

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 27 年度成果報告書 (公開)

プロジェクトリーダー (企業責任者)	武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 主席研究員 兔澤 隆一
研究責任者	国立大学法人 東北大学 大学院医工学研究科 准教授 神崎 展
参加機関	武田薬品工業株式会社 国立大学法人 東北大学
研究開発課題	創薬ツールとしての「収縮型培養筋細胞系」の開発と応用

1. 研究開発の目的

適度な運動刺激は、加齢性に激増するさまざまな生活習慣病（肥満、糖尿病、脂質異常症など）や筋萎縮症（サルコペニアなど）に対して極めて効果的な予防・治療効果を発揮できるため、運動の生理生化学と運動刺激の起点となる骨格筋組織は上記疾患の治療標的として注目されている。運動刺激に注目した創薬標的の探索や効率的な評価には、生体機能、特に高度に発達した骨格筋機能を有した培養細胞系の活用が極めて重要となるが、活発な収縮活動を呈する培養筋細胞系が存在しないことから、細胞培養系のメリットを生かした効率的な創薬研究の実現が困難となっている。

本課題では、「運動できる培養筋細胞系」の汎用性拡大と質保障向上を目標とした研究開発を推進することで、骨格筋細胞の創薬プラットフォームの将来的な実現を目指すと共に、複合的な Omics 解析手法を用いて「骨格筋を治療中核とした新規創薬標的・創薬マーカー」を探索することを目的としている。

2. 研究開発の概要

東北大学・神崎らは、培養筋細胞に対して周期的な電気パルス刺激（Electric Pulse Stimulation: EPS）を負荷することにより、筋細胞の収縮活動能力が飛躍的に発達した「収縮型培養筋細胞系」の構築に成功している。本研究開発では、神崎らが独自に開発してきた「収縮型培養筋細胞系」をさらに発展させることにより、生体筋に近似した骨格筋細胞系を構築し、「骨格筋細胞の創薬プラットフォーム」に応用することを将来的な最終目標の一つとしている。すなわち、創薬ツールとしての価値を高めるため、インスリン抵抗性病態や筋萎縮状態を模倣した病態細胞モデルを確立するとともに、代謝能力に優れ病態治療的に意義深い遅筋タイプ細胞モデルの構築を試みる。また、「収縮型培養筋細胞系」を活用して、各種 Omics 解析手法や新たに構築するマイオカイン遺伝子ライブラリーを駆使して「骨格筋を治療中核とした新規創薬標的の探索」を推進する。本研究開発を達成することにより、新規の創薬標的や創薬マーカーを見いだすことができれば、独自の視点から全く新たな創薬開発が可能になり、未だ市場にない骨格筋を治療標的とした各種創薬の活路が初めて拓かれることになる。さらには、我々の「収縮型培養筋細胞系」は、世界標準ともなる「骨格筋の創薬プラットフォーム」として不動の地位を築くことになると期待できる。

3. 研究開発の成果（平成 27 年度）

(1) 高次遅筋タイプ細胞系の汎用性拡大と質保障向上【主担当：東北大学】

高電気パルス刺激（EPS）負荷したマウス培養筋細胞で作製した「収縮型培養筋細胞系」の最適化を進めることで、これまでほぼ完全に動物実験に依存していた「運動効果」に関する解析を細胞培養系においても実現可能な「*in vitro* 運動モデル」を確立することに成功した。すなわち、「収縮型培養筋細胞系」に長時間の収縮活動刺激とともに種々の細胞内シグナル調節薬などを添加することにより、各種の運動効果（マイオカイン発現亢進や遅筋化の加速）が相乗的にかつ著しく増強されることを見出し、薬効評価系としての「*in vitro* 運動モデル」の有用性を確認した。さらに、将来的な創薬プラットフォーム活用を鑑み、これまでマウス筋細胞株で得られた研究成果をもとにして、ヒト由来試料を用いた基礎検討を開始した。ヒト初代筋細胞ではマウス筋細胞株と比して脆弱な面が多く認められたが、筋分化条件やEPS培養条件を改良して至適化することにより、ヒト筋細胞の収縮活動能と運動応答性を著しく亢進させることに成功した。

(2) 新規創薬標的および運動バイオマーカー候補探索【主担当：武田薬品工業】

上記「*in vitro* 運動モデル」と、肥満糖尿病モデル KKA^y マウスを用いた「ホイール走行運動モデル」より得た骨格筋試料において網羅的な発現遺伝子解析（RNA-seq および Ribosomal Profiling 解析）を実施し、*in vitro* および *in vivo* 運動刺激によって変動しうる mRNA（リボゾーム画分中 mRNA 含む）および non-coding RNA（miRNA 含む）を多数同定し、新規な運動変動遺伝子群（non-coding RNA 遺伝子を含む計 23 遺伝子）を見出した。その中で特に興味深いと考えられる 4 種の遺伝子（転写因子、キナーゼ酵素、ミトコンドリア蛋白、新規ペプチドをコードする遺伝子）を優先的に機能解析し、創薬標的および運動バイオマーカーとしての価値判定を目指す。