

4: 講習会、Webinar

・講習会

Application support team を立ち上げ、細胞の取り扱いならびに、いくつかの器機の使用法を合わせて講習会を開催している。



・Webinarなど

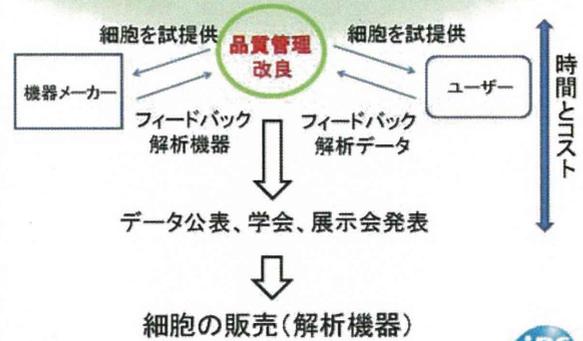
ネット上で演者が発表するいわゆるWebinarを開催し、各界の研究者の研究成果を紹介している。登録のみ(無料)で利用できる。自社の Web site に多くの発表資料を乗せており、利用者が閲覧できる。



CDI社の戦略分析まとめ



製造、販売までを見通した立ち上げ、運営



幹細胞を取り巻く世界の動向



In vitro モデルとしてのヒト幹細胞由来分化細胞

世界的な流れとして、創薬プロセスに於いて動物実験を減らす必要がある(動物福祉)。特にEUでは動物実験に対する規制がより厳しくなっている。

動物の代わりにヒト細胞のモデル化

これまでは人体から採取したプライマリー細胞や組織が利用されてきた。ヒトiPS細胞から分化誘導した均一な細胞が利用出来れば汎用性が高い。



Predictive In Vitro Models
Developing Better Models to Predict Clinical Outcomes
21 – 22 September 2011
Double Tree Suites Hilton, Boston, MA, USA

発表者

FDA, Pfizer, Genentech, AstraZeneca, Amgen, Biogen Idec, GlaxoSmithKline, Millenium Pharmaceuticals, Institute for In Vitor Sciences, Novartis, CDI, Brown University, The John Hopkins University, Harvard Medical School



4th Annual Predictive Toxicology & Stem Cell Summit

15 - 17 February, 2012, London, UK

Reduce attrition and enhance efficacy screening with the latest models, tools and technologies in [predictive toxicology](#)

International Quality and Productivity Center (IQPC)



幹細胞を取り巻くビジネス環境



ビジネスに必要なもの

- ・良い商品
- ・知財
- ・資金
- ・人材
- ・世界の潮流



知的財産

特許とノウハウ

特許はいずれ内容が公開・開示される
真に重要な事案はノウハウとして企業内に封印



それでもビジネスは可能

例: コカコーラの成分は企業秘密



特許

- ・明細書の記載の仕方が重要
- ・特許申請の範囲(国)
- ・特許維持費
 - 国内ならば1件で年間数万円
(請求項の数、年数による)
 - 国際特許1件1国あたり50万円、日、米、欧、アジアに各国出願すると**年間で500万円**程度はかかる。翻訳料も必要。



- ・他の特許を侵害していないかどうかは常に問題となる。
- ・特許係争とアメリカの先願主義への移行
アメリカのサブマリン特許
- ・EUではES特許を認めない
など、状況は複雑



ベンチャー企業の立ち上げ:投資家環境



投資家の違い

NanoCarrier 中富社長提供

Who's Shareholders?

9-24-09

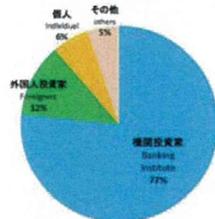
東証マザーズ

Mothers (JPN)



Data: Tokyo Stock Exchange

NASDAQ (US)



Data: TOBO
TOBO様主データに登録されている
NASDAQカテゴリ内企業の登録主を分類
(Categorize share holders of companies in NASDAQ
registered to TOBO Database for Shareholders)

27

NanoCarrier

上場企業への投資

→日本では個人投資家が約70%。
資金が少額。安定を求める。

→米国では約80%が銀行等の機関投資家。
高額資金調達可能。



バイオベンチャーは未上場企業が圧倒的に多い。ベンチャーに対するインキュベーター活動として投資される。

日本はベンチャーに対する投資がそもそも少ない。
米国は個人がかなりの金額を個人の思いで(責任で)投資する。



国内BVの課題(対欧米)

NanoCarrier 中富社長提供

- 歴史の違い
- 投資環境の違い
- 投資家の違い
- 規制の違い

NanoCarrier

30

国内製薬企業による海外M&Aは続く

Continous M&A by Domestic Pharma

March, 2007		Morphotek	\$325M	がんCancer
December, 2007	Eisai	MGI Pharma	\$4.1B	がんCancer
November, 2007	Astellas	Agensys	\$430M	がんCancer
January, 2008		Amgen	\$900M	がんCancer
April, 2008	Takeda	Millennium	\$8.8B	
May, 2008		U3 Pharma	\$235M	
June, 2008	Daiichi-Sankyo	Ranbaxy	\$4.9B	新興国拠点 Base for Pharmaring Market
August, 2009	Hisamitsu	Noven Pharmaceuticals	\$413M	経皮DDS Transo dermal DDS

海外製薬企業ベンチャーキャピタル

出資先 金額
AstraZeneca MedImmune Ventuers 1億ドル
投資先
NeuProtect (心臓、脳・神経ベンチャー)

GlaxoSmithKline 新規ファンドの立ち上げ 5千万ドル

長期投資が可能



国内における幹細胞ビジネスの活性化に向けて
研究開発のみならず、規制部門、投資、
人材育成などの社会面での産官学のより緊密
な協調が必要。

ご清聴を感謝します。



分化心筋細胞のクオリティコントロール

諫田 泰成 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第二室長

ヒトiPS細胞の創薬への応用は、動物実験では検出できない医薬品の副作用予測、動物実験数の削減、臨床試験実施の迅速化など強い期待がある。その創薬応用を推進するためには、ヒトiPS細胞由来分化細胞を用いた安全性薬理試験法を開発し、多施設におけるバリデーションなどを行い、最終的にはガイドラインとして提案することにより国際的な賛同を得ることが必要と考えられる。

心筋の副作用に関しては、心室性再分極遅延（QT延長）による致死的不整脈が最も重要である。ヒトiPS細胞由来心筋細胞は、現在国内外の数社で販売が開始されており、また大学や製薬企業も独自にヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価系の開発に取り組んでいる。しかしながら、現在のところ、分化心筋細胞の品質に関する統一的な基準がなく、品質がばらばらという問題点がある。従って、ヒトiPS細胞由来心筋細胞の品質に関する標準化を行い、安全性薬理試験を行う上で評価基準を設定する必要がある。

本シンポジウムでは、公的バンクから入手可能な201B7株を用いて心筋細胞への分化誘導を行い、その品質特性について紹介する。ヒトiPS細胞を用いた安全性薬理試験のロードマップにむけて考慮すべきポイントなどを議論したい。



平成23年2月25日 長井記念ホール

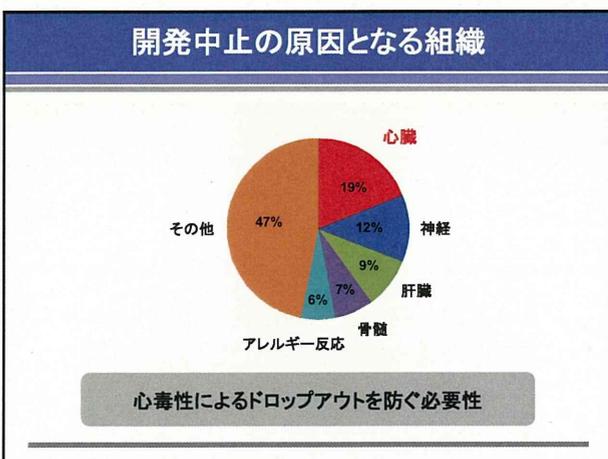
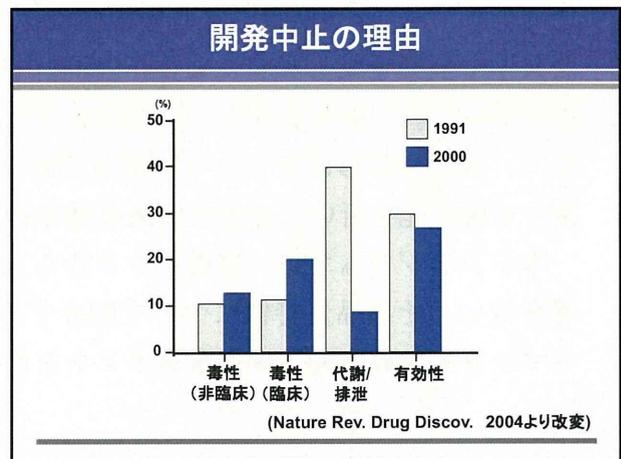
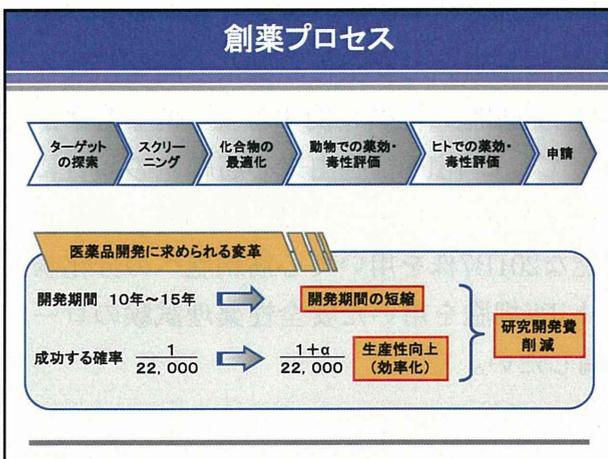
平成23年度厚生労働省科学研究補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
「ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への応用可能性のための調査研究」研究班

分化心筋細胞のクオリティコントロール

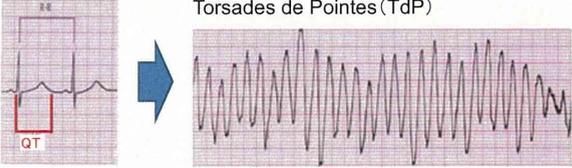
国立医薬品食品衛生研究所
薬理部 第二室

諫田 泰成

- ・ 創薬プロセスにおける心毒性
- ・ 心毒性評価におけるヒトiPS細胞の応用可能性



心毒性 ～薬剤性不整脈～



Torsades de Pointes (TdP)

- ・ 多形性心室頻拍の一種。
- ・ 発生頻度は非常に低いが、心室細動に移行し突然死に至ることがある。
- ・ 心電図でQT間隔延長を伴う。
- ・ リスク要因として、電解質異常、徐脈、期外収縮など。

薬剤性TdPの発生頻度

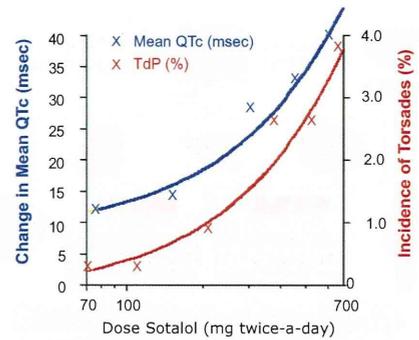
Drug	Total	TdP	Fatal	TdP/total (%)
Sotalol	2758	130	1	4.71
Cisapride	6489	97	6	1.49
Amiodarone	13725	47	1	0.34
Erythromycin	24776	44	2	0.18
Ibutilide	173	43	1	24.86
Terfenadine	10047	41	1	0.41
Quinidine	7353	33	2	0.45
Clarithromycin	17448	33	0	0.19
Haloperidol	15431	21	6	0.14
Fluoxetine	70929	20	1	0.03

Total: 有害作用が報告された症例の合計
TdP: 有害作用の報告の中でTdPの症例数
Fatal: 致命的だった症例数

(Yap, Y.G. and Camm, A.J. (2003). *Heart* 89: 1363-1372より改変)

- 臨床試験におけるTdP検出は困難
- 非心臓作用薬によるTdPの発生

TdPリスクとQT延長の相関 - Sotalol -



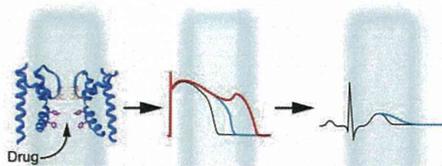
N= 6736 Patients (Sotalol databaseより作成)

QT延長の評価法

<S7Bガイドライン>

hERG試験

⇒ K⁺チャネルを発現させたHEK293細胞によるQT延長の評価



hERG試験により一定のスクリーニングが可能。

hERG試験法の問題点

- TdPはQT延長を伴うが、QT≠TdP。
- QT延長のメカニズムはhERGチャネルの阻害とは限らない。

例) hERG以外のチャネルを介する作用

hERGチャネルのtrafficking阻害

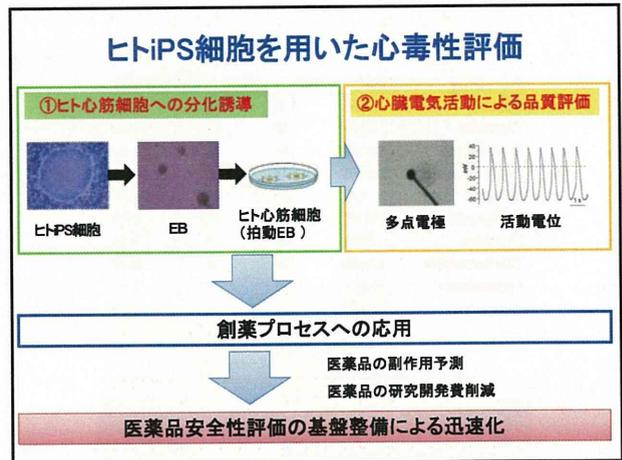
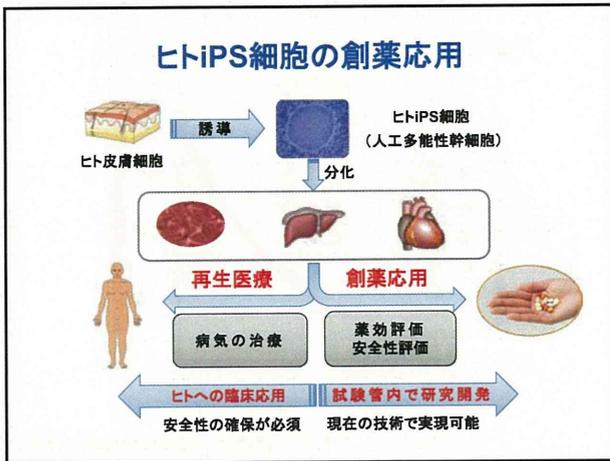
チャネルに対する作用を統合的に理解する必要性

Kチャネルの発現系ではなく
ヒト心筋のモデル細胞により予測性の向上が期待

- 創薬プロセスにおける心毒性
- 心毒性評価におけるヒトiPS細胞の応用可能性

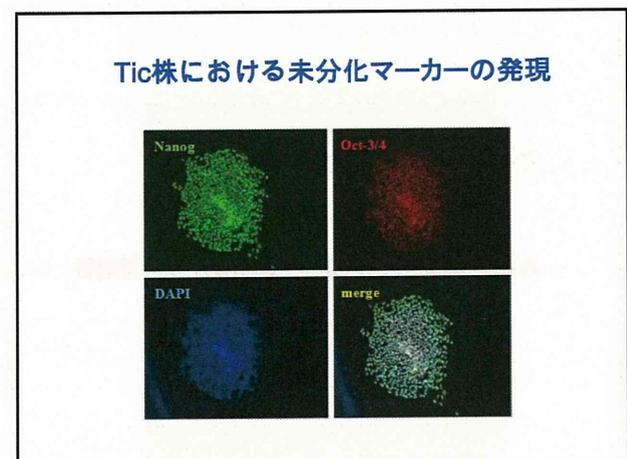
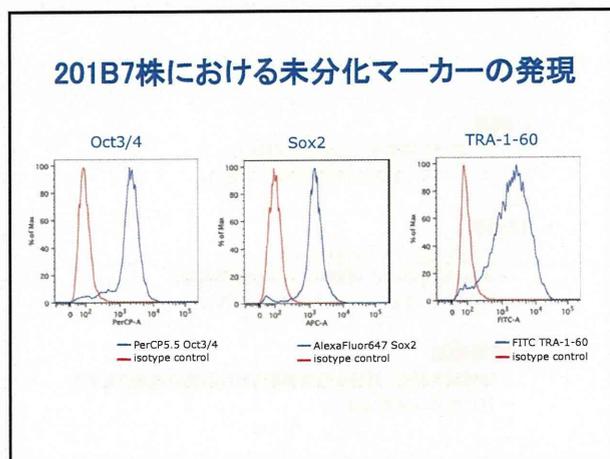
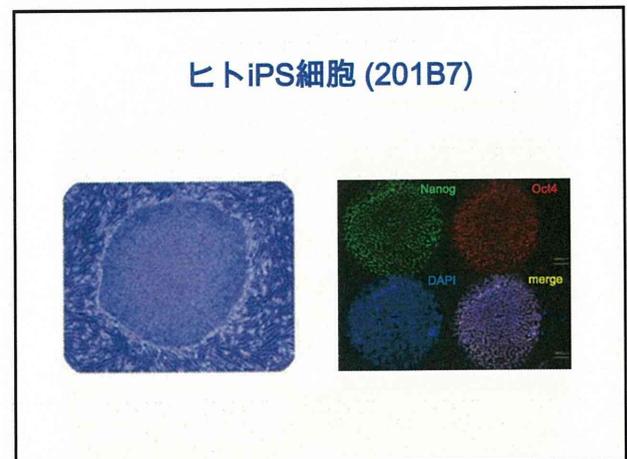
分化心筋細胞に用いるヒト幹細胞

- ES細胞**
 - 倫理面での問題点(分化細胞は除く)。
 - エピゲノム状態などは株間の差が大きい。
- iPS細胞**
 - 倫理面でのハードルは低い。
 - 疾患iPS細胞により病態モデルの作成が可能。
 - エピゲノム状態などは株間の差が大きい。
- 組織幹細胞**
 - 間葉系幹細胞、脂肪由来幹細胞などは心筋分化能を有する
 - 分化効率是非常に低い。

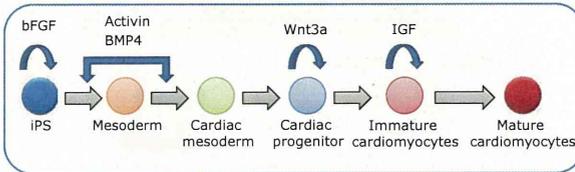


今回用いたヒトiPS細胞株

iPS株	起源細胞	初期化因子	遺伝子導入	入手
201B7	dermal fibroblast	Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc	レトロウイルス	理研セルバンク
Tic	lung fibroblast	Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc	レトロウイルス	JCRB細胞バンク (#JCRB1331)



心筋細胞の供給



Neurosphereのように、分化途中の細胞をストックすることができない

分化心筋あるいは未分化ヒトiPS細胞をプロトコールと共に整備する必要

心筋細胞の形状

1. クラスター(塊)

拍動EB

EBとは別のクラスター(モノレイヤーなど)

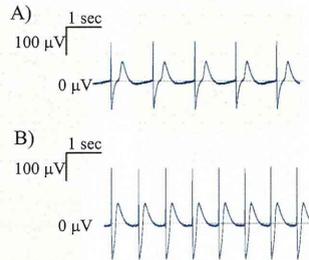
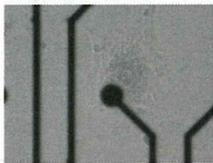
2. EBなどから単離した個々の心筋細胞



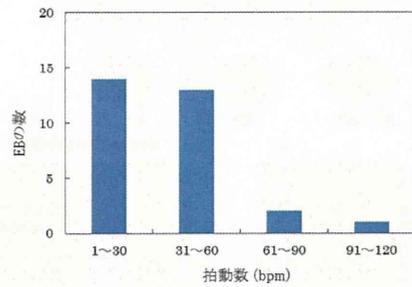
薬理試験を行うにあたり、クラスターあるいは個々の心筋細胞の品質特性を調べる必要がある。

多点電極システムによる拍動EBの細胞外電位

多点電極アレイ



拍動EBのバリエーション



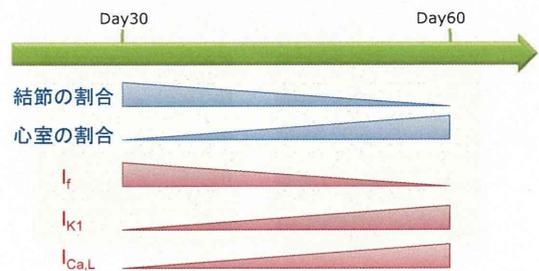
EB形成法の問題点

ヒトiPS細胞はsingle cellにできないのでEBの大きさが不均一

- > V字やU字のWellの中で強制的にEBを形成
- > 心筋を精製後にクラスターを再形成
 - 薬剤による選別
α MHC, MLC2v, ISL1 etcのプロモーターを利用
 - 表面マーカー
SIPRA, EMILIN2, VCAM etc
 - ミトコンドリア感受性色素 (TMRM)

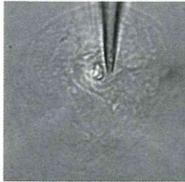
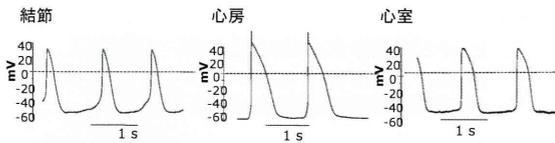
均一で安定なEBの供給が必要不可欠

EB由来心筋の品質に対する培養時間の影響



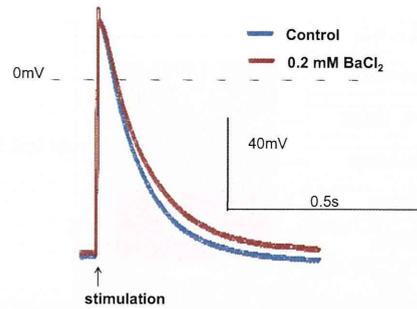
(Kurokawa et al., 第3回安全性薬理研究会, 2012)

拍動心筋細胞における活動電位の測定



各サブタイプの割合は分化誘導の方法などによって異なる可能性

I_{K1} 抑制による活動電位時間の延長



非拍動細胞にも心筋細胞が含まれることが示唆された

分化細胞の品質に影響を与える要因

- ヒトiPS細胞株(起源細胞の種類、エピゲノムなど)
- リプログラミングの程度
- 培養条件、継代数
- 分化誘導法
- 分化後の培養日数



分化心筋細胞は、各サブタイプの割合や品質特性、さらに医薬品候補化合物に対する応答性がばらつくことが予想される。

小括

- ヒトiPS細胞由来心筋細胞の品質は、iPS細胞株、継代数、分化誘導法、分化後の培養日数などによって規定されると考えられる。
- 未分化ヒトiPS細胞の使用に関しては、分化心筋細胞の品質確保の観点から、種類、作成法、未分化状態などを検討する必要がある(例えば、初期化が不十分であっても心筋細胞の品質が確保できればOK)。
- 標本の特性を評価する指標を明確にして、実験プロトコルを整備する必要がある。

今後の課題

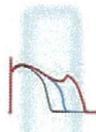
◆ ヒトiPS細胞由来分化細胞の使いやすさ

- 手間がかからず誰でもアクセスできること
- 未分化iPS細胞や分化細胞の供給(バンク化)
- 分化誘導の標準プロトコル作成
- 費用・時間との兼ね合い
- 創薬初期あるいは後期?



◆ 試験法の信頼性

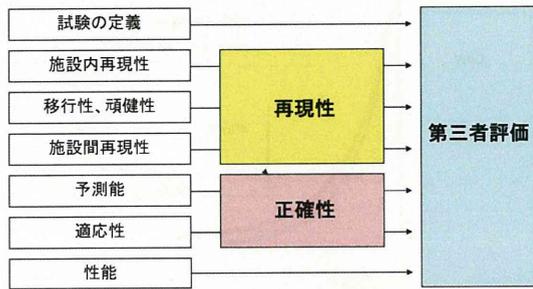
- 再現性
- 正確性
- hERG試験法と比べて偽陽性・偽陰性が少なくなるのか



個々の細胞 vs クラスター

	個々の細胞	クラスター
分化細胞の凍結	○可能	×不可 (再形成させる必要)
特別な機器購入	○不要 (オートパッチ)	×必要 (細胞外電位測定など)
バラつき	△各サブタイプが存在する	○クラスターの作成によりバラつきが小さくなる可能性

試験法の公定化のプロセス



(Thomas Hartung, ECVAM, 2003より改変)

総括

1. ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いて医薬品の安全性を評価するためには、心筋細胞の品質の評価基準を設定する必要がある。
2. 品質管理における規格及び試験法は、使いやすさ・信頼性等の妥当性を立証しながら設定する必要がある。

特別講演 **ヒトiPS細胞からの心筋分化誘導**

吉田 善紀 京都大学 iPS細胞研究所 初期化機構研究部門 講師

ES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞は自己複製能と分化多能性をあわせもち、再生医療や創薬などの分野で期待されている。循環器領域においても、心筋再生医療や分化ヒト心筋細胞を用いた創薬のためのスクリーニング、薬剤の副作用検査、あるいは疾患特異的iPS細胞を用いた心疾患の発症メカニズム研究などに有用であると考えられている。

iPS細胞は、体細胞にリプログラミング因子を遺伝子導入することにより誘導されるが、レトロウイルス、レンチウイルス以外にもセンダイウイルス、プラスミドベクター、RNAなど様々な方法で誘導可能であることが知られており、さらに線維芽細胞、ケラチノサイト、あるいはTリンパ球などの血液細胞など様々な細胞から誘導することが可能である。

これらの多能性幹細胞は、細胞株によってin vitro分化誘導における分化指向性が異なっていることが知られており、また分化誘導を行っても未分化な細胞が残存する分化抵抗性を持つ細胞株が存在することも知られている。多能性幹細胞を用いた再生医療や分化細胞を用いた薬理試験を行うにあたり、これらの細胞株間のふるまいの違いを解析し、どのような細胞株が臨床応用において最適であるかを検討することが重要であると考えられる。

我々は、これら様々な組織の細胞から様々な方法により樹立された多能性幹細胞を用いて、in vitroでの心筋細胞分化誘導を行い、それぞれの細胞株の心筋細胞への分化能を評価し、多能性幹細胞株の比較を行っている。

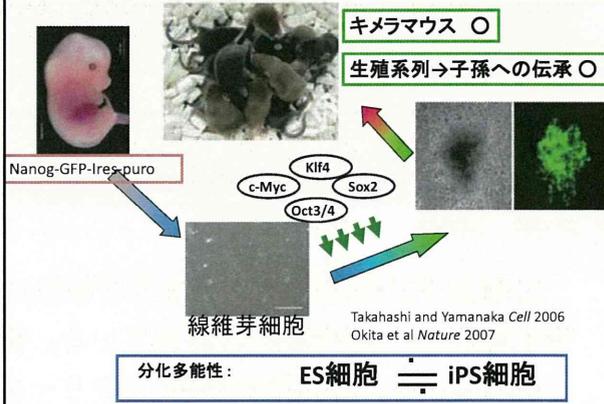
本発表では、これまでの心筋分化誘導研究で得られた結果について報告したい。

ヒトiPS細胞からの心筋分化誘導

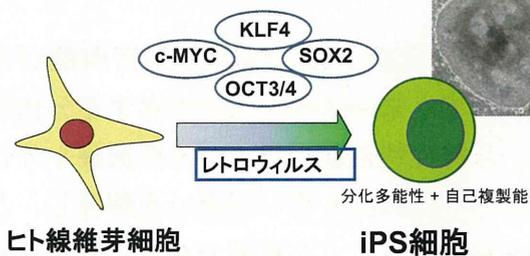
「ヒトiPS細胞を用いた安全性薬理試験へのロードマップ」シンポジウム

京都大学iPS細胞研究所
吉田善紀

Nanog-iPS細胞

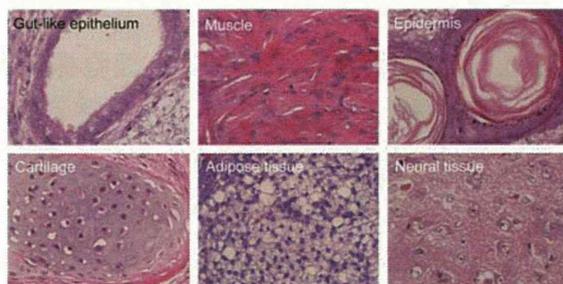


ヒトiPS細胞



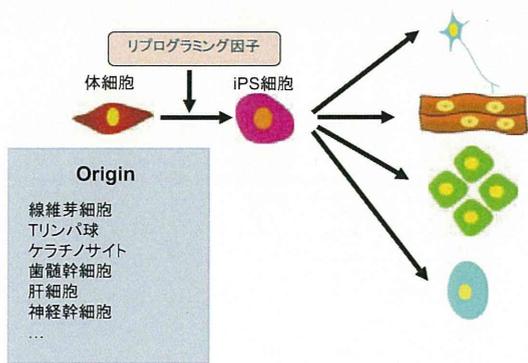
Takahashi et al. Cell 2007

ヒトiPS細胞

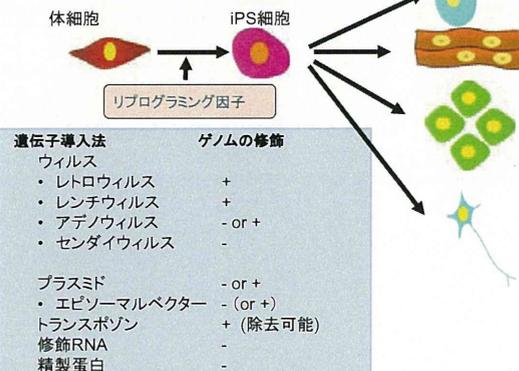


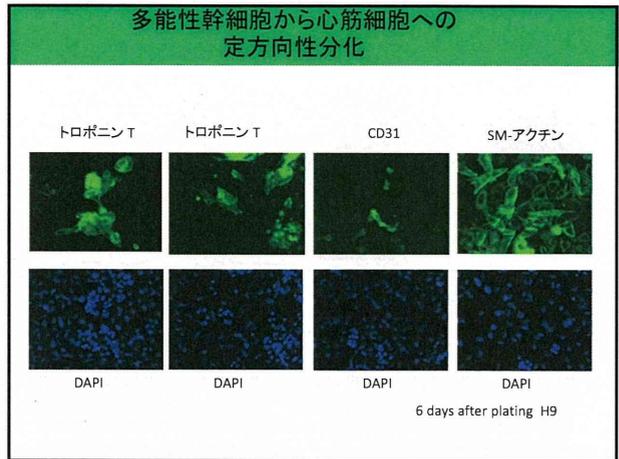
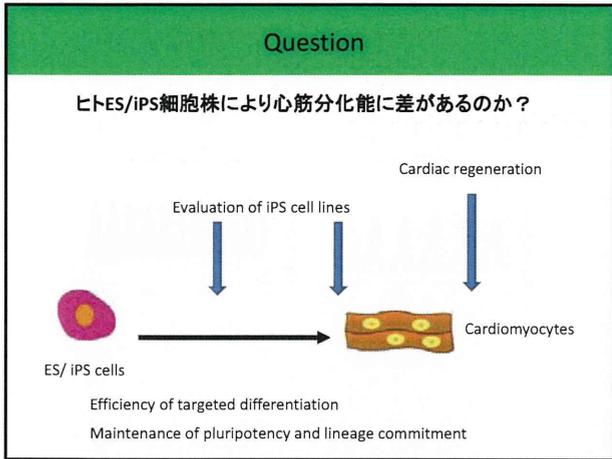
Takahashi et al. Cell 2007

iPS細胞の樹立



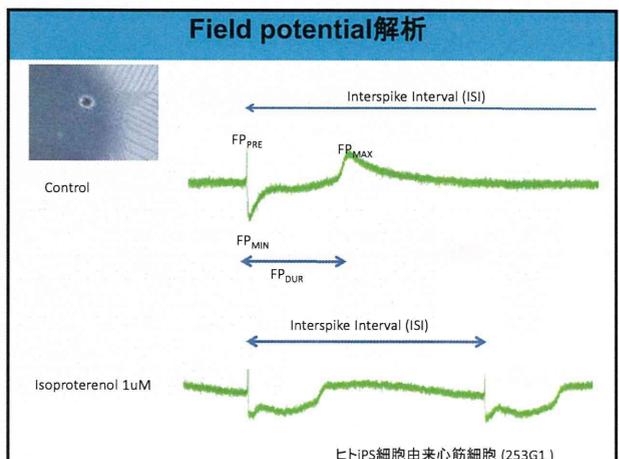
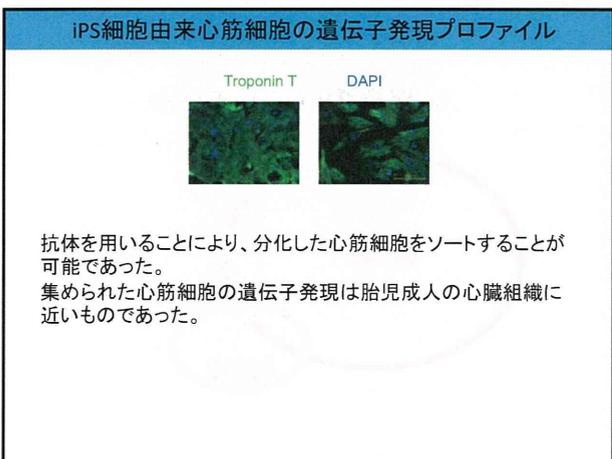
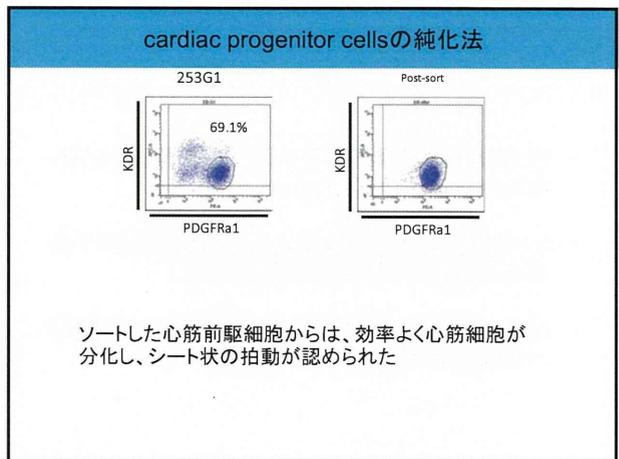
iPS細胞の樹立

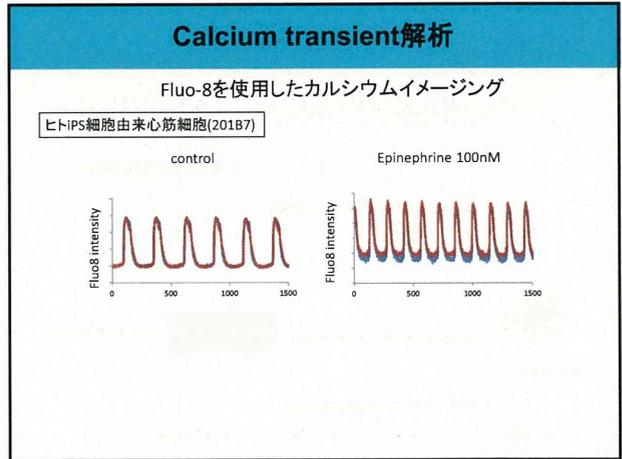
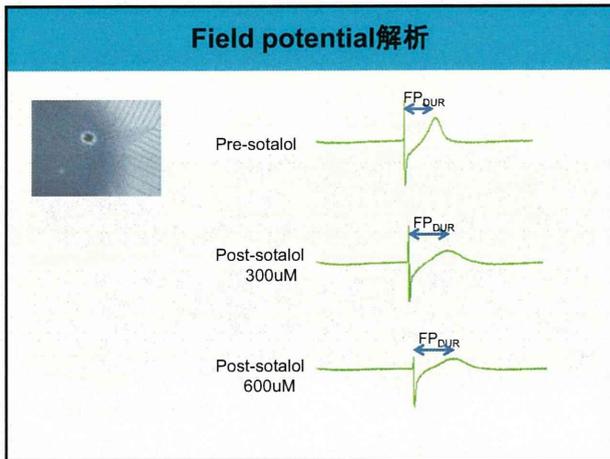




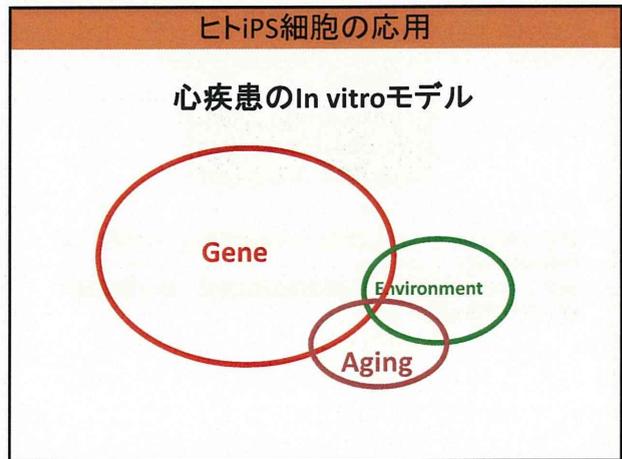
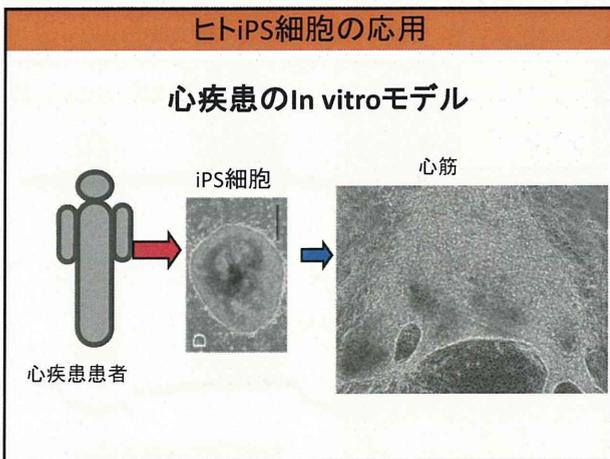
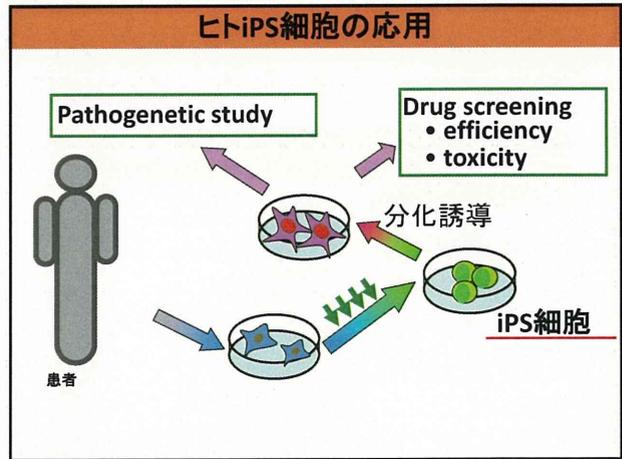
Summary

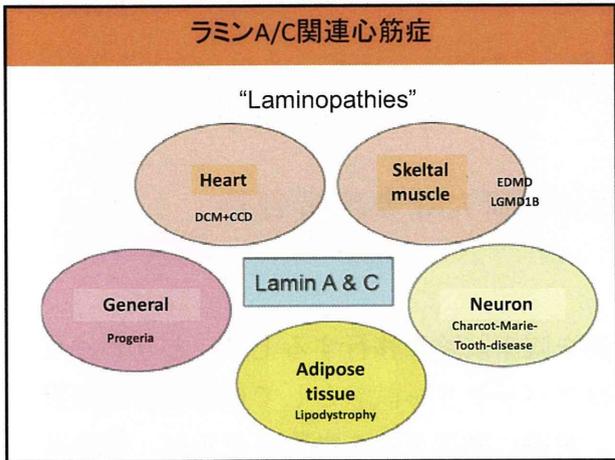
ES/iPS細胞から心筋分化誘導を行ったところ、心筋分化誘導効率は細胞株や分化誘導の条件によって異なっていた。





- ### Summary
- ヒトiPS細胞より誘導し選別した心筋前駆細胞は効率よく心筋細胞へと分化した。
 - ヒトiPS細胞より分化誘導した心筋細胞の遺伝子発現は心臓組織に類似性が認められた。
 - ヒトiPS細胞より分化誘導した心筋細胞は心作動薬への反応を示した。





- Summary**
- ラミン関連心筋症患者からiPS細胞を作製した
 - ラミン心筋症iPSから作製した心筋細胞における遺伝子発現や細胞の形態の解析を行った。

- Acknowledgement**
- | | |
|---|---|
| <p>Kyoto University - CiRA</p> <p>Kazuhiisa Chonabayasi
Hidaka Yokota
Masatoshi Nishizawa
Tadashi Takaki
Shunsuke Funakoshi
Akiko Oishi
Misato Nishikawa
Ikue Takei
Yoshinori Yoshida</p> <p>Masato Nakagawa
Kazutoshi Takahashi
Keisuke Okita
Takashi Aoi
Michiyo Koyanagi
Tomoko Ichisaka</p> <p>Shinya Yamanaka</p> | <p>Kyoto University- Dept of cardiovascular medicine</p> <p>Takeru Makiyama
Kenichi Sasaki
Tsukasa Kamakura
Masako Tanaka
Takeshi Kimura</p> <p>Shiga medical college</p> <p>Minoru Horie</p> <p>University Health Network</p> <p>Mark Gagliardi
Gordon Keller</p> |
|---|---|

実用化のためのロードマップ

関野 祐子 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 部長

安全性薬理試験は、新医薬品候補である被験薬を臨床試験に移行する上で、とりわけ重要な役割を担っている。安全性薬理試験では、コアバッテリー試験として被験薬の心血管系、中枢神経系、呼吸器系への影響を評価する。試験に利用される動物モデルは、被験薬に対する反応性のヒトと動物の種差の影響が極力少なくなるように慎重に選択されているものの、ヒトに対する被験薬の有効性・安全性評価には限界がある。特に近年、バイオテクノロジー応用医薬品が登場し、化学薬品を対象とする安全性試験による評価の限界はさらに深刻な問題となるため、これまでも増して被験薬のヒト特異的な反応を予測する試験法の開発が望まれるようになる。例えば、ヒト型タンパクを発現する遺伝子改変動物の利用、ヒト細胞を用いた *in vitro* 試験法などによる追加情報が求められるようになってくる。

5年前のヒト由来人工多能性幹細胞（iPS細胞）作製技術の開発には、医薬品の承認申請に必要とされる種々の試験系にヒト細胞を利用することを可能にすると期待された。しかし、ヒトiPS細胞の実用化に関しては、再生医療への応用に重きが置かれ、医薬品開発への応用の実態が不明であった。そこで、厚生労働省科学研究補助金／医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への応用可能性のための調査研究」により、平成22年から23年にわたって実態調査を行った。現在、安全性薬理試験への応用を視野に入れた研究が最も進んでいるのは、ヒトiPS細胞から分化誘導された心筋細胞を利用した研究である。

ヒトiPS細胞から分化誘導したヒト細胞を用いて医薬品の特性を解析し、安全性薬理試験における有用性を確認するためには、標本や実験プロトコルの標準化に関する研究をレギュラトリーサイエンスとして戦略的に推進して、関連情報の共有化を行い、多施設間で実験データの再現性を確認できる環境をいち早く整備することが必須である。実用化のためのロードマップの最初のゴールは、多くの試験施設で同じ細胞特性を示す分化細胞を利用することである。そのためには、分化細胞の配給システムを構築し、多施設間で試験結果をバリデーションできる試験プロトコル整備を行う必要がある。

公開シンポジウム

ヒトiPS細胞を用いた 安全性薬理試験への ロードマップ

平成23年度厚生労働省科学政策推進基金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
「ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への
応用可能性のための調査研究」研究費

ヒトiPS細胞から分化誘導した細胞を医薬品承認申請のための安全性薬理試験に
応用し実用化するためには、どのような科学的根拠が必要なのだろうか。
まずは薬理試験に利用する分化誘導細胞の標準化が必須である。
本シンポジウムでは、産官学の各界の取り組みを紹介し、
実用化にむけたロードマップを明らかにする。

「ドラッグラグ」解消へ、厚労省が 日本発新薬狙う（産経新聞）

- 厚生労働省は、世界に先駆けてヒトに新薬や機器を投与・使用してそれらの有効性や安全性を調べる初期段階の臨床試験を実施する病院拠点を指定する。がんやアルツハイマー病など、分野ごとに全国15カ所の拠点病院。治験の効率化を進め、製品化までの時間を短縮する。
- 世界で使われている新薬や医療機器が日本で使えない「ドラッグラグ」「デバイスラグ」の解消や、日本発の新薬・医療機器の創出なども狙う。
- 平成23年7月発表

次なる課題：治験着手の遅れ

Webサイトから引用

「治験対象医薬品ヒト初回投与試験 の安全性に関するガイダンス(案)」

- 医薬品開発における非臨床から初期臨床試験への移行を支援するための基本的な考え方を示すためのものである。被験薬をヒトに初めて投与する際のリスク要因を予測し、さらに、被験薬の品質、非臨床・臨床試験の進め方及びヒト初回投与に関する計画について言及する。ヒトへの初回投与量の設定、それに続く用量漸増法及び臨床試験の実施にともなう被験者リスクを低減するための考え方を示す
- 案の公示 2011年5月11日
- 意見締め切り 2011年7月11日
- 現在英文・和文とも完成間近。

安全性薬理試験の役割

非臨床から初期臨床試験への移行を
いかにして促進するか。

**ヒトに投与しても安全なのだという
ことを、動物実験からの予測だけ
でなく、ヒトの臓器細胞を用いて検
証したい。**

- 動物を使った種差の問題を克服するために、ヒト幹細胞由来分化細胞を安全性薬理試験に使いたい。
- 使うとしたら、どんな条件が満たされていないかなければならないか？
- 今、その条件を設定するためにはどうしたらいいか？

ヒト幹細胞由来細胞を使った評価系を 確立するには

- 安定した細胞標本の供給
- 実験プロトコルの提案 測定法など
- バリデーションを計画
 - 実験プロトコル整備
 - 化合物の決定
- 同一プロトコル、化合物を用いたバリデーション
- 多施設間の実験結果を比較
 - 濃度-作用曲線の検証
 - 擬陽性率などを評価

IPS細胞研究ロードマップ

「IPS細胞研究等の加速に向けた総合戦略(改訂版)」の具体化
平成21年6月24日 文部科学省

1. 中枢神経系
 - IPS細胞から神経細胞への分化誘導技術の確立【2～4年】
 - 霊長類への前臨床研究【3～5年】
 - ヒトへの臨床研究【7年後】
8. 心筋
 - IPS細胞から心筋への分化誘導技術の確立【3年】
 - モデル動物への前臨床研究【3～5年】
 - ヒトへの臨床研究【5～7年程度】以降
11. 内胚葉系細胞(肝臓細胞、膵β細胞等)、腎臓細胞
 - IPS細胞から内胚葉系細胞への分化誘導技術の確立【5～10年】
 - モデル動物への前臨床研究【5～10年後以降】
 - ヒトへの臨床研究【10年後以降】

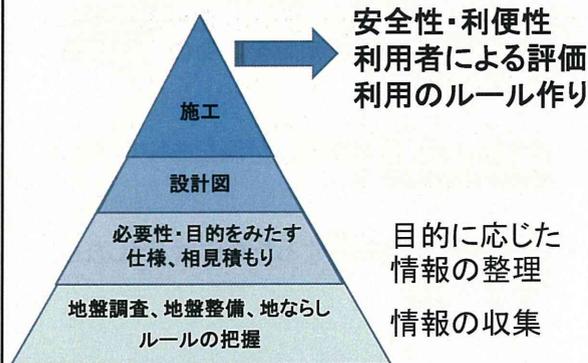
ヒト幹細胞由来細胞を使った評価系を 確立するには

- 安定した細胞標本の供給
- 実験プロトコルの提案 測定法など
- バリデーションを計画
 - 実験プロトコル整備
 - 化合物の決定
- 同一プロトコル、化合物を用いたバリデーション
- 多施設間の実験結果を比較
 - 濃度-作用曲線の検証
 - 擬陽性率などを評価

考察すべき課題

- 動物実験では、検出できないヒト特異的有害事象の予測性を向上するのか？
副作用の人種差、性差などどこまで予測するか。
- 被験物質のヒト初回投与量の決定に役に立つのか？
- たとえば、心筋の例を挙げると、QT/QTc試験が不要とされる非臨床試験となり得るのか？

道路をつくるには



最先端科学研究成果の共有にむけて

