

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ

令和4年度及び5年度採択 研究開発課題 事後評価結果

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ
課題評価委員会

※本報告書内の所属・役職は研究開発期間終了時

I. 概要

1 研究開発タイプの概要

2 評価の概要

(1) 評価の実施時期

(2) 評価委員一覧

(3) 評価項目

II. 課題別評価結果

令和4年度採択 研究開発課題

- ・吉種 光 (東京都医学総合研究所 体内時計プロジェクト)

令和5年度採択 研究開発課題

- ・小室 一成 (東京大学 医学部附属病院)
- ・竹田 潔 (大阪大学 大学院医学系研究科)
- ・民谷 栄一 (大阪大学 産業科学研究所)
- ・内藤 尚道 (金沢大学 医薬保健研究域医学系)

I. 概要

1. 研究開発タイプの概要

ユニットタイプ（AMED-CREST）やソロタイプ（PRIME）等の終了課題のうち、ヒト疾患サンプル等を用いた疾患関連性の検証や、開発した分析法や測定機器の汎用性の検証を行うことを目的として研究開発を推進する。

2. 評価の概要

（１）評価の実施時期

研究開発終了時に実施。

（２）評価委員一覧

- ◎ 今村 健志 （愛媛大学 大学院医学研究科 教授）
- 岩田 想 （京都大学 大学院医学研究科 教授）
- 小比賀 聡 （大阪大学 大学院薬学研究科 教授）
- 竹内 理 （京都大学 大学院医学研究科 教授）
- 武田 伸一 （国立精神・神経医療研究センター 理事）
- 妻木 範行 （大阪大学 大学院生命機能研究科 教授）
- 土肥 多恵子 （慶應義塾大学 薬学部 客員教授）
- 野地 博行 （東京大学 大学院工学系研究科 教授）
- 真鍋 一郎 （千葉大学 大学院医学研究院 教授）

※◎委員長

（五十音順、敬称略）

（３）評価項目

本評価委員会においては、以下の評価項目に基づき総合的に評価が実施された。

ア 研究開発達成状況

- ・研究開発計画に対する達成状況はどうか

イ 研究開発成果

- ・予定していた成果が着実に得られたか
- ・当初計画では想定されていなかった新たな展開やそれによる成果が得られたか
- ・成果は、科学技術上のインパクト、国内外の類似研究と比較した際のレベルや重要度などの点で、質的に高いものであるか
- ・成果は医療分野の進展に資するものであるか
- ・成果は新技術の創出に資するものであるか
- ・成果は社会的ニーズへ対応するものであるか

- ・成果は社会的なインパクトを与えるものであるか
- ・必要な知的財産の確保がなされたか

ウ 実施体制

- ・研究開発代表者を中心とした研究開発体制が適切に組織されていたか
- ・研究開発分担者を置いている場合は、十分な連携体制が構築されていたか
- ・国内外の研究者や臨床医、産業界等との連携によるネットワーク形成がなされたか
- ・研究開発費の執行状況は効率的・効果的であったか
(各グループの研究開発費は有効に執行されたか、購入機器は有効に活用されたか等)

エ 今後の見通し

- ・今後、研究開発成果のさらなる展開が期待できるか

オ 事業で定める項目及び総合的に勘案すべき項目

- ・生命倫理、安全対策に対する法令等を遵守していたか
- ・専門学術雑誌への発表並びに学会での講演及び発表など科学技術コミュニケーション活動（アウトリーチ活動）が図られていたか
- ・ヒト疾患との相関性を示す成果が得られたか
- ・医療につながる分析技術の汎用性を示す成果が得られたか

カ 総合評価

ア～オを勘案しつつこれらと別に評点を付し、総合評価をする。

II. 課題別評価結果

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ (FORCE)
令和4年度採択 研究開発課題 事後評価結果

1. 研究開発課題名：

ヒトの時計老化年齢を評価する血液バイオマーカーの探索とその応用

2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

(1) 研究開発代表者

吉種 光 (東京都医学総合研究所 体内時計プロジェクト プロジェクトリーダー)

(2) 研究開発分担者

北村 真吾 (国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 室長)

野田 義博 (東京科学大学 リサーチインフラ・マネジメント機構 技術専門員)

3. 総合評価コメント：

本研究課題において、コンスタントルーチン法 (CR法) により、20代および60-70代の健常者に対し、2時間おき連続13点の血液を採取し、RNA-Seq解析による定量データと機械学習により時計老化年齢を評価できるツールを開発した。本ツールは、時刻1点または2点の採血検体のRNA-Seq解析を実施することで、平均的なクロノタイプでは何時に採血したサンプルに相当するかを評価し、実際の採血時刻と比較することで臓器体内時計の位相を推定、各個人の概日時計がどの程度破綻しているかを評価することが可能となった。また、老齢マウスのcircadian samplingによる臓器RNA-Seqデータから、mTORキナーゼ活性のリズム性が加齢とともに低下し、mTORが時計老化の鍵を握る可能性を見出した。さらに、mTORとの関連性が深い糖尿病に着目し、疾患モデルマウスにおいて若齢時から時計老化が観察されることを見出した。

ヒト検体を用いたチャレンジングな課題である。ボランティアから連続採血を行い、血液検体測定における様々な検討、工夫を行い、RNA-Seq解析と機械学習により、採血時刻を推定可能なアルゴリズムと時計老化年齢評価ツールを開発し、医療につながる分析技術の基盤を築いたことは高く評価できる。CR法というハードルの高い手法を用いて連続採血とRNA-seqを遂行したことは、研究体制が十分に機能したことを示している。

今後、時計老化という概念及び評価法を用いる優位性、新規性を主張できるように研究開発を発展させていきたい。健康診断への応用は大きな展開になる可能性があり、健常人を対象とする場合は、バイオバンク等との連携が必要と考えられる。一方、時計老化と疾病の因果関係にまで踏み込めれば大きな発展が期待できるが、臨床応用のためには、末梢血で評価される時計老化と疾患との関連をより多くの症例で検討しデータを蓄積する必要がある。臨床研究者との連携を図り、広い視野を持って具体的な計画を立ててほしい。なお、本ツールを大きく発展させるためには、知財確保は必須と考える。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られているといえる。

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ (FORCE)
令和5年度採択 研究開発課題 事後評価結果

1. 研究開発課題名：

ヒト心不全における心筋 DNA 損傷の病的意義の解明とその制御

2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

(1) 研究開発代表者

小室 一成 (東京大学 医学部附属病院 特任教授)

(2) 研究開発分担者

油谷 浩幸 (東京大学 先端科学技術研究センター 特任研究員)

池内 真志 (東京科学大学 総合研究院 教授)

仁田 亮 (神戸大学 大学院医学研究科 教授)

3. 総合評価コメント：

本研究課題において、心筋DNA損傷を制御する上流因子として、血管内皮細胞から分泌されるIGFBP7を同定し、本因子が心臓微小環境においてインスリンと結合してこれを阻害することで、心筋細胞におけるインスリンシグナル・ミトコンドリア代謝を抑制する機序を明らかにした。また、心筋DNA損傷と高い相関のあるLMNA遺伝子変異の病態発現機構を調べるため、疾患iPS細胞や臨床検体をシングルセルRNA-seq/ATAC-seq等で解析した結果、変異LMNAタンパク質と転写因子TEAD1の特異的な結合が核膜において確認され、変異LMNAを有する心筋細胞ではTEAD1による遺伝子の転写制御に異常を生じていることが分かった。さらに、iPS細胞を心筋細胞に分化させた細胞を用いて化合物スクリーニングを実施した結果、DNA損傷の蓄積を減弱する化合物としてビタミンD2を同定した。疾患iPS心筋を用いた心臓オルガノイドによって収縮機能を評価すると、LMNA変異によって減弱した心筋細胞の収縮がビタミンD2投与によって回復することが分かり、ビタミンDもしくは受容体VDRが心筋DNA損傷を制御し得るシーズ候補であることを見出した。

心不全患者におけるDNA損傷のゲノムワイドな局在と転写制御への影響、iPS心筋を用いたメカノゲノムストレス応答、遺伝子治療による細胞健常化機構を解明し、当初の研究開発計画を達成し、計画以上の成果も得られたことは高く評価できる。DNA損傷が心不全の治療応答性に関与し、IGFBP7やTEAD1等の分子がキー因子となることを示し、ハイインパクトジャーナルに成果発表、関連特許も出願している。また、様々な研究分野の専門家によるチーム連携が順調に行われたと考えられる。

基礎研究としての発展だけでなく、ビタミンD2、IGFBP7ワクチン、遺伝子治療等、新規診断・治療法の開発につながるシーズが見出されており、産業界との連携も具体的に計画されていることから、今後の臨床応用に向けた研究開発のさらなる推進を期待したい。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られているといえる。

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ (FORCE)
令和5年度採択 研究開発課題 事後評価結果

1. 研究開発課題名：

ヒト腸管免疫・上皮バリアの機能制御機構の解析

2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

(1) 研究開発代表者

竹田 潔 (大阪大学 大学院医学系研究科 教授)

(2) 研究開発分担者

該当なし

3. 総合評価コメント：

本研究課題において、クローン病特異的CD4陽性組織常在性記憶T細胞 (CD4+TRM) の誘導機構を解析するため、CITE-seq解析、scMultiome解析を組み合わせることで研究を進めた結果、クローン病特異的CD4+TRMの誘導を司る2種の転写因子を同定することに成功した。また、ヒト腸管ミエロイド細胞のscRNA-seq解析により、GPR31がヒト腸管の通常型1型樹状細胞(cDC1)に特異的に発現していることを同定し、ピルビン酸がGPR31を介してcDC1の樹状突起を腸管の管腔内まで伸ばす作用を有し、cDC1の異物の取り込み機能を促進することを明らかにした。さらに、潰瘍性大腸炎患者の腸管上皮のscRNA-seq解析により、潰瘍性大腸炎患者の上皮に特異的な上皮細胞サブセットが存在することを明らかにした。本サブセットは、上皮幹細胞様の遺伝子発現を示しており、潰瘍性大腸炎患者の腸管上皮の正常分化経路に障害が生じていることが分かった。

クローン病特異的なCD4+TRMについて、マルチオーム解析でその誘導を司る転写因子を同定したことや、クローン病や潰瘍性大腸炎の腸管上皮のシングルセル解析等で、ヒト腸管cDC1がGPR31を介してピルビン酸の刺激で管腔内に突起を伸ばすこと等、新規性が高い多くの成果を着実に創出している。ヒト検体やオルガノイドを用いた多様なアプローチでの研究を推進しており、高く評価できる。また、主要な研究成果の一つについて、国内特許出願に至っており、今後の論文発表や、企業との具体的な協業が望まれる。本成果が、CD4+TRMを標的としたクローン病治療薬の開発につながることを期待する。

一方、リン脂質の一種LysoPSとその受容体P2Y10とGPR34の免疫細胞での機能については、予想以上に複雑であり不明点が残されている。また、潰瘍性大腸炎患者の上皮層に存在し正常分化経路に障害がある特異的な上皮サブセットについて、臨床上的特徴との関連を明らかにすることで、分化誘導等に基づく新規治療戦略の構築が期待される。

以上より、当初計画に照らして優れた成果が得られているといえる。

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ (FORCE)
令和5年度採択 研究開発課題 事後評価結果

1. 研究開発課題名：

免疫1細胞機能計測チップデバイスの開発と抗腫瘍活性診断への応用

2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

(1) 研究開発代表者

民谷 栄一 (大阪大学 産業科学研究所 特任教授)

(2) 研究開発分担者

高松 漂太 (大阪南医療センター 臨床研究部 室長)

齋藤 真人 (大阪大学 先導的学際研究機構 特任准教授)

3. 総合評価コメント：

本研究課題において、工学的に様々な検討、工夫を行った結果、細胞懸濁液の注入と遠心操作により1細胞の分離と活性計測を行い得る、極めてシンプルな構造で動作可能なチップデバイスを開発し、免疫細胞のグランザイムB (GzmB) の活性評価をシングルセルレベルで行うことに成功した。本チップデバイスを使用して、がん患者の末梢血において、GzmB活性が非常に高い細胞集団の存在を見出した。また、従来型は閉鎖系マイクロ流路のため目的細胞の回収が困難であったが、オープントップ型としたことで目的の1細胞の回収を原理的に可能とした。ハイスループット化等の技術的な課題はあるものの、従来の細胞集団の解析では埋もれてしまう特異な1細胞の機能とフェノームの相関を解析することを可能とした。

独自に開発したマイクロ流体チップをヒト検体に応用し、医工連携のもと、実臨床における課題に対して多面的な改良、検討を行った結果、臨床検体を用いた1細胞でのGzmB活性測定法を確立したことは評価できる。またデバイスは比較的シンプルな構造で大量生産が可能であり、汎用機器開発へ進み得ることは科学技術上の成果として期待できる。今後の応用展開について十分な検討が為されており、特に実用化についても、デバイス作製企業との連携が進められている。臨床現場で使える機器、GzmB以外の酵素活性測定、他のオミックス解析への可能性を拓く研究成果と理解される。

一方で、ヒト検体を用いて検討した結果、1細胞機能の評価は、細胞の保存期間や測定時間に影響を受けることが課題として明らかとなった。今後、本システムを診断の指標に用いるために、医工連携をさらに推進し、試料のサンプリング方法に加え、測定対象分子の選定やフェノーム解析等を検討する必要があると考えられる。また、多くの画像データを取得できるため、臨床上的有用性検討に向けて、データの処理法や利用法に工夫の余地があると考えられる。さらに、実用化のためには、知財に関する配慮が必要である。

以上より、当初計画に照らして妥当な成果が得られているといえる。

革新的先端研究開発支援事業ステップタイプ (FORCE)
令和5年度採択 研究開発課題 事後評価結果

1. 研究開発課題名：

血管内皮幹細胞を標的とした虚血性疾患の革新的治療法の開発

2. 研究開発代表者名及び研究開発分担者名：

(1) 研究開発代表者

内藤 尚道 (金沢大学 医薬保健研究域医学系 教授)

(2) 研究開発分担者

田中 里佳 (順天堂大学 大学院医学研究科 担当教授)

堀江 真史 (神戸大学 大学院医学研究科 教授)

射場 智大 (金沢大学 医薬保健研究域医学系 助教)

3. 総合評価コメント：

本研究課題において、重度糖尿病患者由来の下肢筋肉検体における血管内皮細胞を分離してシングルセル解析を実施し、データの解析方法に工夫を行うことにより、マウス血管内皮幹細胞と類似する遺伝子発現パターンを示し、血管内皮幹細胞の候補となり得る細胞集団を同定することに成功した。In situ hybridizationで下肢筋肉検体を用いて血管内皮幹細胞を可視化することにより、これまでに報告したマウスと同様に、毛細血管ではなく、毛細血管を分枝する太い血管の血管内皮細胞の一部が本幹細胞である可能性が示唆された。また、大動脈乖離検体について、大動脈壁の血管内皮細胞の細胞多様性に着目して解析した結果、大動脈疾患の発症に血管新生が関与していることを明らかにした。さらに、ヒト筋肉の虚血部位では、特定の表面抗原を発現するマクロファージが減少し、血管内皮細胞との相互作用が減少することで、血管の再生が障害されている可能性を示す結果を得た。

ヒト血管内皮幹細胞の存在と血管内皮細胞の多様性にフォーカスした独創的な課題で、ヒト重症下肢虚血における血管構造と血管内皮細胞の多様性を解析し、着実に成果を得ている。ヒトにおける血管内皮幹細胞の候補を見出したこと、また本細胞群がマウスとはやや性質が異なることを見出したことはFORCE課題として意義深い。解析条件の詳細な検討から始まり、ヒト検体を用いた困難な研究にチャレンジしたことを高く評価したい。また、想定外の展開として、大動脈解離の発症における血管内皮細胞の役割の重要性を示唆する結果を得たことも期待できる。

一方で、マウス血管内皮幹細胞に相当するヒトの細胞候補を同定し、またマクロファージの新たな機能を示唆するデータを得ているものの、それら細胞群のヒト血管における位置付けを明確にするため、今後マウスに戻すのか、あるいはヒトでさらに解析法を工夫するか、何れかの方法でメカニズムの理解を深める必要がある。また、ヒト血管内皮幹細胞の機能解析や薬剤による機能阻害試験は様々な疾患において重要であり、今後も研究開発を継続してほしい。

以上より、当初計画に照らして妥当な成果が得られているといえる。