

第9回日本医療研究開発機構  
レギュラトリーサイエンス公開シンポジウム

ハイブリッド開催 (会場開催とオンライン開催の併用)

# レギュラトリーサイエンスにおける 動物試験代替法の発展

～細胞培養技術の進化と展望～

令和5年12月6日(水) 13:00～18:00

参加無料/事前登録制

<https://amed2023rs-sympo.jp>



## 講演要旨・略歴

主催



国立研究開発法人日本医療研究開発機構  
Japan Agency for Medical Research and Development

創薬事業部 規制科学推進課

第9回日本医療研究開発機構  
レギュラトリーサイエンス公開シンポジウム  
抄録集

目次

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムスーパーバイザー・プログラムオフィサーのご紹介 .....	4
はじめに .....	5
プログラム .....	6

**第一部 特別講演**

---

動物実験代替法から New Approach Methodologies (NAM) への変遷 .....	8
小島 肇 (国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 併任 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部)	
医薬品評価における動物試験代替に向けた PMDA の考え .....	9
真木 一茂 (独立行政法人医薬品医療機器総合機構 上級スペシャリスト)	
製薬業界の立場から (課題や今後の展望について) .....	10
鈴木 睦 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)	

**第二部 開発事例とレギュラトリーサイエンス (RS) 研究**

---

薬物トランスポーターを考慮した薬物安全性評価を可能とする肝・腎細胞培養手法の構築 .....	12
荒川 大 (金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 准教授)	

ヒト生検腸管およびヒト iPS 細胞由来腸管オルガノイド単層膜を用いた 新規ヒト型 <i>in vitro</i> 試験系の開発 .....	13
水口 裕之 (大阪大学 大学院薬学研究科 教授)	
シグナルかく乱のリアルタイム計測を基にした <i>in vitro</i> 発生毒性試験 .....	15
大久保佑亮 (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毒性部 主任研究官)	
NAM を用いた神経系における化合物の安全性評価と国際動向 .....	16
鈴木 郁郎 (東北工業大学 大学院工学研究科 教授)	
生体模倣システム (MPS) の新規ヒト型 <i>in vitro</i> 医薬品評価法としての規格化、 国際標準化に向けた基盤整備に資する研究 .....	17
石田 誠一 (崇城大学大学院 工学研究科 応用生命科学専攻・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)	

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業  
プログラムスーパーバイザー・プログラムオフィサーのご紹介

## プログラムスーパーバイザー (PS)

---

担当する事業の目的及び課題を把握し、事業の運営を行う。

### 奥田 晴宏

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団 会長

## プログラムオフィサー (PO)

---

PS を補佐して事業運営実務を行う。

### 片倉 健男

国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員

### 佐瀬 一洋

順天堂大学 大学院医学研究科 教授

### 松山 晃文

大阪はびきの医療センター 次世代創薬創生センター センター長

### 矢守 隆夫

日本薬剤師研修センター 理事長

(50音順)

## はじめに



国立研究開発法人日本医療研究開発機構  
医薬品等規制調和・評価研究事業  
プログラムスーパーバイザー

### 奥田 晴宏

新薬が医療現場に届くまでには、創薬標的やシード化合物の発見などの創薬研究から始まり、長い歳月と多額の研究開発費を費やして、多数の試験研究が実施されます。この過程の中で有効性と安全性の高い医薬品候補化合物が選択、最終的にはヒト臨床試験により評価され、上市されます。

臨床試験を安全に実施するためには非臨床安全性試験が必須です。医薬品規制調和国際会議（ICH）は、M3「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」でヒト臨床試験の範囲と規模に応じて必要な動物試験の基準（種類・期間・実施時期）を設定し、3R（Replacement, Reduction, Refinement）の原則に従って動物の使用を抑え、医薬品開発のための資源を有効利用することを求めています。一方で、このガイダンスは安全性評価のための新しいインビトロ代替法の利用についても考慮されることを期待しています。

ヒトへの外挿性の高いインビトロ代替法の開発は、臨床試験に参加する患者の方々の安全をより確保するために必須であるとともに、有力な医薬品候補化合物を徒にふるい落とさないためにも重要です。

医薬品等規制調和・評価研究事業は、毎年レギュラトリーサイエンス（RS）に関連したシンポジウムを実施しておりますが、今年は「レギュラトリーサイエンスにおける動物試験代替法の発展～細胞培養技術の進化と展望」をテーマにシンポジウムを企画いたしました。

第一部では特別講演として、国立医薬品食品衛生研究所・小島先生から「動物試験代替法のオーバービュー」をいただくとともに、「課題や今後の展望」について規制の立場および製薬業界の立場からそれぞれ医薬品医療機器総合機構・真木先生および日本製薬工業協会・鈴木先生から講演をいただきます。さらに第2部では開発事例とRS研究として、5名の先生方から最新のインビトロ代替法開発研究に関して発表をいただきます。

医薬品等の安全かつ効率的な開発研究促進のため、インビトロ代替法開発や安全性試験に係る研究者をはじめ多数の方々にご参加をいただき、本分野の知識を共有していただくとともに活発なご議論を賜れば幸いです。

# プログラム

日時 令和5年12月6日(水) 13:00～18:00

会場 日本橋ライフサイエンスハブにて開催 及び オンライン同時配信

## 13:00～13:10 開会挨拶

三島 良直 (日本医療研究開発機構 理事長)

## 13:10～14:35 第一部 特別講演

座長：奥田 晴宏 PS

13:10～13:45 動物実験代替法から New Approach Methodologies (NAM) への変遷

小島 肇 (国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 併任 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部)

13:45～14:10 医薬品評価における動物試験代替に向けた PMDA の考え

真木 一茂 (独立行政法人医薬品医療機器総合機構 上級スペシャリスト)

14:10～14:35 製薬業界の立場から (課題や今後の展望について)

鈴木 睦 (日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会)

## 14:45～16:55 第二部 開発事例と RS 研究

座長：佐瀬 一洋 PO、松山 晃文 PO

14:46～15:10 薬物トランスポーターを考慮した薬物安全性評価を可能とする肝・腎細胞培養手法の構築

荒川 大 (金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 准教授)

15:10～15:34 ヒト生検腸管およびヒト iPS 細胞由来腸管オルガノイド単層膜を用いた  
新規ヒト型 *in vitro* 試験系の開発

水口 裕之 (大阪大学 大学院薬学研究科 教授)

### (小休憩)

座長：片倉 健男 PO、矢守 隆夫 PO

15:43～16:07 シグナルかく乱のリアルタイム計測を基にした *in vitro* 発生毒性試験

大久保佑亮 (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 毒性部 主任研究官)

16:07～16:31 NAM を用いた神経系における化合物の安全性評価と国際動向

鈴木 郁郎 (東北工業大学 大学院工学研究科 教授)

16:31～16:55 生体模倣システム (MPS) の新規ヒト型 *in vitro* 医薬品評価法としての規格化、国際標準  
化に向けた基盤整備に資する研究

石田 誠一 (崇城大学大学院 工学研究科 応用生命科学専攻・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)

## 17:05～17:50 第三部 パネルディスカッション

座長：小島 肇 氏

17:05～17:50 レギュラトリーサイエンスにおける動物試験代替法の発展～細胞培養技術の進化と展望～

パネリスト：真木 一茂、鈴木 睦、水口 裕之、大久保 佑亮、鈴木 郁郎、石田 誠一

## 17:50～18:00 閉会挨拶

奥田 晴宏 (医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムスーパーバイザー)

**第一部**  
**特別講演**

**座長**  
**奥田 晴宏**

AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムスーパーバイザー

## 動物実験代替法から New Approach Methodologies (NAM) への変遷

小島 肇

国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 併任 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部

動物実験の3Rs原則 (Reduction, Refinement and Replacement) を実現する試験法を意味する動物実験代替法 (以下、代替法) の中でも、動物実験によらない試験法への需要が増している。医薬品規制調和国際会議 (ICH) においても、2021年、S5 (R3) 生殖発生毒性試験ガイドラインの中に代替法の記載が盛り込まれた。経済協力開発機構 (OECD) が発行する試験法ガイドライン (TG) の中でも、ヒト健康に関わる TG における *in chemico* および *in vitro* 試験法の割合が2022年、40%を越えた。ただし、これらが利用できる毒性分野は、局所毒性・遺伝毒性・内分泌かく乱の分野に留まり、全身毒性試験への取り組みは遅れている。この問題の解決に向け、OECDは10年程前から、有害性発現経路 (AOP) の開発を促し、それをもとに試験法の開発を促し、重要な証拠 (WoE) を明確にする一方、非遺伝毒性発がん、発達神経毒性、甲状腺ホルモンかく乱試験などの大型プロジェクトを進めるとともに、新興技術をもとにした試験法をいかに早く公定化するかの議論が始まっている。

このような状況下、代替法の枠に捉われない概念として、米国EPAは2021年、New Approach Method (NAM) work planを発表し、新たな毒性評価手法の開発を促している。NAMとは、動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、または組み合わせと定義されている。米国FDAにおいても、Predictive Toxicologyのロードマップを2020年に発行し、生体模倣システム (MPS) の導入を目指していたところ、2022年米国近代化法により、非臨床試験に動物実験に加え、非動物またはヒト生物学を基にした試験法 (例えば、細胞アッセイ、MPS、バイオプリンター、コンピューターモデル) の選択肢が示された。過去10年、欧州のプロジェクトでは、全身毒性の代替法開発を目指してきたが、今後益々、NAMの開発というキーワードをもとに、欧米の協調は増えていくと推察している。

今後、医薬品や化学物質の全身毒性試験の代替法が行政に利用される機会も増えていくであろう。このような状況下、我が国におけるNAMへの取り組みが加速することを期待している。

## 略歴

1983年	岐阜大学・農学部農芸科学科卒業
1983～2005年	日本メナード化粧品株式会社
1984～1986年	国立遺伝学研究所・形質遺伝部留学
1996年	長崎大学薬学部にて博士号取得
2005～2021年	国立医薬品食品衛生研究所 室長
2021～2022年	国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
2021年～	一般財団法人食品薬品安全センター 研究顧問
2022年～	国立医薬品食品衛生研究所 特別研究員



## 医薬品評価における動物試験代替に向けた PMDA の考え

真木 一茂

独立行政法人医薬品医療機器総合機構 上級スペシャリスト

本邦における医薬品開発のプロセスにおいて、医薬品医療機器総合機構（PMDA）では、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」（薬機法）のもと、より有効でより安全な医薬品等をより早く医療現場に届けるべく、「品質」、「非臨床」及び「臨床」の観点から多面的に評価し、最終的には「リスク・ベネフィット」を勘案して世に送り出すよう努めています。これらのうち、医薬品開発の非臨床評価については、サリドマイドをはじめとする様々な薬害に対する深い反省から、動物を用いた *in vivo* 試験は新しい医薬品のヒトへの効果や安全性の予測にとって不可欠と位置づけられ、ヒトにおける薬物動態、薬理及び毒性の推定において大きな役割を果たしてきました。しかしながら、近年の新モダリティに代表される創薬の進展、医薬品開発費の高騰、そして動物福祉への関心の高まりにより、従来の動物を用いた試験の必要性が問われ、それを代替する新しい評価方法（代替法）の導入の是非に関する議論が盛んに行われています。

特に医薬品開発における非臨床試験については、グローバル化を背景に、主に医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイダンスの整備が進められていますが、これらのガイダンスでは、動物実験の 3Rs（使用動物数の削減 / 苦痛の軽減 / 代替試験法の利用）を推進することが強調されており、例えば、生殖発生毒性試験ガイドライン ICH S5（R3）などでは、*in vitro*、*ex vivo*、非哺乳類を用いた試験が「丸ごとの動物を使った試験（ICH S5（R2）」の代替法として挙げられています。また、米国食品医薬品局（FDA）が本年1月に公表した「近代化法 2.0」では、動物試験の義務が撤廃され、代替法が動物試験と同等であると立証された場合には、評価に利用できることの方針が打ち出されたことも、代替法導入の流れを後押ししています。

以上の背景を踏まえ、本講演では、現在の医薬品の非臨床安全性評価における代替法の位置づけを概説した上で、PMDA の代替法に関する取り組みを紹介します。さらに、パネルディスカッションでの参加者との意見交換を通じ、代替法に関する理解をさらに深めることを目指します。

### 略歴

- 1993年 北海道大学獣医学部獣医学科 卒業
- 1997年 東京大学大学院医学系研究科病因病理学専攻博士課程 修了
- 1997年 京都大学大学院医学研究科分子生物学教室（日本学術振興会特別研究員）
- 1998年 東京都臨床医学総合研究所免疫研究部門（研究員）
- 2000年 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生体環境応答学系専攻感染応答学講座感染分子制御学分野（助手）
- 2002年 ハーバード・メディカルスクール マサチューセッツ総合病院（日本学術振興会海外特別研究員）
- 2003年 京都大学ウイルス研究所生体応答学研究部門生体防御研究分野（講師）
- 2008年 医薬品医療機器総合機構（審査専門員）
- 2023年 医薬品医療機器総合機構 上級スペシャリスト（毒性担当）

## 製薬業界の立場から（課題や今後の展望について）

鈴木 睦

日本製薬工業協会 医薬品評価委員会 基礎研究部会

一般的に医薬品開発は、医薬品の候補となるシーズの探索研究から開発研究（いわゆる開発試験）へと進められる。その過程で実施される非臨床試験は、大きく薬効・薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験に分類され、それぞれの目的に応じた *in vitro* 試験や *in vivo* 試験が実施されている。

薬効薬理試験においては初期スクリーニングを中心に *in vitro* 試験が多用されているものの、*in vivo* 試験での薬効確認はヒトでの有効性を示唆するために重要な位置づけである。しかし、希少疾患含めいくつかの疾患においては適切なモデル動物の構築が困難であり、一つの課題となっていたが、2022年に慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー（CIDP）の非臨床における有効性を示すデータが Microphysiological system（MPS）で取得され、*in vivo* 試験なしでFDAにおいて認可されたことは大きなブレイクスルーであった。

薬物動態試験や毒性試験の多くは「医薬品規制調和国際会議（ICH）」において国際的に調和されたガイドラインに基づいて実施されるため、これらのガイドラインに代替法に関する記載があることが代替法の普及に直結することになる。非臨床試験の実施時期を示した ICH M3（R2）ガイドラインに、「安全性評価のための新しいインビトロ代替法の利用について考慮すべきである。これらの代替法は、バリデーションが完了し、すべての ICH 規制当局によって認められれば、現在の標準試験法の代わりに利用可能である」との記載にとどまり、代替法の試験は推奨するが、具体的な記述には至っていなかった。2021年の生殖発生毒性試験に関する ICH S5（R3）ガイドラインの改定では、胚・胎児の死亡および形態異常の発現とエンドポイントを明示した上で、「代替法適格性確認のための陽性対象物質の例」が示されたことで代替法に求められる堅牢性などの指標が判断できる画期的な改定となった。

以上のように、非臨床試験における代替法の利用は着実に進んでいる状況にある。しかしながら、そのスピード以上に新規モダリティなどの多様化が進んでおり、ヒト特異性の極めて高いものや、従来の考え方に当てはまらないものが増えてきているのが現状である。本講演においては製薬企業が依然として抱える非臨床試験の課題と、その解決策として注目される新規動物実験代替法（NAMs; New Approach Methodologies）への期待、それらの行政受入に向けた今後の展望について議論したい。

## 略歴

- 1992～2008年 キリンビール株式会社
- 1994～1997年 東京大学分子細胞学研究所、がん研究会研究所がん化学療法センター
- 2008年～ 協和発酵キリン株式会社（現：協和キリン株式会社）
- 2014～2020年 ICH S11 EWG メンバー
- 2016～2022年 日本毒性学会 理事
- 2020年～ 日本製薬工業協会医薬品評価委員会基礎研究部会 部会長  
日本製薬工業協会 ICH プロジェクト委員会セイフティーコーディネーター

**第二部 前半**

**開発事例とレギュラトリーサイエンス（RS）研究**

**座長**

**佐瀬 一洋**

AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムオフィサー

**松山 晃文**

AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムオフィサー

## 薬物トランスポーターを考慮した薬物安全性評価を可能とする 肝・腎細胞培養手法の構築

荒川 大

金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 准教授

安全性の高い医薬品の開発には、候補化合物の薬物動態及び安全性を適切に評価する必要がある。この評価には種差の観点からヒト由来試料を用いた *in vitro* 試験が重要な役割を果たす。一方、初代細胞や細胞株では薬物の細胞分布に関わる薬物トランスポーター及び薬物代謝酵素の発現量が著しく低下し、細胞に対し *in vivo* と同等の薬物曝露が難しい。また細胞形態の観点からも課題があり、培養肝細胞では薬物が胆汁中分泌される胆管腔が細胞間に閉鎖系として形成されるため胆汁中分泌された薬物の回収ができず、従来からのサンドイッチ培養法は間接的にしか胆汁中排泄性を推定できない。そこで、生理学性の向上と定量的な薬物動態の *in vitro* 評価手法の構築を目指し、三次元培養近位尿管上皮細胞 (3D-RPTEC) を用いた薬物誘発性腎毒性の評価手法、及び胆汁成分が回収可能な初代ヒト肝細胞を用いた胆汁中排泄評価系の構築を行なっている。3D-RPTEC では2D培養系と比較し培養28日まで主要な薬物トランスポーターである OAT1 及び OCT2 の mRNA 発現量は有意に高く維持され、これらトランスポーターを介した細胞内 ATP 量の低下が示された。さらに種々の腎毒性誘発薬物について細胞毒性試験を実施した結果、細胞内 ATP 量の定量と画像診断を組み合わせることで高感度に薬物誘発性腎毒性を検出できることが示された。また、薬物の胆汁中排泄の評価手法の構築についても検討を進めている。胆管腔形成に関わる密着結合タンパク質 claudin を *in vitro* 合成し、培養器材にコーティングした。このデバイスを用いてヒト初代培養肝細胞を培養したところ、培養器材側に胆管腔を開口する新規肝細胞培養法 (icHep) の樹立に成功した。本細胞系を用いた透過試験を実施したところ、胆汁排泄トランスポーター MRP2、P-gp 及び BSEP を介した薬物及び胆汁酸の経細胞輸送が示された。本細胞系を用いて薬物の胆汁中排泄クリアランスを予測したところ、臨床の報告値と良好に相関し、icHep を用いることで薬物の胆汁中排泄過程を定量的に推定できることが示された。以上より、3D-RPTEC 及び icHep はこれまで評価が十分でなかった薬物誘発性腎毒性及び薬物胆汁中排泄の予測に大きく貢献することが期待される。

### 略歴

2007年	東京理科大学薬学部薬学科 卒業
2009年	東京理科大学大学院薬学研究科薬学専攻 修了
2013年	金沢大学大学院自然科学研究科生命科学専攻博士後期課程 修了
2013～2016年	高崎健康福祉大学薬学部薬学科 助教
2016～2021年	金沢大学医薬保健研究域薬学系 助教
2021年～現在	金沢大学医薬保健研究域薬学系 准教授

# ヒト生検腸管およびヒト iPS 細胞由来腸管オルガノイド単層膜を用いた 新規ヒト型 *in vitro* 試験系の開発

水口 裕之

大阪大学 大学院薬学研究科 教授

小腸上皮細胞は、様々な薬物代謝酵素や薬物トランスポーターを発現し、経口投与された薬物の吸収や排泄・代謝において重要な役割を担う。創薬研究において、医薬品候補化合物の小腸での吸収・排泄・代謝を評価するための *in vitro* 評価系としては、ヒト小腸上皮細胞の入手が困難なため、小動物由来小腸組織を用いた方法や、ヒト大腸癌細胞株である Caco-2 細胞を用いた系が汎用されている。しかしながら、種差や主要な薬物代謝酵素 (CYP3A4) 活性の欠落といった問題がある。ヒト iPS 細胞から分化誘導した腸管上皮細胞の利用が期待されているものの、安定的な細胞製造や機能面で改善の余地があり、医薬品候補化合物のヒト小腸での利用率予測を正確に見積もることが可能な *in vitro* 評価系の構築が切望されている。

近年、新たな培養技術としてオルガノイド培養技術が急速に発展してきた。出発材料としてヒト腸管組織から採取した一部の細胞や、ヒト iPS 細胞から分化誘導した腸管上皮細胞からオルガノイドを樹立・増幅させることで、安定的な腸管上皮細胞の製造が可能になった。一方で、オルガノイドは (脱分化による) 増殖能の獲得により、腸管上皮細胞としての機能が減弱することが課題であった。また、オルガノイドを用いた創薬試験は、頂膜側が内側を向いているため頂膜側から作用する物質の影響を評価することが出来ず、利用可能な実験系が限定されていた。我々は、ヒト生検腸管組織から作製した腸管オルガノイドを二次元培養にて高機能な腸管上皮細胞へと分化・成熟化させ、*in vitro* 薬物動態評価系として応用できることを実証した。また、分化誘導法の改良を通して機能性を高めたヒト iPS 細胞由来腸管上皮細胞をオルガノイド培養し、1年以上の安定な細胞増幅 (10e50 倍以上) が可能な培養条件を確立した。さらに、このヒト iPS 細胞由来腸管オルガノイドを単層膜化し、最適化した培地で培養したところ、ヒト初代培養小腸上皮細胞と同等レベルの CYP3A4 活性を示し、P-glycoprotein (P-gp; MDR1) 等の排出トランスポーターが高度に機能している細胞系の開発に成功した。

本講演では、出発材料としてヒト生検腸管組織、あるいはヒト iPS 細胞を用い、腸管オルガノイドを通して増幅培養し、それらを単層膜化することで、ヒト小腸機能を忠実に反映したヒト型 *in vitro* 試験系の開発・規格化・標準化を目指した我々の取り組みを紹介する。

## 略歴

- 1991 年 大阪大学薬学部卒業
- 1996 年 大阪大学大学院薬学研究科博士課程修了 (薬学博士)
- 1996 年 大阪大学微生物病研究所
- 1997 年 米国ワシントン大学 (Dr. Mark A. Kay)
- 1998 年 国立医薬品食品衛生研究所
- 2005 年 独立行政法人医薬基盤研究所プロジェクトリーダー
- 2008 年 大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野教授 (現在に至る)
- 2023 年 大阪大学総長補佐 (現在に至る)

大阪大学国際医工情報センター教授 (兼任)  
大阪大学先導的学際研究機構教授 (兼任)  
大阪大学感染症総合教育研究拠点教授 (兼任)  
医薬基盤・健康・栄養研究所招へいプロジェクトリーダー (併任)

- 第 4 回ドイツ・イノベーション・アワード奨励賞 (2012 年)
- 第 10 回産学官連携功労者表彰 (厚生労働大臣賞) (2012 年)
- 文部科学大臣表彰・科学技術賞 (研究部門) (2014 年)
- 2014 年度バイオインダストリー協会賞 (2014 年) 等受賞。

**第二部 後半**

**開発事例とレギュラトリーサイエンス（RS）研究**

**座長**

**片倉 健男**

AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムオフィサー

**矢守 隆夫**

AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業 プログラムオフィサー

シグナルかく乱のリアルタイム計測を基にした *in vitro* 発生毒性試験

大久保佑亮

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 毒性部 主任研究官

医薬品開発において、胚・胎児影響を調べる発生毒性試験は、臨床試験の実施が困難であるため、動物を用いた非臨床試験が非常に重要な指標となる。一方で、発生毒性は種差が大きいことも知られており、サリドマイドのようにげっ歯類では形態異常を生じないがヒトでは深刻な形態異常を生じる医薬品も存在する。そのため、現行の試験法では複数種多数の動物を用いるなど、人的・時間的・金銭的に多大な労力を払ってその安全性を評価せざるを得ない。加えて、核酸医薬品や抗体医薬品のような新規モダリティと呼ばれる医薬品が近年精力的に開発されている。これら新規モダリティ医薬品は概してヒトに対する特異性が高く、現行の発生毒性試験だけではその安全性を評価することが難しい。したがって、これらの課題を解決する、ヒト発生への影響の有無を高精度に予測可能なスループット性の高い新たな試験法が求められている。

胚・胎児発生はシグナル伝達の相互作用により適切に制御される。そこで我々は、発生毒性はこのシグナル伝達相互作用が化学物質によりかく乱されることによって引き起こされると仮説を立てた。初めに、発生過程において重要な役割を果たす FGF-SRF シグナルのレポーターヒト iPS 細胞株を樹立した。次に、化学物質による直接の FGF-SRF シグナルかく乱作用に加えて、間接的な影響も考慮するために、生細胞ルシフェレースシステムを用いてシグナルかく乱作用のダイナミクスを解析した。その結果、サリドマイドを含む既知の発生毒性物質 21 種類、陰性物質 14 種類を 89% の正確度で評価可能であった。

本手法は、動物を用いた毒性試験とは概念的に異なる、細胞を基にした毒性試験法である。その特徴として、96 穴プレートを用い一週間で実験が終了するため、ハイスループット、低コストで高精度に発生毒性を評価可能である。現在は、シグナルかく乱作用のリアルタイム自動測定に取り組んでおり、試験法の簡便化及び高精度化を進めている。

## 略歴

- 2005 年 埼玉大学 理学部 生体制御学科 卒業
- 2007 年 埼玉大学大学院 理工学研究科 生体制御学専攻 修了
- 2010 年 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻 修了 博士 (理学)  
国立遺伝学研究所 系統生物研究センター 発生工学研究室 特任研究員  
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 毒性部 研究員
- 2014 年 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 毒性部 主任研究官
- 2016 年 カリフォルニア大学 バークレー校 客員研究員 (日本学術振興会 海外特別研究員)
- 2018 年 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 毒性部 主任研究官 (復職)
- 2022 年 神奈川県総合技術総合研究所 (KISTEC) 研究員 (非常勤)
- 2023 年 横浜国立大学 先端科学高等研究院 (IAS) 客員准教授

(独) 医薬品医療機器総合機構 (PMDA) 専門委員

専門：発生物理学、毒性学、動物実験代替法、動物用ウェアラブルデバイスの開発

## NAM を用いた神経系における化合物の安全性評価と国際動向

鈴木 郁郎

東北工業大学 大学院工学研究科 教授

動物実験廃止の国際的な潮流や FDA 近代化法 2.0 の制定もあり、近年、予測精度の高い *in vitro*、*in silico*、*in chemico* 試験法 (New approach methods; NAMs を用いた化合物評価法) の開発が加速している。経済開発協力機構 (OECD) における化学物質安全性評価法のガイドライン作成においても、*in vitro* アッセイの検討が進んでおり、発達神経毒性評価においては、今年 6 月に *in vitro* test battery として神経発達過程を考慮した 17 つのアッセイが公表された。17 アッセイの内、神経ネットワークの機能評価においては電気活動を非侵襲に計測できる微小電極アレイ (MEA) を用いた評価法が採用され、使用する細胞、化合物の暴露法、解析法等が今後議論される予定である。本発表では、ヒト iPS 細胞由来ニューロンの MEA 計測を中心に医薬品を含めた化学物質の安全性評価について発表する。*In vitro* の細胞を用いた評価法は、*in vivo* の応答をどこまで予測できるか? が鍵であり、*in vitro* to *in vivo* extrapolation (IVIVE) という言葉も世界中で使用されるようになってきている。IVIVE への挑戦は、細胞の選択を含めたサンプル作製技術 (創る技術)、作製したサンプルを高い精度で測定できる計測技術 (測る技術)、計測したビックデータから化合物の毒性用量や作用機序を予測できる解析技術 (解く技術) の向上が重要となる。これら 3 つの要素技術の開発に基づいたヒト iPS 由来中枢神経、末梢神経、脳オルガノイドにおける化合物評価について、AI 解析や IVIVE への取り組みを含めて紹介する。国際動向を含めて、今後の開発の方向性について議論したい。

## 略歴

2008 年	東京大学 大学院総合文化研究科広域科学専攻博士課程修了 博士 (学術)
2008 年	東京医科歯科大学 生体材料工学研究所情報分野 助教
2010 年	東京工科大学 応用生物学部 助教
2014 年	東北工業大学 工学部知能エレクトロニクス学科 講師
2016 年	東北工業大学 工学部電気電子工学科 (名称変更) 准教授
2021 年～現在	東北工業大学 工学部電気電子工学科 教授
2018 年～現在	理化学研究所 iPS 創薬基盤開発チーム 客員研究員
2019 年～現在	東北工業大学 AiR 研究所 所長



# 生体模倣システム (MPS) の新規ヒト型 *in vitro* 医薬品評価法としての規格化、国際標準化に向けた基盤整備に資する研究

石田 誠一

崇城大学大学院 工学研究科 応用生命科学専攻・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

*In vitro* 培養系は、動物実験の代替法としてだけでなく、作用機序の解明などへの応用でも広く用いられるようになってきた。昨年末に FDA が Modernization Act 2.0 で非臨床試験における *in vitro* 試験の結果を受け入れることを表明したこともあり、その流れは加速している。そのような状況の中で、生体模倣システム (Microphysiological System: 以下 MPS) に注目が集まっている。MPS とは、「組織や臓器内の血液の流れを *in vitro* で模倣し、血流が細胞に及ぼす力学的影響や細胞の栄養素や代謝老廃物、または薬剤などの物質移動の影響を *in vitro* で再構築できる培養装置」である。既に IND 申請 (investigational new drug application) に用いられた例も出てきている。MPS を用いた細胞培養は従来のシャーレを用いた静置培養とは異なる点も多く、MPS データの行政利用のためには、MPS デバイスの評価・技術要件の明確化が喫緊の課題となっている。

我々の研究班では、AMED-MPS プロジェクトで開発された国産 MPS および市販 MPS を用いた試験法の安定性、再現性などの評価を進めている。その中でも開発が進む肝臓、小腸の細胞を用いた医薬品吸収における初回通過効果の評価系を MPS のユーザーニーズに基づく Context of Use (CoU) と位置づけ、CoU に沿った・評価要件・技術要件・規制要件を明確化するための科学的基礎データの取得に取り組んできた。今回はその取り組みの一端を紹介する。

一方で、MPS は新規の培養プラットフォームとして、器材や細胞の規格性能の整備、実験手順の標準化、行政利用に向くアプリケーションの開発などの観点で、産官学の連携による取り組みが重要である。そこで、本研究班を母体として「MPS 実用化推進協議会」を立ち上げ、活動を開始した。今後は、ユーザーである製薬企業やサプライヤーであるデバイス開発企業などの間の意見交換を進める交流会などを企画し、日本発 MPS の開発を進める場を提供していく予定である。また、本年度 6 月に発足した国際 MPS 学会とも連携を進めている。本発表後半では、MPS 実用化推進協議会を中心に、MPS の普及に関連した国内外での活動についても紹介したい。

## 略歴

- 1988 年 東京大学薬学部薬学科 卒業
- 1993 年 東京大学大学院薬学系研究科博士課程 修了 博士 (薬学)
- 1993 年 癌研究会癌研究所遺伝子研究施設部 嘱託研究員
- 1997 年 デューク大学メディカルセンターハワードヒューズ医学研究所研究員
- 2000 年 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 主任研究官
- 2007 年 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第三室長
- 2020 年 学校法人君が淵学園崇城大学生物生命学部応用生命科学科生命医薬科学講座 教授  
国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員、PMDA 医薬品名称委員会委員専門委員

---

国立研究開発法人日本医療研究開発機構  
創薬事業部 規制科学推進課  
医薬品等規制調和・評価研究事業

〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-1 読売新聞ビル (22 階)  
TEL: 03-6870-2235 E-mail: kiseikagaku@amed.go.jp

---