

## 平成 28 年度医療研究開発推進事業費補助金

### (医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

#### I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices
- 補助事業課題名 : (日本語) ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 *in vitro* 医薬品安全性評価法の開発  
(英語) iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System Project: iNCENS
- 補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部第一室長 佐藤 薫  
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Health Sciences, Division of Pharmacology, Laboratory of Neuropharmacology, Kaoru Sato
- 実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 脳神経機能を再現したヒト iPS 細胞由来神経細胞等およびそれを用いた薬理評価系の開発  
分担課題名 : (英語) Development of pharmacological evaluation system using human induced pluripotent stem cell-derived neurons that reproduce the CNS functions
- 補助事業分担者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部第一室長 佐藤 薫  
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Health Sciences, Laboratory of Neuropharmacology, Division of Pharmacology, Kaoru Sato

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

#### ① 認知機能障害、神経異常活動の数値化指標の確立、*in vitro* 定量的薬理試験法の開発

##### 認知機能障害リスク

認知機能障害の数値化指標として機能的シナプス後部に集積するドレブリンをマーカータンパク質として用いた *in vitro* 薬理試験法 (DIBES 法) を開発した。

##### 神経異常活動リスク

微小電極アレイシステム (MEA) および機械学習により、薬物が神経活動に及ぼす影響を精度よく検出できる *in vitro* システムを開発した。海馬急性スライスに薬物を適用し局所フィールド電位 (LFP) 記録を行い、発火を示す画像に機械学習を応用することで、本実験で使用した薬物の痙攣副作用を正確に予測できた。

#### ② 評価に必要な脳機能メカニズムを備えた hiPSC-neuron の選抜と機能促進条件の検討

##### ・評価に必要な脳機能メカニズムを備えた hiPSC-neuron の選抜

複数の市販 hiPSC-neuron について評価に必要な脳機能メカニズムを備えているかどうかを検討した。いずれの標本でもマウス初代培養アストロサイト調整培地 (mACM) が hiPSC-neuron の自発的活動電位スパイク、同期した周期的バーストの誘導に有利に働くことが示され、神経回路形成が薬理的に確認された。この標本では痙攣誘発剤 gabazine, picrotoxin, 4-AP が同期バーストを用量依存的に誘導したため、てんかん原性評価に使用可能であることも示された。MEA 培養条件に特化した免疫組織化学的染色プロトコルを確立した。synapsin1 と PSD95 の共局在が明確に観察され mACM がシナプス形成を促進していることを裏付けた。mACM はドレブリンアイソフォームも成熟型に変換した。これまでより短期培養で薬物評価を行うことができる hiPSC-neuron 候補も選抜した。

##### ・グリア細胞因子による神経細胞機能促進条件の検討

mACM を作用させた hiPSC-neuron について、マイクロアレイデータ上流パスウェイ解析、次世代シーケンサー解析、培養上清中に放出された因子の解析を行い、神経回路形成を促進させる候補因子リストを作成した。標本成熟判定マーカー候補も見いだした。アストロサイト因子 X が hiPSC-neuron の突起長を有意に増加することを発見した。アストロサイト因子 GPC6 が NMDA 受容体の細胞膜発現を増加させ興奮毒感受性を獲得させることを見いだした。hiPSC-neuron をマウス海馬切片に播種すると、CA1 野上の hiPSC-neuron は CA1 野錐体細胞様の形態に分化しスパインが形成されることを明らかとした。

#### ③ hiPSC-neuron 等を用いた認知機能障害、神経異常活動予測評価法プロトコル整備

hiPSC-neuron を用いた神経異常活動予測評価法提案の実現可能性が高まったことから、医薬品を含むテストコンパウンド (実験的陽性対照: picrotoxin, 4-AP; 実験的陰性対照: triazolam; 高リスク医薬品: theophillin; 低リスク医薬品: Aspirin) を用いてプロトコルの一般化を行った。MEA システム汎用化のためデータ解析アプリケーションを開発した。痙攣誘発リスクの指標としては、異所の神経がネットワークを通じて同期するてんかん原性と呼ばれる現象を数値化することが考えられる。MEA の 64 電極のスパイク数の総和で同期バーストの強度を継時的に示すことを可能とした。この指標は、上記テストコンパウンドにより用量依存的に強度が変化したため、薬物誘発痙攣リスク評価指標として有用であることがわかった。

#### ④ hiPSC-neuron 等を用いた認知機能障害、神経異常活動予測評価法の多施設バリデーション

CSAHi およびその協賛企業と協働し、上記テストコンパウンドを hiPSC-neuron に適用し MEA データを取得した。mACM は調整法によるばらつきが大きく多施設データの比較検討に適さないため、性状が均一で同一ロット細胞を多数確保可能な市販ヒト iPS 細胞由来アストロサイト (hiPSC-astrocyte) を用いたプロトコルを整備した。hiPSC-neuron と hiPSC-astrocyte の混合培養条件で、自発的活動電位スパイク、64 電極で同期した周期的バーストを全施設で再現できた。陽性対照テストコンパウンドによる同期バーストの増強も全施設で有意な作用を確認できた。

## 英文

### ① Development of the quantitative parameters and *in vitro* pharmacological test methods for cognitive disorders and abnormal neuronal activities.

**Risk of cognitive disorders:** We established *in vitro* pharmacological test methods (DIBES methods) to quantify the risks of cognitive disorders by using drebrin as a marker of functional synapses.

**Risk of abnormal neuronal activities:** By use of MEA and AI, we established the *in vitro* system that accurately detect the effects of drugs on neuronal activity. We could accurately predict seizure risks of the seizure-inducing drugs by machine learning of LFP graphic patterns obtained from hippocampal slices.

### ② Selection of hiPSC-neuron lines suitable for the *in vitro* pharmacological test methods and development of the protocols that enhance functional maturation on hiPSC-neurons

**Selection of hiPSC-neuron lines suitable for the *in vitro* pharmacological test methods:** We investigated whether commercially-available hiPSC-neurons adopt the mechanisms necessary for the pharmacological tests. We found that mACM enhanced the inductions of spontaneous activities and synchronous bursts, and also confirmed the establishment of neural circuitry pharmacologically. When we treated these cells with gabazine, picrotoxin, and 4-AP, the frequency of synchronous bursts was increased in a concentration-dependent manner, which means that these hiPSC-neurons can be applied for the seizure risk prediction. We also established the immunocytochemical protocols optimal for MEA samples. Co-localization of synapsin1 and PSD95 was clearly detected in these samples, indicating that mACM enhances synaptogenesis. mACM also converted the drebrin isoform to the mature type. Furthermore, we found the hiPSC-neuron line that attain synaptic maturation in a shorter period than before.

**Development of the protocols that enhance functional maturation on hiPSC-neurons:** We have made a candidate list for the factors that enhance the neural circuit formation based on the IPA analysis, NGS analysis, and the analysis of the releasing factors of hiPSC-neurons cultured with mACM. We also found the markers that can be used for the judgement of the maturation stage of the samples. Astrocyte-releasing factor X significantly increased the neurite extension of hiPSC-neurons. Astrocyte-releasing factor GPC6 increased the membrane localization of NMDA receptors and made hiPSC-neurons responsive to excitotoxicity. When hiPSC-neurons were cultivated on hippocampal slices, hiPSC-neurons on the CA1 pyramidal layer obtained the morphological phenotype similar to CA1 pyramidal neurons and spinogenesis.

### ③ Protocol adjustment of *in vitro* pharmacological test methods for cognitive disorders and abnormal neuronal activities.

Because the feasibility of *in vitro* pharmacological test methods for abnormal neuronal activities is increased, we attempted to generalize the protocols based on the data of test compounds (positive control: picrotoxin, 4-AP; negative control: triazolam; high risk drug: theophillin; low risk drug: aspirin). We also developed the data analysis application software to generalize MEA data analysis protocols. To quantify seizure risks, we have to quantify the synchronous activities recorded by 64 electrodes. We have shown that the summation of the number of spikes recorded by 64 electrodes is useful to monitor the sustained synchronization. We could detect the concentration-dependent changes of these parameters by the test compounds described above.

### ④ Inter-facility validation of the protocol of *in vitro* pharmacological test methods for abnormal neuronal activities.

In cooperation with CSAHi and the supporting companies, we performed inter-facility validation of the protocol of *in vitro* pharmacological test methods for abnormal neuronal activities. mACM is not suitable for the validation study owing to the large variance, we employed commercially-available hiPSC derived astrocytes and adjusted the protocols. Mixed culture of hiPSC-neurons and hiPSC-astrocytes enabled all facilities to induce the spontaneous neuronal activities and synchronous bursts among 64 channels. The enhancement of the synchronous bursts by the positive test compounds were also confirmed in all facilities.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 2 件）

1. ★Sato K, Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Chujo K, Sekino Y, (2016) Glypican 6 increases the level of functional N-Methyl-D-aspartate receptors in human induced pluripotent stem cell derived neurons, *Front Cell Neurosci*, 15 November 2016, doi: 10.3389/fncel.2016.00259. (C.A.)
2. 佐藤 薫、神経系非臨床試験のヒト予測性向上への挑戦—人工知能 (AI) およびヒト神経細胞マテリアルの可能性、*薬事日報* 2017. 3. 17
3. Gao M, Igata H, Takeuchi A, Sato K, Ikegaya Y, (2017) Machine learning-based prediction of adverse drug effects: an example of seizure-inducing compounds, *J Pharmacol Sc*, 133, 70-8.

★については別刷添付

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 佐藤 薫、Opening remarks—神経系非臨床試験のヒト予測性向上への挑戦、日本薬学会第 137 年会シンポジウム「神経系非臨床試験のヒト予測性向上への挑戦—AI 及びヒト神経細胞マテリアルの可能性」(オーガナイザー) (2017.3) (仙台市)
2. 佐藤 薫、アストロサイト由来因子によるヒト iPS 細胞由来神経細胞における NMDA 受容体機能亢進、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2016 (2016. 8) (仙台市)
3. 清水英雄、小針彩奈、須知由未子、関口敬洋、花村健次、白尾智明、田辺光男、関野祐子、佐藤 薫、ベンゾジアゼピン系薬剤の培養海馬神経細胞シナプス数に対する作用—医薬品の中樞神経系有害反応予測のための新規 *in vitro* 評価系確立の試み、第 90 回 日本薬理学会年会 (2017.3) (長崎市)
4. 高橋華奈子、重本一最上由香里、中條かおり、干川和枝、関野祐子、佐藤 薫、ヒト iPSC 由来神経細胞標本における NMDA 受容体由来興奮毒性感受性の評価について、第 90 回 日本薬理学会年会 (2017.3) (長崎市)
5. Shimizu H, Kohari A, Suchi Y, Sekiguchi T, Hanamura K, Shirao T, Tanabe M, Sekino Y, Sato K, An attempt to establish a synapse imaging-based *in vitro* evaluation system to predict adverse effects of new drugs on cognition of new drugs, 第 59 回日本神経化学大会 (2016. 9) (Fukuoka)
6. Sato K, Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Chujo K, Sekino Y, Astrocyte-derived factor enhances NMDA receptor functions in human induced pluripotent stem cell-derived neurons, 第 59 回日本神経化学大会 (2016. 9) (Fukuoka)
7. Shigemoto-Mogami Y, Sato K, Hoshikawa K, Shimizu H, Kikura-Hanajiri R, Hakamatsuka T, Sekino Y, A new assay method for the pharmacological activities of N-methyl-D-aspartate-type receptor antagonists detected in illegal products, 第 59 回日本神経化学大会 (2016. 9) (Fukuoka)
8. Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Shimizu H, Chujo K, Hoshikawa K, Okada Y, Okano H, Sekino Y, Sato K, Study about the sensitivities of human induced pluripotent stem cell-derived neurons to excitotoxicity and apoptosis, 第 39 回日本神経科学大会 (2016. 7) (横浜市)
9. Yamazaki H, Arayama Y, Ishizuka Y, Sato K, Sekino Y, Shirao T, Thrombospondin-1 induces an axon formation in early developmental stage of human iPS cell-derived neuron, 第 39 回日本神経科学大会 (2016. 7) (横浜市)

10. Gao M, Sato K, Ikegaya Y, Preclinical in vitro prediction for the CNS adverse actions of drugs: a study in the iNCENS project, 第 39 回日本神経科学大会 (2016.7) (横浜市)
11. Miyamoto N, Sato K, Sawada K, Epileptogenic response generation in induced human pluripotent stem cell-derived neurons by humoral factor from astrocytes-trial for drug-induced seizure risk assessment system, 第 39 回日本神経科学大会 (2016.7) (横浜市)
12. 阿部浩幸、岡村 愛、白川誉史、白川敬一、佐藤 薫、宮本憲優、板野泰弘、山本 渉、ヒト iPS 細胞由来神経細胞を用いた微小電極アレイシステムによる痙攣・てんかん評価法確立の試み—CSAHi 神経チーム、第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016. 6) (名古屋市)
13. Sato K, Takahashi K, Shigemoto-Mogami Y, Chujo K, Sekino Y, Astrocyte-derived factor increases the level of functional N-methyl-D-aspartate receptors in human induced pluripotent stem cell-derived neurons, SPS2016, oral communication and poster (2016. 9) (Vancouver, Canada)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 佐藤 薫、ヒト iPS 神経細胞で薬の副作用を予測する、再生医療の実用化に関するニーズ発表会 (2017. 2) (神戸市)
2. 佐藤 薫、iCell GlutaNeuron の培養コーティング条件が受容体発現および神経細胞分化におよぼす影響、CSAHi-CDIJ 先行評価報告会 (2016. 11) (東京都)
3. 佐藤 薫、薬はどのように創られるか、群馬大学医学部応用基礎医学講義 (2016. 9) (前橋市)
4. 佐藤 薫、ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 *in vitro* 医薬品安全性評価法の開発、AMED 「再生医療プログラム間連携のための情報交換会」 (2016. 5) (東京都)
5. 佐藤 薫、ヒト iPS 細胞由来神経細胞の中枢神経系副作用リスク評価への応用可能性、シンポジウム 培養神経細胞の可能性「医薬品開発への応用を目指したモデル細胞の構築とその応用」 (2016.5) (大阪市)

(4) 特許出願

該当無し

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名： (日本語) ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 *in vitro* 医薬品安全性評価法の開発  
(英語) iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System Project: iNCENS

研究開発担当者 (日本語) エーザイ株式会社 筑波研究所 バイオフィーマシューティカル・アセスメント機能ユニット 主幹研究員 宮本 憲優

所属 役職 氏名： (英語) Biopharmaceutocal Assessment Core Function Unit, Tsukuba Research Laboratories, Eisai Co., Ltd., Senior Principal Scientist, Norimasa Miyamoto

実施期間： 平成 28年 4月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) グリア細胞を利用した神経回路形成及び多点平面電極システムによる安全性評価試験法の確立

開発課題名： (英語) Neuronal circuit generation by the application of glial cells and establishment of the safety assessment methods by microelectrode array system

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者： 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第一室長 佐藤薫 総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 3件、国際誌 0件)

1. ヒト幹細胞技術の薬剤安全性応用に向けた製薬企業の取り組み. 宮本憲優. バイオマテリアル-生体材料-. 2015, 33, 206-11.
2. ヒト iPS 細胞技術を用いた薬剤誘導リスク評価への取り組みと課題. 宮本憲優. Pharmstage. 2015, 15, 5-9.
3. ヒト iPS 細胞由来分化細胞の安全性薬理試験への応用. 宮本憲優. 実験医学. 2016, 34, 557-63.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Characterization of synaptic transmission induced synchronized population bursts of the iPSC-derived neurons, ポスター, MIYAMOTO N, OJIMA A, SAWADA K, The 3rd Annual CDI User Group Meeting, ボストン, 米国, 2014/8/12, 国外.
2. The application of iPSC-derived differentiated cells for drug safety evaluation, 口頭, MIYAMOTO N, International Society for Neurochemistry Satellite Symposium, 東京大学弥生講堂, 2014/9/23, 国内.
3. Characterization of synaptic transmission induced synchronized population bursts of the iPSC-derived neurons, ポスター, 宮本憲優, 小島敦子, 澤田光平, CBI 学会 2014 年大会, タワーホール船堀, 2014/10/28, 国内.
4. ヒト iPS 細胞応用安全性評価コンソーシアムでの取り組み及び今後の課題, 口頭, 宮本憲優, 第 11 回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム, 日本薬学会長井記念館長井記念館ホール, 2014/12/9, 国内.
5. Characterization of synaptic transmission induced synchronized population bursts of the iPSC-derived neurons, ポスター, MIYAMOTO N, OJIMA A, SAWADA K, The 18th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience, 武田薬品工業研修所, 2015/1/15, 国内.
6. Characterization of synaptic transmission induced spontaneous synchronized burst spikes of the iPSC-derived neurons, ポスター, 宮本憲優, 小島敦子, 澤田光平, 日本安全性薬理研究会 第 6 回学術年会, 東京大学弥生講堂, 2016.2/20, 国内.
7. Initiatives of the application of human iPS cell-derived cells for drug safety evaluation: from academia to industry, 口頭, MIYAMOTO N, Initiation Seminar of Doctral Program in Biomedical Science, セミナーハウス常総, 2015/4/17, 国内.
8. ヒト iPS 細胞技術の安全性評価応用に向けた製薬企業の取り組み: 基礎研究から産業応用へ, 口頭, 宮本憲優, 熊本分子機能薬学研究会 2015, 熊本大学薬学部, 2015/5/9, 国内
9. 創薬研究における iPS 細胞の活用の実例「疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究」と薬剤の CV リスクなどの安全性評価への利用, 口頭, 吉松賢太郎, 宮本憲優, Dialogue 10th Anniversary Semina, 御茶ノ水ソラシティ, 2015/6/15, 国内.
10. and global trend, and global cooperation, 口頭, MIYAMOTO N, 第 42 回日本毒性学会学術年会シンポジウム I, 石川県立音楽堂, 2015/6/29, 国内.
11. ヒト iPS 細胞由来神経細胞のグルタミン酸応答に関する基礎検討, ポスター, 宮本憲優, 齋藤文代, 近藤卓也, 松田純一, 土山博美, 森川崇, 檜杖正則, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 石川県立音楽堂, 2015/7/1, 国内.
12. 薬剤安全性評価への応用と世界動向, 口頭, 宮本憲優, タカラバイオ技術セミナー, コクヨホール, 2015/7/16, 国内.
13. 人工多能性幹細胞由来神経細胞のシナプス伝達による同期した集合バースト発火の誘導と性状解析, 宮本憲優, 小島敦子, 澤田光平, 第 58 回日本神経化学大会, 大宮ソニックシティー, 2015/9/13, 国内.
14. ヒト iPS 細胞由来分細胞を利用した創薬応用の現在と将来, 口頭, 宮本憲優, 和光セミナー, 和光純薬工業本社, 2015/9/14, 国内.
15. Humoral Factor from Rodent Astrocytes Promoted the Synaptic Transmission and Augmented Synchronized Population Bursts in Human Induced Pluripotent Stem Cell - derived Neurons, ポスター, MIYAMOTO N, SAWADA K, プラハ, チェコ共和国, 2015/9/28,

国外.

16. Induction and characterization of synaptic transmission induced synchronized population bursts of the induced pluripotent stem cell-derived neurons, MIYAMOTO N, OJIMA A, SAWADA K, Society for Neuroscience 2015, シカゴ, チェコ共和国, 2015/10/20, 国外.
17. CSAHi 概要, 口頭, 宮本憲優, 第 6 回スクリーニング学研究会, 大宮ソニックシティー, 2015/11/27, 国内.
18. iPS 細胞由来分化細胞の安全性薬理試験への応用, 口頭, 宮本憲優, 再生医療実用化研究事業 [難治性疾患創薬シーズの探索と薬剤安全性評価法開発]・[外来因子フリー難病由来 iPS 細胞のライブラリー構築とそれを使った疾患モデルと薬剤開発]・再生医療実現拠点ネットワークプログラム [疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究] 合同シンポジウム~科学者達による挑戦~iPS 細胞を用いた疾患・創薬研究プログラム, 東京国際フォーラム, 2015/12/14, 国内.
19. 安全性薬理試験におけるヒト iPS 細胞由来心筋細胞を使った新規試験法開発の意義, 口頭, 宮本憲優, 澤田光平, 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, よみうり大手町ホール, 2016/2/1, 国内.
20. Humoral Factor from Rodent Astrocytes Promoted the Synaptic Transmission and Augmented Synchronized Population Bursts in Human Induced Pluripotent Stem Cell - derived Neurons, ポスター, MIYAMOTO N, SAWADA K, 55th Annual Meeting of Society of Toxicology, ニューオリンズ, 米国, 2016/3/15, 国外.
21. Epileptogenic response generation in induced human pluripotent stem cell-derived neurons by humoral factor from astrocytes - trial for drug-induced seizure risk assessment system, ポスター, MIYAMOTO N, SATO K, SAWADA K, 39th Japan Neuroscience Society 2016, パシフィコ横浜, 2016/7/22, 国内.
22. Trial for Drug-induced Epileptogenic Phenotype Classification in Primary Rodent neurons and Human Induced Pluripotent Stem Cell - derived Neurons, ポスター, MIYAMOTO N, KADOWAKI T, SAWADA K, Safety Pharmacology Society (SPS) 16th Annual Meeting, バンクーバー, カナダ, 2016/9/19, 国外.
23. Trial for Drug-induced Epileptogenic Phenotype Classification in Primary Rodent neurons and Human Induced Pluripotent Stem Cell - derived Neurons ポスター, MIYAMOTO N, KADOWAKI T, SAWADA K, Society for Neuroscience Annual Meeting 2016, サンディエゴ, 米国, 2016/11/12, 国外.
24. ヒト iPS 細胞由来細胞の薬物誘発リスク評価に向けた応用例と世界情勢, 口頭, 宮本憲優, CiRA セミナー, 京都大学 iPS 細胞研究所, 2017/1/4, 国内.
25. Trial for drug-induced epileptogenic phenotype classification in primary rodent neurons and human induced pluripotent stem cell - derived neurons using burst pattern and burst onset time cross-correlogram analysis of MEA data, ポスター, MIYAMOTO N, SHIRAKAWA K, SAWADA K, 日本安全性薬理研究会 第 8 回学術年会, 東京大学弥生講堂, 2017/2/10, 国内.
26. Trial for drug-induced epileptogenic phenotype classification in primary rodent neurons and human induced pluripotent stem cell-derived neurons using burst onset time cross correlogram and deep learning, ポスター, MIYAMOTO N, KITAMURA T, SHIRAKAWA K, OSADA T, KADOWAKI T, SAWADA K, Society of Toxicology Annual Meeting 2017, バルチモア, 米国, 2017/3/16, 国外.
27. MEA と AI を利用した、ラット初代培養神経細胞及びヒト iPS 細胞由来神経細胞の薬物応答デ



ータ解析の試み，口頭，宮本憲優，日本薬学会第137年会，仙台国際センター，2017/3/25，国内.

28. ヒト iPS 細胞応用安全性コンソーシアム(CSAHi)の新体制と今後の計画，口頭，宮本憲優，iPS ビジネス協議会 第23回情報交換会，京都リサーチパーク，2017/3/30，国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名：(日本語) ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 in vitro 医薬品安全性評価法の開発  
(英語) iPSC Non-Clinical Experiments for Nervous System Project: iNCENS

研究開発担当者 (日本語) 大学院医学系研究科医科学専攻 教授 白尾 智明

所属 役職 氏名：(英語) Gunma University Graduate School of Medicine, Professor, Tomoaki Shirao

実施期間：平成 26 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) ヒト iPS 細胞由来神経細胞等のシナプス機能の定量的評価法の開発と医薬品安全性評価への応用

開発課題名：(英語) Development of the quantitative evaluation methods for synaptic functions of human induced pluripotent stem cell-derived neurons and their application to the safety assessment of medical drugs.

研究開発分担者 (日本語) 大学院医学系研究科医科学専攻 教授 白尾 智明

所属 役職 氏名：(英語) Gunma University Graduate School of Medicine, Professor, Tomoaki Shirao

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所・薬理部・佐藤薫 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 3 件、国際誌 4 件)

1. Anggraeni P, Koganezawa N, Ishizuka Y, Kojima N., Tanaka N, Nakano T, Shirao T “X-irradiation induces acute cognitive decline via transient synaptic dysfunction.” Rad. Res. 185, 423-430 (2016)

2. Kojima N, Yasuda H, Hanamura K, Ishizuka Y, Sekino Y, Shirao T. “Drebrin A regulates hippocampal LTP and hippocampus-dependent fear learning in adult mice” *Neuroscience*. 324: 218–226 (2016)
3. 小金澤紀子, 白尾智明 「ドレブリン」 脳科学辞典 DOI:10.14931/bsd.7254 (2016)
4. 花村健次, 白尾智明 「ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた医薬品の副作用予測」、iPS 細胞の安全・高品質な作製技術 技術情報協会 pp. 170–174 (2016)
5. 小金澤紀子, 花村健次, 白尾智明, 「ヒト iPS 細胞由来神経細胞を用いた医薬品評価系の現状について」*日本薬理学雑誌* (2017) 149: 104–109
6. Shirao T, Hanamura K, Koganezawa N, Ishizuka Y, Yamazaki H, Sekino Y. “[The role of drebrin in neurons](#)” . *J. Neurochem.* (2017) 10.1111/jnc.13988
7. Li B, Ding S, Feng N, Mooney N, Ooi YS, Renf L, Diep J, Kelly MR, Yasukawa LL, Patton JT, Yamazaki H, Shirao T, Jackson PK, Greenberg HB. “Drebrin restricts rotavirus entry by inhibiting dynamin-mediated endocytosis.” *Proc Natl Acad Sci U S A*, (2017) Apr 17. pii: 201619266. doi: 10.1073/pnas.1619266114.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. “Immunohistochemical assay for CNS synaptic dysfunction using cultured neurons.” in the symposium “Immunohistochemical Assay for Central Nervous System Synaptic Dysfunction Using Cultured Neurons.” 口演、Tomoaki Shirao. The 16<sup>th</sup> Annual Meeting of Safety Pharmacology Society. Vancouver, BC, Canada, September 18–21, 2016 国外
2. “Nanoscale organization of synaptic proteins revealed by super-resolution imaging.” ポスター、Noriko Koganezawa, Shuchuan Miao, Yuko Sekino, Tomoaki Shirao, The 10th FENS Forum of Neuroscience, Copenhagen, Denmark July 2–6, 2016 国外
3. “Amyloid beta induced drebrin loss from synapses via histone deacetylase activity.” ポスター、Tomoaki Shirao and Yuta Ishizuka, The 10th FENS Forum of Neuroscience, Copenhagen, Denmark July 2–6, 2016 国外
4. “Toxic Effects of Astemizole on Neurite Growth and Synaptogenesis of CNS neurons” ポスター、Tomoaki Shirao, Noriko Koganezawa, Yuta Ishizuka, Hiroyuki Yamazaki, Kenji Hanamura, Yuko Sekino, The 55th Annual Meeting of Society of Toxicology, New Orleans LA, USA, March 13–17, 2017, 国外.
5. “Primary cultured hippocampal neurons prepared from drebrin knockout mice show the less immunoreactivity of MAP2 and NMDA subunits.” ポスター、Noriko Koganezawa, Yuki Kajita, Kenji Sakimura, Tomoaki Shirao. The 6th International Society of Radiation Neurobiology Conference, Nagasaki, Japan, February 12–13, 2016 国内
6. “HDAC inhibitors prevent synaptic dysfunction elicited by X-irradiation.” ポスター、Takashi Hiruma, Noriko Koganezawa, Puspitasari Anggraeni, Tomoaki Shirao. The 6th International Society of Radiation Neurobiology Conference, Nagasaki, Japan, February 12–13, 2016 国内

7. 「グリアアセンブリにおける Drebrin–connexin 43 相互作用に関する研究」ポスター、石塚 佑太、山崎博幸、白尾 智明、第 59 回日本神経化学学会大会、福岡、2016 年 9 月 8 日～10 日、国内
8. 「シナプスイメージングに基づき医薬品の認知機能影響リスクを予測する in vitro 評価系確立の試み」清水英雄、小針彩奈、須知由未子、関口敬洋、花村健次、白尾智明、田辺光男、関野祐子、佐藤薫、第 59 回日本神経化学学会大会、福岡、2016 年 9 月 8 日～10 日、国内
9. 「Thrombospondin-1 induces an axon formation in early developmental stage of human iPS cell-derived neuron」ポスター、Hiroyuki Yamazaki、Yuki Arayama、Yuta Ishizuka、Kaoru Sato、Yuko Sekino、Tomoaki Shirao、第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 20 日～22 日、国内
10. 「スパイン内のドレブリンの安定性は発達期のアイソフォーム変換によりアクチン細胞骨格依存的に増加する」ポスター、花村健次、白尾 智明、第 39 回日本神経科学大会 2016 年 7 月 20 日～22 日、国内
11. 「培養神経細胞を用いた認知症モデルとその創薬応用の可能性」AMED 再生医療実用化建久事業 シンポジウム 培養神経細胞の可能性「医薬品開発への応用を目指したモデル細胞の構築とその応用」、口演、白尾智明、千里ライフサイエンスセンター、大阪 2016 年 5 月 27 日、国内
12. 「培養神経細胞を用いたハイコンテンツイメージングによるシナプスの解析」ポスター、岡文朗、花村 健次、白尾 智明、第90回日本薬理学会年会、長崎、2017年3月15日、国内
13. 「ベンゾジアゼピン系薬剤の培養海馬神経細胞シナプス数に対する作用—医薬品の中  
枢神経系有害反応予測のための新規 in vitro 評価系確立の試み」ポスター、清水英雄、小針彩奈、須知由未子、関口敬洋、花村健次、白尾智明、田辺光男、関野祐子、佐藤薫、第90回日本薬理学会年会、長崎、2017年3月17日、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当無し

(4) 特許出願  
該当無し

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業  
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名：(日本語) ヒト iPS 細胞由来神経細胞等を用いた新規 *in vitro* 医薬品安全性評価法の開発  
(英語) iPS-non clinical experiments for nervous system (iNCENS) project

研究開発担当者 (日本語) 大学院薬学系研究科 教授 池谷 裕二  
所属 役職 氏名：(英語) The University of Tokyo, Professor, Yuji IKEGAYA

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 脳疾患を再現した *in vitro* 実験系におけるヒト iPS 細胞由来神経細胞等の構造・機能の解析  
開発課題名：(英語) Analysis of the structures and functions of human induced pluripotent stem cell-derived neurons in *in vitro* experimental models that mimic the CNS diseases.

研究開発分担者 (日本語) 大学院薬学系研究科 教授 池谷 裕二  
所属 役職 氏名：(英語) The University of Tokyo, Professor, Yuji IKEGAYA

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 第一室長 佐藤薫 総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. Gao M, Igata H, Takeuchi A, Sato K, Ikegaya Y. Machine learning-based prediction of adverse drug effects: an example of seizure-inducing compounds. J. Pharmacol. Sc., 2017, 133, 70-8.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 薬物の中樞神経系に対する有害作用を予測する前臨床 *in vitro* スクリーニング系, ポスター, 高夢璇, 佐藤薫, 池谷裕二, 第 39 回日本神経科学大会, 2016/7/20
2. 人口知能による画像認識を用いた薬物副作用の予測, 口頭, 高夢璇, 井形秀吉, 佐藤薫, 池谷

裕二, 第 135 回日本薬理学会関東部会, 2016/10/8, 国内

3. Preclinical In vitro prediction for the seizure-inducing side effects of drugs, ポスター, Gao M, Sato K, Ikegaya Y, Society for Neuroscience 2016/11/15, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 基調講演「脳を考える」, 池谷裕二, 脳とこころの研究第2回公開シンポジウム, 2017/3/11

(4) 特許出願

なし