能となり早期のステージのがんに対して、治療方針を決定するために必要ながん性状、並びに位置に関する正確な情報を確実に取得し、得られた診断情報に基づく侵襲性の低い治療を可能とすることで、患者のQOLを向上させる。

技術目標および到達時期

診断機器システムとしては、分子プローブ等の薬剤並びにそれらの薬剤を用いる高感度・高解像度な画像診断システム、病理診断の効率・信頼性を向上させる病理画像等診断支援システム、遺伝子診断の信頼性を向上させる検体前処理技術を備えた血中がん分子・遺伝子診断システム等を開発する。

治療機器システムとしては、より侵襲性の低い外科的治療を実現する内視鏡下手術支援システム並びに高精度で容易なオペレーションを可能とするX線治療機器を開発する。

研究開発期間

2010年度～2014年度

（うち、内視鏡下手術支援システムは 2007年度～2011年度）

（2）基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）【再掲】

（3）次世代機能代替技術研究開発事業（うち次世代心機能代替治療技術研究開発）（運営交付金）

①概要

小柄な体格にも適用可能な小型の製品で、血栓形成や感染を防ぎ、長期在宅使用が可能な植込み型補助人工心臓を開発する。

②技術目標および達成時期

2014年度までに、小児を含めた小柄な患者への適用を可能とする、長期使用可能な小型の植込み型補助人工心臓を作製するとともに、有効性および機械的・電氣的・生物学的な安全性の評価を行う。

③研究開発期間

2010年度～2014年度

Ⅲ-2. 医療機器の開発に係る基盤整備

（1）医療機器開発ガイドライン策定事業【再掲】

①概要

医療機器産業への投資、新規企業参入、医療機器研究開発の促進および薬事法審査の円滑化・迅速化にも資する「医療機器開発ガイドライン」を厚生労働省との連携の下、産学の協力を得て、個別の医療機器ごとに策定し、国内での機器開発促進の環境整備を図るとともに、医療機器産業に製品として、または部品・部材の供給として参入しやすい環境を整備するための方策を検討し、医療機器分野の活性化・国際競争力の強化を図る。

②技術目標および達成時期

2010年度までに、今後実用化が期待される先進的な医療機器について、工学的安定性や生物学的安定性等に関する詳細な評価基準を策定し、開発ガイドラインとして取りまとめる。また、平成21年度事業において検討・整理された医療機器産業への参入を促す方策や部材供給の活性化方策の具体化を図るため、様々なマッチング機会をコーディネートする人材育成や事業者の海外展開支援策並びに部材供給取引契約にかかるガイドラインの作成およびPL保険のあり方や

普及方法等についてさらに検討を加え、医療機器産業の活性化に資するものとする。

③研究開発期間

2008年度～2010年度

IV. 福祉機器

IV-1. 福祉機器の開発

(1) 福祉用具実用化開発推進事業（運営費交付金）

①概要

「福祉用具の研究開発および普及の促進に関する法律」（福祉用具法）に基づき、高齢者・障害者および介護者の生活の質の向上を目的として、生活支援分野、社会活動支援分野を中心とした福祉用具の実用化開発を行う民間企業等に対し、研究開発費用の2/3以内を補助することで、多様な福祉ニーズに対応するとともに、当該分野における新産業の創出、成長の促進に資する。

②技術目標および達成時期

高齢者、障害者の生活支援、社会参加支援に資する福祉用具の実用化開発を促進することにより、高齢者等の生活における負担の軽減を図り、安全で安心のできる生活を実現する。より具体的な目標として、各々の補助対象事業終了後3年経過した時点で50パーセント以上を製品化する。

③研究開発期間

1993年度～

IV-2. 福祉機器の開発に係る基盤整備

(1) 福祉機器情報収集・分析・提供事業

①概要

福祉用具法に基づき、民間による福祉機器の実用化のための研究開発を促進するため、福祉機器に関する産業技術に係る情報の収集・分析・提供事業を実施することで、当該分野における福祉機器の普及や新規産業の創出・成長の促進を図る。

②技術目標および達成時期

各年において福祉機器に係るニーズ等の調査の実施および福祉用具実用化推進事業で開発された福祉機器の各種展示会等への出展による情報収集・分析・情報の提供を実施する。

③研究開発期間

1993年度～

5. 政策目標の実現に向けた環境整備（成果の実用化、導入普及に向けた取組）

[標準化]

・各プロジェクトで得られた成果のうち、標準化すべきものについては、適切な標準化活動（国際規格（ISO/IEC）、日本工業規格（JIS）、その他国際的に認知された標準の提案等）を実施する。具体的には、統合データベースの情報やインターネットに公開されている情報資源等を相互運用するために、必要なデータ形式、フォーマット等の標準化を推進する。

・高齢者等支援機器については、関係省庁との緊密な連携の下、標準化等の手法による実用化および普及の方策を検討する。

[導入普及促進]

・ゲノム研究の進展は、個人遺伝情報を用い、情報技術を駆使した幅広い医療・健康サービスによる人々の健康や福祉の向上、さらには新しい医療・健康サービス産業の育成に重要な役割を果たそうとしているが、その際、人権を尊重し、社会の理解と協力を得て、個人遺伝情報の厳格な管理の下で適正に事業を実施することが不可欠である。そのため、個人遺伝情報を安全に保護す

るために作成した事業者が遵守すべきルール「経済産業分野のうち個人遺伝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（2004年12月17日告示）」（個人遺伝情報保護ガイドラインという）を適切に運用する。

[産業間連携]

・バイオベンチャーは商品を市場に送り出すまでに長期間を要する、研究開発のために多額の資金調達を必要とする、事業を行うために様々な規制・審査を経る必要がある等、他業種のベンチャー企業と比較して困難な問題を抱えていることが多い。そのため、バイオベンチャーの様々な問題に対して施策への反映を検討し、補助金等の施策の紹介を通じてバイオベンチャー振興を図る。

・「産業クラスター計画」に基づき、全国のバイオクラスターにおいて、企業間のネットワーク形成の支援、産学連携による研究開発プロジェクトの支援、地域系ベンチャーファンドによる資金調達支援等を実施していく。

・医療の進歩・国民の健康に貢献する医療機器・用具の産業技術力向上および国際競争力強化を目指し、研究開発から市場化までのすべてのプロセスにおけるマクロな戦略の検討と、医療機器の重要性について社会的認知の向上を実現するための仕組みおよび個別プロジェクトの形成をはかることを使命とした「医療技術産業戦略コンソーシアム（METIS）」が平成13年に設立され、平成21年10月より第4期に入っている。。

[プロジェクト等間の連携について]

・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）については、タンパク質機能解析・活用プロジェクトの成果を活用することで、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術を開発する。

・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）については、「生体高分子立体構造情報解析」の成果を活用することで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造およびその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析および構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。

・糖鎖機能活用技術開発については、糖鎖合成関連遺伝子ライブラリー構築、糖鎖エンジニアリングプロジェクトの成果を活用することで、糖鎖の機能を効率的に解析するための基盤技術を開発する。

・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発の「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」、「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」については、必要に応じ、各々の成果を活用し、効率的、効果的な研究開発を図る。

[関係機関との連携]

・総合科学技術会議が推進する基本政策推進専門調査会 分野別推進総合PT ライフサイエンスPTおよび科学技術連携施策（「生命科学の基礎・基盤」、「臨床研究・臨床への橋渡し研究」）の下、各プロジェクトについて、関係府省との適切な連携を図る。

[その他]

・一段と激化する特許競争の中、成果実用化・効率的な研究開発を推進するため、プロジェクト企画段階から、研究テーマ周辺の論文および特許状況のサーベイ実施やプロジェクト実施段階における特許出願後の事業化構想等、特許に関する戦略的取組（プロパテントアプローチの導入）を実施する。

・医療機器の審査体制の強化による薬事法審査の迅速化の観点から、2004年より独立行政法人産業技術総合研究所の工学系研究者を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ派遣しているところである。

・福祉機器においても、中小企業等産業側の観点を福祉政策に活かすため2008年より独立行政法人産業技術総合研究所の職員を厚生労働省に派遣中である。

6. 研究開発の実施に当たっての留意事項

事業の全部又は一部について独立行政法人の運営費交付金により実施されるもの（事業名に（運営費交付金）と記載したものは、中期目標、中期計画等に基づき、運営費交付金の総額の範囲内で、当該独立行政法人の裁量によって実施されるものである。

なお、適切な時期に、実用化・市場化状況等について検証する。

7. 改訂履歴

平成12年12月28日付けがん・心疾患等対応高度医療機器プログラム制定。

平成14年2月26日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。

平成14年2月28日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。

がん・心疾患等対応高度医療機器プログラム（平成12・12・27工総第13号）は、廃止。

平成15年1月27日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画（平成14・02・25産局第4号）は、廃止。

平成15年3月10日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。

健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画（平成14・02・05産局第2号）は、廃止。

平成16年2月3日付け制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画（平成15・01・23産局第4号）および健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画（平成15・03・07産局第17号）は、本プログラム基本計画に統合することとし、廃止。

平成17年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成16・02・03産局第12号）は、廃止。

平成18年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成17・03・25産局第1号）は、廃止。

（9）平成19年4月2日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成18・03・31産局第2号）は、廃止。

（10）平成20年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成19・03・20産局第5号）は、廃止。

（11）平成21年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成20・03・25産局第6号）は廃止。

（12）平成22年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成21・03・26産局第3号）は廃止。

プロジェクト基本計画

(健康安心イノベーションプログラム)
「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発」
基本計画

バイオテクノロジー・医療技術部

1. 研究開発の目的・目標・内容

(1) 研究開発の目的

多能性を有する幹細胞は様々な細胞に分化する能力を有している。適切に誘導を行うことで神経、心筋、膵臓β細胞など様々な細胞を得ることができる。このため、創薬における薬効評価や安全性薬理試験などの創薬スクリーニング、発生・分化や疾患メカニズムの解明、再生医療への応用など生命科学や医療への貢献が大きく期待されている。中でも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を容易に得られること、免疫拒絶反応を回避あるいは軽減可能であることなどから、有用な細胞源として期待が大きい。また、2012年に「成熟細胞が初期化され多能性を獲得し得ることの発見」がノーベル生理学・医学賞の対象となり、社会的にもiPS細胞を始めとする各種のヒト幹細胞の活用の促進につなげることが注目され期待が高まっている。

しかし、ヒト幹細胞を産業利用に繋げるためには、細胞の効率的な確保方法、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目的細胞を選別する方法、品質を維持・管理し培養する方法の確立など、「品質の確保されたヒト幹細胞の安定的な大量供給」を可能とすることが、幅広い応用に繋げていくうえでの根幹となる基盤技術として極めて重要である。このためには幹細胞の性質をよりよく理解した上で「幹細胞の品質評価指標」を設定することが必要である。

一方、ヒト幹細胞の産業応用として最も早い実用化が期待されている創薬分野では、ヒト幹細胞から分化誘導を行った各種ヒト細胞を、開発候補薬の有効性や安全性の評価に用いることで、開発効率の向上やリスクを低減する技術の開発が求められている。中でも安全性評価については、製薬企業全体で共通的に用いることが可能である。薬効と副作用は表裏一体の関係にあり、創薬研究のより早い段階で、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重要な情報である。このため、現在用いられている動物細胞ベースの技術を革新し、ヒト個体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が重要な課題となっている。

こうした状況を踏まえ、本研究開発は、様々な細胞に分化する能力を有するヒト幹細胞の産業利用促進の重要な基盤となる、品質の管理されたヒト幹細胞を安定的に大量供給する技術の開発を行う。また、ヒト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ヒトiPS細胞や、その他のヒト幹細胞等を、いち早く産業応用に繋げるとともに、培養装置や基材などの周辺産業を含めた国際市場への展開を図り、産業競争力の確保に繋げることが期待できる。加えて、①品質の管理された細胞源の安定的な供給体制の構築が促進され、再生医療の早期実現の促進、②創薬研究のより早い段階において、開発候補薬を効率よく絞り込むことが可能となり、開発期間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、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「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。また、「医療イノベーション5か年戦略」(平成24年6月医療イノベーション会議策定)においても、「再生医療やその他幹細胞関連産業の実現化のため、iPS細胞等幹細胞を安定的に大量供給可能とする基盤技術を開発」することや、「新薬開発の効率性の向上を図るため、iPS細胞を用いた医薬品の安全性評価システムを開発」することが位置づけられている。

(2) 研究開発の目標

本研究開発では、ヒト幹細胞の産業応用、とりわけ臨床応用を妨げている根本原因となっている「ヒト幹細胞の

品質評価指標」を策定し、再生医療への応用を可能とする品質レベルで管理されたヒト幹細胞を、安定的に大量供給可能とする技術を開発する。

また、ヒトiPS細胞等幹細胞から効率的に分化誘導したヒト心筋細胞等を用い、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と再現性をもって予測する心毒性評価システムを確立する。

(3) 研究開発内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

① ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発(平成22～25年度)

(本研究開発項目は、平成20～22年度に実施した「安全かつ効率的なiPS細胞作製のための基盤技術の開発」及び「iPS細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発」を発展的に統合し、平成23年度から5年計画で新規に開始する。なお、平成22年度補正予算により前倒しで着手する。)

② ヒト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(平成20～25年度)

2. 研究開発の実施方式

(1) 研究開発の実施体制

① 本研究開発は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(以下、「NEDO」という)が、単独ないし複数の、国内に研究開発拠点を有する本邦企業及び大学等の研究機関(国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りではない。)から公募によって研究開発実施者を選定後、共同研究契約等を締結する研究体を構築し、委託して実施する。

② 本研究開発に参加する各研究開発グループの有する研究ポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、研究体にはNEDOが委託先決定後に指名する研究開発責任者(プロジェクトリーダー)を置き、その下に研究者を可能な限り結集して効果的な研究開発を実施する。

③ 研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」については、国立大学法人京都大学iPS細胞研究所 副所長 中畑龍俊氏をプロジェクトリーダーとし、その下で細胞ソース毎に設置したサブプロジェクトリーダーが、それぞれの研究テーマの達成目標を実現すべく研究開発を実施するとともに、研究テーマ間に共通する事項に対しては連携の上で効率的に研究開発を進める。

細胞ソース毎に設置するサブプロジェクトリーダー

・ES細胞領域: 国立大学法人京都大学物質-細胞統合システム拠点 拠点長 中辻憲夫

・iPS細胞領域: 国立大学法人京都大学iPS細胞研究所 副所長 戸口田淳也

・滑膜由来間葉系幹細胞領域: 株式会社ツーセル 代表取締役社長 辻紘一郎

・Muse細胞領域: 国立大学法人東北大学大学院医学系研究科 教授 出澤真理

・間葉系幹細胞領域: 独立行政法人国立成育医療研究センター 研究所 生殖・細胞医療研究部 幹細胞・生殖学研究室 室長 阿久津英憲

④ 研究開発項目②「ヒト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」については、国立大学法人東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授 安田賢二氏をプロジェクトリーダーとし、その下に研究者を可能な限り結集して効率的な研究開発を実施する。

(2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDOは、経済産業省及び研究開発実施者と密接な関係を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。

具体的には、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」については、研究開発に参加していない外部有識者で構成される運営会議を組織し、目標達成に向けた研究開発マネジメント体制を構築する。研究開発項目②「ヒト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」については、機動的に会議を開催し変化に即応するとともに、研究開発に参加していない外部有識者で構成される運営会議を組織し、目標達成に向けた研究開発マネジメント体制を構築する。

3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成20年度から平成25年度までの6年間とする。

4. 評価に関する事項

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、外部有識者による評価を実施する。

研究開発項目①については、中間評価を平成25年度に実施する。

研究開発項目②については、中間評価を平成23年度、事後評価を平成26年度に実施する。なお、平成22年度を持って発展的に終了した研究開発項目については、終了時点までの成果をもって、平成23年度の中間評価の際に事後評価を実施するものとする。

中間評価結果を踏まえ必要に応じプロジェクトの加速・縮小・中止等見直しを迅速に行う。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

5. その他重要事項

(1) 研究開発成果の取り扱い

① 共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発成果のうち、下記共通基盤技術に係る研究開発成果については、NEDO、実施者とも普及に努めるものとする。

- a) 安全かつ高効率なヒトiPS細胞の作製技術
- b) 再生医療の細胞源として利用可能な品質を保持したヒト幹細胞の大量供給技術
- c) 各種幹細胞の性質に関する多次元情報を統合したデータベース
- d) ヒト幹細胞から分化誘導した心筋細胞等を用いた安全性(毒性)等評価技術

② 知的基盤整備事業又は標準化等との連携

得られた研究開発の成果については、知的基盤整備又は標準化等との連携を図るため、データベースへのデータ提供、標準案の検討や提案を積極的に行う。

③ 知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、すべて委託先に帰属させることとする。

また、得られた研究開発成果の知財管理を適切に実施することとする。

④ 成果の産業化

a) 受託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るため、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビジネスモデルを念頭に置き研究開発を行うとともに、研究開発の進捗等を考慮し、これら取り組みのあり方とビジネスモデルについて必要な見直しを行う。

b) 受託者は、上記a)で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

(2) 基本計画の変更

NEDOは、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済状況、内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本研究開発は、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号に基づき実施

する。

(4) 関連指針の厳守

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」、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」、「ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律」、「特定胚の取扱いに関する指針」、「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」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」を厳守する。

6. 基本計画の改訂履歴

(1) 平成21年1月、制定。

(2) 平成23年1月、改訂。内外の研究開発動向に鑑み、研究開発項目①及び研究開発項目②を発展的に統合し、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」を新たに設定。再生医療への応用を可能とする細胞源の確立を目標として、平成23年度から5年計画で新規に着手すべく改訂。なお、平成22年度補正予算により前倒しで着手。

(3) 平成24年3月、改訂。研究開発マネジメント体制の確定等を踏まえて改訂。

(4) 平成25年2月、改訂。幹細胞研究を取り巻く現状を踏まえ、1.(1)研究開発の目的部分に加筆。

(5) 平成26年1月、改訂。日本版NIHの創設に向けて、医療分野における研究開発関連予算の要求が一元化されたことに伴い、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」が平成25年度をもって中止になったことを受けて改訂。

(別紙)研究開発計画

研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」(平成25年度末で中止)

1. 研究開発の必要性

幹細胞は、創薬における薬効評価や安全性薬理試験などの創薬スクリーニング、発生・分化や疾患メカニズムの解明、再生医療への応用など生命科学や医療への貢献が大きく期待されている。

しかし、ヒト幹細胞の示す性質は、提供者の年齢、由来する組織の違いや疾患の有無によって、特にiPS細胞においては樹立方法や樹立後の培養方法の違い等によっても異なることが指摘されている。こうした細胞源を産業応用、とりわけ再生医療のための細胞源として応用可能とするためには、安全かつ均一な性質をもった細胞の選別と、その品質を維持・管理することが必要である。

2. 研究開発の具体的内容

(1) ヒト幹細胞の安定な培養・保存技術の開発

研究者の手技の違いを排除し、一定条件での安定した培養操作を可能とするため、ロボット技術や画像処理技術などを組み合わせた自動培養技術を開発する。また、ヒト幹細胞の有用な性質を損なわずに安定培養が可能な、成分が明確かつ異種生物由来の成分を含まない培養液・培養基材を開発する。さらに、凍結融解後の回収率が高く、ユーザーへの提供方法を考慮した凍結保存技術の開発を併せて行う。

(2) ヒト幹細胞の品質評価指標の開発

由来する組織や樹立方法によってヒト幹細胞が示す異なる分化指向性や造腫瘍性等の性質の違いを、未分化な状態において簡便かつ迅速に評価・判別可能とする品質評価指標を開発する。具体的には、明らかにしようとする性質を設定し、様々なヒト幹細胞、iPS細胞の由来となる細胞、2.(1)の技術を用いて継代したヒト幹細胞などから、多次元の情報(核型、エピゲノム、ncRNA、遺伝子発現、タンパク発現、糖鎖など)を取得する。これらの情報をバイオインフォマティクス技術により統合的に関連づけたデータベースを構築するとともに、データの比較等によってヒト幹細胞の性質の記述に重要な項目をキーインデックスとして整理し、品質を評価する指標を開発する。

(3) ヒト幹細胞の品質管理・安定供給技術の開発

2.(1)と2.(2)の緊密な連携の下、インフォマティクスによる仮説の提示とウェットによる検証を繰り返すことによって双方向の情報フィードバックを行い、培養・保存技術と品質評価指標を同時並行的に向上させる。さらに、確立した品質評価指標に基づき、再生医療用の細胞源として利用可能な品質を担保したヒト幹細胞を、安定的に大量供給するシステム(一連の処理を連続的に自動処理可能な自動継代・大量調製システム)を構築する。本結果を踏まえ、ヒト幹細胞の評価基盤技術を確立するとともに、これを用いたヒト幹細胞の標準化原案の策定を行う。

3. 達成目標

(1) 最終目標(平成27年度)

「ヒト幹細胞の品質評価指標」を策定し、再生医療への応用を可能とする品質レベルで管理された4種以上のヒト幹細胞を、安定的に大量供給可能とするシステムを確立する。加えて、確立した品質評価技術をベースとするヒト幹細胞の標準化原案を策定する。

(2) 中間目標(平成25年度)

ヒト幹細胞の培養操作を自動化した安定培養装置のプロトタイプを完成させるとともに、本装置を用いて複数の異なる性質を持ったヒト幹細胞の培養実験を通じて、改良の基礎となる培養液・培養基材のプロトタイプを完成させる。また、融解後の生存率が80%以上となる結保存技術を構築する。

加えて、細胞から得られる多次元情報の統合によって説明される、ヒト幹細胞の品質管理に有効な評価指標候補を複数策定する。

研究開発項目②「ヒト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. 研究開発の必要性

ヒトiPS細胞等幹細胞は、ヒトの疾患メカニズム解明や薬剤感受性の試験などの創薬研究や、再生医療で用いる細胞源など、様々な分野での活用が期待されている。

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剤でも、市販後に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、ヒトにおけ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。そのため、前臨床の段階で開発候補薬の有効性が確認されいながら、従来の副作用評価技術では正確なヒトへの副作用の予測が困難だったため休眠化している多数の開発候補薬も、より安価で正確な評価技術が確立すれば上市できることが期待される。

こうした事態を改善し、より安全性の高い医薬品を効率良く開発することを可能とするため、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必要である。

2. 研究開発の具体的内容

(1)ヒト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や誘導工程の改良を、2.(2)の機能評価データを踏まえ、効率的な分化誘導技術を開発する。

(2)ヒト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、既存法との比較等によって心毒性等評価システムの有用性を評価するとともに、2.(1)で分化誘導を行ったヒト心筋細胞の機能の検証を行う。また、製薬企業等によるユーザー評価結果を踏まえてシステムの改良を行う。これにより、健常人及び心疾患患者における薬物の心毒性等を高精度に予測可能な創薬スクリーニングシステムの開発を行う。

3. 達成目標

(1)最終目標(平成25年度末)

健常人由来、心疾患患者由来のヒトiPS細胞等幹細胞を活用し、心筋細胞等へ効率的に分化誘導を行い、これを用いて開発候補薬の心毒性等の有無を高い感度と特異度をもって予測できる、製薬企業等が利用可能な創薬スクリーニングシステムを確立する。利用する心筋細胞については、通常のフェーズ I 試験における治験者数と同等の体制となるような数の、異なるヒトiPS細胞等幹細胞から分化させたものを用いることが可能な、細胞供給の準備体制を整えるものとする。

(2)中間目標(平成23年度末)

心筋細胞等へ効率よく分化させる技術を開発し、同等の性質を有した細胞の提供を可能にする。正常者及び遺伝性QT延長症候群患者各3名からiPS細胞を樹立し、これらの細胞から心筋細胞を誘導し、創薬スクリーニングシステムを確立する。また、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、そのユーザー評価を受け、システムの確立に向けて必要となる開発課題を明確化する。以下、平成22年度末をもって終了。得られた成果を発展的に統合し、新たに研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術開発」に着手。

(別紙)研究開発計画

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」

1. 研究開発の必要性

人工多能性幹細胞(iPS細胞)は、疾患メカニズム解明のための優れた研究材料として、また、再生医療や創薬における安全性評価など様々な応用分野での活用が期待される新たな細胞源であり、多能性幹細胞の一つと位置づけられている。また、ヒト体細胞組織から樹立できることから、ES細胞に比べて倫理的な障壁が少ないと考えられている。

一方、複数の研究者によってiPS細胞誘導の再現性が示されたこと、樹立にかかるコストも小さく、その学術的・産業的なインパクトが大きいことから、世界各国でiPS細胞に関する研究が急速な勢いで進められている状況にある。京都大学のグループでは、Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Mycの4因子(現在ではガン遺伝子c-Mycを除いた3因子によっても誘導されることが示されているが、4因子に比べて誘導効率が低い)を、一方、ウイスコンシン大学のグループでは別の4因子(Oct3/4、Sox2、Nanog、Lin28)をレトロウイルスベクターによってヒト体細胞へ導入し、ヒトiPS細胞が誘導可能であることが報告されている。また、ハーバード大学のグループでは、4因子のうちのc-Mycの代わりに低分子化合物を処理することでiPS細胞が誘導可能であることを報告している。

このように異なる遺伝子の組み合わせ、あるいは化合物との組み合わせによってiPS細胞が誘導可能であることが示されており、より誘導効率の高い因子やその組み合わせがあることが予想されることから、より安全かつ効率的なiPS細胞作製技術のいち早い開発が重要な課題である。

2. 研究開発の具体的内容

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。

また、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併せて行う。

これら手法を組み合わせることによって、従来法に比べて誘導効率が高く、かつ、ガン化等の危険性が少ない、より安全性を向上させた細胞源の確立を可能とする新規iPS細胞誘導技術の開発を行う。

3. 達成目標

(1)最終目標(平成25年度末)

ヒトiPS細胞を誘導する遺伝子及び化合物等を複数種見だし、これらを組み合わせることにより、従来法に比べて安全で均一なヒトiPS細胞を効率よく作製する新規誘導技術を確立する。

(2)中間目標(平成23年度末)

これまでに報告されたヒトiPS細胞誘導因子に比べて誘導効率を高める遺伝子因子の探索を行い、少なくとも1つ以上の新規な誘導因子を同定する。また、遺伝子導入を代替し、ヒトiPS細胞の誘導を可能とする化合物等の探索・検討を行い、少なくとも1種以上の新規誘導因子を同定する。加えて、開発を進める遺伝子導入法、化合物等が腫瘍化を誘発する危険性が少ないことを確認する。

研究開発項目②「iPS細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発」

1. 研究開発の必要性

iPS細胞や体性幹細胞等の自己由来の多能性幹細胞は、免疫拒絶反応を回避、あるいは軽減しうる再生医療用の細胞源として、さらには、疾患メカニズムの解明等の基礎研究や創薬スクリーニングへの応用が期待されている。

しかし、提供者の年齢、由来する組織の違いや疾患の有無によって、また、iPS細胞においては用いる誘導方法によっても、得られた細胞が示す性質が異なることが指摘されている。また、こうした細胞源を産業応用に供するためには、安定な幹細胞を確立・供給するための細胞操作技術の開発に加えて、個人及び集団によるゲノムの多様性も考慮しつつ、安全かつ均一な性質をもった細胞の選別と、その品質を維持・管理することが必要となる。

このため、こうした相関関係をゲノムレベルで詳細に解析し、その情報を活用することによって、iPS細胞等幹細胞を産業利用に繋げるために必要となる、安全かつ均一な性質を持った細胞源を供給可能とする、細胞の選別・評価・製造技術等の開発が重要である。

2. 研究開発の具体的内容

(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、その差をもたらす特定の誘導法に対する感受性の違いを明らかにするため、ギガシーケンサーを活用し、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、細胞の性質や特徴を評価し、選別するために有用なマーカーを開発するとともに、マーカー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行う。

(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技術の開発を行う。

3. 達成目標

(1) 最終目標 (平成25年度末)

種々の解析により、iPS細胞等幹細胞の性質を特徴づけるマーカーを用いて各種幹細胞の状態を的確に判定し、特定の性質を有する細胞のみを選別する技術を確立する。また、性質と品質を長期間安定的に保持可能とする細胞の品質管理技術を確立する。これら技術を組み合わせ、細胞の選別・評価・製造技術を確立し、品質が管理された細胞の安定供給が可能なシステムを構築する。

(2) 中間目標 (平成23年度末)

iPS細胞等幹細胞について、樹立された株毎、あるいは各種幹細胞毎の性質を規定している因子を探索・同定するとともに、均質な細胞を選別・評価・製造するための基礎的知見を得る。

【研究発表・講演（口頭発表も含む）】

慶應義塾大学

<原著、論文>

1. Chen H, Hattori F, Murata M, Li W, Yuasa S, Onizuka T, Shimoji K, Ohno Y, Sasaki E, Kimura K, Hakuno D, Sano M, Makino S, Ogawa S, Fukuda K. Common marmoset embryonic stem cell can differentiate into cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 369(3) 2008
2. Tanaka T, Tohyama S, Murata M, Nomura F, Kaneko T, Chen H, Hattori F, Egashira T, Seki T, Ohno Y, Koshimizu U, Yuasa S, Ogawa S, Yamanaka S, Yasuda K, Fukuda K. In vitro pharmacologic testing using human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 385(4):497-502, 2009
3. Hattori F, Chen H, Yamashita H, Tohyama S, Satoh YS, Yuasa S, Li W, Yamakawa H, Tanaka T, Onitsuka T, Shimoji K, Ohno Y, Egashira T, Kaneda R, Murata M, Hidaka K, Morisaki T, Sasaki E, Suzuki T, Sano M, Makino S, Oikawa S, Fukuda K. Nongenetic method for purifying stem cell-derived cardiomyocytes. *Nat Methods.* 7(1):61-6. 2010
4. Shimoji K, Yuasa S, Onizuka T, Hattori F, Tanaka T, Hara M, Ohno Y, Chen H, Egashira T, Seki T, Yae K, Koshimizu U, Ogawa S, Fukuda K. G-CSF promotes the proliferation of developing cardiomyocytes in vivo and in derivation from ES and iPS cells. *Cell Stem Cell.* 6(3):227-37. 2010
5. Seki T, Yuasa S, Oda M, Egashira T, Yae K, Kusumoto D, Nakata H, Tohyama S, Hashimoto H, Kodaira M, Okada Y, Seimiya H, Fusaki N, Hasegawa M, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from human terminally differentiated circulating T cells. *Cell Stem Cell.* 7(1):11-4. 2010
6. Li W, Yamashita H, Hattori F, Chen H, Tohyama S, Satoh Y, Sasaki E, Yuasa S, Makino S, Sano M, Fukuda K. Simple autogeneic feeder cell preparation for pluripotent stem cells. *Stem Cell Res.* 6(1):83-9, 2011
7. Onizuka T, Yuasa S, Kusumoto D, Shimoji K, Egashira T, Ohno Y, Kageyama T, Tanaka T, Hattori F, Fujita J, Ieda M, Kimura K, Makino S, Sano M, Kudo A, Fukuda K. Wnt2 accelerates cardiac myocyte differentiation from ES-cell derived mesodermal cells via non-canonical pathway. *J Mol Cell Cardiol.* 52(3):650-9, 2012
8. Seki T, Yuasa S, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus. *Nature Protocols.* 7(4):718-28. 2012
9. Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsushita T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovascular Research* 95(4):419-29, 2012
10. Tohyama S, Hattori F, Sano M, Hishiki T, Nagahata Y, Matsuura T, Hashimoto H, Suzuki T, Yamashita H, Satoh Y, Egashira T, Seki T, Muraoka N, Yamakawa H, Ohgino Y, Tanaka T, Yoichi M, Yuasa S, Murata M, Suematsu M, Fukuda K. Distinct Metabolic Flow Enable Large-Scale Purification of Mouse and Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *Cell Stem Cell* 12(1):127-37. 2013
11. Okata S, Yuasa S, Yamane T, Furukawa T, Fukuda K. The generation of induced pluripotent stem cells from a patient with KCNH2 G603D, without LQT2 disease associated symptom. *J Med Dent Sci.* 60(1):17-22, 2013

<口頭発表（国内）>

1. 江頭徹、湯浅慎介、福田恵一 Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells 第 11 回日本再生医療学会 2012 年 6 月 12 日
2. 江頭徹、湯浅慎介、福田恵一 Disease characterization using Long QT syndrome specific induced pluripotent stem cells. ISSCR 10th annual meeting 2012 年 6 月 14 日
3. 遠山周吾 メタボロームによる代謝解析を利用した ES/iPS 由来心筋精製法第 16 回日本心不全学会 学会総会（於：仙台国際センター）2012 年 12 月 2 日
4. 遠山周吾 Cardiac Regenerative Medicine from Metabolic Approaches 第 77 回日本循環器学会学会総会（於：パシフィコ）2013 年 3 月 16 日
5. 福田恵一 iPS 細胞を用いた家族性突然死症候群の病態解明：現状と展望 第 27 回日本不整脈学会 2012 年 7 月 7 日

6. 福田恵一 iPS 細胞を用いた心臓の再生と心臓病の病態解明 第 48 回日本小児循環器学会 2012 年 7 月 6 日
7. 福田恵一 iPS 細胞の循環器領域への応用 第 107 回日本循環器学会北海道地方会教育講演 I 2012 年 6 月 23 日
8. 福田恵一 メタボローム解析を利用した心筋細胞と多能性幹細胞の分離精製法の開発 第 11 回日本再生医療学会 2012 年 6 月 13 日
9. 福田恵一 iPS 細胞を用いた心筋再生と心臓病の病態解明 第 116 回日本眼科学会 2012 年 4 月 7 日
10. 福田恵一 iPS 細胞を用いた心臓病の病態解明と心臓再生医学への展開 山口大学講演会 2013 年 1 月 30 日
11. 福田恵一 iPS 細胞を用いた心臓病の病態解明と心臓再生医学への展開 東京医科歯科大学講演会 2013 年 1 月 17 日
12. 福田恵一 iPS 細胞を用いた重症心不全治療の開発と心臓病の病態解明 福島県立医大循環器セミナー 2012 年 12 月 5 日
13. 福田恵一 21 世紀における心臓病研究：iPS 細胞を用いた心臓病の病態解明と治療法開発 第 16 回日本心不全学会イブニングセミナー 2012 年 12 月 1 日
14. 福田恵一 循環器治療を変える医療機器イノベーション 『メタボローム解析を利用した心筋細胞と多能性幹細胞の分離精製法の開発』 BioJapan2012 World Business Forum 2012 年 10 月 12 日
15. 福田恵一 iPS 細胞を用いた遺伝性 QT 延長症候群の病態解明：現状と将来展望 第 27 回犬山不整脈カンファレンス 2012 年 8 月 18 日
16. 福田恵一 iPS 細胞の循環器病学への応用 第 86 回日本薬理学会年会特別講演 2013 年 3 月 23 日 13/15
17. 福田恵一 メタボローム解析を利用したヒト iPS 細胞由来再生心筋細胞の純化精製法の開発 第 12 回日本再生医療学会シンポジウム 2013 年 3 月 21 日

<口頭発表（海外）>

1. 江頭徹、湯浅慎介、福田恵一 Novel Disease Analysis Using Long QT Syndrome-Specific Induced Pluripotent Stem Cells BCVS 2012 New Orleans 2012 年 7 月 24 日
2. 福田恵一 iPS cells as a source of cardiomyocyte regeneration and its application for cell transplantation
3. World congress of Cardiology 2012 2012 年 4 月 19 日
4. 福田恵一 Generation of human iPS cells from a single drop of peripheral blood using Sendai virus without genome destruction. The Asian Pacific Heart Rhythm Society 2012 2012 年 10 月 4 日
5. 福田恵一 Disease characterization of long QT syndrome using iPS cell-derived cardiomyocytes. The Asian Pacific Heart Rhythm Society. 2012 2012 年 10 月 5 日

(2) 特許等

なし

(3) 受賞実績

1. 江頭徹 第 11 回日本再生医療学会 YIA Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells 2012 年 6 月 14 日
2. 遠山周吾 第 35 回 International Academy of Cardiovascular Sciences Japan Section Young Investigator's Award Distinct Metabolic Hallmarks Enable Purification of Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes 2012 年 7 月 7 日
3. 遠山周吾 第 3 回日本学術振興会育志賞 代謝の特性を利用した多能性幹細胞由来心筋細胞における大量精製法の確立 2013 年 3 月 4 日
4. 福田恵一 第 9 回井村臨床研究賞 心臓病のトランスレーショナルリサーチ 2012 年 12 月 8 日

(4) その他特記事項

成果普及の努力（プレス発表等） 14/15

1. 2012 年 11 月 16 日 ES 細胞・iPS 細胞から心筋細胞の大量精製に成功 新聞（朝日、読売、毎日、日本経済、産経など）NHK「おはよう日本」

2. 2012年5月 iPS 細胞を用いた心臓病の診断と治療 呼吸と循環
3. 2012年 iPS 細胞からの心筋細胞の分化誘導法の開発 内分泌・糖尿病・代謝内科

東京医科歯科大学

学会発表

「学会（依頼講演）」51件

1. 安田賢二, 野村典正, 寺菌英之, 金 賢徹, 服部明弘. 1細胞からのオンチップ・テクノロジー：生命科学研究、創薬支援技術から早期医療診断技術まで. 応用物理学会有機分子バイオエレクトロニクス分科会3月研究会, 東京, 2014年3月.
2. 安田賢二, 野村典正, 寺菌英之. 創薬支援を目指したオンチップ Quasi-in vivo 細胞ネットワークスクリーニングアッセイ. 第13回日本再生医療学会総会, 京都, 2014年3月.
3. 安田賢二. オンチップ・セロミクス 1細胞からの生命システムの理解を目指して. (独)日本学術振興会 ゲノムテクノロジー第164委員会第41回研究会, 東京, 2013年11月.
4. Kenji Yasuda, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Hideyuki Terazono, Akihiro Hattori. On-chip cellomics technology for studying dynamics of cellular networks. 5th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry, Hiroshima, Japan, Oct. 2013.
5. Kenji Yasuda. On-Chip Quasi-In Vivo iPS Cardiomyocyte Network Screening Assay for Predictive Cardiotoxicity beyond hERG and QT Assays. 5th TMDU International Summer Program Symposium, Tokyo, Japan, Aug. 2013.
6. 安田賢二. オンチップ心筋細胞ネットワークスクリーニング系による心毒性予測技術の開発. 早稲田大学第19回藤目記念セミナー, 軽井沢, 2013年8月.
7. 安田賢二. 「1細胞」からの生命の理解を目指したバイオツール・デバイス 知るための「技術開発」を中心に. (独)科学技術振興機構 研究開発戦略センター 1細胞解析の俯瞰に関するワークショップ, 東京, 2013年7月.
8. 安田賢二. オンチップ細胞ネットワーク機能計測システム技術と創薬への応用. 大日本住友製薬(株)講演会, 大阪, 2013年7月.
9. Kenji Yasuda. On-Chip Cellomics: Single-Cell-Based Constructive Cell-Network Assay for Quasi-In Vivo Screening of Cardiotoxicity. 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Osaka, Japan, July 2013.
10. 安田賢二, オンチップ・セロミクステクノロジー：1細胞からの生命システムの理解と応用, 理化学研究所細胞システムコロキウム SeriesIV Bioengineering and Biomechanics, 和光, 2013年6月.
11. 安田賢二. On-chip quasi-in vivo pre-clinical cardiac toxicity: Testing compounds beyond hERG and QT assay using spatiotemporal human cardiomyocytes measurement. Collectis 社サイエンスセミナー "Stem cells in Drug Discovery", Tokyo, May 2013.
12. Kenji Yasuda. On-chip quasi-in vivo cardiomyocyte network screening assay for predictive cardiotoxicity beyond hERG and QT assays. Stem Cells & Cell Signaling -2013 Meeting, Waltham, USA, May 2013.
13. Kenji Yasuda. On-chip cardiomyocyte network screening assay for predictive cardiotoxicity. HESI Cardiac Safety Committee Workshop: Stem Cell-Derived Cardiomyocytes as Models of Cardiac Pathobiology and Toxicity, Cambridge, USA, March 2013.
14. 安田賢二. セロミクス解析システムチップ. 平成24年度北東北ナノメディカルクラスター研究会 ウィンターキャンプ, 田沢湖, 2012年12月.
15. 安田賢二. Quasi in vivo スクリーニング:細胞ネットワークを用いた in vitro 創薬支援技術の最前線. 平成24年度再生医療サポートビジネス懇話会, 京都, 2012年10月.
16. 安田賢二, 金 賢徹, 寺菌英之, 荒尾徳三, 大津敬, 中村圭靖, 宮城洋平, 西尾和人. Development of on-chip imaging flow cytometry technology for circulating tumor cell analysis. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012年9月.
17. Kenji Yasuda. On-chip cellomics: constructive cell network assay of cardiomyocytes, and

- neurons for quasi in-vivo drug discovery technology. University of Helsinki Viikki, Life Science Campus Seminar, Helsinki, Finland, June 2012.
18. 安田賢二. わたしが研究者になった道 -博士課程進学を考えている諸君に向けて、先輩からのメッセージ-, 早稲田大学ホリスティック講演会, 東京, 2012年5月.
 19. 野村典正, 金子智行, 安田賢二. Quasi-in vivo 測定系: 心毒性検査のための心筋細胞ネットワークの機能的再構築. 第85回日本薬理学会年会, 京都, 2012年3月.
 20. Kenji Yasuda. On-chip cellomics for quasi-in vivo drug discovery technology, The 11th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems Conference, Maui, USA, Dec. 2011.
 21. Kenji Yasuda. Constructive Understanding of Multicellular Network using On-chip Cellomics Technology, 9th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM-19) Toyako, Japan, Dec. 2011.
 22. 安田賢二. オンチップ細胞ネットワーク計測の最前線: On-chip quasi-in vivo モデルによる創薬支援技術の開発, 東京大学第4回マイクロ・ナノ多機能デバイス研究ネットワークシンポジウム, 東京, 2011年11月.
 23. Kenji Yasuda. Algebraic and geometric understanding of cells, epigenetic inheritance of phenotypes between generations using on-chip single cell cultivation system, 5th International Conference on Analysis of Microbial Cells at the Single Cell Level, Carry-Le-Route, France, Nov. 2011.
 24. 安田賢二, 金子智行, 野村典正, 浜田智代. オンチップ細胞ネットワーク計測技術を用いた quasi-in vivo 心毒性予測スクリーニング系の開発, 日本安全性薬理研究会 第1回情報交換会, 東京, 2011年10月.
 25. 古川哲史, 黒川洵子, 安田賢二, 金子智行, 野村典正, 浜田智代. ES細胞・iPS細胞を用いた薬物心毒性評価, 第319回CBI学会研究講演会, 東京, 2011年8月.
 26. 安田賢二, 金子智行, 野村典正. 機能的疑似 in-vivo オンチップ細胞ネットワークモデルの構成的構築とその創薬支援応用, 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011年9月.
 27. 安田賢二. Constrictive On-Chip Cellomics Technologies for in vitro Cell-Network Drug-Screening System Exploiting Human iPS Cells and Other Pluripotent Stem Cells, (独)科学技術振興機構 日本-シンガポール共同ワークショップ バイオエレクトロニクス, Kyoto, Japan, Aug. 2011.
 28. Kenji Yasuda, Atsushi Sanbuissho. Human iPS/ES cell technology and its application to toxicology testing, especially focusing on in vitro cardiac function toxicity, 2011 HESI Annual Meeting, Alexandria, USA, June, 2011.
 29. Kenji Yasuda, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Hyonchol Kim, Hideyuki Terazono, Masahito Hayashi. On-Chip Cellomics Technology for Constructive Understanding of Deterministic Mechanisms in Higher Complexity of Living Systems, 44th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists (cosponsor: the Asia-Pacific Developmental Biology Network), Ginowan, Japan, May 2011.
 30. Kenji Yasuda. Nanotechnology for On-chip Cellomics Screening, Pittcon Conference&EXPO 2011, Atlanta, USA, March, 2011.
 31. 安田賢二. オンチップ・セロミクス計測: ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた細胞ネットワークからの生命の理解と創薬スクリーニングへの応用展開, 第10回日本再生医療学会総会, 東京, 2011年3月.
 32. 安田賢二, 金子智行, 野村典正. ヒト ES/iPS 細胞を用いた薬剤の催不整脈性評価技術の開発, 第2回日本安全性薬理研究会学術年会, 東京, 2011年2月.
 33. 安田賢二. 「決定論」は生命システムの高次階層をどこまで説明できるのか-1細胞からの構成的生命システムの理解, 早稲田大学大学院先進理工学研究科 第30回生命医科学科講演会, 東京, 2011年2月.
 34. Kenji Yasuda. Development of in vitro drug-screening system exploiting human iPS cells and other pluripotent stem cells, The Swiss-Japanese Meeting on Industrial Use of iPS, Basel, Switzerland, Nov. 2010.
 35. Kenji Yasuda. Frontier of single-cell-based on-chip screening assay: from single-cell-based purification to single-cell genome/proteome analysis, NEDO-OSEO Workshop: Industrial application of iPS Cells, Paris, France, Nov. 2010.
 36. Kenji Yasuda. Development of in vitro drug-screening system exploiting human iPS cells and

other pluripotent stem cells, NEDO-OSEO Workshop : Industrial application of iPS Cells, Paris, France, Nov. 2010.

37. Kenji Yasuda, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura. On-chip pre-clinical cardiac toxicity: Testing compounds beyond hERG and QT using hES/hiPS cardiomyocyte re-entry cell network model on a chip, 日本学術振興会 未踏・ナノデバイステクノロジー第151委員会 ナノバイオフィュージョン分科会 第16回研究会, 東京, 2010年12月.
38. 安田賢二. パネルディスカッション 生物物理、今後の50年：細胞ネットワーク, 日本生物物理学会 50周年記念講演会, 東京, 2010年12月.
39. 安田賢二. iPS細胞からの電気生理学：オンチップ細胞ネットワークモデルの心電学への応用の可能性, 心電学フロンティア2010-第45回理論心電図研究会, 大分, 2010年10月.
40. 安田賢二. iPS細胞等多能性幹細胞を用いた創薬スクリーニングの新展開, BioJapan2010, 横浜, 2010年10月.
41. 安田賢二. 1細胞からの構成的生命科学：オンチップ・セロミクス計測技術を用いた1細胞からの後天的情報解析とその応用展開, (財)生産開発科学研究所 医工学フォーラム, 京都, 2010年7月.
42. 安田賢二. オンチップ・セロミクス技術を用いた心筋細胞ネットワークモデルの構成的構築と1細胞計測技術の開発, 第37回日本トキシコロジー学会学術年会・ワークショップ iPS細胞等多能性幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの新展開・新知見からその魅力に迫る-, 沖縄, 2010年6月.
43. 安田賢二. オンチップ・セロミクス：チップ上に細胞から臓器機能モデルを作る構成的アプローチ, 第37回日本トキシコロジー学会学術年会, 沖縄, 2010年6月.
44. 金子智行、野村典正、安田賢二. オンチップシステムを用いた細胞ネットワークの再構成：秩序から別の秩序への創発の過程についての考察, リズム現象の研究会 V, 東京, 2010年5月.
45. 安田賢二、金子智行、野村典正、杉山篤. 「新ツール」iPS細胞を用いたQT延長・催不整脈評価, 第83回日本薬理学会年会 日本トキシコロジー学会・日本薬理学会合同シンポジウム「安全性薬理試験の現状と将来」, 大阪, 2010年3月.
46. Kenji Yasuda, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Atsushi Sugiyama. On-Chip Pre-Clinical Cardiac Toxicity: Testing Compounds Beyond hERG and QT using hES/hiPS Cardiomyocyte Cell Network Re-Entry Model on a Chip, 2nd International Conference On Drug Discovery & Therapy, Dubai, UAE, Feb. 2010.
47. 安田賢二, 福田恵一, 杉山 篤. 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, JBIC2009, 東京, 2009年10月.
48. 安田賢二. オンチップ・セロミクス計測技術を用いた心筋細胞ネットワーク計測, 第61回 生物工学会 年会 シンポジウム (生物と機械の融合ーバイオリボティクスー), 名古屋, 2009年9月.
49. 安田賢二. 1細胞からの構成的生命科学：オンチップ・セロミクス計測技術を用いた1細胞からの後天的情報解析, 生物物理若手の会 夏の学校, 支笏湖, 2009年8月.
50. 安田賢二. オンチップ・セロミクス技術を用いた細胞ネットワーク創薬支援, 日本薬学会第129年会シンポジウム 「新しい細胞培養システムの開発とその創薬支援研究への応用」, 京都, 2009年3月.
51. 安田賢二. オンチップ1細胞培養計測システムを用いた1細胞への刺激と応答の解析, 平成20年度生理学研究所研究会「細胞死研究の多面的、包括的理解に向けて」, 岡崎, 2009年3月.

「学会（一般・国際）」42件

1. Kenji Yasuda, Fumimasa Nomura, Hideyuki Terazono. On-chip quasi-in vivo cardiomyocyte network screening assay for predictive cardiotoxicity beyond hERG and QT assays. 12th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, Maui, USA, December 2013.
2. Kenji Yasuda, Hideyuki Terazono, Hyonchol Kim, Akihiro Hattori. Complementary Techniques for Non-Invasive Cell Identification, Separation and Purification at Single-Cell Level for Cell-Based Life Science Research and Regenerative Medicine. 12th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, Maui, USA, December 2013.
3. Kenji Matsuura, Akihiro Hattori, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Hideyuki Terazono, Kenji Yasuda. Quantitative Evaluation of Origin of Changes in Electrophysiological Properties of Cells on Micro Electrodes using Impedances Analysis Measurement Setup. 26th

- International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2013), Sapporo, Japan, November 2013.
4. Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Matsu-ura, Hideyuki Terazono, Kenji Yasuda. Importance of Spatial Arrangement of Cell Network Patterns for Precise and Stable Measurement of in Vitro Properties of Cells. 26th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2013), Sapporo, Japan, November 2013.
 5. Hyonchol Kim, Hideyuki Terazono, Hiroyuki Takei, Kenji Yasuda. Fabrication of Cup-Shaped Superparamagnetic Metal Hemispheres for Size-Selective Target Cell Collection. 26th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2013), Sapporo, Japan, November 2013.
 6. Yumiko Asahi, Yasuyuki Abe, Kiyoshi Takasuna, Atsushi Sanbuissho, Kenji Yasuda, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada. Evaluation of Fluctuation of Temporal Field Potential Duration and Spatial Conduction Time in Linear Network of Human-iPS Cell Derived Cardiomyocytes for Predictive Cardiotoxicity Measurement. Safety Pharmacology Society 13th Annual Meeting, Rotterdam, Netherlands, September 2013.
 7. Hideyuki Terazono, Hyonchol Kim, Akihiro Hattori, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda. Toward Quasi-In Vivo from In Vitro Assay (IV): Fabrication of Direction-Controlled Artificial Neuronal Networks Using Agarose-Microetching Method and Single-Cell-Electrodes for Quantitative Evaluation of Neuropsychiatric Disorders. Safety Pharmacology Society 13th Annual Meeting, Rotterdam, Netherlands, September 2013.
 8. Hideyuki Terazono, Hyonchol Kim, Akihiro Hattori, Tomoyo Hamada, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Toward Quasi-In Vivo from In Vitro Assay (III): Noninvasive Identification and Purification Method of Target Cardiomyocyte Cells Using Nuclease Digestive Magnet-Beads-Attached ssDNA Aptamers. Safety Pharmacology Society 13th Annual Meeting, Rotterdam, Netherlands, September 2013.
 9. Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Hideyuki Terazono, Kenji Yasuda. Toward quasi-in vivo from in vitro assay (II). Importance of spatial arrangement of cardiomyocyte network for precise and stable in vitro drug screening measurement. Safety Pharmacology Society 13th Annual Meeting, Rotterdam, Netherlands, September 2013.
 10. Tomoyo Hamada, Fumimasa Nomura, Hideyuki Terazono, Akihiro Hattori, Peter Sartipy, Mitsuhiro Edagawa, Thomas Meyer, Kenji Yasuda. Toward quasi-in vivo from in vitro assay (I). Development of spatial conductance fluctuation measurement assay using a human cardiomyocyte line-network cell chip with multielectrode array system for in vitro predictive proarrhythmic cardiotoxicity. Safety Pharmacology Society 13th Annual Meeting, Rotterdam, Netherlands, September 2013.
 11. Fernando López-Redondo, Junko Kurokawa, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda, Tetsushi Furukawa. Human ES- and Induced Pluripotent Stem-Derived Cardiomyocytes. A Comparative Electrophysiological Study. 57th Annual Meeting of Biophysical Society, Philadelphia, USA, February 2013.
 12. Hyonchol Kim, Hideyuki Terazono, Hiroyuki Takei, Kenji Yasuda. Development of Adaptive SEM Technology for Genome/Proteome Expression Analysis in Single Cell Level. 57th Annual Meeting of Biophysical Society, Philadelphia, USA, February 2013.
 13. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda. Evaluation of On-chip quasi-in vivo cardiac toxicity assay for direct prediction of TdP occurrence using closed-loop-shaped cardiomyocyte network. 57th Annual Meeting of Biophysical Society, Philadelphia, USA, February 2013.
 14. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Simultaneous dual measurement of mechanical responses and electrophysiological properties of cardiomyocytes using on-chip optical image analysis and field potential recording system. 57th Annual Meeting of Biophysical Society, Philadelphia, USA, February 2013.
 15. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Long-term simultaneous dual measurement of electrophysiological properties and mechanical responses of cardiomyocytes using on-chip extracellular field potential recording and real-time optical image analysis. The American Society for Cell Biology 52nd Annual Meeting, San Francisco, USA, December 2012.
 16. Tomoyo Hamada, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Temporal

- External Field Potential Fluctuation Measurement in Constructive Cardiomyocyte Network for in Vitro Predictive Cardiotoxicity. 25th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2012), Kobe, Japan, November 2012.
17. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Quantitative Evaluation of Quasi-electrocardiogram Measurement for Direct Prediction of Lethal Arrhythmic Beating Occurrence using Ring-shaped Cardiomyocyte Network with Ring Electrode Array. 25th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2012), Kobe, Japan, November 2012.
 18. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Development of On-Chip Dual Measurement System for Cardiac Contraction Fluctuation Assay using Simultaneous Recording of Extracellular Field Potential and Optical Image. 25th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2012), Kobe, Japan, November 2012.
 19. Yasuyuki Abe, Tomoko Sakakura, Kiyoshi Takasuna, Atsushi Sanbuissho, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Evaluation of ion channel trafficking of human stem cell derived cardiomyocytes for cardiotoxicity screening. Safety Pharmacology Society 12th Annual Meeting, Phoenix, USA, October 2012.
 20. Hideyuki Terazono, Hyonchol Kim, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda. Toward quasi-in vivo from in vitro assay (V). Non-invasive precise purification of ventricular cells from mixture of differentiated human stem cell derived cardiomyocytes using spot digestion of double alginate layers on a multi-electrode array chip. Safety Pharmacology Society 12th Annual Meeting, Phoenix, USA, October 2012.
 21. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda. Toward quasi-in vivo from in vitro assay (IV). Quasi-electrocardiogram measurement for direct prediction of TdP occurrence using ring-shaped cardiomyocyte network with ring electrode array. Safety Pharmacology Society 12th Annual Meeting, Phoenix, USA, October 2012.
 22. Tomoyo Hamada, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Hideo Takamori, Yasuyuki Abe, Tomoko Sakakura, Kiyoshi Takasuna, Atsushi Sanbuissho, Kenji Yasuda. Toward Quasi-In Vivo from In Vitro assay (III). Evaluation of Temporal Field Potential Duration Fluctuation and Spatial Conduction Velocity Fluctuation of Cardiomyocyte Network for In Vitro Predictive Cardiotoxicity Measurement. Safety Pharmacology Society 12th Annual Meeting, Phoenix, USA, October 2012.
 23. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Toward Quasi-in vivo from in vitro assay (II). Development of on-chip predictive cardiotoxicity assay for cardiac contraction fluctuation measurement using dual recording of electrical field potential and optical image analysis. Safety Pharmacology Society 12th Annual Meeting, Phoenix, USA, October 2012.
 24. Kenji Yasuda, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Tomoyuki Kaneko, Hideo Takamori, Yasuyuki Abe, Tomoko Sakakura, Kiyoshi Takasuna, Atsushi Sanbuissho. Toward quasi-in vivo from in vitro assay (I). On-chip cardiomyocyte network screening assay for predictive cardiotoxicity. Safety Pharmacology Society 12th Annual Meeting, Phoenix, USA, October 2012.
 25. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Quasi-in Vivo Electrocardiogram Measurement Using Convolution of Field Potential Propagation in the On-Chip Cardiomyocytes Network Circuit. Biophysical Society 51th Annual Meeting, San Diego, USA, February 2012.
 26. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Influence of fibroblasts on the synchronization of cardiomyocyte beating and community effect. The American Society for Cell Biology 51st Annual Meeting, Denver, USA, December 2011.
 27. Tomoyo Hamada, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Development of a Constitutive Cell-chip Measurement with Human Cardiomyocytes by using on-chip Cell Multi Electrode Assay. 24th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2011), Kyoto, Japan, October 2011.
 28. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Minimization of Artifacts in Electrical Stimulation with Extracellular Potential Measurement. 24th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2011), Kyoto, Japan, October 2011.

29. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Quasi-in Vivo Heart Electrocardiogram Measurement using Convolution of Field Potential Propagation in Cardiomyocytes Network Circuit. 24th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2011), Kyoto, Japan, October 2011.
30. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Spatiotemporal Poincaré plotting for torsades de pointes prediction in vitro drug-screening system exploiting human iPS cells and other pluripotent stem cells. Biophysical Society 55th Annual Meeting, Baltimore, USA, March 2011.
31. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Yuki Tomoe, Kenji Yasuda. Entrainment of the beating rhythms of cardiomyocyte network with external electric stimulation. The American Society for Cell Biology 50th Annual Meeting, Philadelphia, USA, December 2010.
32. Kenji Yasuda, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura. On-Chip Pre-Clinical Cardiac Toxicity: Testing Compounds Beyond hERG And QT Using hES/hiPS Cardiomyocyte Re-Entry Cell Network Model On A Chip. The 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, Groningen, Netherlands, October 2010.
33. Atsushi Sugiyama, Tetsuo Kitamura, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Peter Sartipy, Keiichi Fukuda, Kenji Yasuda. Analysis of proarrhythmic effects of typical IKr blockers using human ES/iPS cell-derived cardiomyocytes. WorldPharma2010, 16th World Congress on Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen, Denmark, July 2010.
34. Tetsuo Kitamura, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Peter Sartipy, Keiichi Fukuda, Atsushi Sugiyama, Masaru Sekijima, Kenji Yasuda. In vitro preclinical cardiac safety pharmacology: Development of drug proarrhythmic measurement with human embryonic stem cell derived cardiomyocytes network. WorldPharma2010, 16th World Congress on Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen, Denmark, July 2010.
35. Sachie Ohhara, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Community Effect on Drug Sensitivity of Cardiomyocytes Controlled Spatial Patterns by using On-Chip MEA System. Biophysical Society 54th Annual Meeting, San Francisco, USA, February 2010.
36. Yuki Tomoe, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Community Effect to the External Electrical Stimulation on Cardiomyocytes by using On-Chip MEA System. Biophysical Society 54th Annual Meeting, San Francisco, USA, February 2010.
37. Fumimasa Nomura, Tetsuo Kitamura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Development of Novel System for the Functional Analysis of the Cardiomyocytes Network Model Using On-Chip Cellomics Technology. Biophysical Society 54th Annual Meeting, San Francisco, USA, February 2010.
38. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Yuki Tomoe, Kenji Yasuda. Community Effects in Cardiomyocyte Networks Analyzed with On-Chip Single-Cell Measurement System. 49th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, San Diego, USA, December 2009.
39. Hyonchol Kim, Hiroyuki Takei, Kenji Yasuda. Quantitative and Sensitive Detection of Target DNA Using Nano-Particles as Labels. 49th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, San Diego, USA, December 2009.
40. Hattori Akihiro, Hayashi Masahito, Yasuda Kenji. A Novel Cell Purification Device based on Fast Image Analysis in Cellomics Era. 22nd International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2009), Sapporo, Japan, November 2009.
41. Hyonchol Kim, Hiroyuki Takei and Kenji Yasuda. Production of nano-particles created with several materials for labeling of biological molecules. 22nd International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2009), Sapporo, Japan, November 2009.
42. Atsushi Sugiyama, Tetsuo Kitamura, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Yuji Nakamura, Peter Sartipy, Kenji Yasuda. A New In Vitro Model to Detect Proarrhythmic Effects of Drugs on Human Heart Cells. The 9th Annual Meeting of Safety Pharmacology Society, Strasbourg, France, September 2009.

「学会（一般・国内）」 20 件

1. Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Hideyuki Terazono, Kenji Yasuda. Importance of spatial arrangement and community size on cardiomyocyte network for precise and stable in vitro drug screening measurement. 第 51 回日本生物物理学会年会, 京都, 2013 年 10 月.
2. Fernando Lopez-Redondo, Junko Kurokawa, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo

- Hamada, Tetsushi Furukawa, Kenji Yasuda. A comparative study on electrophysiological properties of human iPS and ES-derived cardiomyocytes. 第 51 回日本生物物理学会年会, 京都, 2013 年 10 月.
3. Hideyuki Terazono, Hyonchol Kim, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Non-invasive identification and purification method of target cardiomyocyte cells using cell-surface-binding ssDNA aptamers. 第 51 回日本生物物理学会年会, 京都, 2013 年 10 月.
 4. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Measurement of contractile direction on single-shape-controlled cardiomyocytes by on-chip optical image analysis system. 第 51 回日本生物物理学会年会, 京都, 2013 年 10 月.
 5. Toru Shoji, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Akihiro Hattori, Kenji Yasuda. Development of Dual Recording Assay for Cardiac Function Measurement using Electrical Field Potential and Optical Image Analysis. 第 50 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2012 年 9 月.
 6. Akihiro Hattori, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Quantitative evaluation of cell separation method based on shape recognition using on-chip imaging cell sorter. 第 50 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2012 年 9 月.
 7. Tomoyo Hamada, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Evaluation of temporal fluctuation and spatial fluctuation on cardiomyocyte network for in vitro predictive cardiotoxicity measurement. 第 50 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2012 年 9 月.
 8. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda. On-chip quasi-in vivo cardiac toxicity assay using ring-shaped closed circuit microelectrode with lined-up cardiomyocyte network. 第 50 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2012 年 9 月.
 9. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. Optimization of effective electrical stimulation protocol for cardiomyocyte beating interval control in extracellular potential measurement assay in predictive cardiotoxicity testing. 第 50 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2012 年 9 月.
 10. 高森秀男, 前田優, 坂倉智子, 阿部泰之, 高砂浄, 金子智行, 野村典正, 浜田智代, 安田賢二. ウサギランゲンドルフ灌流心 MAPD 有用性評価 -サルテレメトリーQTc、モルモット乳頭筋 APD 及びヒト ES 細胞 FPD との比較-. 第 3 回日本安全性薬理研究会学術年会, 東京, 2012 年 2 月.
 11. 金子智行, 庄司亨, 野村典正, 南沢享, 安田賢二. 画像ベースによる収縮力と細胞外電位の同時計測技術の開発. 自然科学研究機構 生理学研究所 研究会, 岡崎, 2011 年 11 月.
 12. Tomoyo Hamada, Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Kenji Yasuda. オンチップ細胞計測技術を用いた薬剤の心毒性評価システムに開発. 第 49 回日本生物物理学会年会, 姫路, 2011 年 9 月.
 13. Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Quasi-in vivo heart electrocardiogram measurement using convolution of field potential propagation in cardiomyocyte network circuit. 第 49 回日本生物物理学会年会, 姫路, 2011 年 9 月.
 14. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Tomoyo Hamada, Kenji Yasuda. オンチップ多電極計測システムを用いたヒト ES 細胞由来心筋細胞塊の細胞外電位計測. 第 49 回日本生物物理学会年会, 姫路, 2011 年 9 月.
 15. Akihiro Hattori, Masahito Hayashi, Shin'ichi Ishiwata, Kenji Yasuda. Development of cell analysis and separation system by Ultra fast image analysis. 第 48 回日本生物物理学会年会, 仙台, 2010 年 9 月.
 16. Fumimasa Nomura, Sachie Ohhara, Tomoyuki Kaneko, Kenji Yasuda. Community effect to the drug sensitivity on geometrical patterned cardiomyocytes network by using On-Chip MEA system. 第 48 回日本生物物理学会年会, 仙台, 2010 年 9 月.
 17. Tomoyuki Kaneko, Fumimasa Nomura, Yuki Tomoe, Kenji Yasuda. Community effect of the cardiomyocyte network to the external electrical stimulation. 第 48 回日本生物物理学会年会, 仙台, 2010 年 9 月.
 18. 金子智行, 野村典正, 巴悠記, 安田賢二. 多電極計測システムを用いた心筋細胞ネットワークの集団化効果の理解. 第 47 回日本生物物理学会年会, 徳島, 2009 年 10 月.
 19. 野村典正, 金子智行, 巴悠記, 安田賢二. オンチップ多電極電位計測システムを用いたマウス胎仔心筋細胞における細胞外電位の波形解析. 第 47 回日本生物物理学会年会, 徳島, 2009 年 10 月.

20. 巴悠記、金子智行、野村典正、高戸珠恵、安田賢二. 多電極チップを用いた心筋細胞小集団による長期的心毒性評価法の開発. 第 47 回日本生物物理学会年会, 徳島, 2009 年 10 月.

論文発表

「査読誌掲載論文」 40 件

1. Kaneko T, Nomura F, Hamada T, Abe Y, Takamori H, Sakakura T, Takasuna K, Sanbuissho A, Hyllner J, Sartipy P, Yasuda K. On-chip in vitro cell-network pre-clinical cardiac toxicity using spatiotemporal human cardiomyocyte measurement on a chip. *Scientific Reports*, 4, 4670, 2014.
2. Yasuda K, Hattori A, Hyonchol K, Terazono H, Hayashi M, Takei H, Kaneko T, Nomura F. Non-destructive on-chip imaging flow cell-sorting system for on-chip cellomics. *Microfluidics and Nanofluidics*, 14(6), 907-931, 2013.
3. Yasuda K. On-Chip Cellomics: Single-Cell-Based Constructive Cell-Network Assay for Quasi-In Vivo Screening of Cardiotoxicity. *Proceedings of 35th Annual International Conference of IEEE EMBS*, 2825, 2013.
4. Kaneko T, Takizawa E, Nomura F, Hamada T, Hattori A, Yasuda K. On-Chip Single-Cell-Shape Control Technology for Understanding Contractile Motion of Cardiomyocytes Measured Using Optical Image Analysis System. *Jpn J Appl Phys*, 52, 06GK06, 2013.
5. Hamada H, Kaneko T, Nomura H, Yasuda K. Physiological Sample Uniformity and Time-Course Stability in Lined-Up Structure of Human Cardiomyocyte Network for In vitro Predictive Drug-Induced Cardiotoxicity. *Jpn J Appl Phys*, 52, 06GK05, 2013.
6. Nomura F, Kaneko T, Hamada T, Hattori A, Yasuda K. Advanced Ring-Shaped Microelectrode Assay Combined with Small Rectangular Electrode for Quasi-In vivo Measurement of Cell-to-Cell Conductance in Cardiomyocyte Network. *Jpn J Appl Phys*, 52, 06GK07, 2013.
7. Hamada H, Nomura F, Kaneko T, Yasuda K, Okamoto M. Exploring the implicit interlayer regulatory mechanism between cells and tissue: Stochastic mathematical analyses of the spontaneous ordering in beating synchronization. *BioSystems*, 111, 208-215, 2013.
8. Yasuda K, Hattori A, Hyonchol K, Terazono H, Hayashi M, Takei H, Kaneko T, Nomura F. Non-destructive on-chip imaging flow cell-sorting system for on-chip cellomics. *Microfluidics and Nanofluidics*, 14(6), 907-931, 2012.
9. Yasuda K. On-Chip Cellomics: Constructive Understanding of Multicellular Network Using On-Chip Cellomics Technology. *Jpn J Appl Phys*, 51, 08KA03, 2012.
10. Terazono H, Kim H, Hayashi M, Hattori A, Nomura F, Kaneko T, Yasuda K. A Non-Destructive Culturing and Cell Sorting Method for Cardiomyocytes and Neurons Using a Double Alginate Layer. *PLoS ONE*, 7(8), e42485, 2012.
11. Kaneko T, Nomura F, Hattori A, Yasuda K. Improvement of Electrical Stimulation Protocol for Simultaneous Measurement of Extracellular Potential with On-Chip Multi-Electrode Array System. *Jpn J Appl Phys*, 51, 06FK02, 2012.
12. Nomura F, Kaneko T, Hamada T, Hattori A, Yasuda K. Quantitative Evaluation of Closed-Loop-Shaped Cardiomyocyte Network by Using Ring-Shaped Electrode. *Jpn J Appl Phys*, 51, 06FK06, 2012.
13. Hamada T, Nomura F, Kaneko T, Yasuda K. Importance of Thickness in Human Cardiomyocyte Network for Effective Electrophysiological Stimulation Using On-Chip Extracellular Microelectrodes. *Jpn J Appl Phys*, 51, 06FK03, 2012.
14. Kim H, Terazono H, Hayashi M, Takei H, Yasuda K. Highly Sensitive Detection of Target Biomolecules on Cell Surface Using Gold Nanoparticle Conjugated with Aptamer Probe. *Jpn J Appl Phys*, 51, 06FH01, 2012.
15. Hattori A, Yasuda K. Extended Depth of Field Optics for Precise Image Analysis in Microfluidic Flow Cytometry. *Jpn J Appl Phys*, 51, 06FK05, 2012.
16. Yasuda K. On-Chip Cellomics Assay Enabling Algebraic and On-Chip Cellomics Assay Enabling Algebraic and Geometric Understanding of Epigenetic Information in Cellular Networks of Living Systems. 1. Temporal Aspects of Epigenetic Information in Bacteria. *Sensors*, 12(6), 7169-7206, 2012.

17. Hattori A, Yasuda K. Evaluation of An Centrifuged Double Y-shape Microfluidic Platform for Simple Continuous Cell Environment Exchange, *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 819-827, 2012.
18. Nomura F, Kaneko T, Hattori A, Yasuda K. Label-free shape-based selection of cardiomyocytes with on-chip imaging cell sorting system, *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, S3-003, 1-6, 2011.
19. Nomura F, Kaneko T, Hattori, Yasuda K. On-chip constructive cell-network study (II): On-chip quasi-in vivo cardiac toxicity assay for ventricular tachycardia/fibrillation measurement using ring-shaped closed circuit microelectrode with lined-up cardiomyocyte cell network, *Journal of Nanobiotechnology*, 9, 39, 2011.
20. Kaneko T, Nomura F, Yasuda K. Orientation and community size dependence of pulsatile electrical field stimulation on lined-up cardiomyocytes and rod-shaped single cardiomyocytes, *Jpn J Appl Phys Lett*, 50, 80220, 2011.
21. Kaneko T, Nomura F, Yasuda K. Quasi-in vivo heart electrocardiogram measurement of ST period using convolution of cell network extracellular field potential propagation in lined-up cardiomyocyte cell-network circuit, *Jpn J Appl Phys Lett*, 50, 70213, 2011.
22. Hattori A, Yasuda K. Improvement of Particle Alignment Control and Precise Image Acquisition for On-chip Highspeed Imaging Cell Sorter, *Jpn J Appl Phys*, 50, 06GL06, 2011
23. Kim H, Hayashi M, Terazono H, Takei H, Yasuda K. Production of Double Layered Metal Nano-Cups for Artificial Nano-Space of Biomolecular Reaction, *Jpn J Appl Phys*, 50, 06GJ03, 2011.
24. Hayashi M, Hattori A, Kim H, Terazono H, Kaneko T, Yasuda K. Fully Automated On-Chip Imaging Flow Cytometry System with Disposable Contamination-Free Plastic Re-Cultivation Chip, *Int J Mol Sci*, 12(6), 3618-3634, 2011.
25. Kaneko T, Nomura F, Yasuda K. On-chip Constructive Cell-Network Study (I): Contribution of cardiac fibroblasts to cardiomyocyte beating synchronization and community effect, *Journal of Nanobiotechnology*, 9:21, 2011.
26. Yasuda K, Kaneko T, Nomura F. On-Chip Pre-Clinical Cardiac Toxicity: Testing Compounds Beyond hERG And QT Using hES/hiPS Cardiomyocyte Re-Entry Cell Network Model On a Chip, *Proceeding of The 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*, 716-718, 2010.
27. Yasuda K, Kaneko T, Nomura F. On-Chip Cellomics for Cardiotoxicity: Cell Network Model for Re-Construction of Higher Complexity of Organs, *The Open Conference Proceedings Journal*, 1, 168-177, 2010.
28. Hayashi M, Yasuda K. Simple Microfluidic Continuous Concentration of Microparticles with Different Dielectric Constants Using Dielectrophoretic Force in a V-Shaped Electrode Array, *Jpn J Appl Phys*, 49(9), 97002 1-5, 2010.
29. Kim H, Takei H, Yasuda K. Production of Nanoparticles Using Several Materials for Labeling of Biological Molecules, *Jpn J Appl Phys*, 49(8), 87001 1-7, 2010.
30. Hattori A, Yasuda K. Comprehensive Study of Microgel Electrode for On-Chip Electrophoretic Cell Sorting, *Jpn J Appl Phys*, 49(6), 06GM04 1-4, 2010.
31. Kim H, Kira A, Yasuda K. Non-amplified Quantitative Detection of Nucleic Acid Sequences Using a Gold Nanoparticle Probe Set and Field-Emission Scanning Electron Microscopy, *Jpn J Appl Phys*, 49(6), 06GK07 1-6, 2010.
32. Kim H, Takei H, Yasuda K. Production of Size-Controlled Nanoscopic Cap-Shaped Metal Shells, *Jpn J Appl Phys*, 49(4), 48004 1-2, 2010.
33. Kim H, Negishi T, Kudo M, Takei H, Yasuda K. Quantitative backscattered electron imaging of field emission scanning electron microscopy for discrimination of nano-scale elements with nm-order spatial resolution, *J Electron Microsc*, 59(5), 379-385, 2010.
34. Terazono H, Anzai Y, Soloviev M, Yasuda K. Labelling of live cells using fluorescent aptamers: binding reversal with DNA nucleases, *Journal of Nanobiotechnology*, 8(1), 8, 2010.
35. Kim H, Takei H, Yasuda K. Quantitative evaluation of nano-particle-based labeling at a measurement of DNA microarray, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 144(1), 6-10, 2009.
36. Kim H, Yasuda K, Takei H. Production of nanoscopic metal labels for electron microscopy: Specific detection of target DNA, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 142 (1), 1-6, 2009.
37. Kira A, Kim H, Yasuda K. Homogeneous Immobilization of Probe DNAs on DNA Chip using

- Polyurea Thin Film, *e-J Surf Sci Nanotech (e-JSSNT)*, 7, 728-730, 2009.
38. Shimamoto Y, Suzuki M, Mikhailenko SV, Yasuda K, Ishiwata S. Inter-sarcomere coordination in muscle revealed through individual sarcomere response to quick stretch, *PNAS*, 106 (29), 11954 – 11959, 2009.
 39. Kira A, Kim H, Yasuda K. Contribution of Nanoscale Curvature to Number Density of Immobilized DNA on Gold Nanoparticles, *Langmuir*, 25 (3), 1285-1288, 2009.
 40. Tanaka T, Tohyama S, Murata M, Nomura F, Kaneko T, Chen H, Hattori F, Egashira T, Seki T, Ohno Y, Koshimizu U, Yuasa S, Ogawa S, Yamanaka S, Yasuda K, Fukuda K. In vitro pharmacologic testing using human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 385, 497-502, 2009.

「著書・総説等」 20 件

1. 安田賢二, 野村典正, 寺菌英之, 服部明弘. 創薬研究ツール. 細胞の3次元組織化-その最先端技術と材料技術, 編集 田畑泰彦, 216-222, 2014年2月.
2. 安田賢二. 物理はどこまで生命を理解できるか-物理学からみた「生命科学」のおもしろさ. *パリティ*, Vol.28, No.7, 4-5, 2013年7月.
3. 安田賢二. 生体分子がナノ世界で作り出す「秩序」と「規則性」. *パリティ*, Vol.28, No.3, 1, 2013年3月.
4. 安田賢二. ナノバイオマシンの物理学. *パリティ*, Vol.28, No.3, 4-10, 2013年3月.
5. 安田賢二. NEWS ノーベル医学・生理学賞 人工多能性幹細胞(iPS細胞)の作成. *パリティ*, Vol.27, No.12, 26-28, 2012年12月.
6. 安田賢二, 金子智行, 野村典正. 幹細胞の創薬応用を目指したオンチップ・テクノロジー. 日本薬学会 *ファルマシア*, Vol.49 No.9, 823-825, 2012年9月.
7. 安田賢二, 金子智行, 野村典正, 服部明弘. オンチップ・セロミクス解析技術. 再生医療製品の許認可と組織工学の新しい試み, シーエムシー出版, 135-145, 2012年5月.
8. 金賢徹, 寺菌英之, 竹井弘之, 安田賢二. 多元素微粒子プローブアレイ標識による1細胞 in situ 発現解析を目指すアダプティブ SEM の開発, *日本顕微鏡学会誌 顕微鏡*, Vol.47 No.1, 59-64, 2012年3月.
9. 安田賢二. 幹細胞を用いての創薬研究技術, ものづくり技術からみる再生医療・細胞研究・創薬・治療-, 監修 田畑泰彦, シーエムシー出版, 169-178, 2011年11月.
10. 安田賢二, 金子智行, 野村典正. iPS細胞から創られたヒト細胞を用いた in vitro 創薬スクリーニングシステム, 動物実験代替法学会 *JSAAE News Letter*, No.40, 20-21, 2011年10月.
11. 安田賢二. iPS細胞で何ができるか~創られたヒト細胞から創薬スクリーニングシステムを. *ジェットロセンサー*, 2011年11月号, 40-41, 2011年11月.
12. 安田賢二, 金子智行, 野村典正. ヒトiPSなどの幹細胞から分化した心筋細胞を用いた不整脈予測法の開発, *日本心電学会学会誌 心電図*, Vol.31 No.3, 318-324, 2011年8月.
13. 金子智行, 野村典正, 安田賢二. 東京医科歯科大学生体材料工学研究所情報分野の紹介, *日本応用数理学会学会誌 応用数理*, Vol.21 No.1, 58-60, 2011年3月.
14. Yasuda K, Algebraic and Geometric Understanding of Cells, Epigenetic Inheritance of Phenotypes Between Generation, *High Resolution Microbial Single Cell Analytics*, Müller, Susann; Bley, Thomas (Eds.), 55-81, Nov. 12. 2010.
15. 安田賢二. 細胞を並べる技術~再生医療研究からの示唆とその応用~, *日本再生医療学会雑誌 再生医療*, Vol.9 No.3, 71-82, 2010年8月.
16. 安田賢二. 第3編 国内外の動向 第5章 技術展望-バイオチップの将来技術 第11節 セロミクス解析システムチップ, *バイオチップ実用化ハンドブック*, 571-581, 2010年4月.
17. 安田賢二. オンチップ・セロミクス・テクノロジーのヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた創薬スクリーニングシステムへの展開, *薬学雑誌*, 130(4), 545-557, 2010年4月.
18. 安田賢二. 生命システムの構成的再構築の試み: オンチップ・セロミクス計測技術の開発, *日本物理学会誌*, Vol.65, No.3, 181-186, 2010年3月.
19. 安田賢二. オンチップ・セロミクス技術を用いた細胞からのセンシング・バイオロジー, *月刊バイオインダストリー*, 2009年12月号, 30-37, 2009年11月.
20. 安田賢二. ヘルスケアとバイオ医療のための先端デバイス機器 オンチップ・セロミクス(細胞)デバイス, シーエムシー出版, 95-110, 2009年5月.

特許

「国内」 11 件

1. 東京医科歯科大学. 特願 2009-517909. 2008/6/6. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
2. 東京医科歯科大学. 特願 2009-519241. 2008/6/6. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
3. 東京医科歯科大学. 特願 2008-311341. 2008/12/5. 心筋毒性検査装置、心筋毒性検査チップおよび心筋毒性検査方法. 安田 賢二, 杉山 篤, 金子 智行, 野村 典正.
4. 東京医科歯科大学. 特願 2010-222636. 2010/9/30. 心筋毒性検査装置、心筋毒性検査チップおよび心筋毒性検査方法. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
5. 東京医科歯科大学. 特願 2010-234498. 2010/10/19. 心筋細胞評価方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
6. 東京医科歯科大学. 特願 2011-090536. 2011/4/14. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
7. 東京医科歯科大学, 三菱化学メディエンス株式会社. 特願 2012-536594. 2011/9/30. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
8. 東京医科歯科大学. 特願 2011-237608. 2011/10/28. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
9. 東京医科歯科大学, 一般社団法人オンチップ・セロミクス・コンソーシアム. 特願 2012-152026. 2012/7/6. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
10. 東京医科歯科大学, 一般社団法人オンチップ・セロミクス・コンソーシアム. 特願 2013-540741. 2012/10/17. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
11. 東京医科歯科大学. 特願 2012-276957. 2012/12/19. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.

「外国」 18 件

1. 東京医科歯科大学. 12/663,441 (アメリカ). 2008/6/6. US20100173351. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
2. 東京医科歯科大学. 08765260.8 (ヨーロッパ). 2008/6/6. EP2157165. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
3. 東京医科歯科大学. 200880019300.7 (中国). 2008/6/6. CN101730736. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
4. 東京医科歯科大学. 10110706.2 (香港). 2008/6/6. 1144444. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
5. 東京医科歯科大学. 200908207-4 (シンガポール). 2008/6/6. WO2008/149976. 心臓リエントリーモデ

- ルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
6. 東京医科歯科大学. 201203724-8 (シンガポール). 2008/6/6. WO2008/149976. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
 7. 東京医科歯科大学. 12/663,468 (アメリカ). 2008/6/6. US20100178692. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
 8. 東京医科歯科大学. 08765261.6 (ヨーロッパ). 2008/6/6. EP2157166. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
 9. 東京医科歯科大学. 200880019299.8 (中国). 2008/6/6. CN101711276. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
 10. 東京医科歯科大学. 10110705.3 (香港). 2008/6/6. 1144302. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
 11. 東京医科歯科大学. 200908206-6 (シンガポール). 2008/6/6. WO2008/152983. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
 12. 東京医科歯科大学. 13/132,781 (アメリカ). 2009/12/4. US20110262958. 心筋毒性検査装置、心筋毒性検査チップおよび心筋毒性検査方法. 安田 賢二, 杉山 篤, 金子 智行, 野村 典正.
 13. 東京医科歯科大学. 09830466.0 (ヨーロッパ). 2009/12/4. EP2371941. 心筋毒性検査装置、心筋毒性検査チップおよび心筋毒性検査方法. 安田 賢二, 杉山 篤, 金子 智行, 野村 典正.
 14. 東京医科歯科大学, 三菱化学メディエンス株式会社. 13/876,992 (アメリカ). 2011/9/30. US-2013-0230881-A1. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
 15. 東京医科歯科大学, 三菱化学メディエンス株式会社. 11829373.7 (ヨーロッパ). 2011/9/30. WO2012/043820. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
 16. 東京医科歯科大学. 201302403-9 (シンガポール). 2011/9/30. WO2012/043820. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
 17. 東京医科歯科大学. 14/354,221 (アメリカ). 2012/10/17. WO2013/061849. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
 18. 東京医科歯科大学. 12843742.3 (ヨーロッパ). 2012/10/17. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.

「PCT」 6 件

1. 東京医科歯科大学. PCT/JP2008/060447. 2008/6/6. WO2008/149976. 心臓リエントリーモデルチップおよび心臓リエントリーモデルチップによる薬剤の評価装置および方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.
2. 東京医科歯科大学. PCT/JP2008/060448. 2008/6/6. WO2008/152983. モデル細胞チップ、モデル細胞チップによる薬効評価装置、および薬効評価方法. 安田 賢二, 野村 典正, 寺菌 英之, 金子 智行, 福島 守, 安東 賢太郎.

3. 東京医科歯科大学. PCT/JP2009/070382. 2009/12/4. WO2010/064700. 心筋毒性検査装置、心筋毒性検査チップおよび心筋毒性検査方法. 安田 賢二, 杉山 篤, 金子 智行, 野村 典正.
4. 東京医科歯科大学, 三菱化学メディエンス株式会社. PCT/JP2011/072618. PCT/JP2011/072618. 2011/9/30. WO2012/043820. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
5. 東京医科歯科大学, 一般社団法人オンチップ・セロミクス・コンソーシアム. PCT/JP2012/076860. 2012/10/17. WO2013/061849. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.
6. 東京医科歯科大学. PCT/JP2013/084084. 2013/12/19. WO2014/098182. 心筋毒性検査および心筋細胞評価のための方法および装置. 安田 賢二, 金子 智行, 野村 典正.

その他

「展示会など」 1 件

1. 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 戦略展示 iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングの新展開 東京医科歯科大学, BioJapan2010, 横浜, 2010 年 9/29~10/1.

「新聞等報道」 16 件

1. iPS 細胞を創薬へ 第一三共(株) 東京医科歯科大 心筋細胞用いて毒性評価 精度や成功率向上に期待. 化学工業日報, 2013 年 3 月 4 日.
2. iPS 医療を変える 上 「創薬革命」高まる期待, 日本経済新聞, 2012 年 11 月 14 日.
3. がん再発・転移、血液で早期診断、神奈川科学技術アカデミー (KAST) の安田賢二プロジェクトリーダー (東京医科歯科大学教授) ら, 日本経済新聞, 2012 年 9 月 20 日.
4. iPS 細胞を活用した創薬 不整脈の検出チップを開発. 日経ビジネス, 2012.6.4 号, 93-94, 2012 年 6 月 4 日.
6. iPS 細胞で「心臓」再現 新薬の毒性検査チップ開発 東京医科歯科大, 愛媛新聞, 2011 年 2 月 28 日.
7. iPS から毒性検査チップ 心臓に近い状態再現 東京医科歯科大学教授ら, 北日本新聞, 2011 年 2 月 28 日.
8. iPS 細胞で毒性検査チップ 心臓再現、新薬開発で利用, 47NEWS 共同ニュース (共同通信), 2011 年 2 月 27 日.
9. iPS 細胞 急進展する研究 期待される創薬への貢献 心筋細胞ネットワークで心臓の反応を再現, 別冊日経サイエンス, No.177 先端医療をひらく, 2011 年 1 月 17 日.
10. 万能細胞使う創薬研究活発 国内の大学・企業 東京医科歯科大 不整脈リスク把握, 日本経済新聞, 2009 年 12 月 21 日.
11. 3 年目の iPS 日米最新報告 2 新薬開発のリスク軽減, 朝日新聞, 2009 年 11 月 4 日.
12. 副作用 万能細胞で把握 東京医歯大など成功 心臓細胞作り分析, 読売新聞, 2009 年 10 月 11 日.
13. 既に始まった iPS 細胞の利用, 文部科学省 iPS 細胞等研究ネットワーク iPSTrend iPS 細胞物語 (Web サイト), 2009 年 6 月 18 日.
14. 幹細胞を医療現場へ 創薬に活躍する iPS 細胞 心筋細胞ネットワークで心臓の反応を再現, 日経サイエンス, Vol.39 No.8, 2009 年 8 月 1 日.
15. iPS 細胞による創薬支援 東京医科歯科大 企業 18 社・団体と協力, 日刊工業新聞, 2009 年 5 月 19 日.
16. iPS で新薬副作用検査 心筋細胞培養 安全、迅速に 東京医歯大 2 年後実用化へ, 読売新聞, 2009 年 2 月 7 日.

三菱化学メディエンス

<口頭発表（国内）>

1. 北村哲生、榊原基嗣、大槻誠、武内史英、南大輔、藤崎由記子、関島勝、長田智治 ヒト iPS 細胞由来心筋細胞と細胞外電位測定法を用いた医薬品候補化合物の安全性評価法の開発 第40回日本毒性学会学術年会 H25年6月18日
2. 榊原 基嗣、北村 哲生、武内 史英、南 大輔、藤崎 由記子、関島 勝、橋本 敬太郎、長田 智治 ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた in vitro 催不整脈作用評価系の開発 (1) 第5回日本安全性薬理研究会学術年会 H26年2月15日
3. 北村 哲生、榊原 基嗣、武内 史英、南 大輔、藤崎 由記子、関島 勝、橋本 敬太郎、長田 智治 ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた in vitro 催不整脈作用評価系の開発 (2) ペーシングモデル 第5回日本安全性薬理研究会学術年会 H26年2月15日

<口頭発表（海外・国際）>

1. Tetsuo Kitamura, Fumimasa Nomura, Tomoyuki Kaneko, Peter Sartipy, Keiichi Fukuda, Atsuhiko Sugiyama, Masaru Sekijima, Kenji Yasuda In vitro preclinical cardiac safety pharmacology: Development of drug proarrhythmic measurement with human embryonic stem (hES) cell derived cardiomyocytes network WorldPharma2010 (16th IUPHAR World Congress of Basic and Clinical Pharmacology), Copenhagen, Denmark H22年7月21日
2. Mototsugu Sakakibara, Tetsuo Kitamura, Makoto Otsuki, Fumihide Bunai, Daisuke Minami, Yukiko Fujisaki, Masaru Sekijima, and Tomoharu Osada Field Potential Measurement Using iPS Cell-Derived Cardiomyocytes for the Prediction of Cardiotoxicity in vitro 第11回国際幹細胞学会 (アメリカ ボストン)H25年6月14日
3. Mototsugu Sakakibara, Tetsuo Kitamura, Makoto Otsuki, Fumihide Bunai, Daisuke Minami, Yukiko Fujisaki, Masaru Sekijima, and Tomoharu Osada Field Potential Measurement using iPS Cell-derived Cardiomyocytes for the Prediction of Cardiotoxicity in vitro. Safety Pharmacology Society 13th Annual Meeting, Rotterdam (Netherlands) H25年9月14日

(2) 文献

1. 長田智治、榊原 基嗣、北村 哲生、武内 史英、南 大輔、藤崎 由記子、関島 勝 ヒト iPS 細胞由来心筋を用いた創薬スクリーニングシステム開発メディカル・サイエンス・ダイジェスト (V. 39, No. 11 44-47) H25年10月25日

(3) 特許等

1. 出願人 東京医科歯科大学、三菱化学メディエンス (株)
出願番号 PCT/JP2011/072618
出願日 2011.09.30
名称 心筋毒性検査装置、心筋細胞評価のための方法および装置
発明人 安田賢二、金子智行、野村典正
2. 出願人 東京医科歯科大学、三菱化学メディエンス (株)
出願番号 特願 2012-283057
出願日 2012.12.26
名称 細胞外電位計測装置及び方法
発明人 北村哲生、安田賢二、金子智行、野村典正
3. 出願人 東京医科歯科大学、三菱化学メディエンス (株)
出願番号 実願 2012-007825
出願日 2012.12.26
名称 細胞外電位計測装置及び方法
発明人 北村哲生、安田賢二、金子智行、野村典正
4. 出願人 三菱化学メディエンス (株)
出願番号 意願 2013-0014662

出願日 2013. 02. 13

名称 細胞外電位計測装置用マルチウェルチップ

発明人 北村哲生

5. 出願人 三菱化学メディエンス (株)

出願番号 意願 2013-0014663

出願日 2013. 02. 13

名称 細胞外電位計測装置用マルチウェルチップ

発明人 北村哲生

6. 出願人 三菱化学メディエンス (株)

出願番号 意願 2013-002733

出願日 2013. 06. 28

名称 細胞外電位計測装置用マルチウェルチップ

発明人 北村哲生

7. 出願人 三菱化学メディエンス (株)

出願番号 意願 2013-002734

出願日 2013. 06. 28

名称 細胞外電位計測装置用マルチウェルチップ

発明人 北村哲生

//

事前評価関連資料

- ・ 事前評価書

2. 分科会における説明資料

次ページより、プロジェクト推進・実施者が、分科会においてプロジェクトを説明する際に使用した資料を示す。

健康安心イノベーションプログラム
「ヒト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」
(事後評価)

2008年度～2013年度 6年間

プロジェクトの概要【公開】

NEDO
バイオテクノロジー・医療技術部
2014年10月14日

1

発表内容

公開

1. 事業の位置付け・必要性 (1)NEDOの事業としての妥当性
(2)事業目的の妥当性
2. 研究開発マネジメント (1)研究開発目標の妥当性
(2)研究開発計画の妥当性
(3)研究開発実施の事業体制の妥当性
(4)研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性
(5)情勢変化への対応等
3. 研究開発成果 (1)目標の達成度と成果の意義
(2)知的財産権等の取得
(3)成果の普及
4. 実用化に向けての見通し及び取組み (1)成果の実用化の見通し
(2)実用化に向けた具体的取組み

2

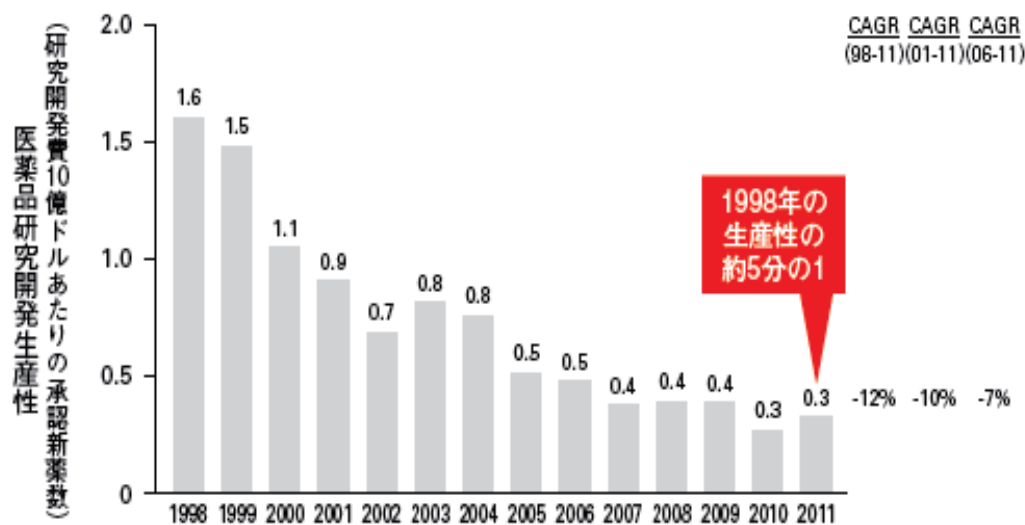
事業の背景

- 新薬開発においては、臨床試験で予期せぬ副作用が発現したために開発を断念するケースが多い。
- とくに心毒性(心室性不整脈等誘発作用)は極めて重大であるが、従来の動物試験等でヒトでの心毒性発症リスクを高精度に予測することは困難であった。
- ヒトiPS細胞から誘導した心筋細胞を心毒性評価に用いることにより、ヒトでの発症リスクの予測精度が大幅に向上し、結果として効率的な新薬開発につながることを期待できる。

事業原簿 10-11頁

3

医薬品研究開発生産性の推移



研究開発費 (yr-5)	24	27	31	35	38	43	50	54	61	69	79	88	96	108
承認新薬数	39	40	33	32	26	35	38	28	29	26	31	34	26	15

注：研究開発生産性 = 研究開発費 10 億ドルあたりの新薬承認数；研究開発投資から新薬承認まで5年のタイムラグを仮定（例：2011年承認の新薬は2008年の研究開発投資の成果と仮定し、2011年の新薬承認数35を2007年の研究開発投資額で除して算出）
 分析対象は2011年時点のグローバルトップ20社
 出所：EvaluatoPharma、各社アニュアルレポート、ペイン分析

事業原簿 10-11頁

4

安全性が原因でグローバル市場から撤退した34医薬品の撤退理由の内訳

撤退理由	医薬品数	主な薬剤
肝毒性	13	トリグリタゾン、トロバフロキサシンなど
心毒性	14	シサプリド、テルフェナジンなど
その他	7	

事業原簿 10-11頁

5

心毒性評価における課題と解決のためのアプローチ

- ・ヒトへの外挿性／予測性の向上
- ・操作の簡便性、高い処理能力

安全性薬理試験
安全性薬理コアバッテリー
フォローアップ試験
補足的安全性薬理試験



臨床薬理試験
QT試験
薬物相互作用試験
マスバランス試験
...

安全性薬理コアバッテリー
・中枢神経系
・呼吸系
・心血管系
1. 覚醒無拘束下での血圧、心拍数、心電図に及ぼす作用(テレメトリー法)
2. Ikr電流に及ぼす作用
(ホールセルクランプ法; hERG導入細胞)
3. 心筋活動電位に及ぼす作用
(微小電極法; 摘出乳頭筋)



ヒトiPS由来心筋細胞を使用し、細胞外電位測定法(MEMS技術)を活用することにより、操作の簡便性・高い処理能力及び予測性の向上を実現する。

事業原簿 10-11頁

6

事業の目的

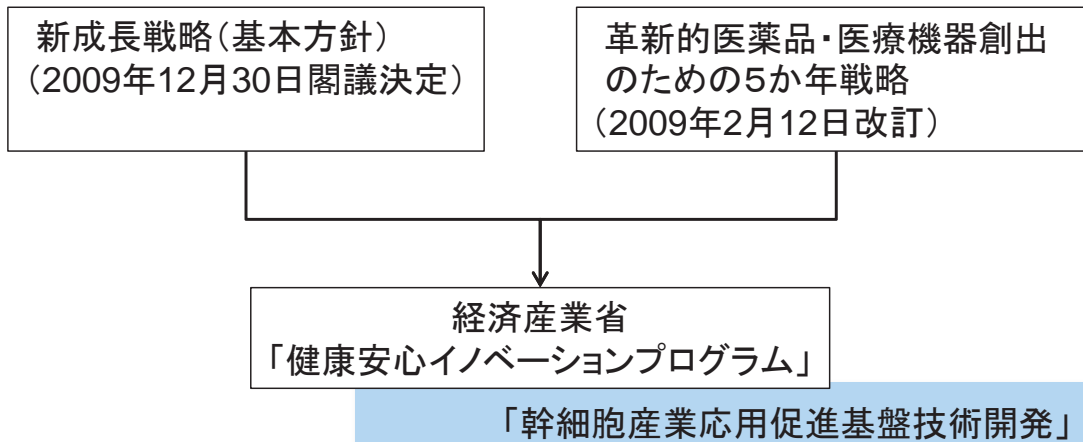
- iPS細胞等幹細胞から心筋などの細胞に効率よく分化させ、これを利用して、開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を、ヒト個体と高い相関性をもって予測する創薬スクリーニングシステムの開発を行う。

NEDOが関与する意義

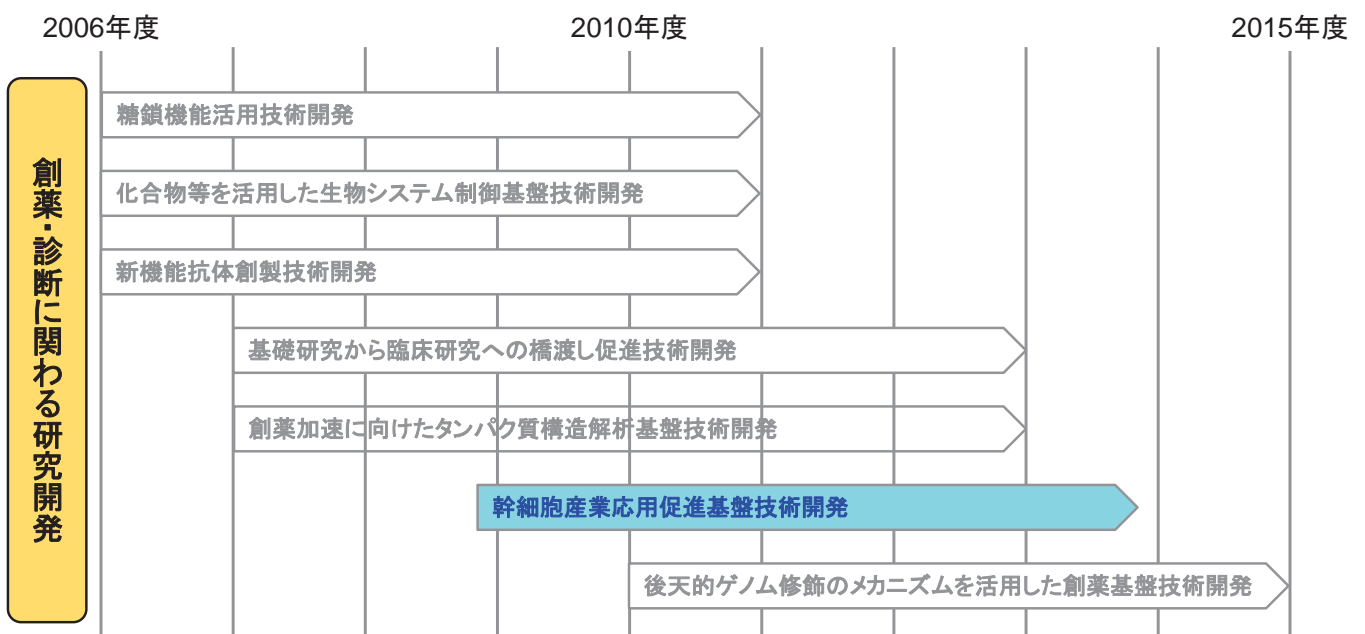
- iPS細胞等の幹細胞技術の創薬応用には、基盤的な研究要素が多く、産学の知見を結集して開発を進めることが必要である。
- また、諸外国との競争に打ち勝って産業化を進めるためには、産学官の力を結集し、短期間で集中的な予算投下のもと早急に技術開発を行う必要がある。
- したがって、本事業をナショナルプロジェクトとしてNEDOが実施することには意義があると言える。

事業の位置付け

政策的位置付け



「健康安心イノベーションプログラム」における位置付け



事業の概要

創薬プロセスにおける位置付け



事業の目標

- 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。

事業の特徴

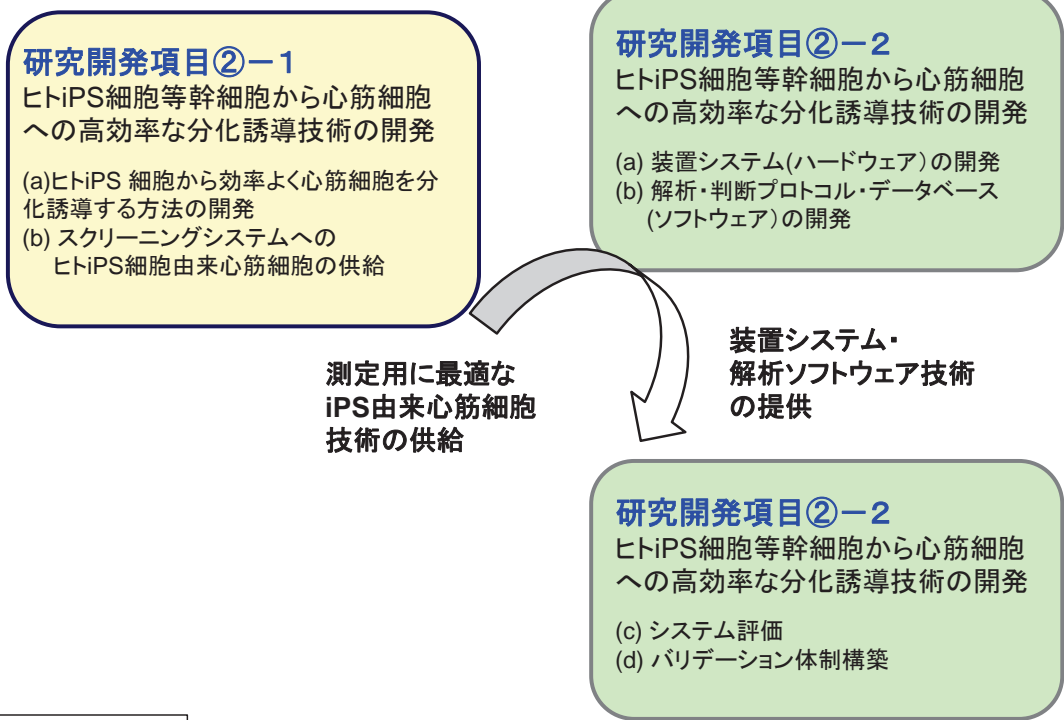
- 健常者に加え、遺伝的に致死性不整脈リスクを持つ患者のiPS細胞由来心筋細胞を応用することにより、多面的なリスク評価が実施できる。
- 細胞外電位を測定するので、パッチクランプ法に比べ操作の簡便性、高い処理能力が期待できる。
- 解析系を高度化することにより、致死性不整脈発生の発生原因となる心筋細胞間の興奮伝導異常を直接解析することが可能である。

研究開発項目の設定

・ 事業の目的を達成するために、以下の研究開発項目を設定した。

研究開発項目②-1 ヒト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	ヒトiPS 細胞から効率よく心筋細胞を分化誘導する方法の開発
	スクリーニングシステムへのヒトiPS 細胞由来心筋細胞の供給
研究開発項目②-2 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	心筋毒性を検出する装置システム（ハードウェア）の開発
	解析・判断プロトコル・データベース（ソフトウェア）の開発
	システム評価
	バリデーション体制構築

研究開発項目間の連携

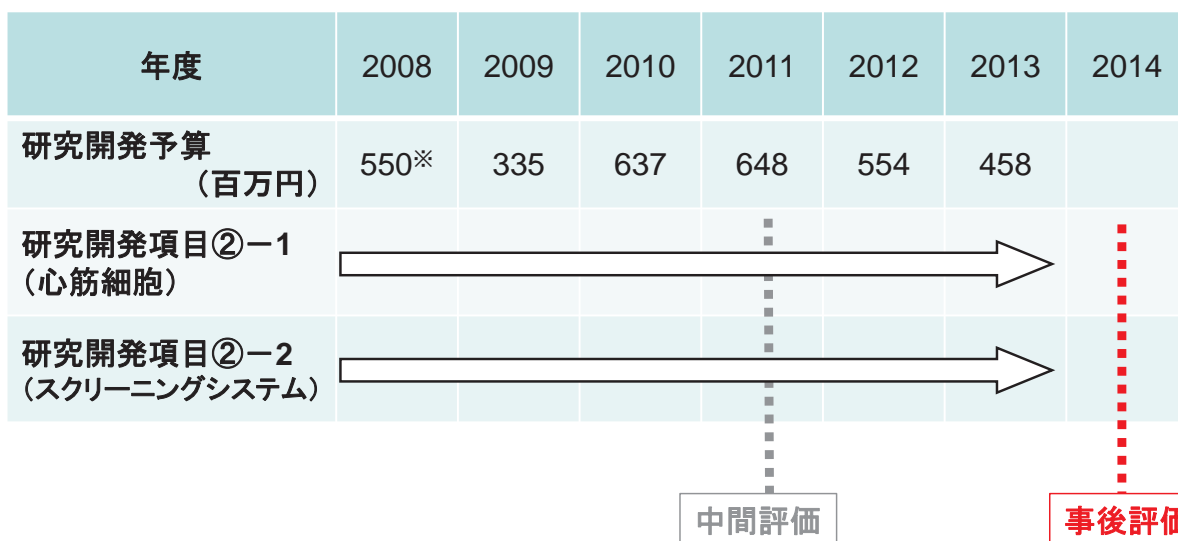


研究開発項目毎の最終目標と設定根拠

	最終目標	設定根拠
研究開発項目②-1 (心筋細胞)	ヒトiPS細胞から効率的に心筋細胞を分化誘導する技術を開発し、このヒト再生心筋細胞を用いて創薬の際のQT延長作用を持つ薬剤のスクリーニングシステムを開発する。また、健常者と遺伝性QT延長症候群患者の症例から樹立したiPS心筋細胞を用いた不整脈誘発モデルを構築する。	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ためには、多様な患者由来のiPS細胞から適切な特性を持つ心筋細胞を効率よく誘導する技術が必要である。
研究開発項目②-2 (スクリーニングシステム)	ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いて、in vitro系でありながらin vivo (臨床)レベルと同レベルでのヒトにおけ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創薬スクリーニングシステム(心毒性検査技術)を開発する。 医薬品等安全性・薬効薬理試験の新規メニューとして催不整脈作用評価試験を受託試験化する	本技術を、開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を評価する新規な技術として確立するためには、心毒性等が報告されている既存薬等を用いて、既存法との比較を行い、その有用性を確認する必要がある。 実用化に向けて提供サービスの内容を具体化する。

研究開発のスケジュールと予算

※補正予算



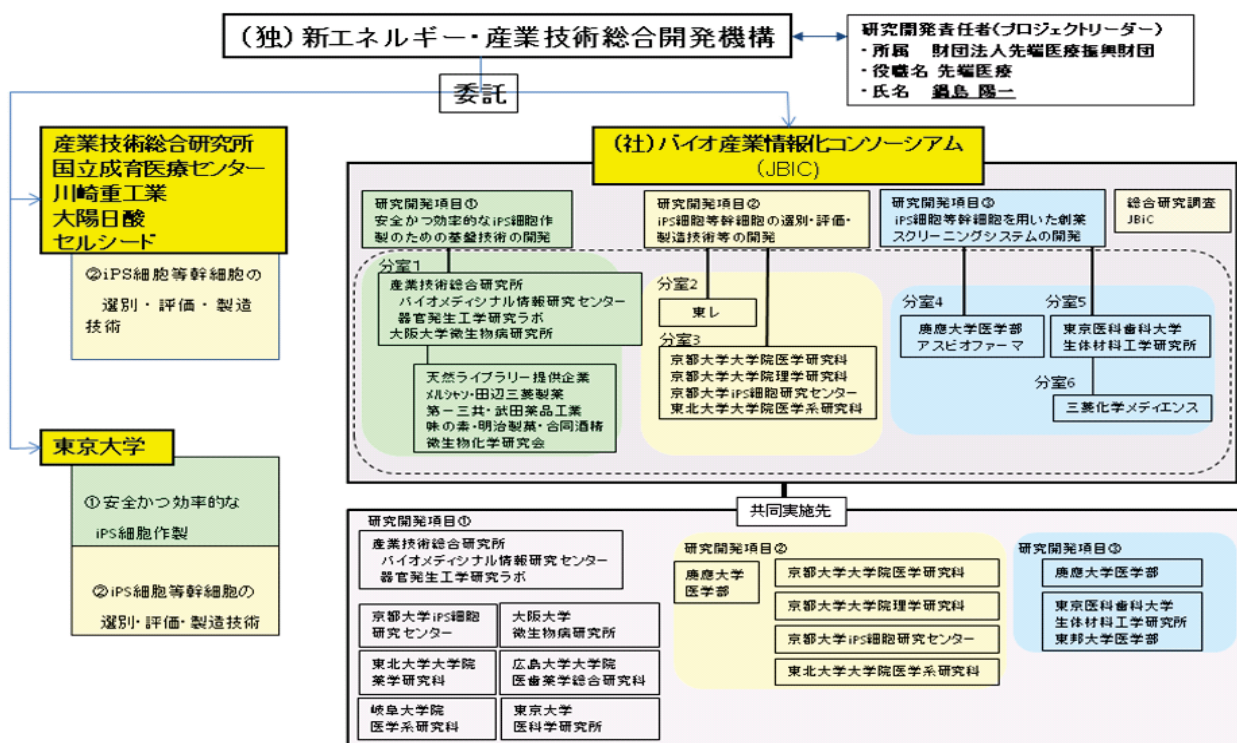
中間評価の評点



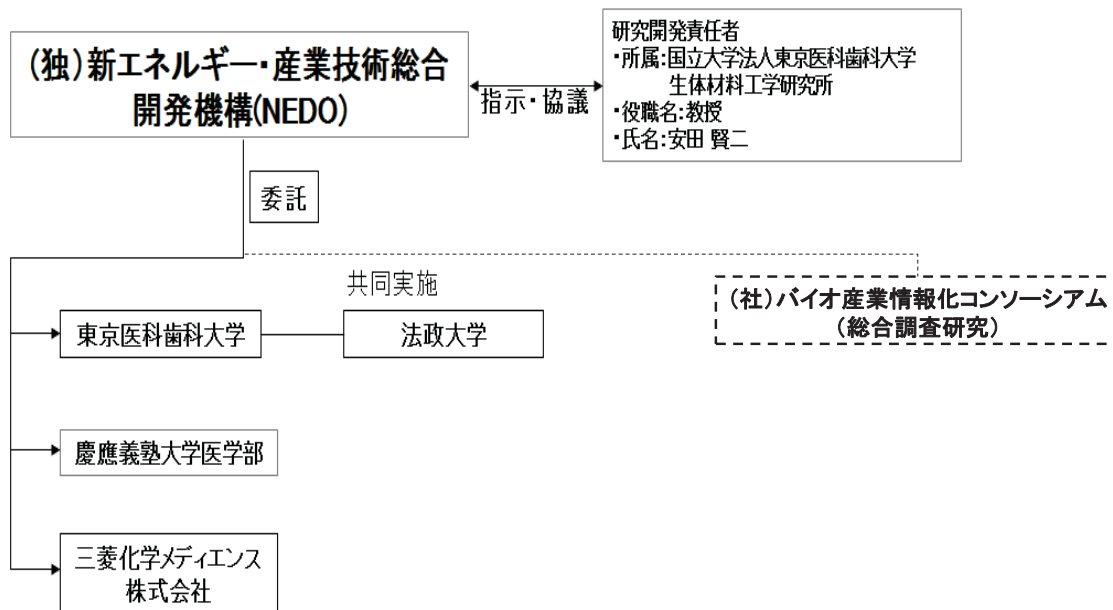
ヒトiPS細胞/ES細胞から心筋細胞を分化誘導する技術、分化誘導した心筋細胞を用いた創薬への応用のどちらも世界トップレベルの成果である。特に、心筋細胞増殖因子としてGCSF (granulocyte-colony stimulating factor; 顆粒球コロニー刺激因子)の新機能の発見、分化誘導因子としてのX-factor発見、またその組み合わせによる高効率かつ高純度の心筋細胞作製法を確立したことは画期的である。そして、得られた成果は心筋に副作用のある薬剤のスクリーニングや、心筋障害疾患のための治療薬開発へと発展することが期待できる。即ち、QT延長作用に限らず様々な影響への応用が可能と考える。また、幹細胞由来の心筋細胞の応用例の成功は、幹細胞由来の他の細胞(肝臓細胞等)の応用へとつながることが期待される。さらに、心筋細胞のネットワークを形成し ECG (electrocardiograph; 心電図)の測定に成功し、そのゆらぎ測定法を知財化できたことはすばらしい。

一方で、iPS細胞から心筋への分化については、必ずしも完全なものではない。その技術革新は依然として必要である。

研究開発の実施体制(H20-22)



研究開発の実施体制(H23-25)



事業原簿 12-14頁

19

知財管理

- 「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、全て受託先に帰属させるものとする。

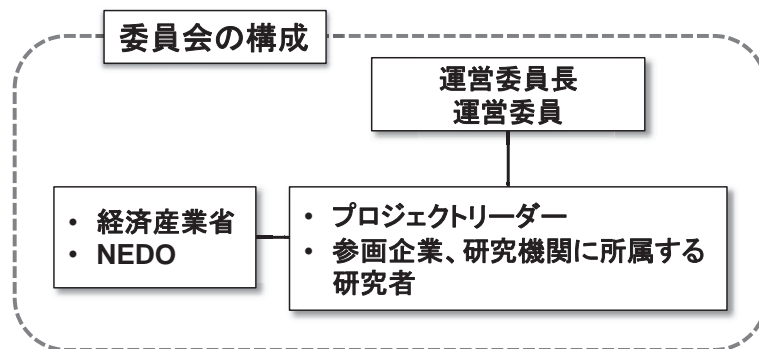
20

研究開発の運営管理

○ 運営委員会の設置

千葉大医学部中谷教授を委員長とする外部有識者からなる運営委員会を最後の2年間に3回開催し、成果の最大化に向けて以下の内容を確認した。

- ・ 研究開発の進捗・成果の共有
- ・ 実用化に向けた研究方針の見直し



中間評価結果への対応(2009年8月実施)

評価コメント	対応
他省庁に関連したプロジェクトが多く存在する中で、NEDOのプロジェクトの位置づけ、差別化について、今後、より説明を行う必要がある。	本プロジェクトの3年目からは、本研究開発項目のみに集中し、創薬スクリーニング装置の実用化を目指した創薬応用へ向けた実施体制を確立させ、推進した。また、本研究開発項目以外の基礎的な研究開発項目に関しては、文科省の関連するプロジェクトで引き続き実施することとした。
多くの企業がコミットメントするような体制の構築を期待する。また、なるべく早い段階で規制当局との交渉も開始し、社会的なコンセンサス形成を進めてほしい。	HESI(Health and Environmental science)活動、およびユーザーフォーラムを活用し推進した。国衛研の協力の下、多施設バリデーションを実施し、その結果を受けて製薬協TFの検討も開始された。

プロジェクトとしての達成状況

- 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、潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を評価することが可能な、心筋細胞への効率的な分化誘導技術を開発した。
- 心毒性等が報告されている既存薬等を用いてシステム評価を行い、受託ビジネスに必要なバリデーションデータを取得した。
- 今後、データを蓄積することにより心毒性評価法としての有用性を確認すると共に、ICHガイドライン改訂をにらんで、規制当局や製薬会社との協力を進める。

	最終目標	成果	達成度
② 1	ヒトiPS細胞から効率的に心筋細胞を分化誘導する技術を開発し、このヒト再生心筋細胞を用いて創薬の際のQT延長作用を持つ薬剤のスクリーニングシステムを開発する。また、健常者と遺伝性QT延長症候群患者の症例から樹立したiPS心筋細胞を用いた不整脈誘発モデルを構築する	全てのヒトから非侵襲的にiPS細胞を非侵襲的、効率的、短期間で樹立する方法として血液Tリンパ球からiPS細胞を樹立する方法を開発した。さらに、健常者、遺伝性QT延長症候群患者より、作出した再生心筋細胞を用いて不整脈解析モデルを構築した。	◎
② 2	ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いて、in vitro系でありながらin vivo (臨床)レベルと同レベルでのヒトにおける 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創薬スクリーニングシステム(心毒性検査技術)を開発する。	従来の「細胞電位」計測に加えて、催不整脈性の原因である「細胞の応答性のゆらぎ」、細胞間の興奮伝導をモデル化した「細胞ネットワーク」の観点からの興奮伝導の異常/ゆらぎに着目し、従来のさ細胞/動物実験等の非臨床系では予測困難であった偽陽性/偽陰性薬剤の正確な計測技術の原理開発に成功した。	◎
	医薬品等安全性・薬効薬理試験の新規メニューとして催不整脈作用評価試験を受託試験化する	iPS-CMの細胞外活動電位(ヒト心電図に似た波形)を経時的に記録し、被験薬の影響を評価するシステムを開発し、当該事業をH26年7月より開始	◎

3. 研究開発成果 (1) 目標の達成度と成果の意義

公開

媒体	件数
査読付き投稿論文	62件
特許等	特許35件（うち国際出願24件） 実用新案／意匠登録 5件
その他の外部発表 （プレス発表等）	新聞雑誌への掲載125件、展示会出展7件

事業原簿 25頁

25

3. 研究開発成果 (1) 目標の達成度と成果の意義

公開

研究開発項目毎の成果と目標達成状況

事業原簿 25頁

26

研究開発項目②-1

ヒト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

(慶應義塾大学医学部)

事業原簿 19-25頁

27

目標達成状況

公開

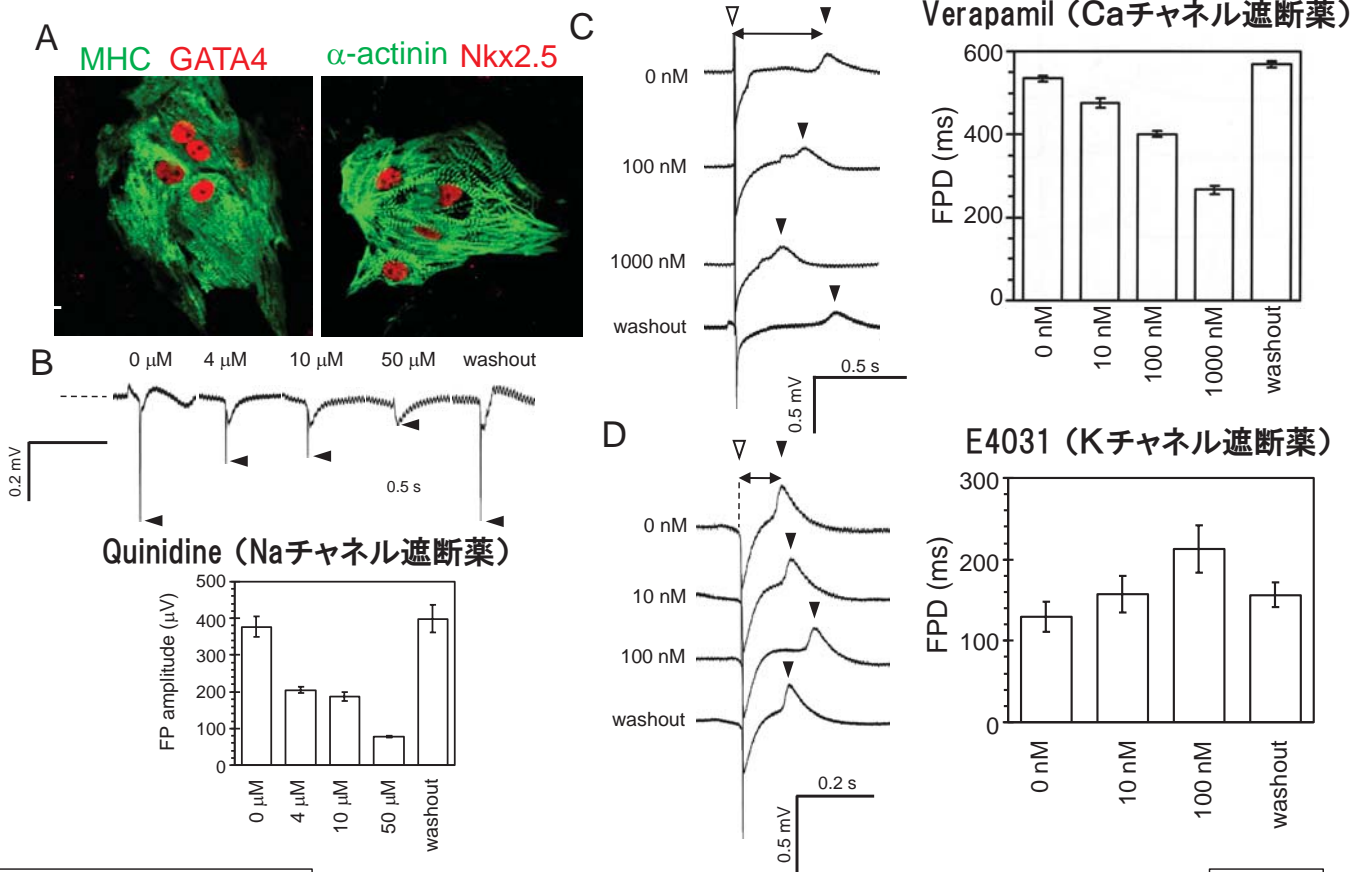
最終目標	成果	達成度
ヒトiPS細胞から効率的に心筋細胞を分化誘導する技術を開発し、このヒト再生心筋細胞を用いて創薬の際のQT延長作用を持つ薬剤のスクリーニングシステムを開発する。また、健常者と遺伝性QT延長症候群患者の症例から樹立したiPS心筋細胞を用いた不整脈誘発モデルを構築する	全てのヒトから非侵襲的にiPS細胞を非侵襲的、効率的、短期間で樹立する方法として血液Tリンパ球からiPS細胞を樹立する方法を開発した。さらに、健常者、遺伝性QT延長症候群患者より、作出した再生心筋細胞を用いて不整脈解析モデルを構築した。	◎
a) ヒトiPS細胞から効率よく心筋細胞に分化誘導する方法を開発する。	ヒトiPS細胞の効率的な心筋細胞の誘導法を確立した。(達成度:100%)	○
b) 健常者10例より皮膚生検し、ヒトiPS細胞を樹立し、心筋細胞に分化誘導すると共に、健常者iPS細胞由来心筋細胞間の心筋細胞としてのばらつきを観察する。	健常者10例からiPS細胞の樹立に成功した。さらに、皮膚生検を必要とせず、末梢血のT細胞を利用してiPS細胞を樹立する方法を開発した。(達成度:150%)	◎
c) 遺伝性QT延長症候群のうち、代表的な1型から3型の症例を選び、ヒトiPS細胞を樹立する。	遺伝性QT延長症候群1型、2型、3型、7型、ブルガダ症候群の症例からヒトiPS細胞を樹立に成功した。(達成度:170%)	◎

事業原簿 19-25頁

◎: 目標以上、○: 目標通り、△: 目標以下

28

健常ヒトiPS細胞由来心筋によるフィールド電位FPの記録

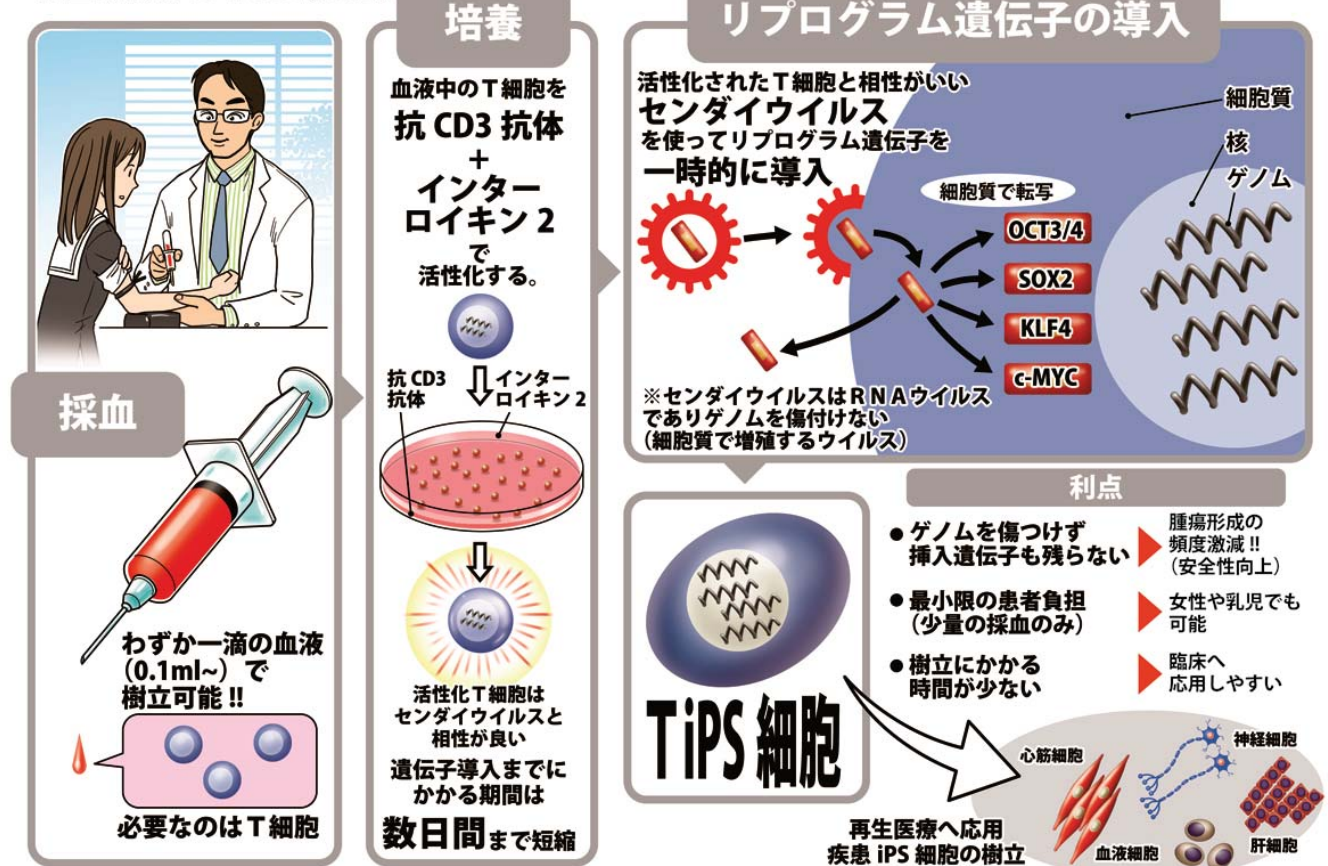


事業原簿 19-25頁

(Tanaka T, et al., BBRC, 2009)

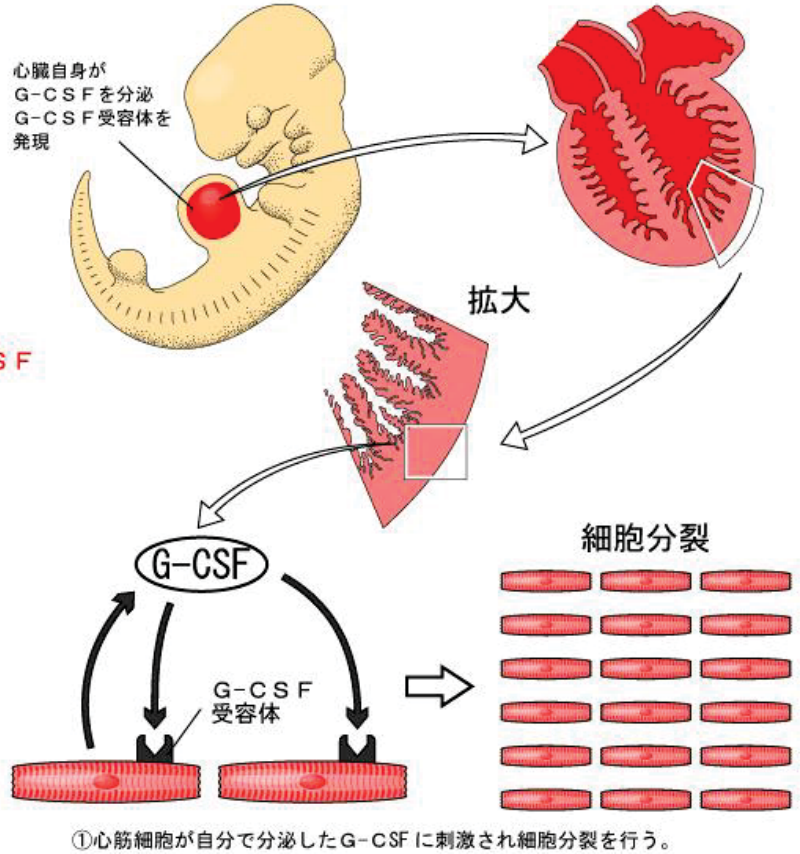
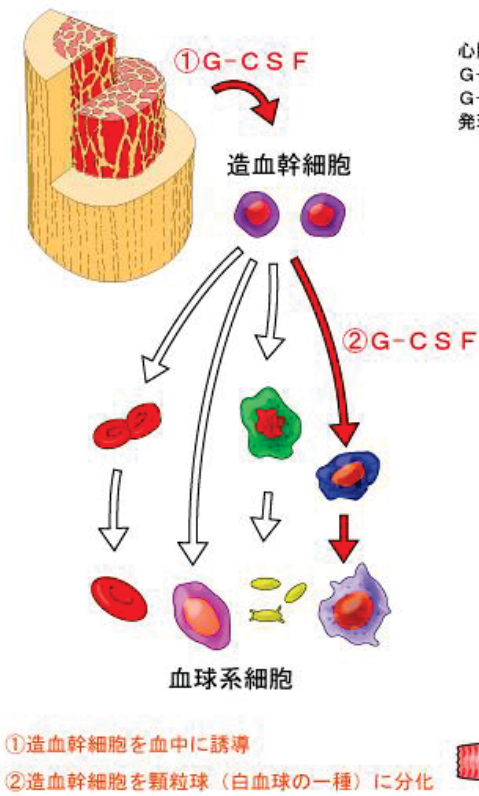
29

今回開発された方法



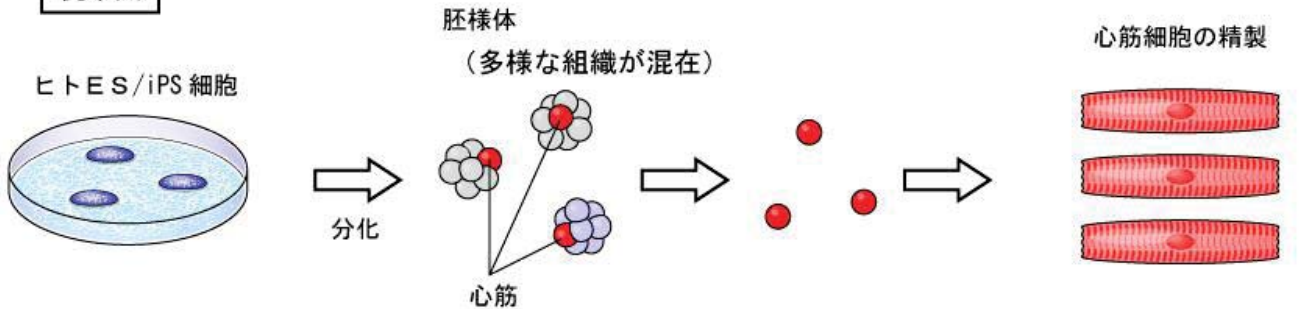
事業原簿 19-25頁

30

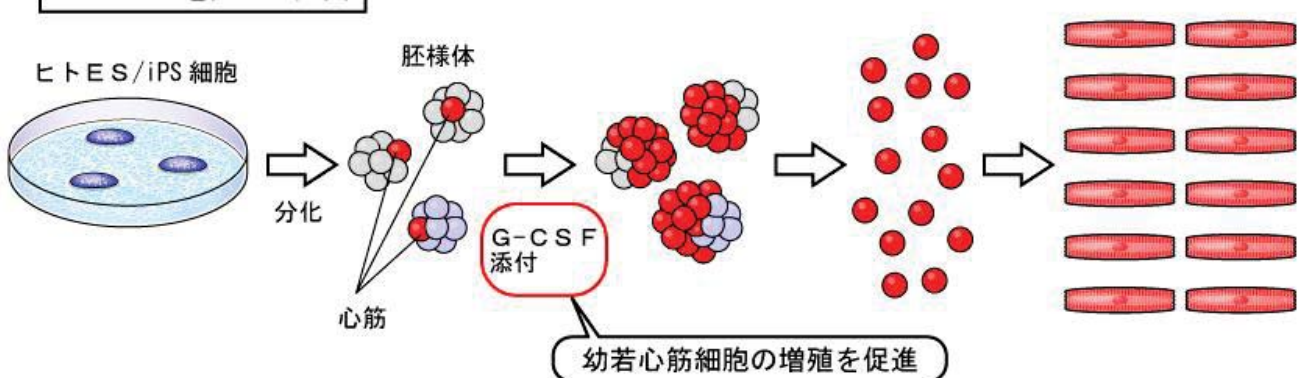


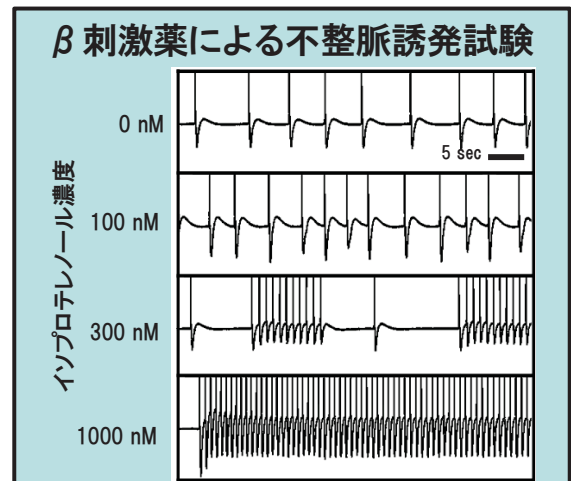
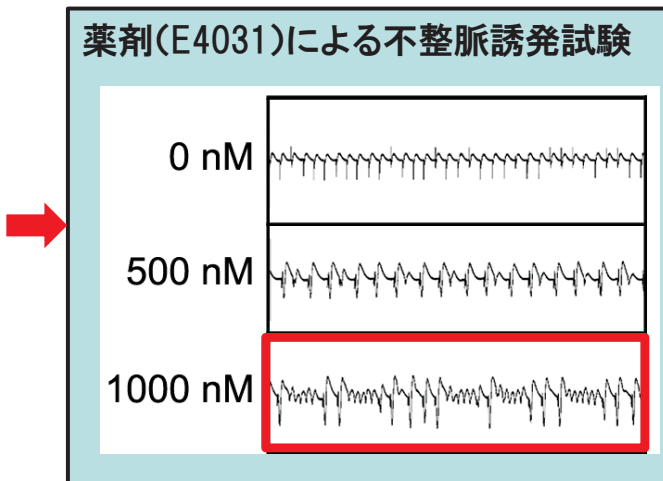
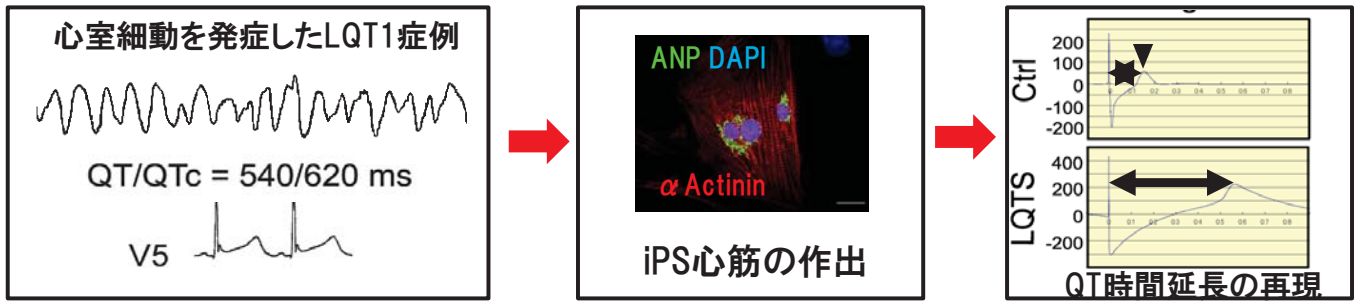
G-CSFの再生医療への応用

従来法



G-CSFを用いた方法





事業原簿 19-25頁

33

研究開発項目①の成果と実用化

ヒトiPS細胞等幹細胞心筋細胞への効率的な分化誘導技術の開発

心筋分化誘導技術の開発目標と結果、実用化の見通し

- <目標> ヒトiPS細胞から効率よく心筋細胞に分化誘導する方法を開発する
- <結果> ヒトiPS細胞の率的な心筋細胞の誘導法を確立した
- <実用化> 本技術を利用して、アスピオファーマに再生心筋製造技術を移転

健常者再生心筋の電気生理学的特徴の目標と結果、実用化の見通し

- <目標> 健常者10例よりヒトiPS細胞を樹立し、心筋細胞に分化誘導すると共に、健常者iPS細胞由来心筋細胞間の心筋細胞としてのばらつきを観察する。
- <結果> 健常者10例から末梢血T細胞を作出したiPS再生心筋の特徴を解析
- <実用化> 末梢血T細胞からセンダイウイルスを用いたiPS作製キットを発売

遺伝性QT延長症候群由来再生心筋を用いた不整脈解析モデルの開発目標と結果、実用化の見通し

- <目標> 遺伝性QT延長症候群症例から樹立した再生心筋による不整脈解析
- <結果> 1、2、3、7型症例由来iPS心筋による不整脈モデルを作製
- <実用化> 企業に譲渡し、不整脈モデルとして使用することが可能

事業原簿 19-25頁

34

3. 研究開発成果
(2) 知的財産権等の取得、(3) 成果の普及

公開

研究開発項目②-1
ヒト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

	平成21年	平成22年	平成23年	平成24年	平成25年	平成26年
特許出願	3 件	0 件	0 件	0 件	0 件	0 件
論文(査読付き)	6 件	3 件	3 件	5 件	2 件	3 件
研究発表・講演	9 件	15 件	10 件	9 件	11 件	10 件
受賞実績	1 件	5 件	11 件	3 件	3 件	5 件
新聞・雑誌への 記載	21 件	37 件	2 件	13 件	16 件	0 件
展示会への出展	1 件	2 件	1 件	0 件	0 件	0 件

事業原簿 135-137頁

35

3. 研究開発成果
(1) 目標の達成度と成果の意義

公開

研究開発項目②-2

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
(基礎・基盤技術の開発)

(東京医科歯科大学)

事業原簿 26~49頁

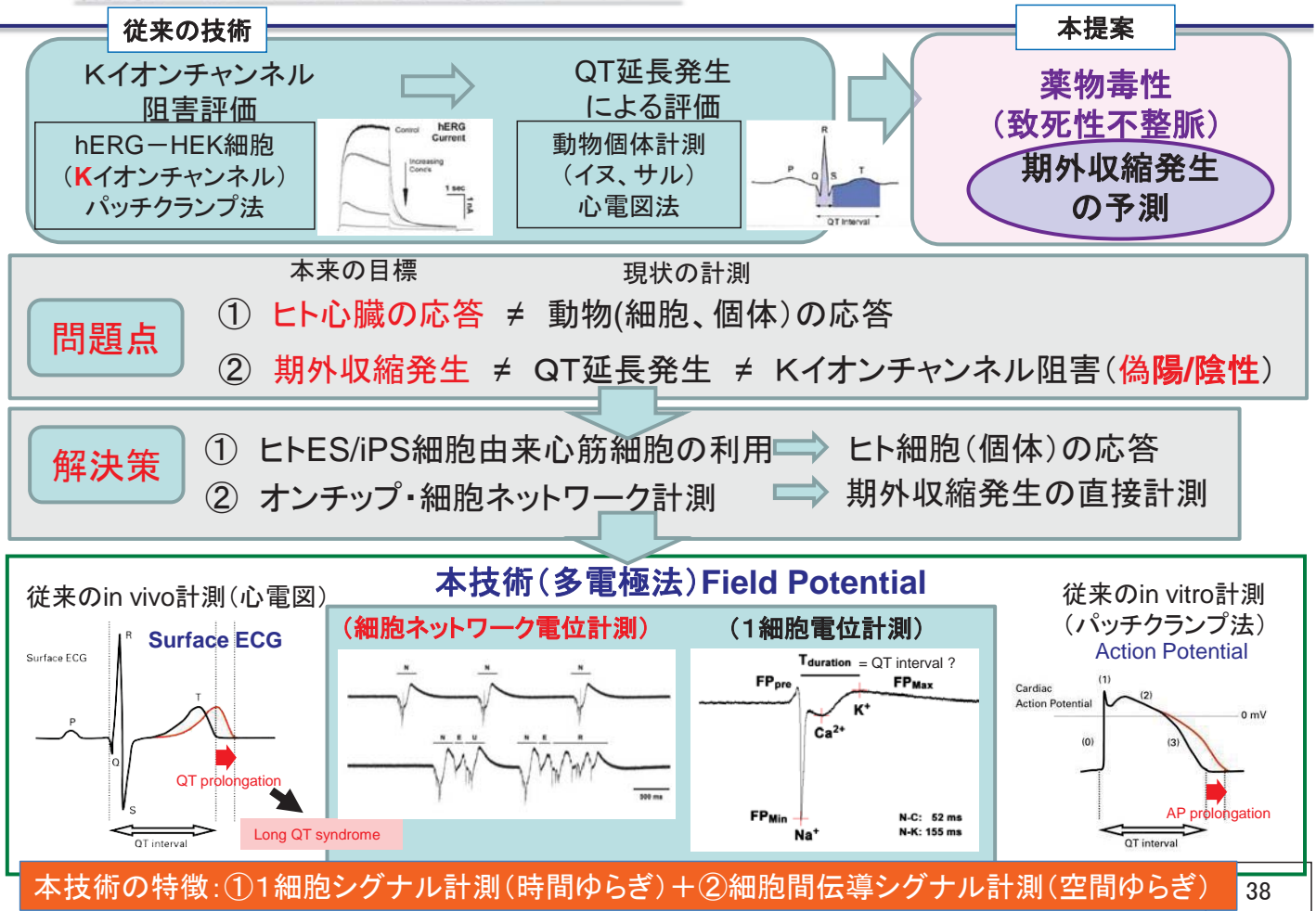
36

最終目標	成果	達成度
ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いて、in vitro系でありながらin vivo（臨床）レベルと同レベルでのヒトにおける 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創薬スクリーニングシステム（心毒性検査技術）を開発する。	従来の「細胞電位」計測に加えて、催不整脈性の原因である「細胞の応答性のゆらぎ」、細胞間の興奮伝導をモデル化した「細胞ネットワーク」の観点からの興奮伝導の異常/ゆらぎに着目し、従来の細胞/動物実験等の非臨床系では予測困難であった偽陽性/偽陰性薬剤の正確な計測技術の原理開発に成功した。	◎
a) ヒトにおける 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創薬スクリーニングシステム（心毒性検査技術）を実現するハードウェア技術を開発する。	MEMS技術を駆使した「ノイズ低減技術」「心筋細胞ネットワーク」による興奮伝導計測技術、「リエントリ」計測チップ概念、張力発生異常計測の概念など、従来のin vitro系では計測できなかったよりin vivoに近い情報の取得技術の開発に成功した。	◎
b) ヒトにおける 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創薬スクリーニングシステム（心毒性検査技術）を実現するソフトウェア技術を開発する。	「細胞電位」パターンの変化と応答の時間的ゆらぎ解析技術、「細胞ネットワーク」の興奮伝導ゆらぎ、「発生張力」ゆらぎの計測からの総合的評価による催不整脈性解析技術の開発およびその自動化に成功した。	◎
c) a)、b)を組み合わせた「催不整脈性」予測技術の総合評価を行い、偽陰性、偽陽性薬剤の安全域の程度の評価の正確性を確認する。	a)、b)を組み合わせ「催不整脈性」予測技術によって従来のin vitro計測系では予測が困難であった偽陰性、偽陽性薬剤15薬剤について、すべての薬剤で、「細胞電位」「興奮伝導」「発生張力」の3つの観点から正確かつ定量的に投与量に対する 安全域の程度が許容範囲 の予測が可能であるquasi-in vivo技術となることを確認した。	◎

◎: 目標以上、○: 目標通り、△: 目標以下

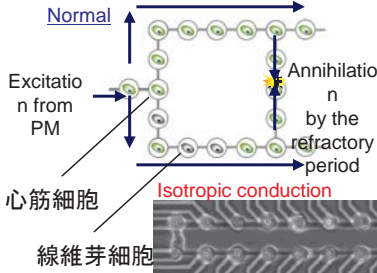
37

創薬における心毒性検査の流れ



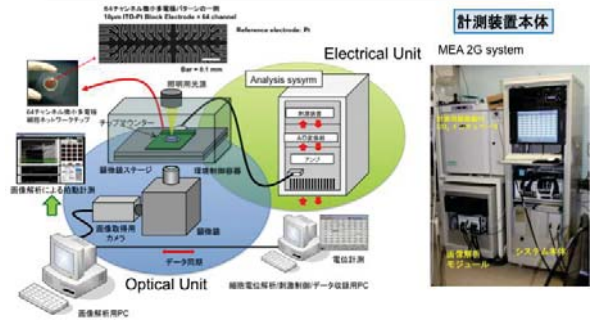
ハードウェア (細胞ネットワークチップ技術)

組織中の細胞配置を反映した細胞ネットワークとしての応答計測
(疑似ヒト個体モデル化)



ヒトiPS細胞分化
心筋細胞ネットワーク
リエントリーモデル

ハードウェア (計測システム技術)



ソフトウェア (解析手法、技術)

**リエントリーモデル
細胞ネットワーク計測システム**
(In vivo model) **Pseudo-ECG解析**

細胞ネットワーク直接計測

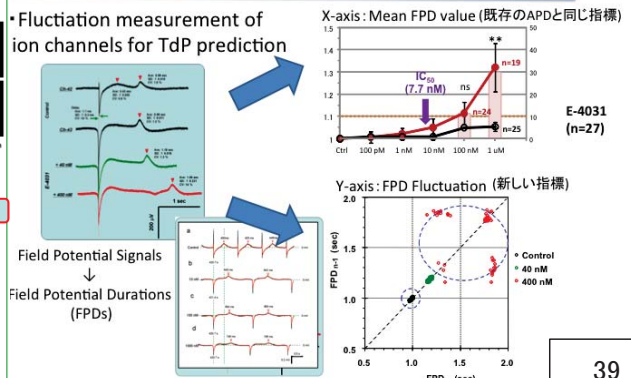
2D sheet circuit
On-chip TdP Assay
電極配置 (疑似心室)
測定電極
φ1.3 mm のリング状
width: 50-100 μm
96-well plate
正常位相
異常位相
Sampling rate: ~ 1 kHz

**オンチップ心臓モデル
総合計測システム**
(Channel + TdP assay) **High-Spec Type**

Single cell based network
2D sheet circuit
加算による pseudo-ECG 表示
伝導方向および伝導速度解析
各電極の波形解析 (異常部分の解析)
正常モデル
心臓大モデル
心筋細胞 線維芽細胞
PM: ペースメーカー細胞
Sampling rate: ~ 100 kHz

**1細胞マルチイオンチャンネル
計測システム**
(in vitro model) **波形解析**

Single cell or small cluster (about 10 cell)
1細胞FPD計測
電極サイズ
φ10, 20, 50 μm
染色画像 Bar: 20 μm
1細胞ゆらぎ計測
Field Potential (μV)
Conduction time
FPD: 154 ms
Sampling rate: ~ 10 kHz



既存モデルと本モデルの比較(開始前)

	In vitro IKr : HERG, APD	In vivo QT : Dogs, Monkeys	カールソン モデル: Rabbits	慢性房室ブ ロック: Dogs, Monkeys	オンチップ Q-in vivoモ デル
HERG (IKr)	△ (偽陽性/偽陰性)	△	×	△	○
Na, Ca, IKs	×	△	×	△	○
QT	△	○	×	○	○
TdP (VT/VF)	×	×	○	○	○
パネル試験 対応	×	×	×	×	○
薬物量 (微量対応)	○ (~ μg)	×	×	×	○

既存モデルと本モデルの比較(プロジェクト終了時)

公開

	In vitro IKr: HERG, APD	In vivo QT: Dogs, Monkeys	カールソン モデル: Rabbits	慢性房室ブ ロック:Dogs, Monkeys	オンチップ Q-in vivoモ デル
HERG (IKr)	△ (偽陽性/偽陰性)	△	×	△	○
Na, Ca, IKs	× (HERG) △ (APD)	△	×	△	○
QT	△	○	×	○	○
TdP (VT/VF)	×	×	○	○	○
パネル試験 対応	×	×	×	×	○
薬物量 (微量対応)	○ (~ μg)	×	×	×	○ (~ μg)

既存モデルと本モデルの比較(プロジェクト終了時)

公開

	In vitro IKr: HERG, APD	時間ゆらぎの観点: FPD延長とFPDゆらぎの 2次元マッピング			室ブ Dogs, eys	オンチップ Q-in vivoモ デル
HERG (IKr)	△ (偽	△	×	△		○
Na, Ca, IKs	× △	細胞間伝搬計測の観点: 細胞ネットワークの疑似ECG計測				○
QT	△	○	×	○		○
TdP (VT/VF)		多様なヒトiPS細胞からの心筋 細胞の供給(パネル試験)			○	○
パネル試験 対応	×	×	×	×		○
薬物量 (微量対応)	○ (~ μg)	×	×	×	×	○ (~ μg)

ヒト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
基礎・基盤技術の開発

ハードウェア部分の開発目標と結果、実用化の見通し

＜目標＞創薬スクリーニングシステムの細胞チップ、計測装置技術の開発
 ＜結果＞「ノイズ低減技術」「細胞ネットワークチップ(リエントリーチップを含む)」「興奮伝導」「張力発生ゆらぎ」計測装置技術を開発
 ＜実用化＞本技術についての特許出願を行い、一部については知財化を完了。

ソフトウェア部分の開発目標と結果、実用化の見通し

＜目標＞創薬スクリーニングシステムの解析ソフトウェア技術および細胞培養、評価プロトコルの開発
 ＜結果＞「細胞電位」波形変化、「細胞電位ゆらぎ」「細胞間興奮伝導ゆらぎ」「発生張力ゆらぎ」計測手法を考案し、これを実現する解析ソフトウェアを開発
 ＜実用化＞本技術についての特許出願を行い、一部については知財化を完了。

開発したシステムの評価についての目標と結果、実用化の見通し

＜目標＞「ハードウェア」「ソフトウェア」を組み合わせたシステムの催不整脈予測技術の総合評価
 ＜結果＞偽陰性・偽陽性15薬剤以上について評価を完了(含未発表)
 ＜実用化＞成果はHESI等の国際評価の会合にて紹介。
 (欧米製品企業3社よりライセンスの提案あり。)

43

知的財産、成果の普及等

年度	論文		学会発表			特許			その他	
	査読誌	解説・著書等	依頼・招待	一般・国際	一般・国内	国内	外国	PCT	展示会等	新聞等
H 20	0	0	2	0	0	3	11	2	0	1
H 21	6	3	5	8	3	0	2	1	0	6
H 22	9	5	15	5	3	2	0	0	1	4
H 23	8	5	11	5	5	3	3	1	0	0
H 24	10	5	6	14	5	3	2	1	0	5
H 25	7	2	12	10	4	0	0	1	0	0
合計	40	20	51	42	20	11	18	6	1	16
	60		113			35			17	

44

研究開発項目②-2-2 「ヒト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」 － 実用化の見通しについて －

LSIメディエンス (旧 三菱化学メディエンス)

事業原簿 50～150頁

45

3. 研究開発成果

(1) 目標の達成度と成果の意義

公開

要素技術開発の目標達成状況

最終目標	成果	達成度
医薬品等安全性・薬効薬理試験の新規メニューとして催不整脈作用評価試験を受託試験化する	iPS-CMの細胞外活動電位(ヒト心電図に似た波形)を経時的に記録し、被験薬の影響を評価するシステムを開発し、当該事業をH26年7月より開始	◎
多検体同時測定(スループットの向上) ・マルチウェル測定プレート開発 ・測定専用インキュベータの開発	・スループット向上のため最大8連のセルに培養したiPS-CMを用いて多検体同時測定を可能にした ・新たに測定専用恒温CO2インキュベータを開発。測定装置の計測部分を格納し安定的なデータ取得を実現	○
データ自動解析(データ再現性の向上) ・波形ピーク自動抽出ソフトウェア試作 ・強制刺激下実験法の確立	・多点電極上のiPS-CMから同時取得した波形を短時間で解析し不整脈誘発性の評価に重要なパラメータを自動算出するソフトウェアを搭載 ・iPS-CMの細胞外電位を強制刺激下で取得する機能を追加し、医薬品候補化合物の特性に合った最適な測定法が選択可能	◎

事業原簿 50～114頁

◎: 目標以上、○目標通り、△: 目標以下

46

1. 多検体同時測定（スループットの向上）
 - マルチウェル測定プレート開発
 - 測定専用インキュベータの開発
2. データ自動解析（データ再現性の向上）
 - 波形ピーク自動抽出ソフトウェア試作
 - 強制刺激下実験法の確立

事業原簿 50～114頁

47

医薬品の催不整脈作用の予測を行う評価系を開発

公開

ヒトiPS心筋を用いた心臓毒性評価の流れ

評価指標を標準化

FPD：波形の間隔
STV：間隔のばらつき
EAD：異常波形

多検体同時計測
(スループット向上)



8ウェルプレート



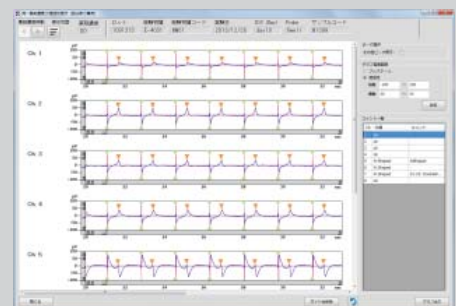
8ウェルプレートの各ウェルに8電極を配置（64電極同時測定）

測定環境制御
(データ精度品質向上)



測定システム

当社独自のソフトウェア
データ自動表示



心毒性パラメータ表示



事業原簿 109頁

3. 研究開発成果 (2) 知的財産等の取得

公開

事業化に必要な知財確立

種類	H21年	H22年	H23年	H24年	H25年	H26年
特許出願	—	1件*	—	—	6件**	—
学会等発表 (国内)	—	1件	—	—	1件	4件
学会発表 (海外)	—	1件	—	—	2件	—
新聞・雑誌 掲載	—	—	—	—	2件	18件
展示会等 出展	1件	—	—	—	1件	1件

* PCT出願(US,EU,JP)

** 国内特許(特許1、実新1、意匠4)

事業原簿 148~150頁

49

3. 研究開発成果 (3) 成果の普及-1

公開

NEDOプレスリリース

H26年7月2日 副作用を高精度に予測するシステムを開発 —ヒトiPS細胞由来の心筋細胞を使用—

	参加報道機関	報道日	報道のみ	報道日
1	朝日新聞社	7月3日朝刊版	MONOist	7月2日ネットニュース
2	医薬経済社	未確認	日経バイオテック	7月3日ネットニュース
3	化学工業日報社	7月3日デジタル版	SANKEI BIZ	7月3日ネットニュース
4	科学新聞社	未確認	GOOニュース	7月3日ネットニュース
5	共同通信社	未確認	Yahoo ニュース	7月3日ネットニュース
6	産経新聞社	7月3日デジタル版	日経デジタルヘルス	7月3日ネットニュース
7	(株)じほう	7月3日デジタル版	日経産業新聞	7月4日朝刊版
8	日刊工業新聞社	7月3日デジタル版		
9	日経BP社(※)	7月3日デジタル版		
10	日本経済新聞社	7月3日デジタル版		
11	(株)マイナビ	7月3日デジタル版		
12	毎日新聞社	7月3日デジタル版		
13	薬事日報社	7月4日日刊版 8日デジタル版	7月 (※)	
14	日経バイオテック	7月30日オンライン版 9月1日版	日経BP社については別途取材 対応(7/18)	

事業原簿 113 頁

50

- 学会等で技術紹介
 1. H25年6月19日 第40回日本毒性学会学術年会(幕張)
「自社主催ランチョンセミナーで技術紹介」
 2. H26年7月3日 第41回日本毒性学会学術年会(神戸)
「自社主催ランチョンセミナーでビジネス化紹介」
 3. H26年7月26日 安全性試験受託研究機関協議会 主催セミナーで講演
 4. H26年8月26日 (公財)ヒューマンサイエンス振興財団
第47回ヒューマンサイエンス・バイオインターフェース(東京)で講演
 5. H26年10月16日 バイオジャパン NEDO主催で成果技術紹介(予定)
- 日本安全性薬理研究会主催の情報・技術交流会に参画(H26年年5月開催)
- ICHガイドライン改定に向けての対応

H25年年7月13日 FDA担当官がE14廃止とS7B改正を提案

CiPA: Comprehensive *in Vitro* Proarrhythmia Assay

複数のイオンチャネルを評価する*In Vitro*アッセイ、*In Silico*モデル、ヒト由来心筋細胞を用いた評価系を活用した医薬品の催不整脈作用評価の新たなパラダイムの検討
→ICH SE14の廃止、7A/Bガイドラインの改訂を目指す

パートナー: FDA, EMA, Health Canada, PMDA, NIHS, CSRC, SPS, HESI

➤ 国産iPS-CMを用いる評価にプロジェクト技術をH26年度より提供

実用化に向けての見通し及び取組み

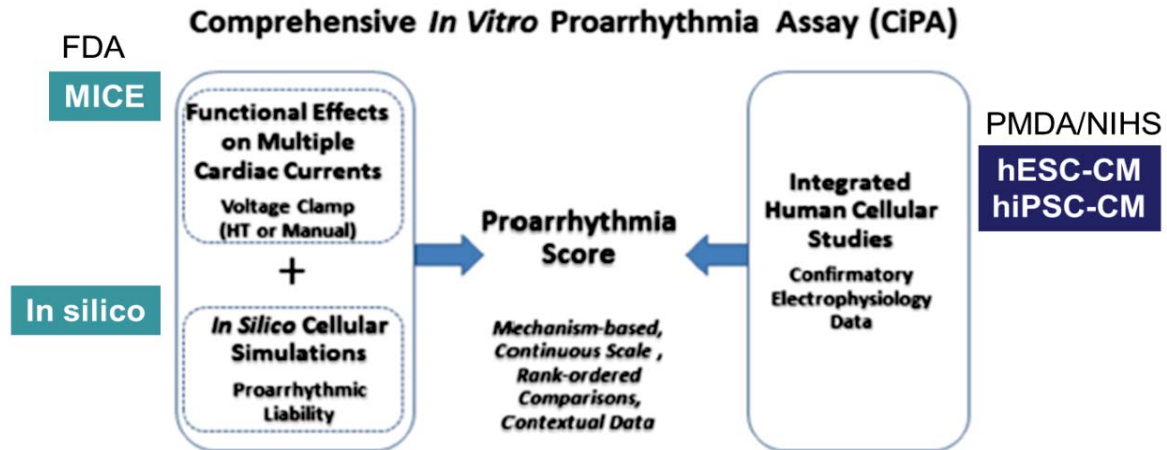
4. 実用化に向けての見通し及び取組み

(1) 成果の実用化の見通し（規制動向）

ICHガイドライン E14廃止、S7B改訂の動き

FDA提唱のICH S7B改定（E14廃止）に向けて国内外でデータ集積

→ 2016年7月改定
(2015年7月廃止)



Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: A meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium (Philip T. Sager *et al.* American Heart Journal Volume 167, Number 3 292-300)

Schematic of the elements of the CiPA. Abbreviations: HT, high throughput; Manual, manual patch voltage clamp.

4. 実用化に向けての見通し及び取組み

(2) 実用化に向けた具体的取組み

① ヒトiPS心筋を用いた心臓毒性試験の受託サービス開始

- ・ NEDOプロジェクトの成果として、ヒトiPS細胞由来心筋を用いて医薬品の催不整脈作用の予測を行う評価系を開発しました。
- ・ 本評価系の受託サービスを開始しました。

**多検体同時計測
(ペーシング機能)**



データ自動解析



鹿島研究所

4. 実用化に向けての見通し及び取組み

(2) 実用化に向けた具体的取組み

② 成果物の販売(アルファメッドサイエンティックス社でライセンス生産・販売H26年4月)

MED マルチウェル・プローブ

- MED64-Allegro専用のプローブです。
- 8ウェルタイプ(8電極/ウェル)と4ウェルタイプ(16電極/ウェル)より選択可能です。
- 8ウェルタイプのウェルピッチは標準96ウェルプレートと同サイズです。



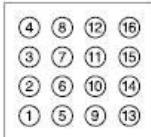
MED-P5NF30



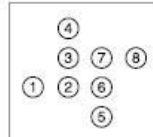
MED-P5N801



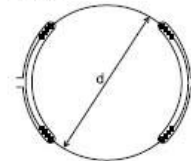
MED-P5N811



MED-P5NF30電極配列



MED-P5N801/811電極配列

参照電極配列
タイプE

型番	ウェル				記録・刺激電極			参照電極	
	数	孔径	高さ	ピッチ	数/ウェル	サイズ(c)	ピッチ(b)	配列タイプ	ピッチ(d)
MED-P5NF30	4	φ16 mm	10 mm	18 mm	16	□50 μm	300 μm	E	12 mm
MED-P5N801	8	φ7.5 mm	10 mm	9 mm	8	□50 μm	300 μm	E	5.5 mm
MED-P5N811	8	7.5 x 16 mm	10 mm	9 mm	8	□50 μm	300 μm	E	5.5 mm

* 本製品は独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の委託業務の結果得られた成果を活用しています。<http://www.med64.com>

アルファメッドサイエンティックス株式会社

事業原簿 148~150頁

55

事業化を目指して

NEDO成果(FPD, STVによる催不整脈作用予測)を基盤としたin vitro 心毒性リスク評価試験

iPS技術の活用
心筋2Dシート/計測チップ・
(パネル化)

標準化・ガイドライン化への貢献

ヒトへの高い外挿性⇒創薬開発確度向上
利便性・簡便性⇒動物代替化・ヒト多様性対応
ハイスループット性⇒開発加速、開発コスト低減

汎く使われる創薬支援ツールとして提供

事業原簿 50~150頁

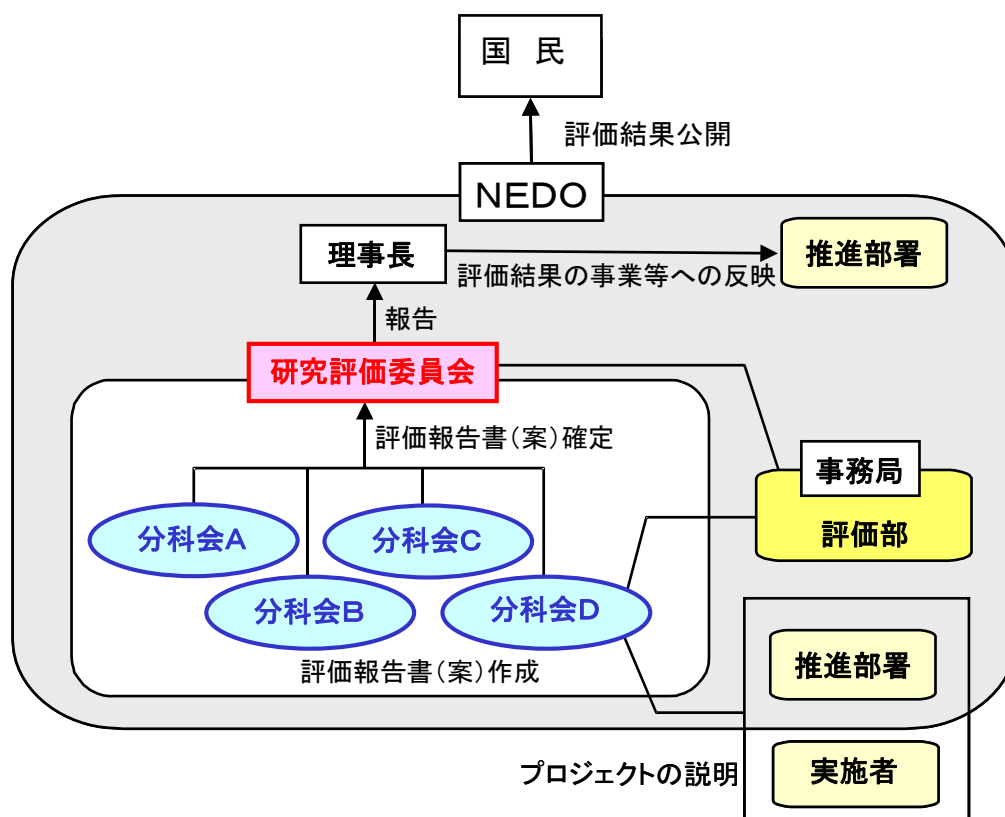
56

参考資料 1 評価の実施方法

本評価は、「技術評価実施規程」（平成 15 年 10 月制定）に基づいて研究評価を実施する。

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）における研究評価の手順は、以下のように被評価プロジェクトごとに分科会を設置し、同分科会にて研究評価を行い、評価報告書（案）を策定の上、研究評価委員会において確定している。

- 「NEDO 技術委員・技術委員会等規程」に基づき研究評価委員会を設置
- 研究評価委員会はその下に分科会を設置



1. 評価の目的

評価の目的は「技術評価実施規程」において。

- 業務の高度化等の自己改革を促進する
 - 社会に対する説明責任を履行するとともに、経済・社会ニーズを取り込む
 - 評価結果を資源配分に反映させ、資源の重点化及び業務の効率化を促進する
- としている。

本評価においては、この趣旨を踏まえ、本事業の意義、研究開発目標・計画の妥当性、計画を比較した達成度、成果の意義、成果の実用化の可能性等について検討・評価した。

2. 評価者

技術評価実施規程に基づき、事業の目的や態様に即した外部の専門家、有識者からなる委員会方式により評価を行う。分科会委員選定に当たっては以下の事項に配慮して行う。

- 科学技術全般に知見のある専門家、有識者
- 当該研究開発の分野の知見を有する専門家
- 研究開発マネジメントの専門家、経済学、環境問題、国際標準、その他社会的ニーズ関連の専門家、有識者
- 産業界の専門家、有識者

また、評価に対する中立性確保の観点から事業の推進側関係者を選任対象から除外し、また、事前評価の妥当性を判断するとの側面にかんがみ、事前評価に関与していない者を主体とする。

これらに基づき、分科会委員名簿にある6名を選任した。

なお、本分科会の事務局については、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構評価部が担当した。

3. 評価対象

平成20年度に開始された「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発／ヒト 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」プロジェクトを評価対象とした。

なお、分科会においては、当該事業の推進部署から提出された事業原簿、プロジェクトの内容、成果に関する資料をもって評価した。

4. 評価方法

分科会においては、当該事業の推進部署及び実施者からのヒアリングと、それを踏まえた分科会委員による評価コメント作成、評点法による評価及び実施者側等との議論等により評価作業を進めた。

なお、評価の透明性確保の観点から、知的財産保護の上で支障が生じると認められる場合等を除き、原則として分科会は公開とし、実施者と意見を交換する形で審議を行うこととした。

5. 評価項目・評価基準

分科会においては、次に掲げる「評価項目・評価基準」で評価を行った。これは、NEDOが定める「標準的評価項目・評価基準」（参考資料 1-7 頁参照）をもとに、当該事業の特性を踏まえ、評価事務局がカスタマイズしたものである。

プロジェクト全体に関わる評価については、主に事業の目的、計画、運営、達成度、成果の意義、実用化に向けての見通しや取り組み等を評価した。各個別テーマに係る評価については、主に、その目標に対する達成度、成果の意義、実用化に向けての見通しや取り組み等を評価した。

評価項目・評価基準

1. 事業の位置付け・必要性について

(1) NEDO の事業としての妥当性

- ・ 「健康安心イノベーションプログラム」の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDO の関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

(2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

2. 研究開発マネジメントについて

(1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断できる具体的かつ明確な開発目標を設定しているか。

(2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマごとの配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

(3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 適切な研究開発実施体制になっており、指令命令系統及び責任体制が明確になっているか。
- ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携が十分に行われる体制となっているか。
- ・ 知的財産取扱（実施者間の情報管理、秘密保持、出願・活用ルール含む）に関する考え方は整備され、適切に運用されているか。

- (4) 研究開発成果の実用化に向けたマネジメントの妥当性
- ・ 成果の実用化につなげる戦略が明確になっているか。
 - ・ 成果の実用化シナリオに基づき、成果の活用・実用化の担い手、ユーザーが関与する体制を構築しているか。
 - ・ 全体を統括するプロジェクトリーダーが選任されている場合、成果の実用化シナリオに基づき、適切な研究開発のマネジメントが行われているか。
 - ・ 成果の実用化につなげる知財戦略（オープン／クローズ戦略等）や標準化戦略が明確になっており、かつ妥当なものか。
- (5) 情勢変化への対応等
- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向等に機敏かつ適切に対応しているか。

3. 研究開発成果について

- (1) 目標の達成度と成果の意義
- ・ 成果は目標を達成しているか。
 - ・ 成果は将来的に市場の拡大あるいは市場の創造につながることを期待できるか。
 - ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。
 - ・ 目標未達成の場合、達成できなかった原因が明らかで、かつ目標達成までの課題を把握し、この課題解決の方針が明確になっているなど、成果として評価できるか。
 - ・ 設定された目標以外に技術的成果があれば付加的に評価する。
 - ・ 世界初、世界最高水準、新たな技術領域の開拓、又は汎用性のある成果については、将来の産業につながる観点から特に顕著な成果が上がっている場合は、海外ベンチマークと比較の上で付加的に評価する。
 - ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
 - ・ 大学または公的研究機関で企業の開発を支援する取り組みを行った場合には、具体的に企業の取り組みに貢献しているか。
- (2) 知的財産権等の取得及び標準化の取組
- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、または実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- (3) 成果の普及
- ・ 論文等の対外的な発表は、将来の産業につながる観点から戦略的に行われているか。
 - ・ 成果の活用・実用化の担い手・ユーザー等に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
 - ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

本項目における「実用化」の考え方

当該研究開発に係る試作品、サービス等の社会的利用(顧客への提供等)が開始されることである。

(1) 成果の実用化の見通し

- ・ 実用化イメージに基づき、課題及びマイルストーンが明確になっているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2) 実用化に向けた具体的取り組み

- ・ 成果の実用化に向けて、誰がどのように引き続き研究開発を取り組むのか明確になっているか。

はじめに

本「標準的評価項目・評価基準」は、「技術評価実施規程」に定める技術評価の目的^{*}を踏まえ、NEDOとして評価を行う上での標準的な評価項目及び評価基準として用いる。

本文中の「実用化・事業化」に係る考え方及び評価の視点に関しては、対象となるプロジェクトの特性を踏まえ必要に応じ評価事務局がカスタマイズする。

※「技術評価実施規程」第5条(技術評価の目的) ①業務の高度化等自己改革の促進、②社会への説明責任、経済・社会ニーズの取り込み、③評価結果の資源配分反映による、資源の重点化及び業務の効率化促進

なお「評価項目」、「評価基準」、「評価の視点」は、以下のとおり。

- ◆評価項目：「1. . . .」
- ◆評価基準：上記、各項目中の「(1) . . .」
- ◆評価の視点：上記、各基準中の「・」

評価項目・基準・視点

1. 事業の位置付け・必要性について

(1) NEDOの事業としての妥当性

- ・ 特定の施策（プログラム）、制度の下で実施する事業の場合、当該施策・制度の目標達成のために寄与しているか。
- ・ 民間活動のみでは改善できないものであること、又は公共性が高いことにより、NEDOの関与が必要とされる事業か。
- ・ 当該事業を実施することによりもたらされる効果が、投じた予算との比較において十分であるか。

(2) 事業目的の妥当性

- ・ 内外の技術開発動向、国際競争力の状況、エネルギー需給動向、市場動向、政策動向、国際貢献の可能性等から見て、事業の目的は妥当か。

2. 研究開発マネジメントについて

(1) 研究開発目標の妥当性

- ・ 内外の技術動向、市場動向等を踏まえて、戦略的な目標が設定されているか。
- ・ 目標達成度を測定・判断できる具体的かつ明確な開発目標を設定しているか。

(2) 研究開発計画の妥当性

- ・ 目標達成のために妥当なスケジュール、予算（各個別研究テーマごとの配分を含む）となっているか。
- ・ 目標達成に必要な要素技術を取り上げているか。
- ・ 研究開発フローにおける要素技術間の関係、順序は適切か。
- ・ 継続プロジェクトや長期プロジェクトの場合、技術蓄積を、実用化の観点から絞り込んだうえで活用が図られているか。

(3) 研究開発実施の事業体制の妥当性

- ・ 真に技術力と事業化能力を有する企業を実施者として選定しているか。
- ・ 適切な研究開発実施体制になっており、指揮命令系統及び責任体制が明確になっているか。
- ・ 研究管理法を經由する場合、研究管理法が真に必要な役割を担っているか。
- ・ 目標達成及び効率的実施のために必要な実施者間の連携 and/or 競争が十分に行われる体制となっているか。
- ・ 知的財産取扱（実施者間の情報管理、秘密保持、出願・活用ルール含む）に関する考え方は整備され、適切に運用されているか。

(4) 研究開発成果の実用化・事業化に向けたマネジメントの妥当性

（基礎的・基盤的研究開発及び知的基盤・標準整備等研究開発の場合は、「事業化」を除く）

- ・ 成果の実用化・事業化につなげる戦略が明確になっているか。
- ・ 成果の実用化・事業化シナリオに基づき、成果の活用・実用化の担い手、ユーザーが関与する体制を構築しているか。
- ・ 全体を統括するプロジェクトリーダーが選任されている場合、成果の実用化・事業化シナリオに基づき、適切な研究開発のマネジメントが行われているか。
- ・ 成果の実用化・事業化につなげる知財戦略(オープン/クローズ戦略等) や標準化戦略が明確になっており、かつ妥当なものか。

(5) 情勢変化への対応等

- ・ 進捗状況を常に把握し、社会・経済の情勢の変化及び政策・技術動向等に機敏かつ適切に対応しているか。

3. 研究開発成果について

(1) 目標の達成度と成果の意義

- ・ 成果は目標を達成しているか。
- ・ 成果は将来的に市場の拡大あるいは市場の創造につながることを期待できるか。
- ・ 成果は、他の競合技術と比較して優位性があるか。
- ・ 目標未達成の場合、達成できなかった原因が明らかで、かつ目標達成までの課題を把握し、この課題解決の方針が明確になっているなど、成果として評価できるか。
- ・ 設定された目標以外に技術的成果があれば付加的に評価する。
- ・ 世界初、世界最高水準、新たな技術領域の開拓、又は汎用性のある成果については、将来の産業につながる観点から特に顕著な成果が上がっている場合は、海外ベンチマークと比較の上で付加的に評価する。
- ・ 投入された予算に見合った成果が得られているか。
- ・ 大学又は公的研究機関で企業の開発を支援する取り組みを行った場合には、具体的に企業の取り組みに貢献しているか。

(2) 知的財産権等の取得及び標準化の取組

- ・ 知的財産権等の取扱（特許や意匠登録出願、著作権や回路配置利用権の登録、品種登録出願、営業機密の管理等）は事業戦略、又は実用化計画に沿って国内外に適切に行われているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案等の取組が適切に行われているか。

(3) 成果の普及

- ・ 論文等の対外的な発表は、将来の産業につながる観点から戦略的に行われているか。
- ・ 成果の活用・実用化の担い手・ユーザー等に対して、適切に成果を普及しているか。また、普及の見通しは立っているか。
- ・ 一般に向けて広く情報発信をしているか。

(4) 成果の最終目標の達成可能性(中間評価のみ設定)

- ・ 最終目標を達成できる見込みか。
- ・ 最終目標に向け、課題とその解決の道筋が明確に示され、かつ妥当なものか。

4. 実用化・事業化に向けての見通し及び取り組みについて

本項目における「実用化・事業化」の考え方

当該研究開発に係る試作品、サービス等の社会的利用(顧客への提供等)が開始されることであり、さらに、当該研究開発に係る商品、製品、サービス等の販売や利用により、企業活動(売り上げ等)に貢献することを言う。

なお、評価の対象となるプロジェクトは、その意図する効果の範囲や時間軸に多様性を有することから、上記「実用化・事業化」の考え方はこうした各プロジェクトの性格を踏まえ必要に応じカスタマイズして用いる。

(1)成果の実用化・事業化の見通し

- ・ 産業技術としての見極め(適用可能性の明確化)ができているか。
- ・ 実用化に向けて課題が明確になっているか。課題解決の方針が明確になっているか。
- ・ 成果は市場やユーザーのニーズに合致しているか。
- ・ 実用化に向けて、競合技術と比較し性能面、コスト面を含み優位性は確保される見通しはあるか。
- ・ 量産化技術が確立される見通しはあるか。
- ・ 事業化した場合に対象となる市場規模や成長性等により経済効果等が見込めるものとなっているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2)実用化・事業化に向けた具体的取り組み

- ・ プロジェクト終了後において実用化・事業化に向けて取り組む者が明確になっているか。また、取り組み計画、事業化までのマイルストーン、事業化する製品・サービス等の具体的な見通し等は立っているか。

◆プロジェクトの性格が「基礎的・基盤的研究開発」である場合は以下を適用

4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

(1)成果の実用化の見通し

- ・ 実用化イメージに基づき、課題及びマイルストーンが明確になっているか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2) 実用化に向けた具体的取り組み

- ・ 成果の実用化に向けて、誰がどのように引き続き研究開発に取り組むのか明確になっているか。

◆プロジェクトの性格が「知的基盤・標準整備等の研究開発」である場合は以下を適用

4. 実用化に向けての見通し及び取り組みについて

(1) 成果の実用化の見通し

- ・ 整備した知的基盤についての利用は実際にあるか、その見通しが得られているか。
- ・ 公共財として知的基盤を供給、維持するための体制は整備されているか、その見込みはあるか。
- ・ 国際標準化に関する事項が計画されている場合、国際規格化等、標準整備に向けた見通しが得られているか。
- ・ J I S 化、標準整備に向けた見通しが得られているか。注) 国内標準に限る
- ・ 一般向け広報は積極的になされているか。
- ・ プロジェクトの直接の成果ではないが、特に顕著な波及効果(技術的・経済的・社会的効果、人材育成等)がある場合には付加的に評価する。

(2) 実用化に向けた具体的取り組み

- ・ 成果の実用化に向けて、誰がどのように引き続き研究開発に取り組むのか明確になっているか。

参考資料 2 分科会議事録

研究評価委員会
「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発」
ヒト 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」
(事後評価) 分科会
議事録

日 時：平成26年10月14日(火) 12:30～17:45
場 所：大手町サンスカイルーム 27階 D室

出席者(敬称略、順不同)

＜分科会委員＞

分科会長	後藤 俊男	(独)理化学研究所 社会知創成事業 創薬・医療技術基盤プログラム プログラムディレクター
分科会長代理	中西 淳	武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 基盤技術研究所 主席部員 湘南インキュベーションラボ ディレクター
委員	樽林 陽一	(独)医療基盤研究所 創薬支援戦略室 理事 兼 室長
委員	中村 幸夫	(独)理化学研究所 バイオリソースセンター 細胞材料開発室 室長
委員	水口 裕之	大阪大学 大学院薬学研究科 分子生物学分野 教授 独立行政法人 医薬基盤研究所 招へいプロジェクトリーダー
委員	横山 周史	株式会社リプロセル 代表取締役社長

＜推進者＞

山崎 知巳	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 部長
加藤 紘	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 プログラムマネージャー
三代川 洋一郎	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 主任研究員
菅原 武雄	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 主任研究員
知場 伸介	NEDO バイオテクノロジー・医療技術部 主査

＜実施者※メインテーブル着席者のみ＞

安田 賢二 (PL)	東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 医療デバイス研究部門 バイオ情報分野 教授
福田 恵一	慶應義塾大学 医学部 循環器内科 教授
関島 勝	(株)LSI メディエンス 創薬支援事業本部 先端事業推進室
野村 典正	東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 医療デバイス研究部門 バイオ情報分野 准教授
井上様	(株)LSI メディエンス 創薬支援事業本部 副本部長・室長
長田様	(株)LSI メディエンス 創薬支援事業本部 先端事業推進室

＜評価事務局等＞

佐藤 嘉晃	NEDO 評価部 部長
保坂 尚子	NEDO 評価部 主幹
梶田 保之	NEDO 評価部 主査

議事次第

<公開の部>

1. 開会、資料の確認
2. 分科会の設置について
3. 分科会の公開について
4. 評価の実施方法について
5. プロジェクトの概要説明
 5. 1 「事業の位置づけ・必要性」及び「研究開発マネジメント」
 5. 2 「研究開発成果」及び「実用化に向けての見通し及び取り組みについて」
 5. 3 質疑

<非公開の部>

6. プロジェクトの詳細説明
 6. 1 ヒト 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
 6. 2 ヒト 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
 6. 2. 1 基礎・基盤技術の開発
 6. 2. 2 実用化に向けての見通し及び取り組みについて
7. 全体を通しての質疑

<公開の部>

8. まとめ・講評
9. 今後の予定
10. 閉会

議事内容

<公開の部>

1. 開会、資料の確認
 - ・後藤分科会長挨拶
 - ・出席者の紹介（評価事務局、推進者）
 - ・配布資料確認（評価事務局）
2. 分科会の設置について
 - ・研究評価委員会分科会の設置について、資料1に基づき評価事務局より説明。
3. 分科会の公開について
 - 評価事務局より資料2及び3に基づき説明し、議題6.「プロジェクトの詳細説明」、議題7.「全体を通しての質疑」を非公開とした。
4. 評価の実施方法について
 - 評価の手順を評価事務局より資料4-1～4-5に基づき説明した。
5. プロジェクトの概要説明
 5. 1 「事業の位置づけ・必要性」及び「研究開発マネジメント」
 5. 2 「研究開発成果」及び「実用化に向けての見通し及び取り組みについて」
 - 推進者より資料6 (5.1 事業の位置付け・必要性及び研究開発マネジメント) に基づき説明が、実施者より資料6 (5.2 研究開発成果及び実用化に向けての見通し及び取り組みについて) に基づき説明が行わ

れ、その内容に対し質疑応答が行われた。

5. 3 質疑

【後藤分科会長】 ただいまの説明に関する意見、質問をお願いします。議題6で非公開部分の技術の詳細を議論する予定です。ここでは、主に、6年間のプロジェクトの評価、特に中間評価以降、今までがどうかという意味で、この間のプロジェクトマネジメントの観点からお願いします。

委員の先生方、いかがでしょうか。

それでは、指名させていただきます。最初の顧客は製薬メーカー、あるいは、製薬メーカーでなくとも、これらを使うネットワーク、そういうことかと思しますので、まず中西委員からご意見ををお願いします。

【中西分科会長代理】 5年間のプロジェクトの前半に、いろいろな目標を持った多様なプロジェクトが入っていました。それらが今回の創薬スクリーニングに向けたプロジェクトに集中したということだと思います。この前半において、製薬企業が複数社集まってユーザフォーラムという形で意見を交わしたことが立上げ時にはあったと思います。それが後半、プロジェクトが集中した後で、そういうユーザフォーラムの話が出てきません。後半、それはどうなったのですか。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 ユーザフォーラムに関しては前半に行いました。前半から問い合わせをして皆様に使っていただくということで、後半になってから施設・装置を準備していました。しかし、実際には、三菱が事業化の準備の対応をする予定でしたが、準備が間に合わなかったことと、もう一つは、国際化ということで HESI (Health and Environmental science Institute) から、エマージェンシーイシュー (issue) ということで立ち上げてはどうかという提案をいただきました。私たちは、国際標準化があるので、HESIに提案していこうということで、リソースをそちらに集中させました。

【後藤分科会長】 創薬支援ということでネットワークを組んで推進しています。ここでも重要なイシューになるとしますので、樽林委員から質問をお願いします。

【樽林委員】 2点お伺いします。

1つは、15個の偽陽性・偽陰性（見過ぎ・見落とし）の薬物をツールにして、これまでに見られなかった、あるいは、見出すことが難しかった心毒性（心室性不整脈等誘発作用）を見出したことです。詳細は非公開の場で説明されるのかもしれませんが、これまで明らかにQT延長（心電図のQ波からT波までの時間、心室での収縮期の延長を示す）があつて落ちた標準薬、そこでのあたりはどのくらいでしたか。実際に臨床で何か問題があったものはおしなべて引っかかってきたのかどうか1点です。

2つ目は、LSIメディエンスへの簡単な質問です。スループット向上ということで、開発が進んだ化合物の評価に使うことを目的に実用化を戦略としていたのか、あるいは、もっとアーリーステージの研究で、化合物がどんどん出てきてリード化合物を見出すような数多くの検体を短時間で評価できるという観点から系を組んできたのか、その点を教えてください。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 1点目の質問は私がお答えします。この点は、推進委員会の中でも議論がありました。陽性の薬剤も、一番知りたいことは定量性についてです。陽性・陰性（反応あり、反応なし）は、薬物を足していけば必ず何か出てきます。その定量的なものがどうかという話が陽性の薬剤で出て対応しています。それは非公開部分で報告します。定量性の部分でも面白い結果が出ています。

もう一つは、既存の、世の中で *in vitro*（生体外の培養細胞）で計測できると主張している計測方法の問題点、我々がそれらに対してどういうアドバンテージを持つ技術をつくったかも紹介します。

【LSIメディエンス：関島様】 ご質問にお答えします。製薬会社の中でどういうプロセスで創薬しているか

は、各社いろいろなストラテジを持っていると思います。特に心毒性は、一般的には hERG (human Ether-a-go-go Related Gene) という細胞系を用いたスクリーニングが比較的初期の段階で行われることと、いわゆる安全性薬理コアバッテリー試験として GLP 試験 (Good Laboratory Practice、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準) でも hERG アッセイ(分析、評価)が要求されています。今回開発していく技術は、そういうフェーズで活用されると考えています。

しかし、ガイドライン化するとなると、いろいろなコンセンサス、ICH (日米 EU 医薬品規制調和国際会議) という 3 極での合意も必要になります。これらの技術が既存のものに対して評価でき得るものであることを提示しないと、合意が得られないと考えています。まず、実用化は比較的早い段階で製薬会社がいろいろな戦略の中で活用してもらう。その場合、正確性と迅速性が必要になると思います。

また、in vivo で行う場合に、大量の化合物を早い段階で合成するのは、いろいろな意味でブレイキになるので、比較的少量でスクリーニングできる。ただ、その正確度はどの段階で判断するか、あるいは、補完的に他の指標で評価することも出てくるため、そういった段階で活用してもらう技術を提供することを念頭に考えています。

将来的には、これらの技術が成熟していく中で、より高度な技術、レギュレーション等できちんと評価できる技術を確立していく。そのように、今回の技術について協力していきたいと考えています。

【後藤分科会長】 それでは、先ほどの議論のポイントになる事業の位置づけ・必要性あるいは研究開発マネジメントについて、カスタマーというよりは製造側の立場から、横山委員、お願いします。

【横山委員】 2点、質問します。研究開発のマネジメントという意味で、装置開発とソフトウェア、細胞と、それを使用する企業、要素はそろっていると思いますが、具体的にどのような連携をして進めていったのか、漠然とした質問で申し訳ないのですが、マネジメント体制を質問します。

もう一つは、大学と企業は知財の面で相いれないことがあります。実用化に向けて、その辺はどういう方針なのか。オープンにするか、クローズドにするかを含めて、どのような話し合いの中で知財を形成していったのか、質問します。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 まず、プロジェクトのマネジメントについて、私がお答えする立場にあると思いますのでお話しします。

このプロジェクトで一番難しかった点は、できた細胞を使って計測方法を確立するだけでなく、細胞をつくることと並行して計測技術も開発していたことです。このプロジェクト終了後に、それらが合体して成果になるだろうと思っていました。そういう意味では難しい進め方であったと思います。

今回の場合、福田先生 (実施者、慶應義塾大学医学部) がプロジェクト開始時に基礎的な開発を行う。そうして開発した技術を受け取り、細胞を産業化する役割でアスピオファーマ株式会社という企業が当初参画していました。そのアスピオファーマから私たちに、福田先生がつくった細胞が供給され、その細胞を私たちが評価し、使えるか、使えないかをフィードバックするフォーメーションを組んでいました。ところが、アスピオファーマは経営的な課題があり、途中で参画を見合わせることになり、その部分が弱くなりました。ただ、私たちは、福田先生がつくった細胞に関してはそれぞれ評価しました。

その前に、こういう状態の中で、どのようにして装置側の技術を開発するかが難しかったのです。ヒト ES 細胞由来の心筋細胞に関しては市販された細胞があり、製薬企業が使用していたので、とりあえず疑似的にそれを利用して評価しつつ、福田先生がつくった iPS 細胞と比較するというスタンスで評価を行い、フィードバックする形でフォーメーションを組んでいます。

プロジェクトの最終年度まで、私たちは多電極法計測とパッチクランプ法計測によって、後ほど非公開部分で話しますが、例えばパッチクランプの場合、シングルの cell の情報を取っていると思いますが、細胞ネットワークを構築したところでもパッチクランプを取っており、ネットワークになるとどういふ変化が起きるかまで最終年度では出ています。実質的には、細胞のクオリティコントロールを、どうしてもヘテロな細胞集団（均一でない細胞集団）になってしまうので、それをどう解決するかという課題を見出したところで終わったという状況です。これはまだ解くことのできる問題ではありませんが、そういう形での細胞評価の観点で技術グループと連携できたと思います。実際には開発途上ですので、その細胞を使ったシステムの構築までには至っていません。

あと、技術開発部門と LSI メディエンスの関係は、東京医科歯科大学の中に LSI メディエンスが使う、いわゆるユーザフォーラム向けの開発を行う施設を設置し、そこは評価班ということで LSI が対応しました。しかし、技術的になかなか難しい面があり、最終的には、大学でかなりの部分の評価を行いました。その中で、技術に関しては、一通りのものを、メディエンスの担当者を大学内に入れて技術指導を行い、200 ページくらいのプロトコルのブックを作成し、これをノウハウ供与として行ってクオリティをそろえる。そういうことを基盤的なものにさせてもらいました。

知財に関しては、各組織で扱いが違ふと思いますので、後でそれぞれ説明してほしいと思います。東京医科歯科大学では、NEDO の国家プロジェクトであることを理解しているので、LSI メディエンスから共願を希望されたものは、私たちの単独発明ではありましたが、無償で共同出願を、事業化することを前提に認可して供与しています。ただ、これは国策的なものであるため、LSI メディエンスでも事業化を自社でどこまで進めるのか、わかりませんが、例えば株式会社リプロセルでも行いたいのであれば大学に相談してもらえば、LSI メディエンスの了解があれば事業化できるという流れになると思います。

海外を見ても、新しい技術は、ベンチャー企業が手がけるほうが、ハードルが低いと思います。大企業だと、上層部に、どれくらいの事業化ができるのかという際のスタートアップの最低売上高の見込み額が何十億円以上なければいけないとか、そういうハードルを考えれば、正直言うと、ベンチャー企業などが行うことが一番よいと、私も海外のいろいろなものを見て感じています。

先ほど言った海外からの 3 件のオファーに関しては、3 件ともリーディングカンパニーです。

【慶應義塾大学：福田教授】 知財に関しては、アスピオファーマ、G-CSF（顆粒球コロニー刺激因子）に関しては中外製薬、iPS 細胞の樹立に関してはディナベック株式会社という会社と共同で提出しています。

【後藤分科会長】 たぶん、iPS の心筋だけではなく、肝臓、そのデポジットなどいろいろなことがあると思いますが、その辺について、中村委員、水口委員、お願いします。

【中村委員】 前半で患者由来の iPS 細胞の話が出てきたと思います。事業化で受託解析する際は、あくまでも健常者由来の細胞が対象で、臨床的に QT 延長等がわかっている疾患は、サンプルとして関係ないのででしょうか。

【LSI メディエンス：関島様】 まずは、正常な心筋での応答性が重要と考えています。副作用という点ではなく、むしろ、薬効など新しい薬の開発という点では、遺伝的な疾患を持っている患者由来の心筋はいろいろな形で応用されていく可能性があります。そうした点で、例えば、正常な心筋ではこういう作用があらわれるけれども、患者の心筋でもそれと同程度、あるいは、それ以上出ることについては、ケースバイケースで検討する必要があると思います。将来的に、薬効評価という点での活用が期待されると理解しています。

【中村委員】 もう1点、ライセンスの件で、海外から使いたいというオファーがあったが、国プロなので断ったという話がありました。エクスクルーシブ・ライセンスでない契約であれば可能だと思いますが、その辺はいかがでしょうか。

【NEDO：知場主査】 知財については、このプロジェクトの価値がまだはっきりしていないことが一番大きいと思います。LSI メディエンスも、基本的に、事業化する場合に、どこまでがビジネスになるのかの見極めがつかないので、現時点で、ここだけで、あとはもうということにならず、LSI メディエンス自身がその価値を判断するためにキープしたいということがあります。要するに、所有する知財のどこかを切り取ってライセンスすることは難しいというか、今の段階では判断できないと私は理解しています。

【水口委員】 知財の話になったので、関連するところでお伺いします。44 ページ（資料6）を見ると、特許の数が外国と PCT（国際出願）で違うのはどうしてですか。米国だけ出願した、そういう意味ですか。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 各国出願したものを1件ずつカウントしているのではないかと思います。

【水口委員】 では、知財の数としては、外国11件、PCT2件とあるものの、本当は2件ということですね。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 実際には、各国出願する際に補正をいろいろ入れたりもしているので、完全に同じものではないと思います。

【水口委員】 例えば特許は2つで、その後、各国に分けて、という形ですか。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 詳細はわかりませんが、PTC に対応したものと、各国出願したものと混ざっていると思います。

【水口委員】 外国出願の数が多いと思ったのですが、同じものを延べで数えているということですか。

【NEDO：知場主査】 特許は事務上、そういう数え方をしていると思います。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 これは大学から知財の数を出してもらいましたので。シンガポール、アメリカ、ヨーロッパ、中国、香港、そういう形になっています。

【水口委員】 あと、我々もアカデミアにいて頭が痛いのは、外国出願の費用をどうするかという問題です。今回は、会社との共願で、費用は会社にて全て持ってもらったのですか。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 一部、LSI メディエンスが希望したものはそういう対応をしています。ただ、そういう対応をしてもらえなかったものは、NEDO の前で言うのは申し訳ないのですが、JST の外国出願補助制度のサポートを受けています。ご指摘のとおり、頭の痛い問題です。先ほど話があったように、ライセンスを早く取得することが、費用の維持、追加の特許を出していくという観点では重要なことから、本当は早く行いたいということがあります。つまり、生殺しというか、そういう状況はきついついと思っています。

【水口委員】 QT 延長の患者も含めて多数の iPS をつくったということですが、それは、IC（インフォームド・コンセント）を取るところから、その iPS を製薬メーカーが将来、営利につながる創薬段階の研究で使用することを説明して IC を取っているのですか。それを取っていないと、せっかくつくった細胞がアカデミアで使うだけで、産業界からすると役立たなくなります。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 それに関しても2つのアプローチをしています。福田先生はアカデミアベースで実証性を確認しなければいけないので、それは福田先生のところで進めていただいています。私たちは、方法がないか、いろいろ探しています。お金さえあれば進められるという状況までの対応策をとっています。それは何かというと、まずターゲットの細胞として薬物性 QT 延長の細胞に焦点を絞っています。なぜかということ、従来、QT 延長症候群1型から3型は、事前にわかっている可能性が高い

ので、薬として投与しないようにすればよいという対応があると思います。一番怖いのは薬物性 QT 延長です。これが *in vitro* 系というか、詳しい *in vivo* の中で一番アドバンテージが出てくるので、まずその細胞をつくりたいと考えています。

海外の細胞に携わるところといろいろ話をしていると、甘いというか、フランスやスウェーデンは産業上、例えば福田先生の技術をフランスに持って行って薬物性 QT 延長の患者の iPS 細胞をつくって、これを日本に戻してくれば、行った場所とボランティアが日本人でもいいのですが、フランスで細胞を採ってきたと。これがあれば、産業上は利用できるということまでは確認しています。法的なものによるようですが、それであれば、そういう展開ができると思っています。

【慶應義塾大学：福田教授】 研究当初の段階では、そういうコマーシャルベースのもののインフォームドコンセントは取得していませんが、研究の途中の段階からインフォームドコンセントを別のものにして、産業応用してもよいという形のインフォームドコンセントを取得しています。

健常者の iPS 細胞に対して薬剤負荷を行った場合と、QT 延長の患者に薬剤負荷を行った場合、健常者は、いくら薬剤を使っても不整脈がなかなか起きないのに対して、患者は比較的軽い薬剤を、臨床使用される濃度で使っても激しい不整脈が起きることもあります。薬剤で患者が突然死する現況は、全く何もない健常者で起きるよりも、薬剤性 QT 延長症候群あるいは QT 延長症候群がある方が、何らかの薬剤を飲む場合に起こる場合のほうがはるかに多いと想定されます。我々の試験管 (*in vitro*) の中での成果でも、健常者ではかなりの濃度を使っても起きない不整脈が、容易に誘発できることがあります。むしろ、QT 延長のリスクが高い患者の iPS 細胞を使ったほうが不整脈の検出には優れているという感触を持っています。

【後藤分科会長】 どうもありがとうございます。それでは、予定の時間がまいりましたので、ここで 10 分間の休憩を取ります。ほかのご意見、ご質問は、この後の非公開部分で、より詳細な説明があると思いますので、その時をお願いします。

<非公開の部>

6. プロジェクトの詳細説明 (実施者入替)

7. 全体を通しての質疑

省略

<公開の部>

8. まとめ・講評

【後藤分科会長】 審議を終了しましたので、各委員の皆様から講評をいただきます。横山委員から始めて、最後に私という順に行います。

【横山委員】 発表、ありがとうございました。面白く聞かせていただきました。私もこの世界で心筋の事業者として生きているため、学会などで、国際的にもいろいろな情報を聞く機会が多いのですが、今回の技術開発は間違いなく世界最先端であると思います。あまり見たことがないというか、患者由来のものと正常のものとの違いをきめ細かく研究したり、単なる QT 延長ではなく、ゆらぎなど違う軸を出していたり、完全に新しい成形の形で開発している。あとは、事業者であるメディエンスがしっかりサポートする形で加わっているという意味では、技術的に進んでいるというのが私の実感です。

先生方も指摘されていたように、今後、どういう形でこの事業を実用化していくかということがあり

ます。実用化はビジョン的にはかなり見えていると思いますし、行うべきことも、ある程度具体的にわかっているという意味では、実用化の見込みがあると思います。誰がどのように進めていくかが次のステージだと思います。技術的に優れたものですので、実用化に結びつけてほしいと思います。

【水口委員】 細胞の技術にしても、それをアッセイ（分析、評価）する機器類の系にしても、最先端の素晴らしい技術であると思いながら拝聴しました。

途中でも述べましたが、iPS 心筋は、今スタートして、標準化に向かい、あるいは、ICH ガイドライン化に向かって世界各国が開発を進めています。日本がそのイニシアチブを取るように進めているので、ぜひともそこに食い込んで、ワン・オブ・ゼムでも、日本の技術が世界で使われるように、プロジェクトは終わりましたが、今から邁進してほしいと思います。

【中村委員】 iPS 細胞技術が日本で開発されて、最初は再生医療が注目されていましたが、iPS 由来の細胞を薬のスクリーニングに使うということで、いち早くこのプロジェクトが立ち上がりました。ヒトの心臓や肝臓の細胞を製薬企業が入手するルートは、アメリカの脳死患者から得た心筋や肝臓を使うことが今でもメインだと思います。それに代わる代替法を提示できたという意味で、総論的には大成功のプロジェクトであったと思います。各論的には、私、個人的には血液分野が専門ですが、血液の分野では胎児型血液と成人型血液があります。心臓にもそういうものがあることがわかり、勉強になりました。それが障壁にならず、活用できそうだと聞いて、大変有望だと思いました。

また、安田先生が、中間評価からさらに進んで伝導障害を評価する系を開発したことは大変な努力だと思いました。高く評価できると思います。引き続き、このプロジェクトが終了しても、この分野で iPS 由来の心筋が有効性を発揮できるように進めてほしいと期待しています。

【中西分科会長代理】 本日は、素晴らしい成果を聞かせていただき、ありがとうございました。

このプロジェクトの意義は、中村委員も言われたように、iPS 細胞が登場してすぐに立ち上げ、iPS 細胞を創薬にどのように使用できるかについて、検証を始めたことだと思います。日本政府が再生医療に重点的に資金を投下していく中で、数少ない創薬プロジェクトとして、結果として十分役割を果たしたと思います。特に、福田先生（実施者）の iPS 細胞から心筋細胞への分化は良い細胞ができています。理想としては、その細胞を安田先生（PL）や LSI メディエンス（実施者）がビジネスで利用できればもっと良かったと思います。今後、日本の細胞を使用できれば素晴らしいと思います。

創薬分野はアメリカがかなり先行している部分があります。米 CDI 社（Cellular Dynamics International）の細胞を皆が使用していることも、その状況を示すものだと思います。今この成果を、これから、少なくとも日本企業が使用していく、そこから世界に発信していくようにするにはどうしたらよいか、考える必要があります。私も、弊社に戻り、安全性部門にアピールしておきます。

それとともに、議論がありましたように、製薬協のタスクフォースに数十社が参加して、薬剤の安全性評価に iPS 細胞をどのように使用するか検討する、標準化して世界に発信していくという意味で、まじめに活動しています。そことうまく連携してもらおうとよいと思います。

最後に、これも議論がありましたが、iPS 細胞が、これからアドバンテージの可能性のあるのは、福田先生も言われたようにパネル試験だと思います。薬剤には個人差がありますし、その反応性も、副作用も個人差があるので、それがうまく、この成果を基に解析できるようになれば素晴らしいと思います。それが個別化医療にもつながるので、今後の方向性としては、NEDO も含めて、そういう関連したプロジェクトをぜひ立ち上げてほしいと考えています。

【後藤分科会長】 今日、3人の先生方、事務局、推進部、プロジェクトマネジメントがしっかり行われて、アウトプットが良い形で出てきたということで、おめでとうございます。

私から、細かい話を何点か、指摘させていただきます。

まず、疾患iPS由来の心筋細胞の分化誘導に末梢血のT細胞を用いることを一般化したということで、学術的な意味でも高い成果を出したと思います。このアウトプットは、疾患iPSを用いた薬理学、その疾患をどう治すかという面にも一つの出口があると思います。本日の議論では安全性に重きが置かれていますが、そちらにもぜひ目を向けてほしいと思います。

また、安田先生が、非常に難しい、1細胞のイメージングというか、1細胞の測定法を開発すると同時に、多細胞におけるQT延長の原因がどうなっているかまで詰めたことは、学術的な意味もあると思います。実用化の面でも、原理を支える基盤を構築したと思います。

心毒性へのスクリーニングシステムを構築するという意味で、原理だけではなく、デバイスまで、あるいは、OSまで踏み込んでいるので、次の実用化に良い形でバトンタッチできると考えています。

また、メディエンスには細胞とデバイスの2つのシーズが上がってきています。ぜひ、これらも、実用化に向けてがんばってほしいと思います。期待しています。

最後はNEDOに対してです。このプロジェクトがスタートした時は、かなり全方向指向でした。ただ、途中から、疾患iPSということも含めて、今までの再生医療というよりは、むしろこの部分に絞り込むということで、安全性のiPS創薬、特に心臓に絞り込んだことは賢明だったと思います。ただ、今は絞り込んだのですが、アウトプットがいろいろ出ており、デバイスもある。先ほどのセーフティだけではなく、エフィカシーファーマコロジー (efficacy pharmacology) にも使うことのできるアウトプットが出ています。この辺りの出口についても何らかのマネジメントをしてほしいと思います。

いずれにしても、9月12日に、高橋政代さん(理化学研究所)によって日本初のiPS細胞を用いたRPE(網膜色素上皮)の再生移植手術が行われたと同時に、このような形で創薬のiPS利用もできたのは喜ばしいことと思います。

それでは、推進部長、プロジェクトリーダーから、何か一言ございますか。

【NEDO：山崎部長】 後藤分科会長ほか委員の皆様方、本日は閣下にご審議いただき、また、貴重なご意見をいただき、ありがとうございました。

分科会長からお話が合ったとおり、日本発のiPSをいかにものにしていくかということで、創薬スクリーニングに絞った形で途中から進めてきました。6年度間にわたって推進してきたことについて、ご講評をいただいたとおり、概ね良い形で終わりを迎えることができたと思います。

途中、企業が離脱するという事情があり、若干、当初想定していたことができなかつたかもしれませんが、安田先生、福田先生が先端研究に取り組み成果を出したこと、LSIメディエンスが今年7月から受託サービスに研究成果を活用し始めたことで、NEDOも所期の目的を達成できたと考えています。

委員の皆様からコメントをいただきました研究成果をどのように実用化につなげていくかという点について、1つは、これまで取り組んできた方々に引き続き研究を継続してもらう、または、LSIメディエンスに、ぜひ実用化につなげてもらうよう尽力してほしいと期待しています。

もう一つは、今年度、調整費を使って、ICHガイドラインの改定作業に向けた日本側の提案を固めることに軸足を置いたプロジェクトを開始しようとしています。そちらでも、これまで取り組んできた研究成果を生かすことができると考えています。それをぜひNEDOとしても後押ししたいと考えています。

改めて、本日、皆様のご協力に感謝申し上げたいと思います。どうもありがとうございました。

【東京医科歯科大学：安田 PL】 今朝まで、台風の影響で会議が開催できるか危ぶまれていました。その台風が通り過ぎた後の、本日の快晴の天気のように、我々もすがすがしい気持ちで発表に臨むことができて、よかったと思います。

いろいろな建設的ご助言、特に、先生方から NEDO に提案していただくことが、一番アピールする力があります。その意味では、我々も今回、基礎技術の開発は目標値を達成できたと思いますが、一つ足りないのは、バリデーションがないと実用化まで進まない、ここの部分をどうするか、ということです。課題として NEDO にお返しすべきところだと思います。そこはぜひ、株式会社リプロセルなど日本をリードするベンチャー企業に取り組んでもらい、新しい技術を世界に発信してほしいと思います。その意味では、横山様が分科会委員であることは、良い形をアレンジしてもらったと思います。

プロジェクトは終了していますが、自分たちが持っている予算の範囲内で今後も細々とがんばりたいと思っています。本日は、いろいろとご指導をありがとうございました。がんばりますので、今後ともよろしく願います。

9. 今後の予定

10. 閉会

配布資料

- 資料1 研究評価委員会分科会の設置について
- 資料2 研究評価委員会分科会の公開について
- 資料3 研究評価委員会分科会における秘密情報の守秘と非公開資料の取り扱いについて
- 資料4-1 NEDOにおける研究評価について
- 資料4-2 評価項目・評価基準
- 資料4-3 評点法の実施について
- 資料4-4 評価コメント及び評点票
- 資料4-5 評価報告書の構成について
- 資料5 事業原簿(公開)
- 資料6 プロジェクトの概要説明資料(公開)
 - 5.1 事業の位置付け・必要性及び研究開発マネジメント
 - 5.2 研究開発成果及び実用化に向けての見通し及び取り組みについて
- 資料7-1 プロジェクトの詳細説明資料(非公開)
 - 6.1 ヒト 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
- 資料7-2-1 プロジェクトの詳細説明資料(非公開)
 - 6.2 ヒト 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
 - 6.2.1 基礎・基盤技術の開発
- 資料7-2-2 プロジェクトの詳細説明資料(非公開)
 - 6.2 ヒト 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
 - 6.2.2 実用化に向けての見通し及び取り組みについて
- 資料8 今後の予定
- 参考資料1 NEDO 技術委員・技術委員会等規程
- 参考資料2 技術評価実施規程

以上

本研究評価委員会報告は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）評価部が委員会の事務局として編集しています。

平成27年2月

NEDO 評価部

部長 佐藤 嘉晃

主幹 保坂 尚子

担当 中村 茉央

* 研究評価委員会に関する情報は NEDO のホームページに掲載しています。

(http://www.nedo.go.jp/introducing/iinkai/kenkyuu_index.html)

〒212-8554 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番地

ミューザ川崎セントラルタワー20F

TEL 044-520-5161 FAX 044-520-5162