

201432022A

厚生労働科学研究委託費

再生医療実用化研究事業

パーキンソン病治療を可能とするiPS創薬研究

平成26年度 委託業務報告書

業務主任者 高橋 良輔

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の科学研究委託事業による委託業務として、国立大学法人京都大学が実施した平成26年度「パーキンソン病治療を可能とするiPS創薬研究」の成果を取りまとめたものです。

## 目 次

I. 委託業務成果報告(総括)	
パーキンソン病治療を可能とするiPS創薬研究	
高橋 良輔	----- 4
II. 委託業務成果報告(業務項目)	
1. 神経新生促進能を有する新規化合物の開発	----- 6
萩原 正敏、堀 修、細谷 孝充	
2. 癌化抑制能を有する新規化合物の開発	----- 8
萩原 正敏	
3. iPS細胞を用いた薬効薬理試験のための研究体制整備	
高橋 淳	----- 9

厚生労働科学研究委託費  
(再生医療研究事業)  
委託業務成果報告(総括)

パーキンソン病治療を可能とするiPS創薬研究

高橋 良輔 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

パーキンソン病は高齢者に多い難治性神経疾患で、中脳黒質ドパミンニューロンを中心とする多系統の神経系の変性により、進行性の運動障害、精神症状、自律神経症状などを呈する。パーキンソン病の治療として、レボドパ投与などドパミン補充療法などが実施されているが、長期的な改善は難しい状況である。本研究の候補化合物は神経幹細胞に作用し、その分裂・増殖を促す。そこで候補化合物のパーキンソン病に対する薬効を霊長類パーキンソン病モデルやヒトiPS細胞を用いて検討し、パーキンソン病の根治治療が可能な革新的再生治療薬の開発をする。同時に京都大学で見いだされた増殖・分化の制御や癌化阻止能を有する新規化合物群についても再生医療分野での有用性について検討する。本研究で開発する新規化合物により黒質線条体のドパミン産生細胞の再生を促すことができれば、パーキンソン病の根治療法が可能となる。また、iPS細胞の増殖・分化の制御や癌化阻止能を有する化合物を開発できれば、iPS細胞治療の問題点を解決し再生医療の実現を加速できる。

A. 研究目的

パーキンソン病は高齢者に多い難治性神経疾患で、中脳黒質ドパミンニューロンを中心とする多系統の神経系の変性により、進行性の運動障害、精神症状、自律神経症状などを呈する。パーキンソン病の治療として、レボドパ投与などドパミン補充療法などが実施されているが、長期的な改善は難しい状況である。本研究の目的は、京都大学で見出された神経細胞の再生を促進する新規低分子化合物のパーキンソン病に対する薬効を、パーキンソン病動物モデルやヒトiPS細胞を用いて検討し、パーキンソン病の根治治療が可能な革新的再生治療薬を開発することである。また、我々はiPS細胞の増殖・分化の制御や癌化阻止能を有する新規低分子化合物も見出しており、これらの化合物の再生医療分野での有用性についても検討する。

B. 研究方法

【神経新生促進能を有する新規化合物の開発】

マウス神経幹細胞を用い、DNAヌクレオシドチミジンの類縁体プロモデオキシウリジンのゲノムへの取り込みを指標に、神経幹細胞の増殖を促進する新規低分子化合物の探索を行う。取得した候補化合物の薬効を神経幹細胞で確認する。動物での薬効薬理試験を行うため、薬物動態の検討および投与方法の最適化を行う。並行して動物での薬効薬理試験を行うため、候補化合物の大量合成法を確立する。またパーキンソン病モデルマウスで取得化合物の薬効試験を行い、候補化合物の薬理

効果を確認する。

【癌化抑制能を有する新規化合物の開発】

正常細胞および癌細胞における増殖を指標に、増殖制御能・腫瘍化抑制能を有する化合物を探索する。

【iPS細胞を用いた薬効薬理試験のための研究体制整備】

研究過程で得られた候補化合物を評価するため、ヒトiPS細胞由来ドパミン産生細胞分化培養系を確立する。

C. 研究結果

今年度は当初計画されていた通り、取得した神経新生促進作用をもつ新規化合物の動物モデルにおける薬効薬理試験と、その大量合成方法の確立を推進した。さらに細胞増殖および癌化阻止能を指標に新規スルホンアニリド類を含む類縁化合物の探索を進めた。

【神経新生促進能を有する新規化合物の開発】

神経幹細胞の増殖を指標に見いだした神経細胞の新生を促進する新規候補化合物の薬効評価を疾患動物モデルにおいて行った。その結果候補化合物投与群においてドパミン神経細胞の脱落が軽減することが観察され、候補化合物のin vivoにおける薬効を確認することができた。さらに動物個体(齧歯類)における体内動態解析を行い、投薬プロトコルの最適化をはかった結果、候補化合物が経口投与可能であることを見出した。非侵襲的な方法での適用が可能であることは、実用化する上で非常に有用な

点である。さらに次年度からの霊長類での薬効薬理試験のため、新規化合物の大量合成法を検討してきたが、7つの合成ステップに最適化することができた。以上のように、当初の研究計画通りに本研究事業を進捗させている。

#### 【癌化抑制能を有する新規化合物の開発】

iPS細胞の増殖および分化制御を目的に独自ライブラリーより探索を行い、癌化抑制能をもつ新規スルホンアニリド類を取得した。取得した化合物はヒト膵臓腺癌細胞に対しては抗がん作用を示す一方で、マクロファージなどの正常初代培養細胞に対しては増殖を抑制しなかった。以上のことから、癌抑制能をもつ候補化合物の取得に成功し、当初計画を達成することができた。

#### 【iPS細胞を用いた薬効薬理試験のための研究体制整備】

さらに薬効評価のためのiPS細胞の培養系・分化系の構築を行っており、当初事業計画に従って本事業は進捗し計画は達成されている。

#### D. 考察

平成26年度の研究結果を踏まえ、本研究は、「チアゾール系新規化合物」と「スルホンアニリド類化合物」ともに順調に推進している。

#### E. 結論

「チアゾール系新規化合物」と「スルホンアニリド類化合物」ともに順調に推進し、特に候補化合物のin vivoにおける薬効が明らかになった点は特筆すべきであると考えられる。今後は、動物モデルを用いた薬効薬理確認を目指した研究を加速すべきである。難治性疾患に対する治療薬は、社会の強く望むものであり、これら候補化合物についての迅速な研究と臨床展開を進めることには大きな意義があると考えられる。

#### F. 健康管理情報

該当無し

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし

2. 学会発表  
該当なし

#### H. 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

神経新生促進能を有する新規化合物の開発

萩原 正敏 京都大学大学院医学研究科 教授  
堀 修 金沢大学大学院医薬保健研究域医学系 教授  
細谷 孝充 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所 教授

研究要旨

パーキンソン病は高齢者に多い難治性神経疾患で、中脳黒質ドパミンニューロンを中心とする多系統の神経系の変性により、進行性の運動障害、精神症状、自律神経症状などを呈する。パーキンソン病の治療として、レボドパ投与などドパミン補充療法などが実施されているが、長期的な改善は難しい状況である。本研究の候補化合物は神経幹細胞に作用し、その分裂・増殖を促す。そこで候補化合物のパーキンソン病に対する薬効を霊長類パーキンソン病モデルやヒト iPS 細胞を用いて検討し、パーキンソン病の根治治療が可能な革新的再生治療薬の開発をする。本研究で開発する新規化合物により黒質線条体のドパミン産生細胞の再生を促すことができれば、パーキンソン病の根治療法が可能となる。

A. 研究目的

本研究の目的は京都大学で見出された神経細胞の新生を促進する新規化合物のパーキンソン病に対する薬効を、霊長類パーキンソン病モデルやヒト iPS 細胞を用いて検討することである。また、細胞の増殖分化制御、癌化抑制能をもつ新規化合物の有効性を iPS 細胞の増殖・分化誘導などの品質管理において検討する。

B. 研究方法

マウス神経幹細胞を用い、DNA ヌクレオシドチミジンの類縁体プロモデオキシウリジンのゲノムへの取り込みを指標に、神経幹細胞の増殖を促進する新規低分子化合物の探索を行う。取得した候補化合物の薬効を神経幹細胞で確認する。動物での薬効薬理試験を行うため、薬物動態の検討および投与方法の最適化を行う。並行して動物での薬効薬理試験を行うため、候補化合物の大量合成法を確立する。またパーキンソン病モデルマウスで取得化合物の薬効試験を行い、候補化合物の薬理効果を確認する。

C. 研究結果

神経幹細胞の増殖を指標に見いだした神経細胞の新生を促進する新規候補化合物の薬効評価を疾患動物モデルにおいて行った。その結果候補化合物投与群においてドパミン神経細胞の脱落が軽減することが観察され、候補化合物のin vivoにおける薬効を確

認することができた。さらに動物個体(齧歯類)における体内動態解析を行い、投薬プロトコルの最適化をはかった結果、候補化合物が経口投与可能であることを見出した。非侵襲的な方法での適用が可能であることは、実用化する上で非常に有用な点である。さらに次年度からの霊長類での薬効薬理試験のため、新規化合物の大量合成法を検討してきたが、7つの合成ステップに最適化することができた。以上のように、当初の研究計画通りに本研究事業を進捗させている。

D. 考察

平成26年度の研究結果を踏まえ、本研究は順調に推進している。

E. 結論

京都大学で見出された「新規チアゾール系化合物」の開発は順調に推進し、特に候補化合物のin vivoにおける薬効が明らかになった点は特筆すべきであると考えられる。今後は、動物モデルを用いた薬効薬理確認を目指した研究を加速すべきである。難治性疾患に対する治療薬は、社会の強く望むものであり、これら候補化合物についての迅速な研究と臨床展開を進めることには大きな意義があると考えられる。

F. 健康管理情報  
該当無し

G. 研究発表  
1. 論文発表  
該当なし

2. 学会発表  
該当なし

H. 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

厚生労働科学研究委託費  
(再生医療研究事業)  
委託業務成果報告(業務項目)

癌化抑制能を有する新規化合物の開発

萩原 正敏 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

パーキンソン病は高齢者に多い難治性神経疾患で、中脳黒質ドパミンニューロンを中心とする多系統の神経系の変性により、進行性の運動障害、精神症状、自律神経症状などを呈する。パーキンソン病の治療として、レボドパ投与などドパミン補充療法などが実施されているが、長期的な改善は難しい状況である。近年 iPS 細胞移植による治療に大きな期待がよせられるが、分化誘導したドパミン産生細胞の品質管理・移植後の奇形腫抑制など多くの克服すべき課題がある。本研究では京都大学で取得された新規化合物の再生医療への適用をはかるため、より高効率な iPS 細胞移植を可能とする新規化合物の開発をすすめる。

A. 研究目的

本研究の目的は iPS 細胞の増殖・分化制御や移植後定植率の向上および癌化阻止能を有する新規化合物を取得し、再生医療に資する化合物を開発することである。細胞の増殖分化制御および癌化阻止能を有する新規化合物の取得をはかり、取得に成功した新規スルホンアニリド類の薬効評価を iPS 細胞を含む正常細胞および癌細胞で実施し、その作用機序解析を行う。また標的特定を進め、再生医療への応用を目指す。

B. 研究方法

細胞の増殖または分化制御を指標に独自ライブラリーより癌化抑制能または増殖・分化制御能を有する候補化合物を取得する。得られた候補化合物を用いて、初代培養などの正常細胞および癌細胞において薬効評価を行う。

C. 研究結果

iPS細胞の増殖および分化制御を目的に独自ライブラリーよりスクリーニングを行い、癌化抑制能をもつ新規スルホンアニリド類および増殖促進能を有するインダゾール系化合物を取得した。取得したスルホンアニリド類化合物はヒト膵臓腺癌細胞に対しては抗がん作用を示す一方で、マクロファージなどの正常初代培養細胞に対しては増殖を抑制しないことを確認した。

D. 考察

平成26年度の研究結果を踏まえ、本研究は順調に推進している。

E. 結論

京都大学で見出された「新規スルホンアニリド類化合物」の開発は順調に推進し、特に候補化合物を取得し、薬効評価を正常細胞および癌細胞において確認できたことは大きな前進である。今後は標的特定をすすめ、その作用機序解析を行う。難治性疾患に対する iPS 細胞移植療法は、社会の強く望むものであり、これら候補化合物についての迅速な研究と臨床展開を進めることには大きな意義があると考えられる。

F. 健康管理情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 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

iPS細胞を用いた薬効薬理試験のための研究体制整備

高橋 淳 京都大学 iPS細胞研究所 教授

研究要旨

パーキンソン病は高齢者に多い難治性神経疾患で、中脳黒質ドパミンニューロンを中心とする多系統の神経系の変性により、進行性の運動障害、精神症状、自律神経症状などを呈する。パーキンソン病の治療として、レボドパ投与などドパミン補充療法などが実施されているが、長期的な改善は難しい状況である。近年 iPS 細胞移植による治療に大きな期待がよせられるが、分化誘導したドパミン産生細胞の品質管理・移植後の奇形腫抑制など多くの克服すべき課題がある。本研究では京都大学で取得された新規化合物の再生医療への適用をはかるため、より高効率な iPS 細胞移植を可能とする新規化合物の開発をすすめる。

A. 研究目的

本研究は、iPS細胞の増殖・分化制御や移植後生着率の向上および癌化阻止能を有する新規化合物の評価系を構築することを目的とする。ヒト iPS 細胞からの神経細胞分化誘導系において効率の向上、品質の維持を可能とする実験系の最適化を進める。

B. 研究方法

ヒト iPS 細胞の分化誘導系において、細胞増殖、分化を制御する TGF- $\beta$ シグナル経路や増殖因子等を調節することで、より分化効率が向上する培養系の検討を行う。またより安全な分化神経細胞を取得するため、細胞表面分化マーカーによるドパミン神経前駆細胞分取の検討を行う。

C. 研究結果

iPS細胞の神経細胞分化条件を検討した結果、BDNF等の増殖因子の添加およびTGF- $\beta$ シグナル・Activinシグナル経路の阻害によりドパミン神経分化効率が向上することを見出した。さらにFloor plateマーカーであるCORIN発現を指標に細胞を分取することで、ドパミン神経前駆細胞を高効率で取得することが可能となった。以上のことから、iPS細胞から効率よく神経分化誘導を行う培養系を最適化し、化合物の評価系を確立した。

D. 考察

候補化合物の評価に向けて、本研究は順調に推進している。

E. 結論

難治性疾患に対する iPS 細胞移植療法は、社会の強く望むものであり、これら候補化合物についての迅速な研究と臨床展開を進めることには大きな意義があると考えられる。

F. 健康管理情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

高橋 淳

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 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

3. その他

