

創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
中間評価報告書

研究開発課題名	革新的医薬品等開発のための次世代安全性評価法の開発・標準化と基盤データ取得
代表機関名	国立医薬品食品衛生研究所
研究開発代表者名	斎藤 嘉朗
全研究開発期間	2017年5月1日から2022年3月31日（予定）

1. 研究開発成果

臨床試験段階での副作用による開発中止回避等、今後の革新的医薬品等の開発効率化に必要な、非臨床試験段階における次世代安全性評価法3種の開発・標準化と基盤データ取得を行っている。

- 1) マイクロサンプリングに関する生体試料中薬物濃度分析（バイオアナリシス）手法
- 2) 次世代分子標的薬の安全性確保のための、核酸医薬品及び次世代低分子薬に関するオフターゲット作用評価法
- 3) 胆汁排泄機構を備えた *in vitro* 肝障害評価系の構築と予測評価系

1) マイクロサンプリングに関する生体試料中薬物濃度分析（バイオアナリシス）手法の標準化
マイクロサンプリング基盤技術に関しては、マイクロサンプリング手法の毒性影響評価、薬物動態パラメータの採血部位影響評価、新規採血用デバイス2種の評価を行った。核酸医薬品に関しては、アンチセンス医薬品を対象に、質量分析計(高分解能型及び四重極型)を用いた標準的測定法を構築し、多施設バリデーションを実施している。また、siRNA 医薬品についても概ね分析条件を構築した。高分子薬（抗体医薬品）に関しては、マウス血清中の評価に用いる抗体の定常領域のペプチド、及びヒト血清中の評価に用いる抗体の CDR 領域のペプチドを、それぞれサロゲートとした LC/MS を用いる測定法を構築し、多施設バリデーションを行って標準的な方法として確立した。バイオマーカーに関しては、2種のバイオマーカー候補分子に関して標準的測定法を構築し、多施設バリデーションを実施している。また、ヒトの指先採血と上腕静脈採血で、一部の限られた分子を除き、概ね差異がないことを明らかにした。

2) 次世代分子標的薬の安全性確保のための、オフターゲット作用評価法の開発と標準化

2-1) 核酸医薬品： アンチセンス医薬品に関し、従来の試験法では評価できない「オフターゲット効果に起因する肝毒性」、「オリゴ核酸の物理化学的性質に起因する自然免疫活性化」について新規評価法を開発している。肝毒性については、ヒト肝キメラマウスを用いた評価系を確立し、ヒト肝細胞に由来する毒性を特異的に検出する ELISA 法の最適条件を決定し、陽性コントロールを同定した。自然免疫活性化については、「TLR9 を介さない自然免疫活性化経路（TLR9 非依存経路）」について *in vitro* 評価法の構築を行い、評価系で用いるヒト細胞種および活性化の指標となるサイトカインを同定した。

2-2) 次世代低分子薬: 蛋白質分解薬及びキナーゼ阻害薬のオフターゲット作用の網羅的評価法を開発するために、種々の特異性や親和性を有する化合物の合成を行った。合成した蛋白質分解薬によるオフターゲット効果を LC/MS/MS による網羅的な定量プロテオーム解析により調べたところ、ヒト-動物 (マウス) 細胞間でほとんど相関しない結果が得られ、当該医薬品における非臨床安全性試験 (動物試験) では種差が問題となる可能性が示唆された。現在、ヒトにおける生殖毒性やがん原性の有無を評価できる試験系への応用と標準化を検討している。

3) 胆汁排泄機構を備えた *in vitro* 肝障害評価系の構築と予測評価系の標準化: ヒト肝キメラマウス由来細胞では、PXB 細胞についてはサンドウィッチ培養することで、過去に凍結ヒト肝細胞でデータが取得されている 7 薬物のうち Cyclosporine A を含む 4 薬物で、凍結ヒト肝細胞と同程度の毒性が検出できた。また、Hu-Liver cell については長期培養により毛細胆管が形成されることが示された。HepG2-NIAS 細胞では、毛細胆管様構造を形成するコラーゲンビトリゲル膜チャンバーを用いた酸素供給培養を行うことで、薬剤の取込および排泄トランスポーター (OATP1B1, NTCP, MDR1, MRP2, BSEP) が良好に発現することを確認した。

2. 総合評価

- ・優れている

【評価コメント】

本課題は多彩な研究項目から構成されているが、各研究開発項目で優れた成果が創出されている。また、核酸医薬品の承認状況を踏まえ siRNA 医薬品を対象に追加するなど、世の中に求められるよう研究対象を柔軟に調整して、創薬の進展に貢献することが期待できる。

今後の進捗状況に応じて開発の絞り込みを適宜行うとともに、オフターゲット作用評価法では iPS 細胞を用いた研究も検討し、将来を見据えた評価技術も視野に入れた研究も推進すること。また、カットオフ値などの基盤データの取得にも注力し、対応出来る医薬品の範囲を見極め、医薬品医療機器総合機構とも連携し、標準的な評価法の確立や技術指針・判定基準案の作成まで進めること。

以上