

201210015A(資料あり)

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

# 政策創薬マッチング研究 研究報告書

－政策創薬におけるヒューマンサイエンス総合研究（官民共同研究）の推進－

平成25(2013)年5月

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成24年度

政策創薬マッチング研究

研究報告書

# 目 次

政策創薬におけるヒューマンサイエンス総合研究（官民共同研究）の推進  
—総括研究報告—

高柳 輝夫 …… 1

課題番号

A分野 医療上未充足の疾患領域における医薬品開発に関する研究

KHA1004	効果的な酵素補充療法を可能にするライソゾーム病の新たな診療体制の確立	奥山 虎之 ……	13
KHA1101	エイズ日和見原虫症に対する新規薬剤標的の探索と生理機能の解明	野崎 智義 ……	23
KHA1201	プロテインノックダウン法を基盤とする創薬研究	内藤 幹彦 ……	30
KHA1202	先天性中枢神経脱髄病の治療薬開発に向けた研究	山内 淳司 ……	36
KHA1203	HDL上昇と機能増進を核とした動脈硬化予防治療薬開発のための基礎的研究	最上 知子 ……	43
KHA1204	GMP準拠国産ウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究の実施とその支援体制の構築	小野寺雅史 ……	49
KHE1105	システムアプローチの構築による創薬ターゲットの同定と医療への応用	高田 修治 ……	54
SAA4801	HIVのインテグラーゼとプロテアーゼの多量体化のダイナミクス解明とそれらの阻害剤の開発	満屋 裕明 ……	60

B分野 医薬品開発のための評価科学に関する研究

KHB1009	アデノウイルスベクターを駆使した薬物誘発性肝障害モデル動物の開発	水口 裕之 ……	77
KHB1205	バイオ医薬品の合理的品質管理技術の開発と標準化	川崎 ナナ ……	89
KHB1206	製剤特性評価及び製造工程管理に基づく機能性製剤等の総合品質管理戦略確立に関する先端的評価科学研究	奥田 晴宏 ……	99
KHB1207	育薬を指向した天然物医薬品の標準化と品質評価に関する研究	合田 幸広 ……	109
KHB1208	ヒトにおける安全性確保のための、非臨床・臨床開発における評価・予測系の開発	黒瀬 光一 ……	119
KHB1209	安全性評価手法の新機軸:統合型毒性試験	山田 雅巳 ……	130
KHB1210	ヒトiPS細胞由来機能細胞を利用した新規薬効評価系の構築	川端 健二 ……	143
KHB1211	フェレットに対する免疫原性を基盤とした細胞培養インフルエンザワクチン株選定法確立	浅沼 秀樹 ……	148
KHB1212	化粧品原材料及び添加物の開発のための評価科学に関する研究	亀山 浩 ……	156

C分野 政策的に対応を要する疾患等の予防診断・治療等の開発に関する研究

KHC1102	小豆郡における帯状疱疹発症の大規模疫学研究	山西 弘一 ……	167
KHC1103	血管内皮機能改善に基づく糖尿病性腎症治療薬の開発	望月 直樹 ……	187
KHC1104	多価ボツリヌス毒素ワクチンの有効性及び安全性の検討	山本 明彦 ……	190

KHC1213	高効率にC型肝炎ウイルス感染を阻止できる中和抗体の開発とその解析	脇田 隆宇 ……	201
KHC1214	メタボロミクスを活用した統合失調症と気分障害のバイオマーカー開発	功刀 浩 ……	210
KHC1215	フラビウイルス粒子様ワクチンの開発	長谷川秀樹 ……	214
KHC1216	細胞培養弱毒生痘そうワクチンの有効性、安全性の評価と生産性向上に関する総合的研究	倉根 一郎 ……	219
KHC1217	遺伝子組換えBCGを用いた新規結核ワクチンの開発	保富 康宏 ……	225
KHC1218	血球凝集素抗原(HA)の立体構造予測に基づく型特異的および型共通抗インフルエンザウイルス抗体の作成と迅速診断法の確立	横田 恭子 ……	229
KHC1219	miRNAを標的とした関節炎治療の開発	浅原 弘嗣 ……	233
SHC4401	感染動物モデル及び胎盤組織培養系を用いた先天性サイトメガロウイルス感染機構の解析と中和抗体及びワクチンの開発	井上 直樹 ……	237
D分野 医薬品等開発のための先端的技術・方法の開発			
KHD1023	創薬研究における人由来初代細胞および幹細胞の利用円滑化に向けた研究	絵野沢 伸 ……	250
KHD1220	多能性幹細胞を医薬応用へ活かす生体親和性次世代スケーラブル培養システムの確立	阿久津英憲 ……	269
KHD1221	臍帯血移植後のドナーリンパ球輸注を可能とするための基盤整備と第I相臨床試験	藤原 成悦 ……	273
KHD1222	創薬支援に有用なヒト肝in vitro/in silico代謝・輸送予測モデルの提案と薬物動態評価における実証	石田 誠一 ……	281
KHD1223	腫瘍等ヒト疾患組織の長期継代維持・保存・データベース化による医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築	野村 大成 ……	290
KHD1224	心不全に対する再生医療と人工心臓による統合治療戦略	梅澤 明弘 ……	300
KHD1225	再生医療技術を駆使した、生活習慣病(虚血性疾患、肥満、糖尿病、高脂血症)の新規病態モデルの開発と創薬研究	佐伯久美子 ……	303
KHD1226	小児の網脈絡膜の微細構造の把握に関する研究	東 範行 ……	312
創薬技術・戦略に関する調査研究		井口 富夫 ……	316
政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究		山下 剛一 ……	327

# 政策創薬におけるヒューマンサイエンス総合研究（官民共同研究）の推進 —総括研究報告—

所 属 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団  
研究代表者 高柳 輝夫

研究要旨 本研究事業は、厚生労働科学研究費と民間からの研究委託費を元に、官民共同研究課題を募集して創薬に関連する研究を推進する唯一の研究事業である。平成 24 年度から政策創薬マッチング研究事業と名称を変更し、官民共同研究としての特色をより明確にして実施した。また、官民共同研究を強力に推進する駆動力となる創薬・医療上重要な課題等に関する調査研究や情報提供を実施し、マッチング環境の整備・推進を図った。

## A. 研究目的

本研究事業は、長寿社会における保健・医療・福祉に関する政策的課題解決に貢献するため、国立試験研究機関のシーズと民間企業のニーズをマッチングした官民共同研究により、医療上未充足あるいは政策的に対応を要する疾患領域に対する優れた医薬品・医療機器の開発や、新規医療技術の創製に必要な画期的・独創的な共通基盤技術を開発するなど、先導的な研究成果の獲得を目指す。

## B. 研究方法

本研究事業は、企業等の民間研究機関と国立試験研究機関等の共同研究方式を基本形態とし、大学などの参加も認める。また、研究事業費は厚生労働省の研究補助金と民間からの国立試験研究機関等への委託研究費からなり、研究課題に応じた研究費の配分を行う。各研究課題の代表者は、基本的に国立試験研究機関の研究者とし、共通の問題点の克服を企図して研究組織を構築することにより、それぞれの特色を生かして研究目的を達成する。

研究分野は、希少疾病など医療上未充足あるいは感染症など政策的に対応を要する疾患領域に対する優れた医薬品・医療機器の開発や、新規医療技術の創製に必要な画期的・独創的な共通基盤技術の開発に繋げるため、①医療上未充足の疾患

領域における医薬品開発に関する研究（希少疾病治療薬、エイズ医薬品等開発研究を含む）、②医薬品開発のための評価科学に関する研究、③政策的に対応を要する疾患等の予防診断・治療法等の開発に関する研究、④医薬品等開発のための先端技術・方法の開発（ヒト組織・細胞の利用等）の 4 研究分野に絞り、官民共同研究を実施した。

研究課題は、外部委員で構成される評価委員会により中間評価および事後評価を行い、さらに政策創薬マッチング研究事業に係る重要事項を審議する共同研究委員会で、継続の可否を含めて最終評価を行った。

また、財団が実施する調査研究や各種セミナーでは、「政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究」と「創薬技術・戦略に関する調査研究」を軸として調査活動を展開し、先端技術の医療・医薬等に焦点をあてたセミナーでは、共同研究分野を中心に引き上げ、研究の進展の支援とともに、情報提供を通じた官民のマッチング環境の整備に努めた。

## C. 研究結果

平成 24 年度は、企業 85 社、国立試験研究機関 9 機関、大学 39 校、団体・試験研究法人等 14 機関が参加し、官民共同研究を実施した。本年度から新たに開始した官民共同研究が 26 課

題、継続が10課題であり、計36課題を実施した。なお、本年度で終了した課題は6課題であった。

本年度の官民共同研究での主な研究成果として、評価科学に関する研究分野では、バイオ医薬品の品質管理戦略構築のための具体的な方法の提示や各種分析法の標準化を達成した。本邦初の帯状疱疹疫学調査では、精力的かつ詳細な解析の実施により正確な発症率、免疫機能と発症及び重症化との関係等を明らかにし、「帯状疱疹疫学調査成果報告会」等を開催するなど、その成果を速やかに国民に公開した。また、再生医療として期待されるiPS細胞研究では、マスト細胞や肝細胞様細胞への分化誘導を実現し、特許出願したことなど研究の進展がみられた。臨床研究関連では、造血幹細胞遺伝子治療（小児難治性遺伝性疾患）に向けた臨床研究の開始に繋がった。また、ライソソーム病の迅速スクリーニング系を開発し、新生児マス・スクリーニングが開始された。その他の研究成果を含め、各課題の研究概要および研究成果を本報告書の添付書類に纏めた。

また、財団が実施した「政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究」では、「医療ニーズ」と「将来動向」の調査を通じて医療上未充足の高い疾患の創薬等の必要性と可能性に関する情報を入手・分析し、報告書として取り纏め、情報提供を行った。セミナーでは、政策的に創薬に取り組むべき疾病として、調査研究での医療ニーズの高い疾患を取り上げ、創薬の可能性と課題などをテーマとして企画・実施した。さらに、厚生労働省関連の研究機関の研究活動を広く医薬関連企業の研究者に紹介し、官民共同研究の推進を図った。「創薬技術・戦略に関する調査研究」では、欧米各国の製薬企業、研究・医療機関及び関連行政機関を訪問し、研究開発戦略等に関する最新の情報を入手・分析し、報告書として取り纏めた。

#### D. 考察

難病や希少疾病など有効な治療法が無い疾患や新興再興感染症など政策的にも対応を要する

疾患に対する診断、治療薬・治療方法の研究開発および再生医療など新たな医療技術の研究開発は、疾病に苦しむ患者の救済が可能となると共に早期診断、早期治療による医療費削減が期待され、その社会的波及効果は極めて大きい。国立試験研究機関等は、これらの目的を達成するための研究開発を遂行しているが、その効果的な推進に当たっては民間企業との連携が必要な場面も多い。また、民間企業にとっても、上記疾患領域の研究開発では国立試験研究機関等との連携は重要となる。本研究事業は、官民の研究機関の共同研究を両者に容易にする研究事業として、役割を果たしている。

平成24年度からは政策創薬マッチング研究と名称変更し、官民共同研究の特色と目的をさらに明確にして実施するため、新規課題・継続課題を含めて大幅な組み直しを図った。すなわち、課題評価では研究計画・成果の質的評価のみならず、官民共同研究である必然性や官民相互の研究体制等を評価し、具体的な成果が期待できる研究課題を採択した。また、研究分野は、国立試験研究機関が担っている機能に整合させてマッチング研究の一層の充実を図るため、前記4研究分野に絞って実施した。

平成24年度の研究事業では、評価科学に関する研究分野において、医薬品の品質管理戦略構築のための方法の提示や分析法の標準化を進め、ガイドラインの基本となる科学的評価方法の基盤作りを達成した。政策的な展開が求められる感染症等の研究課題として、ワクチンに関連する研究等を推進し、ワクチン開発への道筋をつけた。また、ヒト組織・細胞を利用する研究は医薬品創製の基盤となるものであり、再生医療の進展に向けて着実な進展を見せた。さらに、臨床研究の基盤整理を行い、早期診断の実施や臨床研究の開始に繋がった。これらの成果は、いずれも、課題解決に向けて官民共同研究の特色を生かして研究活動を展開したことにより達成されたものである。

本研究事業では、医療ニーズ等に関する調査研

究や各種セミナーなど、情報提供を通じた官民共同研究の推進ならびにマッチング環境整備についても継続的に推進した。「政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究」では、医療上未充足の疾患について創薬の現状・課題等について調査し、情報提供した。創薬技術・戦略に関する調査研究では、欧米各国における創薬に関連する科学・技術の進展と先端医療技術開発の現状等を調査・分析するとともに、本邦におけるライフサイエンス分野発展の方向性につき提言を行った。これらの活動では、医薬関連企業の研究者が研究シーズ・ニーズを探るべく国立試験研究機関・大学等の研究者から60回以上のヒアリングを行い、官民共同研究を推進する駆動力としての役割を果たした。さらに、厚労省所管の国立試験研究機関の研究を医薬関連企業の研究者に広く紹介することにより、研究のマッチングを推進することに繋げた。

本研究事業で得られた成果は、報告書での公表のみならず、研究成果発表会等を開催するなど、広く国民に公開する予定である。

#### E. 結論

本研究事業は、官民それぞれ単独では達成が難しい課題に対し、官民の研究機関の共同研究を可能とすることにより、相乗的な研究の進展あるいは解決する役割を果たしてきた。

本年度から新たに開始した官民共同研究が26課題、継続が10課題であり、計36課題を実施した。それぞれの研究成果は、課題解決に向けて官民共同研究の特色を生かして研究展開したことにより達成した。財団が実施した「創薬技術・戦略に関する調査研究」と「政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究」は、官民共同研究における研究のシーズあるいはニーズの掘り起こしおよびマッチング環境の整備を目的として実施し、セミナー等の開催と調査研究報告書等による情報提供を行った。これらの成果・情報は、今後広く国民に公開する予定である。

本年度の研究事業で得られた成果は、民間企業

の創薬におけるニーズと国立試験研究機関のシーズとのマッチングによる成果であり、次なる官民共同研究の核として結実し得るものである。

#### F. 研究危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ①平成24年度(2012)国内基盤技術調査報告書「気分障害に関する医療ニーズ調査」(財)ヒューマンサイエンス振興財団、平成25年3月19日 92ページ
- ②平成24年度(2012年度)将来動向調査報告書「慢性腎臓病(CKD)の将来動向」(財)ヒューマンサイエンス振興財団、平成25年3月19日 99ページ
- ③平成24年度(2012年度)国外調査報告書「創薬基盤強化の新機軸を探る—オープン・イノベーション、バイオマーカーを中心に—」(財)ヒューマンサイエンス振興財団、平成25年3月19日 128ページ

添付書類(研究概要及び研究成果)

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHA1004	奥山 虎之 他	効果的な酵素補充療法を可能にするライソゾーム病の新たな診療体制の確立	<p>ライソゾーム病に対する酵素補充療法の効果を最大限に引き出すため、ムコ多糖症Ⅱ型患者から樹立した人工的多能性幹細胞(iPS細胞)由来の神経細胞を用いてケミカルシャペロンによる中枢神経病変に対する治療方法の確立とタンデムマス法や4-MU法を用いた早期診断のための迅速スクリーニング法を確立する。また、高額医療を是正する目的で、無血清培地を用いた製造コストが安く、より安全な酵素製剤の実用化を目指す。</p> <p>ムコ多糖症Ⅱ型に有効なケミカルシャペロンを探索し、FDA許認可ライブラリーから複数の化合物を候補と特定した。今後、モデル動物を用いた治療実験を経て、臨床応用につなげる基礎を確立する。乾燥ろ紙等を用いたボンベ病の迅速スクリーニング法を開発し、新生児マス・スクリーニングを開始した。本年度は約1,200名の新生児がボンベ病マススクリーニングを受けた。低コストのIDS酵素製剤の開発し、IDS KOマウスへ投与によりその有効性が確認された。</p>
KHA1101	野崎 智義 他	エイズ日和見原虫に対する新規薬剤標的の探索と生理機能の解明	<p>現在のHIV/AIDSに対する標準的な多剤併用療法には薬剤耐性変異ウイルスの出現をはじめ多くの克服すべき課題が存在する。HIV/AIDSに伴う日和見感染症、特に原虫感染症の多くには有効な治療法が存在しないか、限定的であり、新規治療法を開発し準備することは極めて重要である。本研究ではHIV/AIDSに伴う原虫性日和見感染症であるトキソプラズマ・クリプトスポリジウム・赤痢アメーバ症の新規治療薬創成を目指し、創薬標的経路・酵素の生化学的特質の同定・生理機能の解明、阻害剤の探索を通じて、抗原虫症創薬を展開する。</p> <p>赤痢アメーバ創薬に関して、標的であるシステイン・S-メチルシステインの生合成経路の生理機能を解明した。更に、微生物抽出液から本経路を阻害する阻害剤を多く発見し、一部の阻害剤の構造を決定した。トキソプラズマおよびコクシジウム関連原虫における植物ホルモン、阻害剤の増殖抑制効果の評価を終え、数種類の有望な阻害剤を特定した。クリプトスポリジウム症に対する創薬では、標的となるNADH-ユビキノン還元酵素の大腸菌での組換え酵素の発現・調整に成功した。以上のように、いずれの分野に関してもほぼ予定通りに計画を実施し、最終年度の研究展開に必要な成果を挙げた。</p>
KHA1201	内藤 幹彦 他	プロテインノックダウン法を基盤とする創薬研究	<p>がん、神経変性疾患、炎症性疾患など医療上未充足の疾患領域において、疾患原因のタンパク質を特異的に分解する新たな作用機序を持った新規医薬品の開発に資する研究を行う。そのために国立研究所所属の研究代表者が開発したプロテインノックダウン法と、民間企業が有する医薬品開発のリソースを利用して、アカデミアの専門知識と協力を得ながら、官民共同研究で活性化化合物の合成と評価を進める。</p> <p>ユビキチンリガーゼに結合するベスタチンとERリガンドである4-ヒドロキシタモキシフェンをアルキル鎖でつないだSNIPER(ER)が、ヒト乳癌細胞MCF-7のエストロゲン受容体を分解し、乳がん細胞に効率良く細胞死を誘導する事を明らかにした。分解機構を解析した結果、SNIPER(ER)はユビキチン-プロテアソーム系を介したエストロゲン受容体の分解を誘導する事が明らかとなった。SNIPER(ER)は、乳がん細胞におけるERの発現そのものを減少させ、がん細胞を自滅に導くことができるため、乳がんに対する新たな治療薬開発につながる事が期待される。</p>
KHA1202	山内 淳司 他	先天性中枢神経脱髄病の治療薬開発に向けた研究	<p>典型的な稀少疾病である先天性の「中枢神経脱髄Pelizaeus-Merzbacher病」(PMD、20~30万人に1人が病因を有する)は、その発症機構に関して不明な点が多く、特異的治療薬は存在しない。本研究では、平成23年度までの研究成果をもとにして、国立研究機関だけでは難しく官民共同研究ではじめて達成できる前臨床試験を目指したPMD創薬研究を推進する。</p> <p>本研究では、治療薬がない先天性中枢神経脱髄病の創薬標的候補分子の探索研究を行うことを目標にしている。そのために、創薬標的分子の探索研究をインビトロレベルから動物実験レベルで検討する研究を行い、MAPK1及びTACEを髄鞘変性を変性を改善する新規標的として明らかにした。その他、2種類の標的となる可能性のある分子も明らかにした。</p>
KHA1203	最上 知子 他	HDL上昇と機能増進を核とした動脈硬化予防治療薬開発のための基礎的研究	<p>低HDL血症は冠動脈疾患の重大な危険因子であるが、HDLを直接上昇する薬は実用化されていない。本研究は、HDLの産生と機能に着目し、①ヒト肝型のABCA1トランスポーターによる高機能HDL産生とその転写制御、②炎症性アミロイドSAA含有HDLの機能や関連分子、ABCA7による食作用制御、③脂質蓄積が炎症や動脈硬化病変をもたらす機序を解析し、官民の連携により④制御薬物を合成探索し、「HDL」を核とした予防・治療薬創製に貢献する。</p> <p>①ヒト肝特異的ABCA1バリエントL3のエンハンサーに転写因子HNF4αが結合活性化する機序を明らかにするとともに、肝型L3発現を促進する酒類成分、肝と末梢のABCA1を上昇するLXR/RXRを低濃度で強力に活性化する胆汁酸誘導体を見いだした。また肝ABCA1発現促進化合物のin vivoでのHDL上昇効果を検証した。②動脈硬化症発症前の中膜平滑筋層で抗酸化タンパクペルオキシレドキシニン2の発現低下を見出した。</p>



課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHA1204	小野寺 雅史 他	GMP準拠国産ウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究の実施とその支援体制の構築	<p>近年、欧米では造血幹細胞遺伝子治療が小児難治性疾患に対する有効な治療法として確立してきたが、日本ではこれら治療に関する優れた技術を有するものの、臨床応用を支援する体制が欠如しているため、大きな遅れとなっている。本研究では、小児難治性疾患に対する遺伝子治療臨床研究を実施することで、そこに生ずる問題点を官民共同研究を通して解決し、我が国において遺伝子治療実施を支援するプラットフォームを構築する。</p> <p>小児難治性疾患に対する造血幹細胞遺伝子治療の実施に向け、①臍帯血由来ヒトCD34陽性細胞を用いたDry Runの実施、②GMP準拠国産ウイルスベクターの有効性の評価、③当センター病院内での遺伝子治療準備委員会の設置、④患者由来iPS細胞を用いた慢性肉芽腫症の病態解析、⑤GMP準拠臨床用ウイルス上清の製造、⑥治療用ベクターの染色体挿入部位の解析等を行い、当研究センターで進めている慢性肉芽腫症への遺伝子治療臨床研究の実施体制の整備を行った。なお、本遺伝子治療臨床研究は平成24年6月14日付けで厚生労働大臣により承認されている。</p>
KHE1105	高田 修治 他	システムアプローチの構築による創薬ターゲットの同定と医療への応用	<p>創薬事業においては産学官が共同して、疾患に関連する遺伝子をノンバイアス、機能的に同定、解析していく必要がある。欧米では、すでに多くの成功例が報告されているが、日本において実績を上げてきたのは我々のグループを除いて非常に少ない。本申請で提案するシステム医学研究戦略は、疾患の病態の解明とより効果的と考えられる創薬ターゲットの絞り込みが同時に並行して進めることができ、あらゆる疾患研究に応用可能である。</p> <p>ポストゲノムアプローチであるMGCライブラリを使用したハイスループット遺伝子導入アッセイにより<i>IL-6</i>のmRNA安定化に関わる因子、TGFβシグナルの制御に関わる因子を探索し、数多くの制御因子候補が得られた。今後、これらの候補因子のin vitro, in vivoでの解析を行い、リウマチや変形性関節症をはじめとした炎症性疾患の創薬ターゲットの同定を目指す。</p>
SAA4801	満屋 裕明 他	HIVのインテグラーゼとプロテアーゼの多量体化のダイナミクス解明とそれらの阻害剤の開発	<p>インテグラーゼ (IN) とプロテアーゼ (PR) は HIV 増殖に必須の酵素である。IN 阻害剤が臨床導入されたが、IN とその阻害剤の結晶は得られておらず結合態様は不明である。IN は多量体化して活性を発揮するが、ダイナミクスは不明である。PR の酵素活性獲得には二量体化が必須だが、ダイナミクスや二量体化阻害剤の結合部位は不明である。本研究では IN と PR の多量体化ダイナミクスを明らかにし新規阻害剤開発へ進める。</p> <p>複数の耐性臨床分離株を用いた耐性誘導により、PI 耐性変異株重感染と遺伝子相同組み換えで HIV-1 が DRV や tipranavir に高度耐性を獲得し得る事を解明した。また、macrocyclic 構造を有する GRL-0216 等、Tp-THF 構造を持つ GRL-1398A 等、oxatricyclic 構造を有する GRL-0519 等、新規 PIs を開発した。更に結晶構造解析学や質量分析学等を通じて HIV-1 PR 二量体形成阻害剤と PR モノマー間での結合様式や PR の多量体化過程での dynamics の検討を進めた。IN についても、多量体形成過程や相互作用を有する宿主因子との関係性を評価し、さらに多量体形成過程の分子学的・構造学的解析や宿主因子との相互作用を阻害する薬剤の探索・開発を進めている。</p>
KHB1009	水口 裕之 他	アデノウイルスベクターを駆使した薬物誘発性肝障害モデル動物の開発	<p>新薬開発において、動物試験では問題ないものの臨床試験 (ヒト) で起こる薬物誘発性肝障害が大きな問題となっている。本研究では、アデノウイルスベクターによる遺伝子発現制御技術を駆使することで、これまで動物実験での予測が不可能であった薬物誘発性肝毒性を評価するモデル動物の作成とその評価を小野薬品の協力のもとに行い、新薬開発のスピードならびにコスト削減につながる技術開発を行う。</p> <p>今年度は肝障害誘導能の低い改良型ヒト CYP3A4 発現 Ad ベクターを作製し、本ベクターの in vitro および in vivo でのヒト CYP3A4 代謝活性性能を評価した。また、Ad-CYP3A4 を投与したマウスへ肝障害を誘導することが知られている薬剤を投与し、本マウスを用いた薬物評価系が有用かどうか検討した。本ベクターをマウスに投与した結果、マウス肝臓でヒトと同程度の代謝活性を有するヒト CYP3A4 を発現させることに成功した。この結果は、発現ベクターを用いて代謝活性を有するヒト CYP3A4 をマウスに過剰発現させた世界初の成果である。</p>
KHB1205	川崎 ナナ 他	バイオ医薬品の合理的品質管理技術の開発と標準化	<p>厚生労働省は医薬品産業支援と革新的医薬品開発推進を打ち出し、バイオ医薬品に関しても、体系的アプローチを取り入れた原薬の製造と管理、非臨床安全性評価、FIH 安全性確保の方向性を示した。本研究では、それらの政策が示すライフサイクル全般に適用できる品質管理、治験薬と市販薬の安全性確保の実現を目指し、先端的医薬品を含むバイオ医薬品の品質管理手法、ウイルス安全性試験、免疫原性評価法の開発と標準化を行う。</p> <p>バイオ医薬品の合理的品質管理技術の開発と標準化を目的として、① QbD 手法を用いたバイオ医薬品の品質管理戦略構築の具体的方法を提示した。また、糖鎖試験の各種分析法について、酸性糖鎖試験法等としての適用可能性及び留意事項を、さらに、生物活性試験 (ELISA 等) の信頼性確保の要件を明らかにした。② 組換えタンパク質生産用基材であるトランスジェニックカイコについて、バイオ医薬品生産系としての有用性を示すと共に、品質管理に重要なバンクの作製と評価法を提示した。③ ウイルス試験の簡便化・高感度化に資する代替人工ウイルス様粒子を設計・調製した。④ 電気化学発光法を用い、抗薬物抗体測定系を構築した。品質管理試験法の標準化に関する研究成果をもとに、抗体糖鎖標準的試験法を公表した。また、生物活性試験法の日局参考情報原案を提出した。</p>

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHB1206	奥田 晴宏 他	製剤特性評価及び製造 工程管理に基づく機能 性製剤等の総合品質管 理戦略確立に関する先 端的評価科学研究	医薬品のライフサイクルを通して品質を確保するためには、開発段階から最新の科学に基づき目標製品品質プロファイルを設定し、医薬品の重要品質特性と製造工程を適切に評価し、品質管理戦略を確立することが求められている。本研究では、機能性製剤の目標製品品質プロファイルを明らかにし、重要品質特性とその特性に影響を与える製造工程を評価する手法を産官学共同研究を通じて究明し、医薬品の品質保証に資することを目的とする。 QbDアプローチによる医薬品製剤開発の実現に不可欠な製剤特性を解析するための適切な評価法が定まっていない①ナノ粒子DDS製剤、②機能性製剤、③超難溶性薬物製剤等について製剤特性評価法の開発を行った。また、④これらの製剤の製造工程をリアルタイム・超高速に管理する製造工程管理手法を検討し、テラヘルツ分光法による錠剤コーティング、内部蛍光蛍光検出法による製造環境及び超臨界クロマトグラフィー法による光学純度の経時解析リアルタイム評価、等で有用であることを明らかにした。
KHB1207	合田 幸広 他	育薬を指向した天然物 医薬品の標準化と品質 評価に関する研究	天然物医薬品は、合成品と違い、規格化・標準化が困難で、再現性の良い医療を行い、医薬品として新効能等を取得する為の品質規格条件が明確ではない。本研究では、産官学の研究者が共同で、既承認の天然物医薬品(単味生薬、漢方処方、西洋ハーブ)を中心に、特に育薬の観点から、新規効能効果取得を目指し、分析化学的、分子生物学的、生物学的試験法等を組み合わせた天然物医薬品の標準化と品質評価手法を確立する。 育薬の観点から、生薬、西洋ハーブ、漢方処方等天然物医薬品の標準化・品質評価手法として、遺伝子鑑別、メタボローム解析、細胞運動能抑制、キナーゼ阻害作用等各種試験法を検討、評価すると共に、単味生薬製剤の承認基準案につき検討を行った。
KHB1208	黒瀬 光一 他	ヒトにおける安全性確保 のための、非臨床・臨床 開発における評価・予測 系の開発	医薬品の安全性を開発早期に確保することを目標に、参加企業のニーズを含む医薬品開発上の必要性を踏まえ、1)非臨床開発においては、iPSを含むヒト細胞系を用いた代謝動態・副作用評価系の開発を、2)臨床開発においては安全性バイオマーカーの探索・同定と迅速なマーカー検出系の開発を行う。医薬品の開発過程における安全性の予測・評価系の開発は、予防・予測型の安全対策を推進している厚生労働行政の方針とも合致する。 副作用リスクの予測と安全性評価に関して次の項目に関して研究を行い、以下の成果を得た。①医薬品のインビトロアレルギー性予測系として、新たなマーカー分子候補であるIL-8のレポーターアッセイ系を開発した。②ヒトiPS細胞から小腸上皮・成熟肝細胞への分化誘導させ、その細胞がペプチド輸送能を有していることを確認した。③肝CYP3A4、腎薬物トランスポーターの薬物間相互作用に関連するバイオマーカーとして6β-OHFのクリアランスが有用であることを明らかにした。その他、GST-KOマウスを用いたメタボロミクス解析、遺伝子多型とタイピング系の開発研究、副作用と相関する遺伝子多型の探索研究等で、有用な情報を得ている。
KHB1209	山田 雅巳 他	安全性評価手法の新機 軸:統合型毒性試験	トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験について、2011年OECDガイドライン公開に伴う遺伝毒性試験及び一般毒性試験への組み込みの重要性を視野に入れ、統合型試験法策定時の科学的根拠となる基礎データを取得する。Pig-a試験法は、民間を中心に改良法の国内・国際バリデーション研究を進め、標準化を目指す。In vitro試験法のキット化、及び遺伝毒性メカニズムに基づく代替法の開発等に取り組む。 トランスジェニック(Tg)動物で、一般毒性と遺伝毒性試験、突然変異試験と多臓器小核試験を実施し、Tg動物を用いた統合型毒性試験の可能性に係る基礎データを取得した。また、Tg動物での詳細な背景データを6カ月にわたり検討し、統合型毒性試験系として有用なモデル動物であることが示唆された。Pig-a試験の改良法について、民間を中心に多方面からの検討により標準化に向けたデータを収集している。また、in vitro試験法のキット化及び遺伝毒性メカニズムに基づく代替法の検討を行い、基礎データを取得した。
KHB1210	川端 健二 他	ヒトiPS細胞由来機能細胞 を利用した新規薬効 評価系の構築	iPS細胞を創薬へと応用するには、分化誘導技術の開発と分化した細胞を安定的に培養する技術の両者が重要である。そこで本研究では、アレルギーと糖尿病という新薬開発が期待されている現代病に着目し、これらの疾患に重要な役割を担っているマスト細胞と脾島ベータ細胞をヒトiPS細胞から効率良く分化誘導する技術を開発し、また官民共同研究により分化した細胞を安定的に培養できる技術を開発する。 マウスiPS細胞をOP9細胞と共培養することにより、マスト細胞を分化誘導することに成功した。また、Swiss 3T3線維芽細胞やstem cell factorがiPS細胞由来マスト細胞の成熟化や増殖を促進することが示された。また、支持細胞との共培養法あるいは胚様体形成法により、ヒトiPS細胞から血液コロニー形成能を有する血液前駆細胞が分化誘導可能となった。ヒトES細胞であるKhES4およびヒトiPS細胞であるToeは脾分化能が高いことが明らかにした。神経細胞の細胞塊を浮遊培養で得たのち細胞外電位の測定を実施した結果、検出確率が単層培養時に比べ大きく改善したことから、ヒトiPS細胞由来神経細胞は細胞塊を形成することでその機能が改善することが示唆された。

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHB1211	浅沼 秀樹 他	フェレットに対する免疫原性を基盤とした細胞培養インフルエンザワクチン株選定法確立	細胞培養インフルエンザワクチンの株選定基準確立を目指し、本研究では遺伝子背景の異なる野外分離株をフェレットに感染させ免疫誘導能を検討し、ワクチンとして用いた場合の有効性を検討する。また民間企業の有する正確かつ高い抗体の作製技術を取り入れ、フェレット免疫分子に対する抗体を作製・応用する。ワクチンの安全性や有効性を明確にすることは厚生労働行政の重要な役割であり、本研究はそのことに大きく貢献できる。 臨床分離株から増殖性・抗原性・マウスに対する免疫原性を検討し、フェレットの感染に用いる株を決定した。続いてフェレットへの感染実験を行い、感染条件を決定した。引き続き、異なる株の感染実験による応答性の違い、および不活化抗原の免疫実験による応答性の違いを検討する。また、フェレット分子の作製ならびにフェレットの抗原分子のクローニングも進めている。
KHB1212	穂山 浩 他	化粧品原材料及び添加物の開発のための評価科学に関する研究	化粧品原材料及び添加物は薬事法規制下にあるが、近年、予測不可能な複合経路暴露によるアレルギー疾患等の健康危害の報告が急増している。本研究はこれらの健康危害を未然に防ぐために、産官学共同により、バイオアッセイ等による安全性評価手法と機器分析による品質管理手法の開発が必定である。生化学及び分析化学の両面からの研究アプローチによる総合的な評価手法を検討し、得られた成果・情報を基に、規格基準案を策定する。 抗原感作性評価手法、化粧品原材料・添加物及びそれらの夾雑成分の自主管理可能な迅速・簡易な機器分析法の開発を検討し、ポリクローナル抗体を用いたコチニール由来タンパクのELISA定量法を確立した。qNMRを用いた絶対定量法が、化粧品原材料及び添加物の品質管理に应用可能であると考え、化粧品、食品添加物、抗生物質、天然物、毒物、芳香族炭化水素、PRTR物質、農薬、総数として248品目のqNMRスペクトルを測定し、ライブラリー化した。マウスCD4+T細胞のみの培養系で、抗CD3抗体および抗CD28抗体を用いてTCR刺激をすることで、この実験系に添加した被検試料がT細胞の機能分化に与える影響を解析できることが明らかになった。
KHC1102	山西 弘一 他	小豆郡における带状疱疹発症の大規模疫学研究	今後の高齢化社会において、新しい医療ニーズとして带状疱疹ワクチンの開発が期待されているがこれまで我が国には带状疱疹の詳細な疫学研究は無かった。そこで、平成20年度より香川県小豆島の高齢者を対象に前方視的大規模疫学調査を開始した。本研究により発症頻度と免疫と発症との関連等、有意義な研究成果を上げつつある。今後さらに官民共同体制にて疫学データを収集し、基礎研究から実用化への橋渡しとなる研究を実施する。 香川県小豆郡で带状疱疹の大規模疫学調査を実施した。本研究により高齢者の正確な発症率、带状疱疹発症に係る細胞性免疫の役割、免疫の持続期間等が明らかとなり、ワクチン開発に有益な疫学知見が得られた。高齢者に水痘ワクチンを接種することによる細胞性免疫の増強の事実と今回得られた成績から、水痘ワクチンの免疫増強効果が带状疱疹の発症及び重症化の抑制に有効であることが確認できた。これらの研究結果は、今後、本邦における带状疱疹ワクチン開発につながる事が期待される。
KHC1103	望月 直樹 他	血管内皮機能改善に基づく糖尿病性腎症治療薬の開発	本研究では、糖尿病性腎症に対する新規医薬品開発を目指す。近年、糖尿病患者さんの増加に伴い、合併症の1つである糖尿病性腎症は著しく増加し、年間約1.3兆円の医療費を要する血液透析の原因疾患の第一位となっている。医療経済的にもその治療は急務と考え、本疾患の予後改善と患者さんの生活の質の向上を目指した糖尿病性腎症治療薬としてのasymmetric dimethylarginine (ADMA) 低下薬を開発する。 ADMA低下薬を開発する目的で、DDAH活性スクリーニング系(CPM Assay系)の構築を試み、評価に十分なS/N比を有するパリエートされた系を確立した。本系を用いて18,000化合物のスクリーニングを実施したが、ヒット化合物は得られなかった。今後、評価ライブラリーを150,000化合物に拡大しスクリーニングする。糖尿病性腎症ラットでは、経過的に血中及び尿中ADMA濃度が上昇し、その後加齢に伴い上昇し続けることが判明した。
KHC1104	山本 明彦 他	多価ボツリヌス毒素ワクチンの有効性及び安全性の検討	ボツリヌス中毒症はわが国では稀な疾患であるが、近年大量破壊兵器としてのボツリヌス毒素が注目されている。しかし実際にテロが発生した際に生物兵器の処理にあたる要員の防疫に必要な厚生の準備は皆無である。毒素性感染症の予防にはトキシイドワクチン接種が最も有効であることは疑いない。本研究は2007年に厚生労働研究班の製造したボツリヌス毒素ワクチンの有効性・安全性を実証し、当ワクチンの国内開発・生産の可能性を検証する。 厚生労働研究班によって作製された多価ボツリヌス毒素ワクチンを、4施設45名のボランティア被験者に接種した。このうち1施設では、昨年度の4週間隔3回の基礎免疫に引き続き、1年後の追加免疫が実施できた。追加免疫を行った1施設での被験者の抗体価は、3回接種することにより抗体価の上昇確率が高くなることが明らかとなった。また、基礎免疫の被験者についてもELISA抗体価は3回のトキシイド接種により、何らかの毒素型に対し抗体価が上昇し、全ての毒素型に対し抗体価の上昇がみられた。一方、健康調査表による副作用解析では、接種部位の軽度の腫脹・発赤・搔痒感などの副作用を一部に認めしたが、重大な有害事象は認められなかった。

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHC1213	脇田 隆字 他	高効率にC型肝炎ウイルス感染を阻止できる中和抗体の開発とその解析	C型肝炎ウイルス(HCV)の新規感染は激減したが、医療関係者や感染者の家族などのハイリスクグループに対する有効なワクチンはない。免疫グロブリンは受動免疫による感染予防の有効な手段である。これまでの本研究により、HCVに対するヒト型感染中和抗体の開発に成功している。本研究では感染中和活性のより高いヒト型感染中和抗体を樹立して、免疫グロブリンによるHCV感染防御を目指す。 HCV E2蛋白質に結合する環状ペプチドを同定し、この中の2種がHCV感染阻害活性を有することを明らかにした。また、E2蛋白質で免疫したリンパ節を移植したマウスからHCVpp感染を阻害するモノクローナル抗体2種を得た。これらの抗体はE2(遺伝子型1a, 1b, 2a)に結合することからヒト型感染中和抗体であることを推察した。蛍光蛋白発現HCV培養系を用いたhigh content screening assay系を構築した。本評価系で感染阻害化合物の一次スクリーニングを実施し、侵入特異的阻害剤としての可能性を有する低分子化合物を同定した。
KHC1214	功刀 浩 他	メタボリックを活用した統合失調症と気分障害のバイオマーカー開発	平成23年7月より精神疾患は5大疾病の一つに位置づけられた。しかし、うつ病や統合失調症において臨床や検診で実用化されている客観的なバイオマーカーはない。われわれは、メタボリックによるバイオマーカー実用化を行っている民間企業と共同し、エタノールアミンリン酸のうつ病バイオマーカーとしての有用性について検証するとともに、豊富なバイオリソース(血液・脳脊髄液)を活用して、新規のマーカーを開発する。 気分障害、統合失調症、健常者の血液や脳脊髄液試料を収集し、メタボライトについてバイオマーカーの可能性について検討した。Drug free 患者26名の試料を収集した。統合失調症でベタインが、うつ病ではトリプトファンが有望であることを示唆する結果を得た。うつ病の有力なバイオマーカー候補であるEAPに関しては、さらなる条件検討が必要である。
KHC1215	長谷川 秀樹 他	フラビウイルス粒子様ワクチンの開発	WHO要請のフラビウイルスワクチン開発において、温暖化により猛威をふるうデングウイルス、HS官民共同研究で顕著な成果を得た日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルスに関し、感染性ウイルスを用いない新技術によるワクチン開発を官民共同研究を通じて行う。即ち、①ウイルスゲノムを持たず、形態上ウイルスと同等のウイルス様粒子(VLP; Virus-Like Particle)を、②細胞培養系で持続産生させ、③精製VLP抗原を安価な第2世代ワクチンに開発する。④他のワクチン不在ウイルスでも本技術によるワクチン開発を応用する。 ①DENV1～4型ウイルス価を定量できるplaque/focus assay法を確立した。②DENV1～4型のprM/E蛋白質を定量できDENV抗原ELISA法を単クローン抗体を組合せて樹立し、本法が感染性DENV粒子も感度良く検出できる事を見出した。③Cellufineカラム法とSephacrylゲル濾過法の組合せで、効率良い粒子様抗原精製法の確立が示唆された。④種々にデザインしたDENV中和epitope domainを含むprM/E VLP発現ベクターの一過性発現系で、新たに以下の興味深い成績が得られた:①DENV prM-Eの発現・分泌に他のシグナル配列が有効に作用する。②分泌されたDENV抗原ではEとprMが相互作用をしている。③DENV Eの膜貫通domainは他の膜貫通domainと置換可能である。④DENV主要中和domainは他のprM-Eベクター系のバックグラウンド下でも発現可能である。
KHC1216	倉根 一郎 他	細胞培養弱毒生痘そうワクチンの有効性、安全性の評価と生産性向上に関する総合的研究	細胞培養弱毒生痘そうワクチン(LC16m8)は危機管理対策として国家備蓄されている。非特定の国民への緊急及び予防的使用を想定し、臨床疫学研究や各種動物感染モデルを通じて安全性、有効性を検証する。また、同ワクチンの特性を解析する。さらに品質試験方法の精度向上、製造施設の稼働効率の向上を通じた安定生産体制の維持・向上に関する調査研究を実施する。 ①霊長類を含む動物モデルを用いた細胞培養弱毒生痘そうワクチンLC16m8の有効性と安全性に関する研究、②同ワクチンがヒトに使用された場合の有効性と安全性に関する研究、③同ワクチン製剤の生産性の向上に関する研究、④安全性評価や生産性向上の観点から、ワクチン株を効率よく増殖させるための孵化鶏卵中の初代培養細胞系の構築、の研究を実施した。特に本ワクチンが製造されてからの保管の期間とワクチン力価、含湿度試験等の成績を最大10年にわたり継続して実施し、品質に著明な変化がないことを確認した。これらの研究成果は、我が国におけるバイオテロリズム対策に科学的基盤を提供するとともに、痘そうワクチンの安定的生産体制の維持と生産性向上を達成することに貢献する。
KHC1217	保富 康宏 他	遺伝子組換えBCGを用いた新規結核ワクチンの開発	世界三大感染症の一つである結核は、我が国でも毎年2万人以上の患者が発生しており、健康医療分野の重要課題である。唯一のワクチンであるBCGは、小児結核には効果があるが成人の肺結核に対する明らかな予防効果は認められないことから、新規ワクチン開発が急務である。本研究では、このBCGにサイトカイン産生を負に制御しているSOCS蛋白質のアンタゴニストを発現させ、免疫原性を増強することにより、成人にも有効な新規結核ワクチンの開発を目指す。 本研究では、BCGなど抗酸菌の宿主免疫反応を負に調節するサイトカイン抑制分子(SOCS)のアンタゴニストとして働くSOCS1変異体(1アミノ酸置換)(SOCS1dn)を組み込んだBCG(rBCG-SOCS1DN)を用いた新たな結核ワクチンの開発研究を行った。rBCG-SOCS1DNは既存のBCG以上に抗結核免疫の誘導が行われ安全性も高く、現在開発中の種々の組み換えBCG以上の効果が期待される。

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHC1218	横田 恭子 他	血球凝集素抗原 (HA) の立体構造予測に基づく型特異的および型共通抗インフルエンザウイルス抗体の作成と迅速診断法の確立	東洋紡の多孔性フィルター固相法と化学発光法による高感度検出系に抗H5HA抗体を応用したH5/AB検出キットを感染者検体で評価した結果、AB型診断は既存品より優れていたもののH5HA検出に関しては感度が不十分であった。本研究では、HA立体構造予測に基づいてインフルエンザウイルスを検出する型特異的・型共通抗体を作製し、より感度と特異性の高い検出キットを開発して臨床現場で実用性の高いインフルエンザ簡易迅速診断法確立を目指す。 H5型インフルエンザウイルスのHA2領域に立体構造保持ペプチドを付与したP8A-K38ペプチドは、HAとの反応性が增強した。コンピュータ予測した型共通ペプチドに対するモノクロー抗体のスクリーニングのため、ウイルス抗原を適度に変性させる界面活性剤濃度を決定した。細胞にHAを発現させる系の確立は、これら新規抗体の立体構造認識確認に役立つ。また、感度が向上した改良型H5検出キットは、ベトナムの臨床検体のH5HAを90割程度検出した。
KHC1219	浅原 弘嗣 他	miRNAを標的とした関節炎治療の開発	慢性関節リウマチ (RA) や変節性関節症 (OA) 等、関節炎の病態に関与すると考えられるmiRNAについて詳細な機能解析を行い、miRNAを中心とした関節炎の病態に関わる分子ネットワークを解明する。これらの解析を製薬会社、大学機関の協力のもと官民共同研究で行うことにより、miRNAを標的とする関節炎の治療法及び新たな診断法の開発を目指す。 RAの発症に関わるmiRNAは、これまでほとんど明らかにされていない。そこで、in vitroでのTh17細胞分化系を用いて網羅的に発現が変動するmiRNAとmRNAを探索し、PI3K-Akt経路の抑制因子であるPTENがmiR-XXの標的として重要であることが示された。OAの発症における新たな因子として、軟骨細胞に高発現するmiRNAとしてmiR-455を同定した。このmiRNAが正常軟骨分化のマーカーとなり、軟骨分化に重要な機能を有する可能性が示された。また、miR-455-5p、-3pそれぞれの過剰発現により、HIF2 $\alpha$ 、IL-6、PTGS2の発現低下が見られた。これらは炎症に関わる遺伝子であり、miR-455は抗炎症作用を持ち、軟骨細胞の保護に関与する可能性が考えられ
SHC4401	井上 直樹 他	感染動物モデル及び胎盤組織培養系を用いた先天性サイトメガロウイルス感染機構の解析と中和抗体及びワクチンの開発	我々は、先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染が新生児300人に1人の割合で起こり、その2割以上に難聴・精神発達障害等の後遺症が生じることを明らかにしてきた。ワクチンは未開発であり、抗ウイルス薬も毒性が強く妊婦に使用できない。そこで、モルモット及びSCID-huマウス感染動物モデルと胎盤組織培養系を用いて、経胎盤感染機構を明らかにするとともに、CMVに対するワクチンやヒト型モノクローナル抗体等の開発を行う。 ①胎内発達遅滞症例において、CMV感染の頻度が高いことから、CMVに対する血清学検査を確実に実施する必要性がある。②感染により、胎盤の合体栄養膜細胞の輸送機能の障害やDesmin蛋白の異常発現などによる血管形成の変質が起こる。③胎盤で増殖したウイルスは血液髄液閉門及び血液脳閉門を介して脳内に侵入し、特に前者を介して脳室壁神経前駆細胞への感染が成立する。また、CMV感染により胎生期脳ミクログリアが異常活性化する。④胎盤では、cell-to-cell様式でウイルスは広がることから、gワクチンにより胎盤への感染を一定程度減少させても、胎盤内でのウイルス増殖を阻害できないという限界がある。⑤上皮・内皮細胞へのCMV感染防御に重要なUL128及びUL131A蛋白に対する抗体遺伝子クローンをいくつか同定し、ヒト型モノクローナル抗体の開発を可能にした。
KHD1023	絵野沢 伸 他	創薬研究における人由来初代細胞および幹細胞の利用円滑化に向けた研究	創薬研究に必須である人由来初代細胞について、特に必要性が高い人肝実質細胞を中心に、現場で利用できるレベルの保存・培養法を、工学技術との連携をもって開発・改良する。同時に、創薬研究において、初代細胞に代わっての活用が期待されるわが国発のバイオ技術、iPS細胞について、肝細胞様分化の誘導方法を確立し、企業における創薬研究の要件を満たす水準の分化細胞を創出し実用化を目指す。 ヒト初代肝細胞では、クエン酸加ユーロコリンズ液による初期灌流が分離生肝細胞数を増加させることを見出した。ブタ肝組織を用いた凍結組織から肝細胞を分離する技術を、ヒト肝組織に応用し、薬物代謝活性を有する生肝細胞の分離に成功した。官民共同のコア研究である細胞アレイ (Cell-able) 培養は、平面培養よりも初期遺伝子発現を維持できることがわかった。また手術摘出肝組織のマクロからミクロまでの連続的な観察が可能となる全肝thin slice法により臨床検体の分析を行い、化学療法後の手術標本では微小転移内に生きたがん細胞はほとんどないことがわかった。ヒトiPS細胞の肝細胞様細胞への分化誘導研究では、肝細胞分化培養時における継代と凍結保存条件の最適化と、分化誘導を規定する可能性のある肝臓発生初期過程のnon-coding RNA候補について検討を行なった。
KHD1220	阿久津 英憲 他	多能性幹細胞を医薬応用へ活かす生体親和性次世代スケーラブル培養システムの確立	本研究は、次世代医療や医薬開発研究を担うヒトiPS細胞等の多能性幹細胞の細胞性質劣化を阻止したまま大量培養可能な次世代スケーラビリティの構築を、生体親和性・マイクロフィブリケーション技術を取り入れ統合的に行う。多能性幹細胞を生かす研究を展開し科学的エビデンスを構築することで、現法の体外培養系が付随する問題点を改善し、新規的多能性幹細胞を指針に組入れ運用を評価するための重要な知見を提供する。 マイクロファブリケーション技術により細胞の足場を造形でき、細胞外マトリックスを選択することで異成分を使用しない培地でも幹細胞の未分化性が維持できることを示した。安定したscaffoldsは多能性幹細胞研究を行う上で必要不可欠であり、未分化維持が安定的に行える技術が整備できた。パターンニングがあらゆる形状が可能であり、足場を制御することで空間への増殖性も間接的に制御できることが示唆され、今後分化誘導を行う上で有効な成果である。また、ヒトES細胞とiPS細胞の網羅的遺伝子発現解析による比較検討から、細胞性質を裏付ける分子メカニズムの解析の基盤となる重要なデータを得ることができた。

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHD1221	藤原 成悦 他	臍帯血移植後のドナーリンパ球輸注を可能とするための基盤整備と第I相臨床試験	急速に普及しつつある臍帯血移植を安全かつ有効に行うための基盤整備は、厚生労働行政の重要課題である。本研究では、臍帯血移植後の生着不全、再発、感染症に対し、従来は不可能であったドナーリンパ球輸注(DLI)を可能とするために、臍帯血由来活性化T細胞を用いるDLIの臨床第I相試験を行うとともに、関連企業と共同して安全管理法の確立など基盤整備を行う。また、臍帯血由来制御性T細胞によるGVHD治療の基礎研究を行う。 臍帯血活性化DLIの第I相臨床試験の実施に向けて、基盤的研究を実施した。①マウスモデルを用いた前臨床研究では、DLIが生存期間延長効果を示すことを明らかにした。②治療に用いる活性化T細胞の調製に適した無血清培養液を選定した。③GMP基準に則った培養プロトコールを作成した。④誘導制御性T細胞調製法の改良を実施した。⑤フローサイトメトリーを応用して、少量の末梢血からリンパ球の迅速解析法を確立した。また、臍帯血からiTreg細胞を効率よく調整する方法を開発した。
KHD1222	石田 誠一 他	創薬支援に有用なヒト肝in vitro/in silico代謝・輸送予測モデルの提案と薬物動態評価における実証	レギュラトリーサイエンスを担う国立衛研が、ヒト肝in vitro/in silico代謝・輸送予測モデルの提案と薬物動態評価の実証を目的とし、世界をリードする大学研究者と創薬に携わる企業と連携し、評価法の標準化、実用化を視野に研究を推進する。創薬で希求されるヒト肝臓の輸送・代謝・毒性を予測できるin vitro実験法が確立される。創薬プロセス短縮による製薬産業の競争力向上や国民の健康維持に役立つ等社会的貢献も大きい。 医薬品開発において必須な新規医薬品候補化合物の薬物動態学的な特徴を創薬の早い段階から捉えるために、ヒトCYP分子種による代謝プロファイルやヒトCYP分子種に対する阻害プロファイルのin silico予測法と薬物トランスポーターの相互作用の予測法の開発・整備を行った。薬物間相互作用のin vivo臨床データを解析することにより(Top-downアプローチ)、in vitroからヒトの予測(Bottom-upアプローチ)の精度を高める必要性が示唆されており、それを支援するためのマイクロプロセスによる三次元培養と肝非実質細胞との共培養の検討を行った。本研究班の成果の一部は日本薬学会第133年会にて成果発表シンポジウムとして報告された。
KHD1223	野村 大成 他	腫瘍等ヒト疾患組織の長期継代維持・保存・データベース化による医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築	Super-SCID (severe combined immunodeficient) マウスを用い、ヒト腫瘍等疾患組織および正常組織の長期継代維持と保存を各組織、腫瘍および病理分類型で行い、創薬、化粧品分野の企業および大学研究者等の参画によりニーズに合致した有効性、安全性評価のための総括的ヒト組織維持システムを官民共同で世界に先駆けて構築することにより、国民の保健・医療・福祉の向上に役立てる。 腫瘍等ヒト疾患組織の長期継代維持・保存・データベース化による医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築を行う基盤として、ヒト臨床がん組織等移植に最適のSCIDマウスの作成と利用、これまで不可能だったヒト前立腺がん、GISTの使用も可能にした。泌尿生殖器腫瘍28症例の他、82症例の移植を新たに行った。また、61症例のヒトがん組織が継代維持、再生可能な形で凍結保存でき、当初の予定を超える成果を得た。臨床腫瘍組織、疾患組織移植マウスは、創薬研究に有効であることが示された。また、有効なヒト臓器・組織保存、ヒト皮膚老化防止研究の基礎も構築できた。
KHD1224	梅澤 明弘 他	心不全に対する再生医療と人工心臓による統合治療戦略	先天性心疾患を有する患児の予後は向上したが、術後および合併症による心不全に対する治療法の少なさは著しく、その治療法の開発には薬剤・人工臓器とともに再生医療を集学的に投入することが必要である。本研究では、特に胎盤(胚外中胚葉)及び骨髄に由来するCD29 <sup>high</sup> CD34 <sup>low</sup> c-kit <sup>+</sup> CD140a <sup>+</sup> 細胞に着目し細胞生物学的観点から基盤研究を推進することにより科学的な礎を築き、厚生労働省「ヒト幹細胞等を用いる臨床研究に関する指針」に基づくモデルを提示する。 ①CD29 <sup>high</sup> CD34 <sup>low</sup> c-kit <sup>+</sup> CD140a <sup>+</sup> 細胞のバリデーション:間葉系細胞を効率的に心筋細胞に分化させる因子を網羅的に分析し、複数精製した。骨髄間葉系細胞の遺伝子解析により、心筋細胞に分化しやすい細胞を選択する方法を確立した。②血清中のPDGFによって生じるMAPK/p16ink4aを介した細胞周期ブレーキングシステムの解明とその対策について検討した。③心筋梗塞モデルでの急性期、慢性期での骨髄細胞移植の効果、免疫不全マウスに骨髄細胞を移植し、造腫瘍性、生体内動態を評価した。④心筋再生医療に用いうる世界トップレベルの製造管理・品質管理・衛生管理に合致したSOPを構築した。
KHD1225	佐伯 久美子 他	再生医療技術を駆使した、生活習慣病(虚血性疾患、肥満、糖尿病、高脂血症)の新規病態モデルの開発と創薬研究	本研究は各種のヒト細胞を用いて、厚生労働行政上重要な生活習慣病(肥満・糖尿病・高脂血症・動脈狭窄症)の新規疾患モデルを開発するとともに、生理活性物質の単離、化合物ライブラリーのスクリーニング、モノクローナル抗体作製の技術を駆使して創薬研究を展開する。材料として申請者の独自の技術に基づくヒトES/iPS細胞由来分化細胞を用いることに特長があり、従来の研究の壁を乗り越えた新しい創薬研究が推進される。 世界で初めて、ヒトES/iPS細胞から褐色脂肪細胞を分化誘導する手法を開発した。褐色脂肪細胞分化誘導系は、無フィーダー無血清で、分化誘導の効率も高く(90%以上)、安定に大量培養を行うことも可能であった。この細胞は、筋肉に近い発生過程から得られる古典的で正統派の褐色脂肪細胞で、脂質代謝、糖代謝に対する強力な改善能を有し、その分子機構の一部も解明された。さらに、褐色脂肪細胞特異的細胞表面マーカーの探索も開始された。一方、様々のヒト血管内皮細胞の平滑筋細胞の増殖に対する効果を接触培養と非接触培養の系により検討し、ヒト初代培養血管内皮細胞、ヒトES細胞由来血管内皮細胞、ヒトiPS細胞由来血管内皮細胞、など、血管内皮細胞の種類によって異なる特徴を明らかにした。

課題番号	研究者名	研究課題名	研究概要
			研究成果
KHD1226	東 範行 他	小児の網脈絡膜の微細構造の把握に関する研究	<p>小児失明・重篤な視覚障害の原因の過半数は眼底疾患で、多数の種類があるにもかかわらず、大部分の原因や病態が明らかでない。近年、画像技術の発達によって、無侵襲な生体観察法が開発された。本研究では、この分野で最新鋭技術をもつ企業と共同で、眼底疾患の構造を詳細に把握し、原因や病態の解明、進行防止、治療開発に資する知見を得ることを目的とする。これによって、小児の重症視覚障害で、視力向上と社会参加を可能とし、少子時代の医療・福祉に大きく寄与することができるので、厚生労働行政に大きく貢献する。</p> <p>広画角眼底カメラと長波長光干渉断層計を用いて、小児の眼底疾患の微細構造を検討した。全身麻酔下で最高度の画像を取得することができ、硝子体、網膜、脈絡膜、視神経の観察のための条件を設定した。200例を超える疾患の検査を行い、未熟児網膜症や先天異常を含むほぼ全ての眼底疾患を観察し、その病態を明らかにする方法が整った。</p>
財団分担	井口 富夫	創薬技術・戦略に関する調査研究	<p>本年度の創薬技術・戦略に関する調査研究は、「創薬基盤強化の新機軸を探る－オープン・イノベーション、バイオマーカーを中心に－」をテーマに、欧米各国を訪問し製薬企業、研究・医療機関及び関連行政機関より最新の情報を入手・分析するものである。その具体的内容は、①大手・中堅製薬企業の研究開発戦略、②オミックス研究、その基盤技術の動向と個別化医療への影響、③創薬オープン・イノベーションの現状と課題、④バイオマーカーの活用状況、に関する情報収集である。</p> <p>「創薬基盤強化の新機軸を探る－オープン・イノベーション、バイオマーカーを中心に－」をテーマに、欧米各国の製薬企業、研究機関、及びライフサイエンス関連行政機関等を訪問し、欧米各国における最新の医薬品産業の動向を把握するとともに、創薬に関連する科学・技術の進展と先端的医療技術開発の現状等を調査・分析した。また、この調査・分析を基に、製薬業界、アカデミア、政府、産官学の研究者に提言を行った。</p>
財団分担	山下 剛一	政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究	<p>本年度の政策的に創薬に取り組むべき疾患等の調査研究では、「医療ニーズ」と「将来動向」の調査、および「セミナー」での情報提供を通じてアンメットメディカルニーズの高い疾患の創薬等の必要性と可能性の情報を入手・分析・提供する。具体的には、①「気分障害」に関する医療ニーズ調査、②「慢性腎臓病」の将来動向調査、③「慢性腎臓病(CKD)」・「糖尿病」の創薬に焦点を絞ったセミナー等での情報提供、を実施する。</p> <p>政策的に創薬に取り組むべき疾患等に関して、うつ病を含む気分障害について医療ニーズ調査を行って、医療ニーズを考察した。また、アンメットメディカルニーズの高い慢性腎臓病について、将来動向調査を行って将来動向を推察した。さらに慢性腎臓病、糖尿病について、創薬の現状、課題等についてセミナーを開催し、情報提供した。</p>

# 効果的な酵素補充療法を可能にするライソゾーム病の 新たな診療体制の確立

国立成育医療研究センター 臨床検査部  
奥山 虎之  
平成 22 年 4 月～平成 25 年 3 月

研究要旨：ムコ多糖症Ⅱ型に対するケミカルシャペロン療法に有用な医薬品の選別と無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の開発において成果が得られた。またポンペ病の乾燥ろ紙血等を用いた迅速かつ簡便なスクリーニング法の確立した。

## 研究分担者

- (1) 鳥取大学生命機能研究支援センター  
難波栄二  
(2) 日本ケミカルリサーチ株式会社 森本秀人

## A. 研究目的

ライソゾーム病に対する酵素補充療法の臨床経験の蓄積は以下の新たな問題を浮き彫りにしている。

(1) 高分子である酵素製剤は血液脳関門を通過できないため、中枢神経病変に対する効果が期待できない。

(2) ライソゾーム病に対する酵素補充療法は病変が進行する以前から治療を開始しないと効果がない。

(3) 年間数千万円におよぶ高額医療の酵素補充療法の妥当性が問われ始めている。

上記の問題点を克服し、効果的な酵素補充療法を可能にするために以下の研究目的を設定した。

(1) 中枢神経病変に対する治療法の開発：ケミカルシャペロンは、血液脳関門を越えて神経細胞に到達し、変異酵素蛋白を構造的に安定化し、酵素機能を部分的に回復させると考えられている。ライソゾーム病のひとつであるムコ多糖症の中枢神経病変の治療薬としてケミカルシャペロンを開発をする。

(2) 乾燥ろ紙血等を用いた迅速スクリーニング法の確立：早期診断を可能とするために乾燥ろ紙血等を用いたライソゾーム病の迅速かつ簡便なスクリーニングを開発する。

(3) 無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化：無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化を目指す。

## B. 研究方法

(1) 中枢神経病変に対する治療法の開発：ムコ多糖症Ⅱ型の原因酵素のイズロネート-2-サルファテース(IDS)のケミカルシャペロン候補物質を統計的識別モデル(SVM)を用いた結合予測手法によりインシリコで、FDA 認可薬ライブラリーから探索し、スクリーニングを行った。同定された化合物のシャペロン活性は、ムコ多糖症Ⅱ型患者皮膚由来線維芽細胞または変異ヒト IDS cDNA を一過性に発現させた培養 COS 細胞を用いた。IDS 酵素活性測定は 4-MU 人工基質を用いて測定する。

(2) 乾燥ろ紙血等を用いた迅速スクリーニング法の確立：ムコ多糖症Ⅱ型およびポンペ病の病因酵素の活性測定を乾燥ろ紙血からタンデムマス質量分析器もしくは 4-MU 人工基質を用いて測定する系を確立する。さらに地域限定的な新生児マススクリーニングのパイロット研究を開始する。

(3) 無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化：まずヒトイズロネート-2-サルファテース(IDS)高発現 CHO 細胞株を作製する。樹立された細胞株を無血清培地で大量培養し、製造コストの安い酵素製剤を産生する。ムコ多糖症Ⅱ型モデルマウスを用いて、経静脈投与により本酵素製剤の有効性と安全性を尿中及び各臓器中のムコ多糖濃度を定量により評価した。またムコ多糖症Ⅱ型モデルマウスの病態モデルとしての有用性を評価するために、各種臓器の病理組織学的検査並びに骨の形態計測により検証する。治療により病理所見の改善を評価した。

## (倫理面への配慮)

本研究の結果を踏まえてポンペ病の新生児マススクリーニングパイロットスタディを行うにあたり、独立行政法人国立成育医療研究センター倫理委員会で承認を得た。（「ライソゾーム病の新生児スクリーニング検査」、平成 22 年 11



月 30 日、受付番号 443)。動物実験については、「動物の愛護及び管理に関する法律」などを遵守し、倫理観点から適正な実験動物の飼育と動物実験を実施した。また、日本ケミカルリサーチ株式会社が定める動物実験倫理規定に基づき設定された「動物実験倫理委員会」での承認を受け実施した。

### C. 研究結果

(1) 中枢神経病変に対する治療法の開発：FDA 認可薬ライブラリー (640 化合物) から、SVM を用いたインシリコ解析によりヒト IDS 酵素蛋白に結合が予測される化合物を探索した結果、9 個の候補化合物を同定したが、いずれも試験管内では IDS に対する基質競合阻害活性を認めなかった。

また、試験管内競合阻害試験による化合物のスクリーニングにより、FDA 認可薬化合物から 7 個、ICCB (Institute of Chemistry and Cell Biology) 化合物ライブラリーから 14 個の化合物を同定した。これらの化合物はいずれも試験管内で濃度依存的に IDS に対する阻害活性と正常 IDS 酵素に対する安定化活性を示した。FDA 認可薬化合物 7 個のうち 4 個の化合物でムコ多糖症 II 型患者細胞と変異 IDS cDNA 発現細胞に対する有意なシャペロン効果を認めた (図 1)。

(2) 乾燥ろ紙血等を用いた迅速スクリーニング法の確立と新生児スクリーニングへの応用：ムコ多糖症 II 型の早期診断を可能にするため、正常新生児のろ紙血検体中からデルマタン硫酸、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸の 3 種のムコ多糖を抽出し、高速液体クロマトグラフィー/タンデムマス質量分析計を用いて定量を行った。また 4MU 法を用いたポンペ病の原因酵素であるろ紙血検体中の酸性  $\alpha$  グルコシダーゼ活性測定を行った。2011 年 1 月から国立成育医療研究センターで出生した新生児の中を対象としたパイロットスタディを開始し、その後、国立成育医療研究センターで出生した新生児の中で希望者を対象とした有料マススクリーニング事業を開始した。平成 24 年には約 1,200 名の新生児がポンペ病マススクリーニングを受けた (表 1)。

(3) 無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化：ヒト IDS 高発現 CHO 細胞株を作製し、同細胞の無血清培養技術により IDS を作成した。本 IDS を、ムコ多糖症 II 型モデルマウスに反復静脈内投与した結果、尿中及び種々の臓器に蓄積していたムコ多糖の有意な減少が観察された (図 2)。ムコ多糖症 II 型モデルマウスの病理組織学的検査結果では、種々の臓器におけるムコ多糖症の蓄積並びに肝細胞の空胞変性等の異常が認められ、さらに骨形態計測の結果では、骨の肥厚化

による骨梁増加等の骨異常の所見が認められた。さらにムコ多糖症 II 型モデルマウスで認められた病理組織学的異常に対する IDS の薬効の評価を行った。IDS の反復静脈内投与により病理組織学的異常に対し、改善効果が認められた。

### D. 考察

(1) 中枢神経病変に対する治療法の開発：試験管内および培養細胞実験により、シャペロン効果を示す候補化合物を複数同定できた。今後、モデル動物を用いた治療実験を経て、臨床応用につなげる基礎が確立した。

(2) 乾燥ろ紙血等を用いた迅速スクリーニング法の確立と新生児スクリーニングへの応用：ポンペ病の迅速かつ簡便な酵素活性測定が可能となり、新生児マススクリーニングに応用可能となった。今後は、ライゾゾーム病の酵素活性測定法を、高速液体クロマトグラフィー/タンデムマス質量分析あるいは 4MU 法のどちらかで確立し、実用化することが必要である。

(3) 無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化：生成された IDS はモデルマウスでは治療効果が認められた。無血清培地により酵素製剤を作り出すことが可能となり目標は達成した。より高次の目標である臨床研究を行うには安全性や適正な投与量の検討が必要である。

### E. 結論

FDA 認可薬化合物ライブラリーから、変異 IDS の残存酵素活性に対しシャペロン効果を示すシャペロン候補化合物を同定した。

ろ紙血を用いたポンペ病迅速スクリーニング法の確立し、新生児スクリーニングへの応用が可能となった。

無血清培地を用いたヒトイズロネート-2-サルファテースを産生が可能となった。ムコ多糖症 II 型のモデル動物を用いて治療効果を確認した。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Hayashi S, Okuyama T, Ohki H, et al. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 2010 Oct 28.
- 2) Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, et al. Japan Elaprased (R) Treatment (JET) study: Idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II). *Mol Genet Metab.* 2010;99:18-25.

- 3) Furukawa Y, Okuyama T, Iwasa K, et al. Cervical pachymeningeal hypertrophy as the initial and cardinal manifestation of mucopolysaccharidosis type I in monozygotic twins with a novel mutation in the alpha-l-iduronidase gene. *J Neurol Sci.* 2010 Dec 20.
- 4) 奥山虎之: 「ライソゾーム病の診断」特集 わが国のライソゾーム病の病因、病態、診断、治療: 血液フロンティア Vol.20, Vol. 4, 47-50, 2010.
- 5) Li L, Higaki K, Ninomiya H, Luan Z, Iida M, Ogawa S, Suzuki Y, Ohno K, Nanba E. Chemical chaperone therapy: Luciferase assay for screening of b-galactosidase mutations. *Mol Genet Metab.* 101, 354-369, 2010
- 6) Luan Z, Higaki K, Aguilar-Moncayo M, Li L, Ninomiya H, Nanba E, Ohno K, García-Moreno MI, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y, A fluorescent sp2-aminosugar with pharmacological chaperone activity for Gaucher disease: Synthesis and intracellular distribution studies. *ChemBioChem*, 11, 2453-2463, 2010
- 7) Jo H, Yugi K, Ogawa S, Suzuki Y, Sakakibara Y. Molecular basis of chemical chaperone effects of N-octyl-b-valienamine on human b-galactosidase in low/neutral pH conditions. *J Proteomics Bioinform*, 3, 104-112, 2010
- 8) Oda E, Tanaka T, Migita O, Kosuga M, Fukushi M, Okumiya T, Osawa M, Okuyama T. Newborn Screening for Pompe disease in Japan. *Mol Genet Metab.* 104:560-565, 2011.
- 9) Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, Matsuda J, Ogawa S, Iida M, Kubo T, Tabe M, Itoh M, Higaki K, Nanba E, Ohno K: Therapeutic chaperone effect of N-octyl 4-epi-b-valienamine on murine GM1-gangliosidosis. *Mol Genet Metab.* 106:92-98, 2012.
- 10) Aguilar-Moncayo M, Takai T, Higaki K, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Li L, Yu Y, Ninomiya H, García-Moreno I, Ishii S, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: Pharmacological chaperones for Fabry disease and GM1 gangliosidosis, *Chem Commun* 48:6514-6516, 2012.
- 11) Luan Z, Li Linjing, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K: The chaperone activity and toxicity of amroxol on Gaucher cells and normal mice. *Brain Dev*, 35: 317-322, 2012.
- 12) Castilla J, Riquez R, Cruz D, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Diaz Y, Ortiz Mellet C, Carcia Fernandez JM, Castillon S: Conformationally-locked N-glycosides with selective  $\beta$ -glucosidase inhibitory activity: Identification of a new non-aminosugar-type pharmacological chaperone for Gaucher disease. *J Med Chem* 55:6857-6865, 2012.
- 13) Takai T, Higaki K, Aguilar-Moncayo M, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Yu L, Ninomiya H, M. García-Moreno I, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, José M. Fernández G, Suzuki Y: A bicyclic 1-deoxygalactonojirimycin derivative as a novel pharmacological chaperone for GM1-gangliosidosis. *Mol Ther*, 21:526-532, 2013.

## 2. 学会発表

- 1) 難波栄二、檜垣克美: GM1-ガングリオシドーシス脳神経細胞内のユビキチン化蛋白質の蓄積. 第52回 日本小児神経学会総会、福岡、2010. 5
- 2) 難波栄二: ケミカルシャペロン療法. 第52回 日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010. 10
- 3) 高井知子、檜垣克美、李林静、飯田真己、大野耕策、鈴木義之、難波栄二: ベータガラクトシダーゼに対するシャペロン活性測定のための新規細胞系の構築. 第52回 日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010. 10
- 4) 高井知子、檜垣克美、李林静、榊原康文、鈴木義之、難波栄二: ヒト変異b-ガラクトシダーゼに対するシャペロン効果. 第83回 日本生化学会大会、神戸、2010. 12
- 5) 田尾絵里子、徐朱玟、四元淳子、小須賀基通、田中藤樹、大森美香、川目裕、Dong-kyu Jin、奥山虎之. 日韓のムコ多糖症における新生児マス・スクリーニングに関する意識調査. 第37回 日本マス・スクリーニング学会. 横浜、2010. 8. 29
- 6) 中島英規、小須賀基通、巽国子、藤直子、藤本純一郎、奥山虎之. 濾紙血検体を用いたライソゾーム酵素活性測定法の開発. 第37回 日本マス・スクリーニング学会. 横浜、2010. 8. 28.
- 7) Tao-Nishida Eriko, See Joo-Hyun, Sohn Young-Bae, Yotsumoto Junko, Kosuga Motomichi, Tanaka Toju, Omori Mika, Kawame Hiroshi, Jin Dong-Kyu, Okuyama Torayuki. WHAT DO YOU THINK OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY AND NEWBORN SCREENING FOR MUCOPOLYSACCHARIDOSIS? OPINIONS FROM PATIENTS AND FAMILIES OF PATIENTS IN JAPAN AND KOREA. Society for the Study of Inborn

Errors of Metabolism (SSIEM) ANNUAL SYMPOSIUM 2010、イスタンブール、2010、8.

8) ライソゾーム病マス・スクリーニングの試みと遺伝カウンセリング. 田中あけみ、鈴木健、奥山虎之、藤川研人、坂口知子、小田絵里、藤直子、斎藤三佳、澤田智、北川照男. 第55回人類遺伝学会、大宮、2010.10.28.

9) 後藤由紀、柿島裕樹、藤直子、渡辺靖、小関満、松林守、木田和宏、小須賀基通、奥山虎之. ポンペ病の新生児マススクリーニングの運用. 第39回日本マス・スクリーニング学会、東京、2011.8.24.

10) 小須賀基通、木田和宏、藤直子、開山麻美、五十嵐仁美、後藤由紀、柿島裕樹、奥山虎之. 国立成育医療研究センターにおける新生児型ポンペ病マススクリーニングパイロットスタディの結果報告. 第38回日本マス・スクリーニング学会、福井、2011.10.29.

12) M. Kosuga, E Oda, T. Tanaka, K. Kida, T. Okuyama. The feasibility of newborn screening for Pompe Disease in Japanese population. The 7<sup>th</sup> Congress of Asian Society for Pediatric Research/ The Pediatric Academic Societies (PAS) Annual Meeting, Denver, USA. April. 30, 2011.

13) 小須賀基通、木田和宏、藤直子、開山麻美、五十嵐仁美、後藤由紀、柿島裕樹、奥山虎之. 国立成育医療研究センターにおける乳児型ポンペ病新生児マススクリーニング、第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、平成24年11月15日-17日、2012.

14) 小須賀基通、木田和宏、藤直子、開山麻美、五十嵐仁美、後藤由紀、柿島裕樹、奥山虎之. 国立成育医療研究センターにおけるポンペ病ハイリスクスクリーニング、第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、平成24年11月15日-17日.

15) Takai T, Higaki K, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: A novel chaperone compound for G<sub>M1</sub>-gangliosidosis. 第17回日本ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.

16) Yu Y, Higaki K, Takai T, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: pharmacological chaperones for Fabry disease and G<sub>M1</sub>-gangliosidosis. 第17回ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.

17) 難波栄二、檜垣克美、高井知子、Yu Yi、大野耕策、鈴木義之: ファブリー病ならびにGM1-ガングリオシドーシスに対する新しいシャペロン治療薬の開発. 第57回日本人類遺伝学会、東京、2012.10.24-27.

18) 高井知子、檜垣克美, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ヒト I51T 変異・-ガラクトシダーゼに有効な新規ケミカルシャペロン化合物の解析. 第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11.15-17.

7. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む) 特になし。

## 効果的な酵素補充療法を可能にするライソゾーム病の 新たな診療体制の確立

国立成育医療研究センター 臨床検査部

奥山 虎之

研究要旨 ムコ多糖症 II 型に有効なケミカルシャペロンを探索し、2 化合物が候補と同定した。ポンペ病のスクリーニング法を開発し、新生児マス・スクリーニングを開始した。低コストの IDS 酵素製剤の開発し、IDS KO マウスへ投与によりその有効性が確認された。

### 研究分担者

- (1) 鳥取大学生命機能研究支援センター 難波 栄二
- (2) 日本ケミカルリサーチ株式会社 森本秀人

### A. 研究目的

ライソゾーム病に対する酵素補充療法の臨床経験の蓄積は以下の新たな問題を浮き彫りにしている。

(1) 高分子である酵素製剤は血液脳関門を通過できないため、中枢神経病変に対する効果が期待できない。

(2) ライソゾーム病に対する酵素補充療法は病変が進行する以前から治療を開始しないと効果がない。

(3) 年間数千万円におよぶ高額医療の酵素補充療法の妥当性が問われ始めている。

上記の問題点を克服し、効果的な酵素補充療法を可能にするために以下の研究目的を設定した。

(1) 中枢神経病変に対する治療法の開発：ケミカルシャペロンは、血液脳関門を越えて神経細胞に到達し、変異酵素蛋白を構造的に安定化し、酵素機能を部分的に回復させると考えられている。ライソゾーム病のひとつであるムコ多糖症

の中枢神経病変の治療薬としてケミカルシャペロンを開発をする。

(2) 乾燥ろ紙血等を用いた迅速スクリーニング法の確立：早期診断を可能とするために乾燥ろ紙血等を用いたライソゾーム病の迅速かつ簡便なスクリーニングを開発する。

(3) 無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化：無血清培地を用いた製造コストが低く安全性の高い酵素製剤の実用化を目指す。

### B. 研究方法

(1) 中枢神経病変に対する治療法の開発  
試験管内 IDS 酵素安定化試験：ヒト IDS 酵素蛋白と化合物を試験管内で混和後、70 度で 0, 10, 20, 30 分間インキュベート後、96 ウェルプレート内で PSA dye を加え室温 5 分間反応後、蛍光プレートリーダー (Ex 535 nm / Em 615 nm) で蛍光量を測定した。

培養細胞に対するシャペロン効果試験：培養ヒト線維芽細胞に対するシャペロン活性の測定は、MPSII 患者皮膚線維芽細胞 (R110M 変異) 培養液中に各濃度の化合物を添加し 96 時間培養後の細胞抽出液中の IDS 活性測定により行った。また、