

■ **8:30 - 8:50 New Approach with Human Induced Pluripotent Stem Cell Derived Cardiomyocytes**

**Kohei Sawada, PhD**

Global CV Assessment, Eisai Co., Ltd.

■ **8:50 - 9:10 Development of an *in vitro* Cardiac Safety Testing Using Human iPS Cell-derived Mature Cardiomyocytes**

**Yasunari Kanda, PhD**

Division of Pharmacology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

■ **9:10 - 9:30 Differentiation System of Cardiovascular Cells from iPS Cells**

**Jun Yamashita, MD, PhD**

Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University

■ **9:30 - 9:45 BREAK**

**SESSION 3 (9:45 - 11:45)**

**Future Trends of Cardiac Safety Evaluations**  
**- Focusing on ICH Guidelines -**

**Moderators**

**Atsushi Sugiyama, MD, PhD**

Department of Pharmacology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University

**Hiroyuki Fukase, MD, PhD**

CPC Clinical Trial Hospital, Medipolis Medical Research Institute

■ **9:45 - 10:00 Future Perspectives on ICH E14 - No Longer Necessary? -**

**Kaori Shinagawa, MD, PhD**

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

■ **10:00 - 10:15 Future Perspectives on ICH S7B - *in vivo*, *in vitro* and *in silico* -**

**Kentaro Ando, PhD**

Department of Pharmacology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University

■ **10:15 - 10:30 Regulatory Science to Accelerate the Development of Innovative Medical Products**

**Toshinari Mitsuoka**

Department of Food Safety, Pharmaceutical and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare

■ **10:30 - 10:45 Cardiovascular Safety Pharmacology Studies - Japan's Future Directions -**

**Yuko Sekino, PhD**

Division of Pharmacology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

■ **10:45 - 11:00**      **BREAK**

■ **11:00 - 12:00 Summary of Kirishima Meeting and the Next Step**

1) **Clinical Pharmacology Working Group**

**Hiroyuki Fukase, MD, PhD**

CPC Clinical Trial Hospital, Medipolis Medical Research Institute

2) **Computational (*in silico*) Safety Pharmacology Working Group**

**Junko Kurokawa, PhD**

Department of Bio-Informational Pharmacology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University

3) **Stem Cell Safety Pharmacology Working Group**

**Kohei Sawada, PhD**

Global CV Assessment, Eisai Co., Ltd.

■ **12:00 - 13:00**      **LUNCH BREAK**

■ **13:00 - 13:30 Summary of Kirishima Meeting and the Next Step**

4) **Integrated Cardiac Safety Working Group**

**Atsushi Sugiyama, MD, PhD**

Department of Pharmacology, School of Medicine, Faculty of Medicine, Toho University

**CLOSING**

■ **13:30 -**      **Closing Remarks**

**Kaoru Sugi, MD, PhD**

Division of Cardiovascular Medicine, Toho University Ohashi Medical Center

## 公開シンポジウム

平成 25 年度厚生労働科学研究補助金

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 iPS 分化細胞を利用した医薬品のヒト特異的有害反応評価系の開発・標準化」研究班

# 「ヒト iPS 細胞の 創薬プロセスへの応用」

～国際情勢を見据えた新規試験法開発を目指して～

2014年 2月13日(木)

会場 東京大学弥生講堂 一条ホール

主催 国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター 薬理部

協賛 日本安全性薬理研究会  
日本動物実験代替法学会

公開シンポジウム

# ヒトiPS細胞の創薬プロセスへの応用

～国際情勢を見据えた新規試験法開発を目指して～

平成25年度厚生労働科学研究補助金

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iPS分化細胞を利用した医薬品のヒト特異的有害反応評価系の開発・標準化」研究班

## 趣 旨

ヒトiPS細胞から作成される臓器細胞を用いた新規試験法の開発は、医薬品の安全性評価の分野で注目されている。本シンポジウムでは、心臓安全性評価におけるICHガイドラインを取り巻く最新の情報を提供するとともに、神経、肝臓における安全性評価への応用に向けた研究の成果を報告する。

**主 催** 国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター 薬理部

**協 賛** 日本安全性薬理研究会  
日本動物実験代替法学会

**日 時** 2014年2月13日(木)  
開場13:00 開演13:30～17:15

**会 場** 東京大学弥生講堂 一条ホール  
〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1 東京大学農学部内  
<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/yayoi/map.html>

## プログラム

13：30～ 開会の辞  
奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所 副所長）

13：35～ はじめに  
「医薬品のヒト特異的有害反応評価系開発への期待」  
関野 祐子（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

---

### セッション1. 心臓安全性評価にかかわる ICH ガイドラインを取り巻く最新情報

座長：佐藤 薫（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）  
石田 誠一（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

13：45～ 「薬物性催不整脈作用の統合的予測システム」  
杉山 篤（東邦大学 医学部 薬理学）

14：15～ 「ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価法の現状と今後の展望」  
諫田 泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

14：45～ 「医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題」  
古谷 和春（大阪大学 大学院医学系研究科 分子・細胞薬理）

15：15～ 「Clinical Pharmacology in Integrated Cardiac Safety」  
深瀬 広幸（一般財団法人メディポリス医学研究財団 シーピーシー治験病院）

15：45～ 休憩 15分

---

### セッション2. 創薬プロセスにおける分化細胞の応用可能性と課題

座長：諫田 泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

16：00～ 「hiPSC-ニューロンで神経特異的有害反応は予測可能か」  
佐藤 薫（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

16：35～ 「hiPSC-肝細胞とインシリコのデータ融合による安全性予測／  
メカニズム 解析に向けた考察」  
湯田 浩太郎（株式会社 インシリコデータ）  
石田 誠一（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

17：10～ 閉会の辞  
光岡 俊成（厚生労働省 医薬食品局 審査管理課）

## 薬物性催不整脈作用の統合的予測システム

杉山 篤 東邦大学・医学部・薬理学

様々な薬物が、QT 間隔を延長し、torsades de pointes (TdP) といわれる致死性心室不整脈を誘発し得る。これを薬物性 QT 延長症候群という。すなわち QT 間隔の延長作用は致死性不整脈誘発性のバイオマーカーとも言える。しかし、患者における薬物性 QT 延長症候群の発生リスクを、従来の非臨床試験の結果から正確に予測することはきわめて困難であった。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) は、2005 年 5 月、薬物性 QT 延長症候群の発生を回避するためのガイドライン (S7B および E14) をステップ 4 として調印し、非臨床試験・臨床試験の内容・役割を明確に規定した。これらのガイドラインは国内では 2009 年 10 月、厚生労働省医薬食品局からより強制力を有するステップ 5 として通知された。S7B および E14 発効後、TdP 誘発リスクを有する新規化合物数は激減したが、本当は催不整脈作用がないにも関わらず、S7B または E14 ではリスク陽性と判定され開発中止になった薬物が少なからず存在することも明らかになってきた。S7B には記載されていない QT 延長の機序として薬物によるイオンチャネルのトラフィッキング抑制作用が判明する一方で、QT 延長以外の機序を介して発生する不整脈も数多く存在することが明らかとなってきた。例えば、イオンチャネルの阻害や活性化で発生する不整脈 (Brugada 症候群、心房細動、QT 短縮症候群)、2 次的な Ca<sup>2+</sup> overload に起因する心室頻拍 (カテコラミン、ジギタリス、PDE3 阻害薬) および完全房室ブロック (Ca 拮抗薬、S1P 受容体修飾薬) が知られている。これらすべての不整脈の発生リスクを正確に評価するためには新しい予測システムの開発が必要である。すなわち、従来の *in vitro* IKr および *in vivo* QT アッセイに加えて、各イオンチャネルに対する作用の個別評価、iPS 由来心筋細胞を用いた多チャネル同時評価、*in silico* 解析、intensive phase I ECG 評価などを適宜併用した催不整脈性リスクの定量評価の実施が考えられる。シンポジウムでは、現在の科学技術をいかに活用すれば各不整脈の発生リスクを正確に予測できるかに関する最近の理解を紹介する。

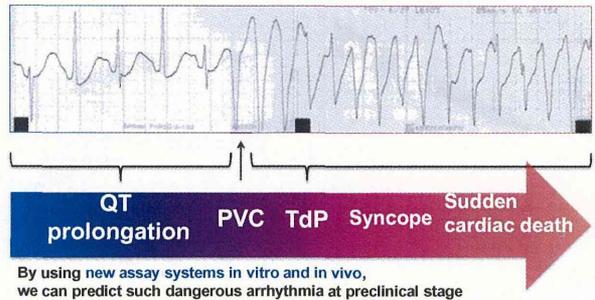
**薬物性催不整脈作用の統合的予測システム**  
 東邦大学・医学部・薬理学 杉山 薫

Presenter has no conflict of interest which should be disclosed in this presentation.

**TdP induced by Anti-depressant SULPIRIDE**

**1<sup>st</sup> clinical case of sulpiride-induced TdP in the world**

Sugiyama et al., J Cardiovasc Pharmacol 2002; 40: 235-245



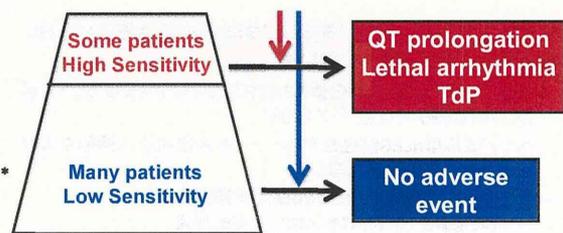
**Torsadogenic propensity Categories in ABPI survey**

1	2	3	4
ajmaline	astemizole	apiridine	amantadine
disopyramide	cisapride	bepiridil	amitriptyline
procainamide	droperidol	chlorpromazine	chloral hydrate
quinidine	grepafloxacin	erythromycin i.v.	chloroquine
almokalant	levomethadyl	flecainide	ciprofloxacin
amiodarone	prenylamine	halofantrine	clarithromycin
azimilide	sertindol	haloperidol	cocaine
clofilium	tertiapine	lidoflazine	desipramine
dofetilide	indinavir	haloperidol	lipoflazine
ibutilide	levamisole	levamisole	levamisole
sematilide	pimozide	doxepin	spiramycin
dl-sotalol	terfenadine	terfenadine	terfenadine
tedisamil	terfenadine	terfenadine	terfenadine
terikalant	terfenadine	terfenadine	terfenadine
			fluoxetine
			zimeldine
			furosemide

**IKr inhibition**  
 Leading to QT prolongation & TdP

- Category 1: Repolarization-prolonging antiarrhythmics
- Category 2: Withdrawn / suspended from market
- Category 3: Measurable incidence of TdP in humans (Ref: Redfern W.S., et al. 2003)
- Category 4: Isolated reports of TdP in humans

**IKr channel blocker**



There are wide variations in the sensitivity toward IKr channel blockers among the patients

Use of assay system that can mimic the pathophysiological condition of patients is essential.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS IN HUMAN MEDICINE

ICH HARMONISED TRIALS GUIDELINE

THE NON-CLINICAL EVALUATION OF THE POTENTIAL FOR DELAYED VENTRICULAR REPOLARISATION (QT INTERVAL PROLONGATION) BY HUMAN PHARMACEUTICALS

S7B

Revised by Annex 10 of the ICH Harmonisation Guideline

19 Mar 2005

by the ICH Steering Committee

**S7B**

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS IN HUMAN MEDICINE

ICH HARMONISED TRIALS GUIDELINE

THE CLINICAL EVALUATION OF QT/QTc INTERVAL PROLONGATION AND PROARRHYTHMIC POTENTIAL FOR NON-ANTIARRHYTHMIC DRUGS

E14

Interim draft for advice on the ICH Steering Committee

10 May 2005

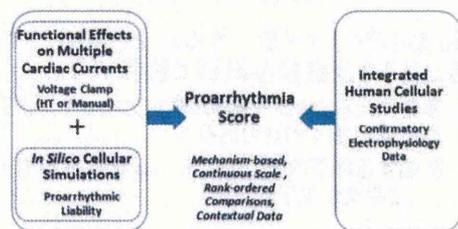
by the ICH Steering Committee

This guideline has been developed by the appropriate ICH Expert Working Group and has been adopted by consensus by the regulatory agencies, in accordance with the ICH Process. All Steps of the Process for this draft is recommended for adoption in the regulatory bodies of the European Union, Japan and USA.

**E14**

**S7B → Comprehensive In Vitro Proarrhythmic Assay**

**Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA)**

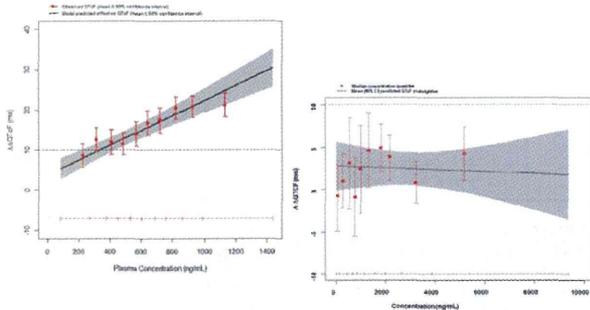


Draft 3 SW only 10-4-13

**Figure 2. Schematic of the Elements of the Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA).** (HT= high throughput; manual= manual patch voltage clamp)

Sager PT, et al., Am Heart J (in press)

## E14 → Exposure Response Analysis



Darpo D, et al., ANEC (in press) 7/20

## 心臓安全性評価に必要な試験

患者における不整脈発生を回避するための

- *In vitro, in vivo, intensive Phase I, in silico* いずれもパーツとして必要

### – 早期探索

- ケースバイケース (試験法、順番)

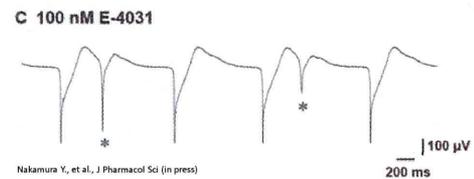
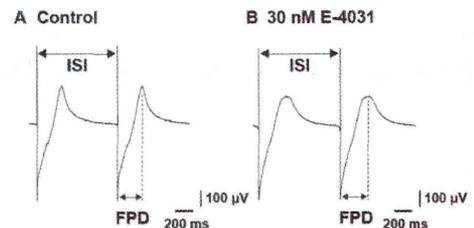
### – 安全性評価

- 選ばれた化合物に関しては必要な試験を実施する
- 各試験の感度と特異度が重要
- 各試験は補完的な情報を有する
- 必要に応じて、付加的な検査法を加えていくのが適当

## なぜintegrated評価が必要か

単一のin vitro評価法で正確に評価できなかった薬物

- テルフェナジン、ベラパミル、ソタロールの3薬剤が例に挙げた。同一濃度において、
  - テルフェナジンの未変化体はhERG 強陽性だがモルモット乳頭筋APD(組織)では検出できない。
  - ベラパミルはhERG陽性だがCa<sup>2+</sup>チャネルを同時に抑制するのでvivoではQTが延長しない。
  - ソタロールにはhERGとin vivo間に乖離がある
    - hERG弱陽性であるが代表的なQT延長薬である
- 統合的な評価法で対応可能である
  - 各イオンチャネルのアッセイ(→in silico解析)、マルチチャネル同時アッセイ(→iPS由来心筋細胞、など)の活用で解決



Nakamura Y, et al., J Pharmacol Sci (in press)

## 反復投与評価の必要性

トラフィックングに関して

- 組織内濃度が一定レベル以上維持されているであろう反復投与試験で評価する
  - 薬物によるイオンチャネルのトラフィックング抑制作用は考慮すべきである
  - 評価する枠組みとしては in vivo 毒性試験の一部として考えたほうが適当

## 薬物性不整脈

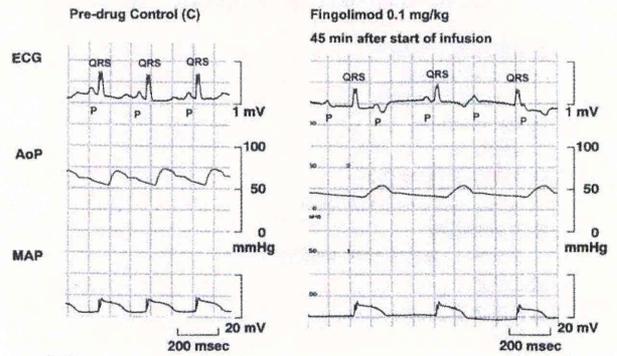
- 問題となる薬物性不整脈の例
  - イオンチャネルの阻害や活性化で発生する不整脈
    - Long QTS: I<sub>Kr</sub>, I<sub>Ks</sub>, I<sub>Ca</sub>
    - Brugada症候群: I<sub>Na</sub>
    - 心房細動: I<sub>KAch</sub>
    - Short QTS: I<sub>Kr</sub>, I<sub>Ks</sub>, I<sub>Ca</sub>
  - 2次的なCa<sup>2+</sup> overload に起因する心室頻拍(VT)
    - イオンチャネルアッセイでは評価できない
    - 組織レベル～in vivoアッセイで検出可能
  - 心停止を起しうる完全房室ブロック(AVB)
    - 事実、完全房室ブロックはフィンゴリモトのヒトでの初回投与時に報告されている。
      - モルモット心で完全房室ブロックを検出可能
- Integrated評価(非臨床/臨床)によりほとんどの不整脈のリスクを検出可能であろう

# Fingolimod-induced AV block in phase III clinical study

reported by Dr. Strnadova, Health Canada  
(3rd DIA Cardiac Safety Workshop in Japan, 2012)

Time	Mobitz 1 <sup>st</sup> & 2 <sup>nd</sup> Degree AV Block			2:1 AV Block			Complete Heart Block		
	1.25 mg (N=366)	0.5 mg (N=356)	Plc (N=353)	1.25 mg (N=366)	0.5 mg (N=356)	Plc (N=353)	1.25 mg (N=366)	0.5 mg (N=356)	Plc (N=353)
Screening	4 (1.1%)	4 (1.1%)	4 (1.1%)	0	0	0	0	0	0
Day 1	24 (6.6%)	12 (3.4%)	7 (2.0%)	12 (3.4%)	6 (1.7%)	0	1 (0.3%)	0	0
Month 3	0	0	4 (1.1%)	0	0	0	0	0	0

## Halothane-Anesthetized Guinea-Pig Model

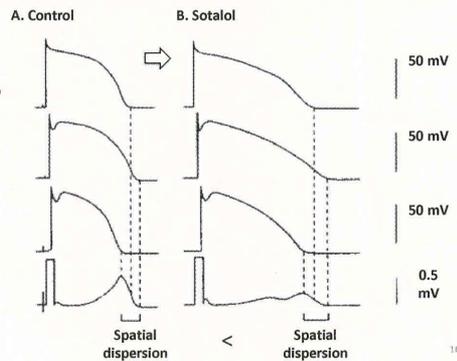


## 心電図(臨床/非臨床)の改良点

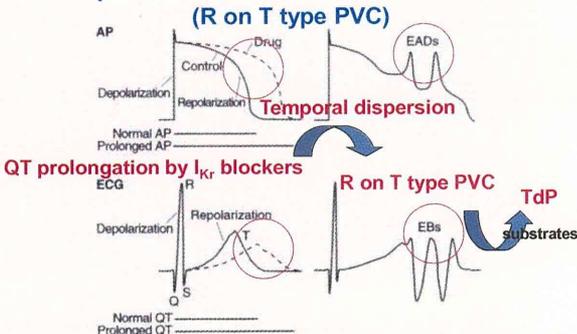
- 心電図試験系の統計学的検出力の確認(臨床/非臨床)
- 個々の心電図の精度改善
  - 心電図の各計測値の精度を明確にする必要がある
    - 心外膜に電極を留置して得られる心電図の利用(非臨床のみ)
    - 心電図の計測誘導数の増加(臨床/非臨床)
      - 例えば、II, V5に加えてaVRの3誘導を比較することで心電図の各指標の解析感度が飛躍的に上がる。
  - 心電図波形の解析(臨床/非臨床)
  - 催不整脈作用の評価(臨床/非臨床)
    - テレメトリー心電図やホルター心電図で1拍ごとのQT間隔のばらつき(STV)を解析

## Spatial dispersion

heterogeneous delay in phase 3 repolarization



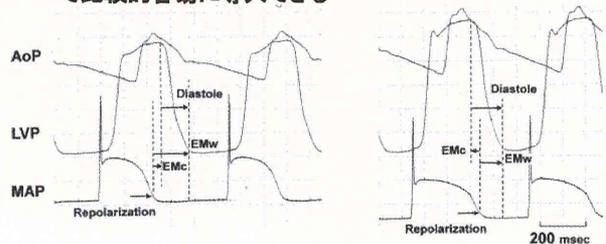
## Causal link between QT prolongation and onset of premature ventricular contractions (R on T type PVC)



QT prolongation by K channel blockers often induces early afterdepolarizations, leading to the onset of R on T type premature ventricular contractions, which triggers TdP in the presence of, proarrhythmic substrates.

## 新しい催不整脈作用の指標

- 心電図と同時に心音図を記録することで electro-mechanical window (EMw) という指標を得られる。
  - EMwは心電図と心音図(II音)を同時測定するだけなので比較的容易に導入できる



## その他の発生しうる心機能毒性

S7Aや一般毒性試験で評価していない項目

- 心筋収縮能／弛緩能
  - ミトコンドリア機能
  - ギャップジャンクション
- バイオマーカー
  - トロポニン
- 分子毒性学的ファクター
  - mRNA, miRNA, epigenetic factor
- 自律神経機能
  - 交感神経／副交感神経による影響
- 凝固機能
- 血管内皮機能
- その他

19