

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンスに関する研究

第4分野

創薬に係る臨床研究ならびに稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

第6分野

医療材料および製剤設計技術の開発に関する研究

第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

目 次

第1分野

課題番号

KH11001	バイオフィotonクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 ……	1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 ……	11
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(総合研究報告)	松田潤一郎 ……	13
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(平成17年度報告)	松田潤一郎 ……	17
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 ……	25

第2分野

KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸(S1P)受容体(S1P3)の拮抗薬の開発	望月直樹 ……	31
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 ……	35
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 ……	47
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 ……	58
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 ……	66
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 ……	70
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG 1 蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 ……	77
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 ……	86
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 ……	96
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 ……	102
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 ……	108
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 ……	113
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(総合研究報告)	野々垣勝則 ……	117
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(平成17年度報告)	野々垣勝則 ……	120

KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（総合研究報告）	田平 武 …… 124
KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（平成17年度報告）	田平 武 …… 129
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山 耕造 …… 134
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出 利光 …… 142
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島 正弘 …… 148
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木 哲朗 …… 152
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西 正孝 …… 156
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤 準一 …… 160
KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 167
第3分野		
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 175
KH31025	生薬及び漢方処方 of 科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 185
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 194
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 200
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 210
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 218
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクスの手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 226
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 235
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 243
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（総合研究報告）	頭金 正博 …… 252
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（平成17年度報告）	頭金 正博 …… 257
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 261

KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 271
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 281
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 288
第4分野		
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱脇祥子 …… 307
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍児 …… 315
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 319
第5分野		
KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦 …… 327
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（総合研究報告）	安枝 浩 …… 336
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（平成17年度報告）	安枝 浩 …… 342
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 …… 349
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 …… 359
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 …… 367
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 …… 372
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 …… 376
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 …… 383
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（総合研究報告）	竹森利忠 …… 387
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（平成17年度報告）	竹森利忠 …… 395
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 …… 401
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 …… 406

KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 …… 410
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 …… 418
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 …… 422
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 …… 428
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 …… 431
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（総合研究報告）	鈴木孝昌 …… 437
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（平成17年度報告）	鈴木孝昌 …… 442
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 …… 452
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 …… 459
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 …… 464
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（総合研究報告）	浅沼秀樹 …… 466
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（平成17年度報告）	浅沼秀樹 …… 471
第6分野		
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 …… 479
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 …… 500
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 …… 511
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（総合研究報告）	澁谷統壽 …… 516
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（平成17年度報告）	澁谷統壽 …… 524
第7分野		
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法確立に関する研究	乾 賢一 …… 531
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 …… 540
KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ーヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（総合研究報告）	松浦成昭 …… 548

KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究－ヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作り－（平成17年度報告）	松浦成昭 …… 554
KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 559
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（総合研究報告）	森川 馨 …… 569
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（平成17年度報告）	森川 馨 …… 575
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 591
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森静志 …… 601
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾和人 …… 611
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 …… 617
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田康文 …… 628
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（総合研究報告）	小林真一 …… 634
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（平成17年度報告）	小林真一 …… 640

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立

所属 (独) 国立病院機構京都医療センター 展開医療研究部
研究者 長谷川 浩二

研究要旨 内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法を確立するため、低用量 G-CSF 投与、増殖因子徐放化を介した幹細胞の動員、生着を促す再生療法の確立を目指し、さらに幹細胞分化効率を上げるため心筋細胞分化制御機構の解明を行った。

分担研究者

- (1) 麒麟麦酒株式会社開発本部医薬開発研究所
主任研究員 桑木 知朗
- (2) 京都大学大学院医学研究科心臓血管外科
教授 米田 正始
- (3) (財) 生産開発科学研究所心臓分子細胞生物学研究室
主任研究員 森本 達也

A. 研究目的

生活習慣の欧米化に伴い増加した重症びまん性冠動脈病変は血行再建困難で、現存の薬物量に対して抵抗性の重症末期心不全を合併する。心不全の予後は薬物療法の進歩により改善傾向にあるものの、薬物療法に抵抗性の重症末期心不全は悪性腫瘍の予後より不良といわれる。成人の心筋細胞は増殖能を喪失しているため、心臓は創傷治癒過程における組織再生能力が非常に乏しい臓器であり、ドナー不足の我国において臓器移植が困難な状況では、重症末期心不全に対する再生医療の確立は、国家的、社会的急務と考えられている。

このような状況のなか、心筋再生療法の確立へ向けて、これまで内因性幹細胞を採取して、これらを *ex vivo* 培養系で増殖、心筋に分化させて移植するアプローチが試みられようとしている。しかし、骨髄、骨格筋心臓あるいは脂肪組織内の幹細胞が心筋細胞へ分化する可能性が報告されているものの、その増殖能・分化効率は極めて低く、臨床応用できる段階ではない。胚性幹 (ES) 細胞は無限増殖能をもちつつ多分化能を有するため、倫理的問題をクリアすれば大いに期待されるアプローチである。しかし、ES 細胞から心筋細胞への分化効率は依然低く、また、分化した細胞を移植しても組織に生着する

細胞数が少ないという欠点がある。内因性幹細胞を顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) により心臓内へ動員させるアプローチは、患者に対する侵襲も少なく簡便な治療である。しかし急性心筋梗塞後のリモデリング抑制や、代償期から心不全発症の予防に奏功するという報告は多いが、病変が完成した心不全末期における治療効果に関しては不明である。

そこで本研究の目的は、重症末期心不全に対する心筋再生療法を確立することであり、この目的を達成するためには

- (1) 慢性期における重症心不全に対して G-CSF、増殖因子を介した内因性幹細胞の動員、生着を促す再生療法の確立
 - (2) 幹細胞の分化効率を上げるための心筋細胞への分化制御機構の解明
- の2つが極めて重要である

B. 研究方法

分担研究者の桑木らは G-CSF を用いた動員療法の有効性に関するメカニズムに関して検討し、米田らは増殖因子徐放化投与による幹細胞生着療法の確立を目指し、森本らは転写コアクチベーター p300 による心筋細胞分化機構の解明を行った。

C. 研究結果

桑木らは主任研究者と共に Bio14.6 心筋症ハムスターの心不全末期において $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の低用量 G-CSF の隔日投与が、心機能と生存率を改善することを見出した。今回、F1B ハムスターにおいて好中球増加の期間・程度を検討したところ、G-CSF の隔日投与 ($1.5 \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$) により、投与量依存性が認められ、心筋症ハムスターで効果を示した $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の投与量では、

好中球の高い増加は認められないことを見出した。フローサイトメトリーによる解析では心血管細胞に分化しようと報告されている CD34 陽性細胞が低用量の G-CSF で増加していた。米田らは生体吸収性ゼラチン水和ゲルを用いた蛋白徐放システムを利用して 半減期の短い bFGF, HGF, IGF-1 などの細胞増殖因子を徐放化することにより、虚血性心筋症モデルや拡張型心筋症モデルにおいて心機能の改善効果を検討した。これらの増殖因子単独でも心機能を改善し、細胞移植と併用するとさらに効果が増大することを見出した。森本らは心筋細胞アポトーシスにおける転写コアクチベーター p300 の役割に関して検討した。p300 は癌抑制遺伝子ユビキチン化酵素活性をもち、p53 のユビキチン依存性分解を促進することにより、p53 を介するアポトーシスを抑制することができる。心筋細胞においてドキシソルピシンはユビキチン依存性 p300 分解を増加させる一方、ユビキチン依存性 p53 分解を減少することにより p53 を増加させ、心筋細胞アポトーシスを誘導することを見出した。

D. 考察

血管再生療法は既にヒトにおいて臨床試験が行われているが、重症末期心不全に対する心筋再生療法は未だ確立していない。今回、我々は心不全末期から 4 μ g/kg/day 以下の G-CSF 週 3 日投与が、その心機能ならびに生存率を改善することを見出し、また増殖因子徐放化投与の有効性を動物レベルで証明した。心筋分化効率の上昇に向けた新たな知見も集積しつつある。本治療法を確立するためには幹細胞の動員、生着、分化を組み合わせた治療法の確立が必要であると考えられる。

E. 結論

本研究グループは幹細胞の動員、生着、分化のそのそれぞれのステップにおいて新たなる知見を見出し、動物レベルにおいてこれらを組み合わせた治療法を検討し、重症末期心不全に対する心筋再生療法の臨床応用を目指している。

F. 研究発表

1) Tambara K, Premaratne GU, Sakaguchi G, Kanemitsu N, Lin X, Nakajima H, Sakakibara Y, Kim Y, Yamamoto M, Tabata Y, Ikeda T, Komeda M. Administration of Control-released hepatocyte growth factor enhances the efficacy of skeletal myoblast transplantation in rat infarcted hearts by

greatly increasing both quantity and quality of the graft. *Circulation* 2005;112(9 Suppl):I129-34

2) Sakaguchi G, Tambara K, Sakakibara Y, Ozeki M, Yamamoto M, Premaratne G, Lin X, Hasegawa K, Tabata Y, Nishimura K, Komeda M. Control-released hepatocyte growth factor prevents the progression of heart failure in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Ann Thorac Surg* 2005;79(5):1627-34

3) Miyamoto S, Kawamura T, Morimoto T, Ono K, Wada H, Kawase Y, Matsumori A, Nishio R, Kita T, Hasegawa K. Histone acetyltransferase activity of p300 is required for the promotion of left ventricular remodeling following myocardial infarction in adult mice in vivo. *Circulation* 2006;113:679-90

2. 学会発表

1) Teruhisa Kawamura, Miyamoto Shoichi, Koh Ono, Tatsuya Morimoto, Hiromichi Wada, Yukiko Abe, Mayumi Kano, Tomoaki Kuwaki, Hideaki Nomura, Toru Kita, Koji Hasegawa. A continuous low-dose, but not high-dose of G-CSF therapy in cardiomyopathic hamsters with end-stage heart failure improves their survival and left ventricular systolic function. American Heart Association Annual Scientific Sessions 2005 November13-16, Dallas, Texas

2) Tatsuya Morimoto, Koh Ono, Teruhisa Kawamura, Toru Kita, Koji Hasegawa: p300-mediated Inhibition of Doxorubicin-induced Myocardial Cell Apoptosis Involves Ubiquitin-dependent p53 Degradation. 第 9 回日本心不全学会学術集会、2005. 10. 20~22、下関

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

平成18年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社