

事業原簿（ファクトシート）

作成日：平成26年4月1日作成

更新時期：平成27年3月 現在

制度・施策名称	-	
事業名称	国際基準化に向けた心毒性評価法確立のための細胞製造・計測技術の開発	PJコード：P14027
推進部	バイオテクノロジー・医療技術部	
事業概要	<p>本事業では、京都大学iPS細胞研究所 山下潤教授が開発したヒトiPS細胞由来心筋細胞技術をベースとし、医薬品の安全性薬理試験に利用できる、高い品質と均一性を持つヒトiPS細胞由来心筋細胞の安定供給を可能にする製造工程、供給システムを構築する。また、製造された細胞の特性に適合する心毒性評価法を確立するため、従来の課題を解決したコンパクトで高性能な平面微小電極アレイ（MEA）細胞外電位計測装置、およびハイスループット性を備えたマルチウェル培養容器対応・高速光計測装置のプロトタイプを開発する。製造されたiPS細胞由来心筋細胞や開発した計測装置は、国立医薬品食品衛生研究所が主導する研究班で評価を受け、そのフィードバックを元に製品化に向けた改善を行う。</p>	
	<p>研究開発項目「心毒性評価用心筋細胞の大量製造技術・計測装置の開発」</p> <p>(a) 心筋細胞の大量製造技術・品質試験法の開発</p> <p>(b) 計測装置の開発</p>	
事業の位置づけ・必要性について	<p>ヒトiPS細胞から誘導された分化細胞を新薬開発の非臨床試験で用いることにより、種差の問題、たとえば動物実験だけでは予測できない安全性上のリスクの予測性向上を目指した試みが進められている。医薬品による有害反応の中で、不整脈リスクの評価は極めて重要であるが、現行の心毒性評価に関わるガイドライン（ICH S7B）では、hERGカリウムチャネル阻害によるQT延長を評価して不整脈リスクをある程度予測できるとされている。しかし、hERGを用いた評価系は偽陽性が出やすいこと、hERG以外の機序による不整脈リスクを検出できない、などの問題点が指摘されている。ヒトiPS細胞由来心筋細胞は、こうした問題点を解消しうる新たな手段として期待されているが、現在市販されている細胞は、ロット間差等、心筋細胞としての性質の安定性など、毒性評価に用いる上での問題点が指摘されている。</p> <p>そのため、本事業では、安全性薬理試験に利用可能な高品質で均一なiPS細胞由来心筋細胞の製造法を確立し、商業的製造を前提とした大量製造技術および計測装置を開発する。</p> <p>これらは「健康・医療戦略」（平成25年6月14日）で目指している「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。」という目標への貢献が期待される。また、近年、心毒性評価に関わる臨床と非臨床のガイドライン改訂（ICH E14廃止とS7Bの改訂）に関する議論が始まり、iPS細胞から作成した心筋細胞を利用した安全性評価法確立に向けた科学的根拠の提出が急がれている。本事業で開発した国産のヒトiPS細胞由来心筋細胞や計測技術</p>	

	<p>がこうした活動に活かされれば、当該技術の国際的認知度の向上も併せて期待される。</p>		
事業の目標	<p>品質の保証されたiPS細胞を材料として、心毒性評価で求められる高品質で均一性のある心筋細胞の商業的製造を前提とした大量培養技術の開発を行うと共に評価に用いる計測装置のプロトタイプを開発する。</p>		
事業規模	<p>事業期間：平成26年度 契約等種別：委託 勘定区分：一般勘定 [単位：百万円]</p>		
		H26年度 (実績)	合計
	予算額	199	199
	執行額	199	199
情勢変化への対応	<p>特になし。</p>		
評価に関する事項	<p>評価時期及び方法（外部評価又は内部評価、レビュー方法、評価類型） ・事後評価：26年度、内部評価</p>		
事業成果について	<p>(a) 心筋細胞の大量製造技術・品質試験法の開発（タカラバイオ社、京都大学） ・iPS由来心筋細胞の製造については、将来の商業的製造に向けてのプロトタイプSOP（標準作業手順書）が作成された。具体的には、高純度心筋細胞誘導法の京都大学からタカラバイオへの技術移管がほぼ完了し、3回の試験用iPS由来心筋細胞製造を通じ、タカラバイオ施設内でも高効率で心筋細胞が誘導できることが確認できた。また、iPS細胞株クローンの一つが、製造用細胞として使用できる可能性が見いだされた。一方で、今回試験製造した心筋細胞を京都大学や国立医薬品食品衛生研究所で評価したところ、拍動の不安定さが製造上の課題として抽出された。課題解決に向けた検証、要因解析と製造工程を安定化するための重要工程の特定を進めつつ、製造SOPの確定を目指す、という開発に向けた道筋が明確になった。</p> <p>(b) 計測装置の開発（アルファメッドサイエンティフィック社、ブレインビジョン社） ・平面微小電極アレイ（MEA）計測システムの開発では、既存の計測システムよりも、ハイスピード化・コンパクト化を実現する計測システムの試作機の組み立てを完成させた。従来品より温度調整がし易い温度制御部を開発するなど、要素技術開発も順調に進んだ。開発したシステムは、事業終了後も自社開発を継続し、27年4月以降JiCSA（Japan iPS Cardiac Safety Assessment）等での試験を通じて設計の修正を進め、27年度中に販売開始予定である。低周波ゆらぎ除去のためのDCサーボ回路付アンプの開発では検証実験を継続中であるが、良好な結果を得つつある。また、心筋細胞に特化した解析ソフトウェアの開発では、ユーザーニーズを反映した改良が行われ、27年4月以降、順次ユーザーへのβ版の配布を見込んでいる。</p>		

・高速光計測装置の開発については、12 ウェルの同時計測を可能とする試作機が完成した。事業期間中に市販の心筋細胞を用いた電位感受性蛍光色素 (VSD) 試験を行うことができ、その結果シグナルは検出されたが、シグナルの荒さや、明るさ不足が見られた。これらについては、既に対応策が検討されている。事業終了後も自社開発を継続し、27 年 4 月以降、国立医薬品食品衛生研究所で試験運用を行い、秋の学会で PR 活動を行い、28 年度中に受注生産を開始予定である。一方、本事業の途中から内容追加した無染色（蛍光色素を使わない）細胞の計測技術開発では予想より大きな信号が得られ、細胞製造過程での心拍数の計測や長時間測定に使える可能性が見いだされた。本技術についても継続して実験を行い、装置化についても検討していく予定である。

平成26年度 事業評価書

平成27年4月9日作成

制度・施策名称	-	
事業名称	国際基準化に向けた心毒性評価法確立のための 細胞製造・計測技術の開発	PJコード：P14027
推進部	バイオテクノロジー・医療技術部	
総合評価	<p>本事業は、心毒性評価に関わる臨床と非臨床のガイドラインの改訂の動きに連動した事業であり、社会的意義が非常に高いとともに、本事業で開発を目指した国産の心筋細胞と計測機器の有用性が国際的に認知されれば、将来的に我が国の経済への貢献も大いに期待できる。本事業の遂行にあたっては、心毒性評価法の開発（国立医薬品食品衛生研究所が主導する研究班）との連携の必要性から、双方を俯瞰できる最適なプロジェクトリーダーを選定し、プロジェクトリーダーを中心に進捗と課題の共有を逐一行った。そのため、半年の短期間ではあったが、当初設定した目標がほぼ達成されるとともに、将来の製品化に向けた課題も明確にされ、近い将来の製品化・事業化が大いに期待できる成果が得られた。</p> <p>なお、本プロジェクトの実施状況および成果について外部有識者（3名）にヒアリングを行い、以下のようなコメントを頂いている。</p> <p>①肯定的ご意見</p> <p>(a) 心筋細胞の大量製造技術・品質試験法の開発</p> <ul style="list-style-type: none"> ・精力的な iPS 細胞由来心筋細胞の製造への努力は評価できる。 ・京都大学からタカラバイオへの技術移管が完了し、心筋細胞の電気生理学的特性が京都大学と国立医薬品食品衛生研究所で同様の傾向を示すことを短期間で明らかとしたことは評価できる。 ・非常に短期間の間に、細胞生産の一連の流れを繰り返すことができるようになった努力が評価できる。 <p>(b) 計測装置の開発</p> <p>○平面微小電極アレイ（MEA）計測システムの開発</p> <ul style="list-style-type: none"> ・温度調節、伝導速度測定、ソフトウェア開発を含め評価できるものである。 ・MEA システムに関して、オフセット揺らぎ除去やフィルター機能による解析精度の改善が認められ、心筋細胞に特化した解析ソフトウェアの開発が計画通りに進んでいる。 ・現場レベルで課題と認識されていることを良く理解され、特にデータに大きく影響する温度管理・推奨新規フィルター条件での記録データの安定化に向けた改良が着実に進められ、国外他社が対応しきれていないところを先行した展開とな 	

っている。

○高速光計測装置の開発

・膜電位計測システムに関して、電位感受性蛍光色素 (VSD) 実験により心筋活動計測に対応可能であり、明るさ不足などに対する対応策も明確にされており、非侵襲性に優れた無染色計測の検討も実施されている。

・色素染色は細胞にダメージを及ぼすため、無染色計測は薬剤長時間暴露実験時のモニターに利用して、色素導入のタイミングを推し量ることに利用できる。

②否定的ご意見

(a) 心筋細胞の大量製造技術・品質試験法の開発

・心筋細胞の由来となる iPS 株によって、心筋細胞の出来は異なり、安定的に供給できる方法の確立が喫緊の課題である。

・cTnI の陽性のみでなく、他の心臓バイオマーカーの発現量解析により、心毒性評価に適した細胞を構築する必要がある。拍動の不安定さを克服するとともに、IKr 及び IKs 阻害薬の反応性のデータのみでは不足しており、INa 及び ICa 阻害薬などの多くの薬物の反応性も明らかにする必要がある。

・細胞生産のプロトコールに定まっていない部分がある。培養日数に不統一なデータが見受けられたため、発現マーカーで QC した後に純度が下がるような現象が起きていないか気になった。

(b) 計測装置の開発

○平面微小電極アレイ (MEA) 計測システムの開発

・MEA システムに関して、FPD/APD 測定に特化しており、伝播速度などのその他のパラメーターも簡便に解析するレベルには至っておらず、追加機能が求められる。

○高速光計測装置の開発

・機器の価格および膜電位波形の不現実性等問題点が多いように思われる。

・明るさの改善及び代表的薬物の作用を評価する必要性など多くの検討事項があり、更なる検討が望まれる。

・報告された VSD のデータからは、薬剤評価に用いるには厳しい段階と思われる。VSD データが、活動電位波形に類似の形に見えない。特に立ち上がりのナトリウム成分が不明瞭であり、拍動数も遅すぎるように見受けられるため、細胞のハンドリング自体に不安を感じる。

③今後の展開についてのご意見

(a) 心筋細胞の大量製造技術・品質試験法の開発

・早急に安定的な iPS 細胞由来心筋細胞の供給が出来るように、方法論の確立が必要である。場合によっては電気刺激下に培養する等の方法も考慮しなければな

	<p>らないかもしれない。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・現時点で製品化可能な細胞はないため、更なる細胞特性評価が必要である。どこまでの品質を有する細胞であれば製品化できるかの基準を設定する必要がある、心毒性評価を目的とする場合、心臓ペーシング下での評価などの検討も必要であるかもしれない。 ・各ステップのプロトコルの固定化と拍動数もフェノタイプマーカーとして採用するなど QC 項目を再考されると良い。 <p>(b) 計測装置の開発</p> <p>○平面微小電極アレイ (MEA) 計測システムの開発</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ICH 世界標準化のためには、信頼性保証あるいは GLP などの高いレベルでの評価系の確立も考慮する必要がある。MEA 及び膜電位計測システムともに、IKr 阻害 (QT) 延長のみならずマルチオンチャネル評価、催不整脈性評価、及び心機能評価が可能なシステムを目指す必要がある。 ・モニターとなる施設をいくつか選び、既知薬剤を用いたデータから改良の完成度を確認し、最終産物に仕上げられるのが良い。今回、データに大きく影響する pH の安定化に向けた企画が入っていなかったため、簡易インキュベーターなど今後検討していただきたい。 <p>○高速光計測装置の開発</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ブレインビジョン社のプロジェクトに関してはまだ多くの段階が必要。 ・無染色計測を利用して、トラフィックや心毒性に影響を及ぼすような長時間暴露によって毒性を示す薬剤の予兆フェノタイプマーカー探索をされると良い。また、機器性能以外にも、使用する色素や実験条件の最適化に向けた検討もさらに継続されると良い。
<p>評 価 詳 細</p>	<p>1. 必要性 (社会・経済的意義、目的の妥当性)</p> <p>医薬品による有害反応の中で、不整脈リスクの評価は極めて重要であるが、現行の心毒性評価に関わるガイドライン (ICH S7B) では、hERGカリウムチャネル阻害によるQT延長を評価して不整脈リスクをある程度予測できるとされている。しかし、hERGを用いた評価系は偽陽性が出やすいこと、hERG以外の機序による不整脈リスクを検出できない、などの問題点が指摘されている。ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた心毒性評価は、こうした問題点を解消する新たな手段として期待されているが、現在市販されている細胞は、ロット間差等、心筋細胞としての性質の安定性など、毒性評価に用いる上での問題点が指摘されている。そのため本事業において、安全性薬理試験に利用可能な高品質で均一なiPS細胞由来心筋細胞の製造法を確立し、商業的製造を前提とした大量製造技術および計測装置を開発することは目的として妥当であった。</p> <p>また、近年、心毒性評価に関わる臨床と非臨床のガイドライン改訂 (ICH E14 廃止とS7Bの改訂) に関する議論が始まり、iPS細胞から作成した心筋細胞を利用した安全性評価法確立に向けた科学的根拠の提出が急がれていることから、本事業</p>

業を実施することは社会的に意義のあることであった。さらに、本事業で開発した国産のヒトiPS細胞由来心筋細胞や計測技術がこうした活動に活かされれば、当該技術の国際的認知度の向上も併せて期待されるため、将来の我が国の経済に貢献しうる事業であったと言える。

2. 効率性（事業計画、実施体制、費用対効果）

1) 手段と適正性

公募により実施者を募集したところ、全体提案で1件の応募しかなかったが、薬理学や医薬品の安全性評価等の専門家によって構成された採択審査委員会で高評価であったことから、本提案を採択したことは妥当であった。また、本事業では、国立医薬品食品衛生研究所が主導する研究班がすすめる心毒性医薬品安全性評価法の開発活動と連携する必要があるがあった。そのため、同研究班の代表者である国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 関野部長をプロジェクトリーダー（PL）としたことは事業のマネジメントの観点から非常に適切であった。さらに、関野PLを中心にプロジェクト全体の開発会議（計4回）および実施者間の個別打ち合わせを頻繁に行いつつ、進捗と課題を逐一実施者間で共有していたことも、実施期間が半年と短いものであったことを鑑みると適当であった。これらのマネジメントにより、心筋細胞、計測装置とも当初の目標に沿ったプロトタイプができ、また、将来の製品化に向けた課題も明らかにされた。

2) 効果とコストとの関係による分析

iPS由来心筋細胞の世界の市場規模は現状、約5～10億円と推定されているが、プロジェクト終了後5年の2019年には、上述のガイドラインの変更とも相まって、市場は拡大すると予想される。タカラバイオ社は、本事業終了後、27年度中に商用製造を開始することを目指している。現状、先行品がいくつか存在するが、本事業の成果をもとに、製造ロット間差の少ない高品質な国産iPS由来心筋細胞を安定的に供給できれば競争力は十分あり、後発品であっても一定のシェアを確保できると期待できる。計測機器については、MEA計測システムは既に国内外で広く認知されており、他社に先行して現行品の問題点を改良した製品を創出できれば、優位性は十分期待できる。高速光計測装置、無染色計測技術とも新規技術のため未知な部分は多いが、改良次第では新規な市場を形成する可能性が期待できる。以上、勘案すると、事業者にとっても我が国にとっても、費用対効果は十分にあると考えられる。

3. 有効性（目標達成度、社会・経済への貢献度）

1) 目標達成度

1-1) 事業の成果について

(a) 心筋細胞の大量製造技術・品質試験法の開発（タカラバイオ社、京都大学）
・半年という限られた実施期間内に、京都大学からタカラバイオへの細胞製造に係わる技術移管をほぼ完了させ、また、心筋細胞の電気生理学的特性が、京都大学と国立医薬品食品衛生研究所で同様の傾向であることを示せた点は、高く評価

できる。一方で、心毒性評価に適した細胞の安定供給という面では、プロトコールが依然定まっていない。発現マーカーや心筋バイオマーカーの解析法、培養日数、拍動数のモニタリングなどを踏まえ、プロトコールの最適化を急ぐべきである。また、iPS細胞株によって、心筋細胞の出来に違いが生じる点も解決すべき課題である。また、製品化に向けて、どこまでの品質を有する細胞であれば製品化できるかの基準を設定する必要がある、製品の特徴によっては、心臓ペースング下での評価という選択肢も考慮する必要がある。

(b) 計測装置の開発（アルファメッドサイエンティフィック社、ブレインビジョン社）

・平面微小電極アレイ（MEA）計測システムの開発では、現行のMEAシステムでの課題を踏まえ、オフセット揺らぎ除去やフィルター機能による解析精度の改善など、他社が対応しきれていない面も先取りした取り組みがなされており評価できる。pHの安定化（簡易インキュベーター）、FPD/APD以外のパラメーター解析（伝播速度、マルチオンチャネル評価、催不整脈・心機能評価）などの機能追加ができれば、さらにレベルの高い製品になる。今後、モニターとなる施設を選び、既知薬剤を用いた評価から、完成度を確認しつつ最終産物に仕上げていくことが期待される。

・高速光計測装置の開発については、VSD実験により、膜電位計測システムが心筋活動計測に対応可能であることが示され、明るさ不足などに対する対応策も明確にされており、今後の進展が期待され評価できる。さらには、色素染色が細胞にダメージを及ぼすことを踏まえ、本事業の途中から内容追加した非侵襲性の無染色計測技術の検討にも着手し、発展性が期待できる成果が得られた。ただし、現段階では、活動電位の波形が粗く不確実であり、使用する色素含めた実験条件の最適化や代表的薬物を用いての作用評価など、相応の検討、改良が必要である。また、無染色計測技術については細胞製造過程での拍動数のモニターとしての用途のみならず、薬剤長時間暴露実験時のモニター（色素導入のタイミング推量や毒性発現のマーカー探索）、などの用途についても検討すべきであろう。

1-2) 事業成果の今後の見通し及び取り組みについて

本事業の実施者は、事業終了後も本事業で得られたプロトタイプを基に、国立医薬品食品衛生研究所を中心とした研究班での評価を基に改良を続ける。順調に進めば27年度以降、次の製品化が予定されている。：心筋細胞（27年度中）、MEA計測システム（27年度中）高速光測定装置（28年度中）

2) 社会・経済への貢献度

本プロジェクトで開発された心筋細胞・計測装置を用いた心毒性評価法の有用性が認められ、ICHガイドライン改定への提案に繋がれば、新規心毒性評価法として、国産の細胞と機器の有用性が国際的にも認知される。また、ロット間差の少ない、品質の安定した心筋細胞の安定供給が実現されれば、現状、輸入品に頼

	っている国内医薬品メーカーの安全性薬理評価の試験効率の向上や期間短縮に繋がり、国際的な新薬開発競争力の向上にも繋がることが期待される。
	4. その他の観点 特になし。