

HAB NEWS LETTER

心をつなぐ命の科学

Human & Animal Bridging

Vol.23 No.1 2016 09 28

C O N T E N T S

1. <巻頭言>

薬物動態研究の将来展望

医薬品開発支援機構・池田 敏彦

2. <オピニオン>

- (1) 国立障害者リハビリテーションセンター病院・田島 世貴
- (2) 京都薬科大学・野崎 亜紀子
- (3) 東京薬科大学・平野 俊彦

3. 第 23 回 HAB 研究機構学術年会の報告

- (1) 第 23 回 HAB 研究機構学術年会を終えて
- (2) 招待講演 I ～IV
- (3) シンポジウム I「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線-1」
- (4) シンポジウム II「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線-2」
- (5) シンポジウム III「*In vitro* 試験系による肝毒性の予測・評価法研究」
- (6) シンポジウム IV「毒性を評価するためのヒト化動物」
- (7) ランチョン・プレゼンテーション

4. 市民公開シンポジウムの報告

5. <連載>

- (1) 毒性学研究の現状と将来
第 2 話 毒性学の課題 - 毒性発現機序の解明 -
薬剤師認定制度認証機構代表理事・吉田 武美
- (2) 学会の思い出話
HAB 学会の歩みと連結して発展してきた薬物動態 IVIVE
理化学研究所・杉山 雄一

6. HAB 研究機構 会員の頁

- (1) 千葉大学大学院・榎坂 章博、佐藤 洋美、畠山 浩人
- (2) 大鵬薬品工業株式会社・千葉 雅人

7. 会議議事録

8. お知らせ

事務局閉所・業務統合のお知らせ



特定非営利活動法人 (N.P.O.)

エイチ・エー・ビー 研究機構

HAB NEWS LETTER

Human & Animal Bridging Vol.23 No.1 2016 09 28

C O N T E N T S

1. <巻頭言>

薬物動態研究の将来展望

池田 敏彦 (医薬品開発支援機構) ————— 2

2. <オピニオン>

(1) 睡眠不足が引き起こす子どもの社会適応不全と慢性疲労に必要な医療とは

田島 世貴 (国立障害者リハビリテーションセンター病院) — 5

(2) HAB 第2次人試料委員会に参加して

野崎 亜紀子 (京都薬科大学) ————— 7

(3) 創薬研究における臓器保存液開発の重要性—保存時間を永らえるには—

平野 俊彦 (東京薬科大学) ————— 10

3. 第23回 HAB 研究機構学術年会の報告

(1) 第23回 HAB 研究機構学術年会を終えて

菅沼 彰純 (エーザイ株式会社) ————— 12

(2) 招待講演

Ⅰ 薬物性肝障害—薬物代謝、免疫、炎症との関係—

横井 毅 (名古屋大学大学院) ————— 15

Ⅱ 薬物性肝障害の実態

滝川 一 (帝京大学医学部) ————— 16

Ⅲ How do reactive metabolites lead to an immune response that can result in an idiosyncratic drug reaction?

Jack Uetrecht (University of Toronto) ————— 18

Ⅳ エクソソーム研究がもたらす未来の再生医療像とは

落谷 孝弘 (国立がん研究センター研究所) ————— 19

(3) シンポジウムⅠ：「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線—1」 ————— 21

1) 細道 一善 (金沢大学)

2) 平沢 真 (第一三共株式会社)

3) 山浦 優 (アステラス製薬株式会社)

(4) シンポジウムⅡ：「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線—2」 ————— 24

1) 竹下 潤一 (産業技術総合研究所)

2) 長谷川 洵 (田辺三菱製薬株式会社)

3) Sharin E. Roth (Otsuka Pharmaceutical Development & Commercialization, Inc.)

(5) シンポジウムⅢ：「*In vitro* 試験系による肝毒性の予測・評価法研究」 ————— 28

1) 鈴木 淳史 (九州大学生体防御医学研究所)

2) 酒井 康行, Eric Leclerc (東京大学生産技術研究所)

3) 松崎 典弥 (大阪大学大学院)

4) 関根 秀一 (千葉大学大学院)

5) 石田 誠一 (国立医薬品食品衛生研究所)

(6) シンポジウムⅣ：「毒性を評価するためのヒト化動物」 — 31

1) 香月 康宏 (鳥取大学大学院)

2) 小林 カオル (千葉大学大学院)

3) 立野 知世 (株式会社フェニックスバイオ)

4) 成富 洋一 (アステラス製薬株式会社)

5) 大西 保行 (インビボサイエンス株式会社)

6) 山崎 浩史 (昭和薬科大学)

(7) ランチョン・プレゼンテーション ————— 36

4. 市民公開シンポジウムの報告 ————— 38

5. <連載>

(1) 毒性学研究の現状と将来

第2話 毒性学の課題—毒性発現機序の解明—

吉田 武美 (薬剤師認定制度認証機構代表理事) — 40

(2) 学会の思い出話

HAB 学会の歩みと連結して発展してきた薬物動態ⅣⅣⅣ

杉山 雄一 (理化学研究所) ————— 48

6. HAB 研究機構 会員の頁

(1) 千葉大学大学院薬学研究院 臨床薬理学研究室の紹介
樋坂 章博、佐藤 洋美、畠山 浩人 (千葉大学大学院) — 51

(2) 大鵬薬品工業株式会社・研究本部・薬物動態研究所の紹介
千葉 雅人 (大鵬薬品工業株式会社) ————— 54

7. 会議議事録 ————— 56

(1) 第35回理事・監事会議事録 (抜粋)

(2) 第36回理事・監事会、第14回評議員会合同会議
事録 (抜粋)

(3) 第14回総会議事録 (抜粋)

8. お知らせ ————— 60

編集後記

1. <巻頭言>

薬物動態研究の将来展望

医薬品開発支援機構 代表理事

池田 敏彦

丁度 10 年前の 10 月、筆者は日本薬物動態学会の年会を主催した。その際、機器展担当の人から「他の学会は軒並み縮小気味なのに、貴学会はますます規模を拡大していてすごいですね」と言われたことを記憶している。当時、医薬品開発は世界的に停滞気味で、その原因の一つは、強い薬効を求めることに腐心するあまり、溶媒に不溶で吸収もされない化合物、いわゆる drug-likeness を欠いた物質が選択されてしまっていたことであった。この反省の上に立ち、製薬会社では開発早期段階での研究を強化し、薬物動態特性の改良を盛んに行っていた時期であった。研究用ヒト組織に対する需要も今まで以上に高まり、HAB 研究機構への依頼も大幅に増加していたのである。その波及効果か、薬物動態学会には多くの人が集まってきた。サイエンスにおいても、すでに何人もの国際的に有名な日本人研究者が、シトクロム P450 をはじめとする薬物代謝酵素やトランスポーター研究において、指導的な役割をはたしてきており、若手の研究者が次々と育っていた頃である。学会の隆盛は必然のものであったと言える。

しかし、物事はいつもじわじわと別の状態に遷移していくのが常である。現在では、創薬早期段階の薬物動態研究は、考え

方も方法論もほぼ成熟し、作業が自動化されてきている。そして、承認申請データを取るための試験と同様に、多くの仕事が試験委託会社に外部発注されるようになってきた。要するにルーチン化したのである。結果として最近では、薬物動態特性の不良は、医薬品開発が失敗に終わる最大の原因ではなくなり、代わって毒性の問題が浮上してきている。現状、薬物動態研究所には新しいスクリーニング法を開発するような仕事は残っているものの、智慧を絞らなくてはいけない研究的課題が減ってきている。また、抗体医薬品に代表されるように、低分子化合物向けの手法が適用しにくい医薬品が出現してきたせいで、従来型研究の比重が低下してもいる。このような状況から、薬物動態研究所の要員が徐々に創薬基盤研究部門に移行し始めており、近い将来には研究所の名称も変更されるのではないかと予想されている。

アカデミアにおいても、かつて、分子生物学的手法が導入され、シトクロム P450 やトランスポーターの遺伝子構造が次々に明らかにされた時代には、眼前に洋々たる研究テーマの大海原が広がっているような感覚を覚えたものであるが、それはもう過去の話である。確かに傾向として、従来型の薬物動態学研究は、若い研究者にとって

少しずつ魅力が薄れてきつつあると言えるであろう。薬物動態研究は新しい方向性を探らなくてはいけない時期に突入したと言えることができる。

それでは、これからいったい何を目指して進むべきなのか？残念ながら、このような問題に対して確立された方法論はないのに等しい。特に若い研究者は焦燥感を覚えることであろう。一つだけ確信を持って言えることは、とにかく自分が今までやってきた、あるいはやろうとしている研究分野でエキスパートになる努力は最低限、必要だということである。目新しいことに夢中になり、しょっちゅう研究テーマを変更しては良い仕事はできない。根無し草のようなものである。時間をかけて一点に集中することをやらなければ、研究に必要とされる洞察力を育てることは難しい。自分の中で培われたバックグラウンドがあっちはじめて研究を力強くリードできるようになるものである。今やるべきことを地道にこなしつつ、かつ日常性に埋没することなく、新しいものに目を光らせながら、徐々に自分の研究に取り込んでいく努力を継続することが大事である。単なる努力ではなく、継続した努力である。

閑話休題、最近の薬物動態学分野の潮流を国際薬物動態学会（ISSX）などが主催する学会でのテーマやタイトルを通して、大まかに見てみたい。ゴードン会議のプログラムには Precision medicine というキーワードがあった。一時期、テーラーメイド医療あるいは個人化医療と言われたものを、患者それぞれの遺伝的特性に応じてさらに精密なものに進化させたものである。まだまだ個人化医療は完成されているとは

言い難く、研究の広がり期待される分野である。同時に、Endogenous Biomarkersという言葉も認められた。バイオマーカーは薬の効果や副作用を知るうえで欠かせないものになっている。薬物動態研究者は、バイオマーカー研究に必須である分析法に長けている。これから目指すものの一つとなると考えられる。薬効のあった、あるいはなかった患者に対して、メタボロミクスを適用した Pharmacometabolomics という新しい言葉も認められた。バイオマーカーを使った個人化医療の最先端であろう。ISSX のワークショップでは Human Clearance and Pharmacokinetics がテーマであった。将来においても動物データからヒトにおける薬物動態（PK）を予測することは重要な課題であり続ける。これを更に進めればヒトにおける薬効（Pharmacodynamics, PD）をも予測できることになる。PK/PD 解析や Modeling & Simulation も薬物動態研究者の永年の課題である。ヒトにおける吸収・分布・代謝・排泄（ADME）の予測は今までの課題であったが、将来は薬効・毒性（Pharmacodynamics・Toxicodynamics）も加えてヒト ADMED（ADME+Dynamics）予測が目標となるであろう。インドで開催される ISSX 国際会議では多くのテーマが掲げられているが、Mechanisms of Drug Induced Toxicity が一つのテーマである。薬物動態学に限らず、学問が深化してくると学際領域での研究へと進展していくことが多い。毒性学や再生医療学は薬物動態研究者にとって学際的研究を行うのに適している学問分野と言える。前述のごとく、医薬品開発が失敗に終わったもっとも大きな要因は、今や毒性である。特に、動物では

再現できない特異体質性薬物毒性が問題となっているが、その原因は反応性代謝物の生成とそれに続く免疫反応であるという考え方が主流である。免疫の問題は、過去に何人ものノーベル賞受賞者が生まれた魅力あふれる研究分野であり、毒性に関連した研究課題は豊富に見つかるであろう。特に、メタボロミクスやマイクロRNA-トランスクリプトミクスなど、従来とは異なった観点と手法を応用することにより、多くの成果が挙げられることが期待される。Organ-on-a-Chip World Congress & 3D-Culture というような会議の案内も見つかった。そこではマイクロ流体力学的手法を用いて、臓器をチップ上に構築し (Organ-on-a-Chip)、さらには人体機能も再現する (Body-on-a-Chip) ことが議論される。ヒトに薬物を投与後の血中濃度がチップを用いて調べることが可能になるかも知れない。なんとも想像もつかない技術が出現したものである。

以上は、インターネットで直近の国際学会の情報を集めた結果の一部である。机に

向かっているだけで多くの情報が集められるのであるが、こうした座学では一つ一つの情報の重みと将来性を知ることは難しい。やはり、外国へ留学するなり、それが難しければ実際に国際学会に参加して直に熱気を感じてくることが重要である。学会で取り上げられてもだんだん衰退し、消滅していくテーマもないわけではない。ある程度時間をかけて慎重に見極めながら知識を集積し、自分の研究に取り込む作業をしていくしかないであろう。これは何もアカデミアに限ったことではない。外国には最先端技術を見いだし育成する Emerging Technology 部門を擁する製薬企業が存在する。従来技術のみに頼っている競争に乗り遅れるからである。抗体医薬や融合タンパク質などいわゆる生物学的製剤の成功はこうした努力が実を結んだ結果と言える。以上に述べたような取り組みを多くの人や企業が行うことによって、10年後の薬物動態研究は、薬物動態学に軸足をおきながらも斬新で創造性豊かなものになっているだろうと確信する。

2. <オピニオン>

(1) 小児科領域におけるアンメットメディカルニーズ 睡眠不足が引き起こす子どもの社会適応不全と 慢性疲労に必要な医療とは

国立障害者リハビリテーションセンター病院 小児科

田島 世貴

子どもたちを取り巻く健康問題の中でも、特に医療リソースの整備がなされていないものの一つとして、睡眠医療と慢性疲労状態である慢性疲労症候群に関する医療が挙げられる。そして、睡眠問題や慢性疲労病態と関連が深いものが不登校である。

文部科学省による中学生の不登校原因に関する実態調査結果に目を向けてみよう。平成 13 年の追跡調査では、原因を人間関係（友人、先生、部活、クラス、家族）、学業、学校生活、家庭環境に起因するものとして分類し調査を行った。平成 23～24 年に実施された追跡調査ではこれらの項目に加え、起床困難などの生活リズムの乱れと情報通信技術による影響を原因として取り入れた調査を行っており、子どもたちの実態をよりの確に把握した結果が報告された。この結果で注目すべきは、新しく調査対象とされた項目である生活リズムの乱れが第 2 位（34.7%）の理由としてあげられたことであろう。また、人間関係に関連する項目を原因と回答した割合は例外なく増加していることと、情報通信技術を原因とするものが 15% 以上いることも見逃すことはできない。

不登校の原因についての調査は、不登校者数調査の対象者のうち一部を対象とした結果ではあるが、比較的サンプリング数が大きいため母集団の特性を概ね反映していると仮定しよう。そうすると、平成 18 年度の不登校児のうち生活リズムが問題となる不登校生徒は $103,069 \times 0.347 \div 35,765$ 名と推定される。すなわち中学生だけで毎年 12,000 名前後の生徒が新たに睡眠医療を必要としている可能性があり、実際にその一部は小児科などを受診している可能性がある。しかし、不登校生徒児童を支える現在の医療体制は十分に整備されているとは言い難い。なぜならば、現在の小児科医学教育の中における睡眠医療の比重はほとんど無いに等しく、実際に専門的に医療として取り組んでいる機関はごく少数である。

不登校状態に陥っている児童生徒のほとんどが、行動上の問題として睡眠覚醒リズムが後退する、睡眠不足症候群（Behavioral induced insufficient sleep syndrome; BIIS）に該当する。不適切な睡眠衛生は環境や個人の発達特性など多岐にわたる誘引があるため、それらを評価し、根気強く適切な睡

眠衛生に近づける関わりが必要であるとともに、睡眠覚醒リズムの要とも言えるメラトニンが有効であることも多い。さらに、睡眠覚醒リズムの問題と社会不適応の状態が並存する状況では、選択的 $\alpha 2$ 受容体アゴニストであるカタプレスが有効であることもしばしば経験する。現在メラトニンは規制物質の範疇にあり、かつ本邦での薬物治療の枠組みで承認を得られていないため、医療の現場での活用に制限がある状況である。毎年発生している 12,000 人の睡眠異常を主訴とする患儿に対応するためには、小児科医への啓発に加えて、保険診療で実施可能な薬物治療のエビデンス確立と承認も必要となるだろう。

不登校と小児慢性疲労症候群の関連について目を向けると、上土井らが熊本大学発達小児科を受診した睡眠障害に伴う不登校児について、小児慢性疲労症候群が該当するかどうかを検討した結果、83.6% が非定型を含む小児慢性疲労症候群の診断基準を満たすことを報告している。

小児慢性疲労症候群は成人の慢性疲労症候群と同様、原因不明であり、十分な休養をとっても遷延する、日常生活に著しい支障が生じるほど強度の慢性的な疲労状態が継続する病態をさす。成人の慢性疲労症候群は脳神経系、内分泌系、免疫系の機能バランスが崩れることで生じている症候であると考えられている。脳神経系の機能変調として認知機能・情動・記憶の問題が報告されている。また、自律神経失調症状が高頻度でみられ、特に起立性調節障害が併存することも報告されている。内分泌系の問題としては HPA axis (hypothalamic-

pituitary-adrenal axis) 関連の異常が報告されている。免疫系の問題も、ウイルス感染、マイコプラズマ感染、リケッチア感染などに続発して発症していることや、サイトカインの異常が関係していることなどが報告されている。

近年の研究成果から、慢性疲労症候群における脳内の局所炎症の存在が明らかになりつつあり、オミックス解析からは TCA 回路におけるエネルギー産生性低下を示唆する研究結果も複数出ている。さらに、抗酸化力の問題も本質的問題であることがわかってきている。これらの知見から、小児慢性疲労症候群の病態は、睡眠不足が蓄積することで時計遺伝子の発現に異常を来し、内分泌、エネルギー代謝、自律神経機能、認知等脳高次機能の問題が生じることによって発現すると考えられている。

最終的には、このような病態に陥ることのないよう、十分な睡眠と自尊心が健全に育まれる環境を整え、予防することが重要ではあるが、すでにこのような病態に陥っている患儿をサポートすることも当面は現実的に必要とされている。患儿に共通する心の叫びは、異常な易疲労性、エネルギーの枯渇のため、日常生活に著しい支障をきたすことであるという。抑うつやストレス応答として考えるべき場合も少なくないが、そのように易疲労性を説明できるものが皆無である場合も少なくない。我々は、TCA 回路におけるエネルギー産生を底支えするような介入が一つの解決策になると考えており、今後の研究の発展に期待している。

(2) HAB 第2次人試料委員会に参加して

京都薬科大学

野崎 亜紀子

1. はじめに

HAB 第2次人試料委員会の初回は2014年10月。ほどなく2年が経つ。ミッションは、脳死ドナーからレシピエントへの臓器提供のための臓器摘出時に、研究用に組織等の提供を受け、研究に利用する可能性を追求する、というものだった。冒頭、脳死・臓器移植法の制定、さらには改定を経て脳死体からの臓器移植件数が徐々に増加しつつあることに伴い、心停止後の臓器提供の割合が減少しているとの状況説明があった。第2次委員会に先立つ第1次委員会(2005年12月-)では、心停止後の臓器移植に際して、研究のための組織等の提供問題に焦点が絞られた。黒川答申(1998年)の後、しかしながら臓器移植時の研究用組織等利用システムが十分には機能しない状況は変わらず、また上述の臓器移植の状況を踏まえるならば、脳死・臓器移植時における研究用組織等の利用は、我が国の医薬科学研究上の要請が高いとのことから、上記ミッションへの取り組みが始まったのだ。

医薬科学研究の規律がどのように行われるべきか、そしてまた行われ得るのかは、新たな医薬科学技術の開発応用とともに常に、そして新たに問われつづけている。科学技術は、これまで不可能だったことを可能にしてきた。そしてそのことは、私たちの社会に希望を与える。とりわけ医療と結

びついた医薬科学研究は、その希望が大きなものになるのだろう。

2. 医薬科学研究の規律

このたび、脳死体からの臓器移植時に、脳死体の一部を構成する組織等を研究に利用するためにドナーから提供を受けることを可能にすることを検討するにあたり改めて、この社会が立法によって死後の身体利用を一定の目的の下で許容した初期の検討例である、死体解剖保存法(1949年)、角膜移植に関する法律(1958年)等の制定当時の国会、委員会等の議論を振り返る機会を得た。そこでは人間の死後の身体、またその一部を研究に利用することを法的にどのように認め得るのか、得ないのかが問われた。当時既に、医学研究の必要性和重要性については一定の理解が得られていたのだけれども、当時の議論を紐解くならば、そこで問題とされたのは、医学研究の必要性・重要性があるとしてもなお、人間の死後の身体、またその一部を研究に利用することが果たして、国民の(宗教)感情に適合するのだろうか、であった。生前に本人がそれを許容していたとしても、である。遺族の感情を尊重すること、またそのように遺族の感情を尊重した上で死後の身体の有り様を尊重する事は、国民全体の感情を尊重することであるとの理解が示された。そして死体に対する礼意と、死体およ

びその一部を研究に利用することの有用性との調整が、重大な論点として議論・検討されたのである。

このことは何を意味するのだろうか。

人体およびその一部を研究利用できるとなれば、新たな医薬科学上の知見を得ることができ、そしてそれは新たな医療の可能性を生む。このことはその当時の病者やその家族等に希望を与えるにとどまらず、将来の患者に、そしてまた未来の社会に対して大きな可能性を与え、希望を感じさせたことだろう。しかし同時に、この可能性の拡大とともにある希望は、何らかの懸念と不安とを社会に喚起した。〈果たして、それをして、それを法が認めてよいのだろうか〉と。

立法の如何を検討する場で問われた「人間の死後の身体、またその一部を研究に利用することが果たして、国民の（宗教）感情に適合するのだろうか」という問いは、社会が内包してきた既存の価値観（社会が大事だと思っている価値群）では扱いの難しい、この新しい希望を受容するということが、社会にとって正しいことだとして、如何に受容しようというのか、という問いだったのではないだろうか。技術的に可能なことを、実践できる技術力を持つ人が、その可能性に期待する真摯な人の要請によってなされようとするその時に、なおそれを押しとどめようとする力はどのように生まれ、またそしてそれはなぜ、諸々のルールによって、時に法律によってさえも規制され得るのか。

法哲学を専攻とする私が抱いた問いは、こうしたものだった。

3. 人と物

移植臓器はレシピエントの体内で機能し、レシピエントの生を支え続ける。これに対して研究用組織はどうか。組織は確かに人体の一部である。臓器移植と一定の結びつきを持って法定され（てしまっ）た脳死（体）——それが医学的状态を指すものであるとしても——を、「移植術に使用」するのではないこと（＝研究利用）のために用いることが許されるとすれば、なぜか。必要だから、役に立つから、ということ以外に、私たちはこのことを正当化する理由を有しているのか。或いはそのような理由は不要なのか。

法は、人と物とを区別してきた。端的に言って人は権利の主体であり、それ自体として尊重の対象とされる。これに対して物は、権利の客体である。とはいえ物もまた、客体として尊重の対象となり得る。例えば誰かの所有物は、誰か人の所有物であればこそ、その所有者の所有物（財産）として尊重の対象となる。では、物は誰かの所有物でなければ尊重されないのか、といえばそうとは限らない。仮に私が代々の歴史的遺産である絵図を有する家に生まれ、財産としてそれらを受け継いでいたとしよう。私はそれらの所有者であるからといってその絵図を、飼い猫の遊び道具としてビリビリに破いたり、ダーツ遊びの的にしたりしてよいものだろうか。おそらく私たちの社会はそれを良しとしないだろうし、場合によっては法的にそれらのものを保護しようとする（文化財保護法などのことを考える）。

それでは人の組織はどうか。

4. おわりに～物化（ものか）を考える～

切片化された人の組織は、人それ自体とは異なる。もちろん人から得られ切片化したものなのだから、人との結びつきがある。このようなモノについて、どのように考えるべきか。この点については、ヒト胚研究に際して議論され、そしてされ続けていることは周知のところ、とりわけヒト胚については「生命の萌芽」という位置付けも示された。このたび検討対象とされる組織等とは異なる点が多いものの、共通するのは、人の身体の一部から切り離し、研究に利用するためにそれを物化する、という点である。脳死体からの臓器移植時に、研究用の組織提供を受けることを認めることは、ある特定の脳死ドナーから、特定のレシピエントへと臓器を移植することによって、そのレシピエントの生を回復するという目的で行われる医療実践（治療）に止まらず、これからの医療、将来の社会のためという別の目的のために組織等を採取し研究利用することを認めることである。そしてこの

目的を完遂するために、身体の一部を切片化し、研究利用ができるように物化することを認める、ということである。確かに、この行為は人を道具としてのみ取り扱うこととも言い難く、人権尊重の原理を基底とする近代社会に於いても、一律にこれを禁止すべきだとは考えにくい。すなわち何らかの要件の下では、許容され得ると考えられる。果たしてそれはどのような要件であり、なぜその要件によって許容され得るのだろうか。

必要性、有用性だけでない理由を求めることは、私たちの社会が個人の尊重と人間の尊厳を基調とする社会であることの指標である、と私は考えている。そしてこのような前提と思考法を持って、私は、本問題に取り組んだのである。

さてそれでは、このたびの第2次委員会は何をどのように議論し結論に至ったのか。

残念ながら頂いた紙幅を超えてしまったようなので、是非、近日公刊予定の委員会の成果をご覧頂きたい。

(3) 創薬研究における臓器保存液開発の重要性 ー保存時間を永らえるにはー

東京薬科大学薬学部臨床薬理学教室 教授

平野 俊彦

本邦において、移植用臓器が不足していることは周知の事実である。死体からの移植臓器ドネーション率も、残念ながら先進諸国の中では最も低い方である。一方で、臓器移植の研究分野では、どんな細胞にも分化できる iPS 細胞などを使った再生医療とその臨床応用に関する研究の台頭が、最近目覚ましい。そのため、他人の臓器を摘出して移植する医療行為はいずれ必要なくなるのではないかという議論まである。しかしながら、患者自身の細胞を iPS 化して臓器を再生するまでには、まだまだ越えなくてはならないステップが山積されている。

臓器はいろいろな組織から成り立っている。例えば腎臓一つをとってみても、そこには腎皮質、髄質、腎動静脈、尿管など種々の組織がある。またより細かくみると、糸球体、尿細管、ヘンレループ、集合管などの細部組織が、器官内に整然と並んでいる。臓器を人工的に再生する場合、これらの各組織を一つずつ別々に創成して組み合わせ、それを腎臓という形に作り上げる必要があり、それは困難を極める。より複雑な構造と機能を持つ肝臓などの臓器にいたっては不可能に近い。このように完全な臓器を再生するには、まだまだ研究の積み重ねが必要で、それを待っているのは目の前の患者を救うことはできない。

これらの背景を鑑みた場合、摘出臓器が

移植されるまでバイアビリティを保っておくための研究、すなわち臓器保存研究の重要性は、今なお高いといえる。マージナルドナーからの臓器など状態が決して良いとはいえない移植用臓器を、むしろ状態がより向上するようにして保存するための研究にも価値があろう。以上の点で、より有能な新しい臓器保存液の開発には大きな意義がある。しかし本邦をはじめとして、臓器保存研究に携わる基礎及び臨床研究者は少なく、この分野の研究に急速な進展の無いのが現状である。

臓器保存研究を遂行する場合に困難な点は、前回の「NEWSLETTER オピニオン」で述べたが¹⁾、私共の研究によれば、培養細胞レベルの実験系で細胞のバイアビリティの保持に有効であることが証明された薬物あるいは化合物は、ブタ肝臓の保存にも有効である可能性が高い（未発表）。これらの知見は、臓器保存研究が困難な理由の一つである結果判定の困難さ、すなわち大型動物の移植実験結果が出ないと保存液に加える成分の有用性が判定できない、という問題点を克服し得る。

このような実験系で、世界的にスタンダードな臓器保存液である UW 液にどのような成分を加えたら臓器保存時間を延長できるかという研究を細々と続けているうちに、ある見解に行き着いた。それは、摘出後で

きるだけ生体内に近い状態で活動性を保ったまま臓器を保存するのがベストである、という結論である。

臓器が活動を続けるには、体温に近い温度および酸素やエネルギー源の供給が不可欠であるが、これらの条件を保てば、移植まで最良の状態で臓器を保存できるのではないかと、私共は考えている。具体的には、保存液中のグルコース量やその利用に必要なインスリンの濃度に配慮しつつ、十分なATP量の補充も視野に入れる。また保存液中に臓器を放置するのではなく、37℃あるいはそれに近い温度で還流するのがベストと考える。還流は、生体内における血流に代えて臓器を刺激し、また酸素やエネルギー源の新たな供給を可能とする。摘出臓器には冬眠する時間を与えず、ドナー体内からレシピエント体内までのリレー時間を通してずっと動き続けてもらおう、というのがそのコンセプトである。

しかしこれには異論もあり、全く逆の条件である、低温状態で活性酸素が発生しにくい保存液の中に臓器を浸しておくことが、長時間保存には最も良いという説もある。どちらが良いかの結論はまだ出ていないが、いずれにしても臓器保存研究者が少なく、決着に至るまでには時間がかかりそうである。

さて、話は臓器保存研究の内容から離れ、以下は私の勝手な展望としてお読みいただきたい。

かつて、臓器移植を妊娠に例えて論じられたことがあった。移植臓器を胎児に、そしてレシピエントを母体に見立ててみる。胎盤は、子宮内で妊娠母体と胎児の関係を育む一種の臓器であるが、母体の免疫細胞によって胎児が攻撃を受けないように保護する役割も担っている。一方で、母体から運ばれる酸素、水分、栄養分などの必要物資は、胎盤から自由に胎児へと運ばれる。

胎盤がレシピエントの免疫細胞から胎児を守るメカニズムはまだ良くわかっていないが、もし移植臓器とレシピエントの動脈との間に、胎盤の様な「魔法の壁」を人工的に配置できれば、レシピエントの免疫細胞が移植臓器を攻撃する恐れのない、「永久妊娠」の状態を作ることが出来るかもしれない。例えば腎移植の場合は、腎動脈とレシピエントの内腸骨動脈という二本の血管をオペで直接つなぐ。そこで両血管の間にiPS細胞から作った胎盤組織を関所のように設ければ、レシピエントの免疫細胞による拒絶反応から移植腎を守ることができるのではないか。

山中博士は、iPS細胞を臨床応用するためのアイデアをどんどん出してほしいと、日本の研究者に呼び掛けている。以上のアイデアを胸中に、移植臓器をレシピエント体内の特権領域で保護するためのより具体的な方策を練りながら筆をおく。

引用文献

1. HAB Newsletter 16 (1) 5-6;2014

3. 第23回 HAB 研究機構学術年会の報告

(1) 第23回 HAB 研究機構学術年会を終えて

学術年会長 菅沼 彰純 (エーザイ株式会社)

第23回 HAB 研究機構学術年会および第28回 HAB 研究機構市民公開シンポジウムを本年5月26日(木)から3日間、産業技術総合研究所共用講堂で開催いたしました。例年、昭和大学上條講堂で開催されているのですが、今回の学術年会は、諸般の事情により茨城県つくば市での開催になりました。遠隔地にもかかわらず、200名以上の方にご参加いただき、盛会のうちに日程を無事終了できましたことは、最先端のご研究について発表いただきました演者の先生方、司会・進行を円滑に進めていただいた座長の先生方、そして活発な討議を行っていただきました参加者の皆様方のお陰と、深く深謝いたします。

本年会の主題は、「肝障害を多面的に捉える一分子、細胞、免疫、動物、臨床―」といたしました。医薬品の開発研究上、いまだ大きな課題となっている肝障害は、毒性学が始まって以来、研究者の主要テーマになってきました。これまで、培養肝細胞や動物を用いた実験が数多く報告されてきましたが、臨床と前臨床のギャップは無視できないものでした。近年の科学技術の進歩により、細胞小器官の機能、免疫を介した多種多様な細胞が関与する生体反応、臨床の疫学調査から得られた肝障害と関連のある HLA と化合物による HLA 分子の修飾について、詳細に解析できるようになってまいりました。そこで、肝障害研究の現状と今後の展開について多面的に議論することにいたしました。

招待講演では、まず国内の薬物性肝障害研究で第一人者である名古屋大学横井毅教授に、薬物性肝障害における薬物代謝、免疫、炎症との関係についてご講演いただきました。また、臨床における薬物性肝障害の分野でキー・オピニオン・リーダーである帝京大学の滝川一教授をお招きし、臨床における薬

物性肝障害の実態についてご紹介いただきました。さらに、トロント大学 Jack Uetrecht 教授をお招きし、反応性代謝物と肝障害発生のメカニズムに迫る免疫反応と今後の展開についてお話いただきました。2日目は、国立がん研究センターの落谷孝広先生に、肝がんと肝再生医療の研究からマイクロ RNA を利用したエクソソーム創薬についてご紹介いただきました。

シンポジウムでは、「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線 1、2」「*In vitro* 試験系による肝毒性の予測・評価法研究」「毒性を評価するためのヒト化動物」の3つのテーマからなる4つのシンポジウムで、肝毒性を評価し予測する様々な研究についてご紹介いただき、活発に議論されました。

1日目の昼には、サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社とオリエンタル酵母工業株式会社によるランチョンセミナーを企画していただきました。2日目には、昨年に続き、細胞アッセイ研究会のご協力によりランチョンプレゼンテーションを開催しました。本年も27演題のポスターが発表され、発表者と参加者間で活発な議論が行われました。

3日目にあたる土曜日には、市民公開シンポジウムを開催しました。今回は「睡眠の健康科学」と題して、筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構の佐藤誠先生、柳沢正史先生、東京医科大学の井上雄一先生にご講演いただきました。つくばで初めての開催にもかかわらず、170名以上の皆様にご来場いただきまして、睡眠の不思議さと心身の健康に対する影響について大変興味深く勉強することができました。

来年開催される第24回学術年会の年会長を千葉大学樋坂章博先生にお引き受けいただきました。本年同様多くの皆様の参加をお願いいたします。

プログラム

■ 1 日目：2016 年 5 月 26 日（木）

招待講演 I

座長：吉成 浩一（静岡県立大学）

薬物性肝障害－薬物代謝、免疫、炎症との関係－

横井 毅（名古屋大学大学院）

シンポジウム I 「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線－1」

座長：中島 美紀（金沢大学）、千葉 雅人（大鵬薬品工業株式会社）

薬剤性肝障害リスクと関連する HLA 遺伝子解析の現状と課題

細道 一善（金沢大学）

特異体質性薬物毒性と HLA の関連

平沢 真（第一三共株式会社）

MicroRNA の肝障害バイオマーカー研究の進展と今後の展望

山浦 優（アステラス製薬株式会社）

ランチョンセミナー

主催：サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社、オリエンタル酵母工業株式会社
Advanced hepatic co-culture systems for modeling of liver disease with inclusion of
cholestasis, fibrosis and inflammation.

Dr.Rafal P. Witek

招待講演 II

座長：小林 眞一（昭和大学臨床薬理研究所）

薬物性肝障害の実態

滝川 一（帝京大学医学部）

シンポジウム II 「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線－2」

座長：楠原 洋之（東京大学大学院）、岡田 晃宜（アステラス製薬株式会社）

肝毒性の評価・予測における計算科学の活用

竹下 潤一（産業技術総合研究所）

肝毒性シミュレーションの活用：DILIsym® を用いた Nefazodone のヒト肝毒性予測

長谷川 洵（田辺三菱製薬株式会社）

Assessment of drug-induced clinical hepatotoxicity using the DILIsym® –Tolvaptan case–

Sharin E. Roth（Otsuka Pharmaceutical Development & Commercialization, Inc.）

招待講演 III

座長：横井 毅（名古屋大学大学院）

How do reactive metabolites lead to an immune response that can result in an idiosyncratic
drug reaction?

Jack Uetrecht（University of Toronto）

■ 2 日目：2016 年 5 月 27 日（金）

シンポジウムⅢ「*In vitro* 試験系による肝毒性の予測・評価法研究」

座長：伊藤 晃成（千葉大学大学院）、鈴木 睦（協和発酵キリン株式会社）

ダイレクトリプログラミングによる肝細胞の作製とその応用

鈴木 淳史（九州大学生体防御医学研究所）

酸素透過プレートやマイクロ流体デバイスを用いた階層的肝組織構築

酒井 康行、Eric Leclerc（東京大学生産技術研究所）

3D プリント技術で作成する組織体の生体組織モデルとしての応用

松崎 典弥（大阪大学大学院）

薬剤性肝障害の感受性を決めるミトコンドリア毒性評価

関根 秀一（千葉大学大学院）

In vitro 肝毒性試験法の開発

石田 誠一（国立医薬品食品衛生研究所）

招待講演Ⅳ

座長：菅沼 彰純（エーザイ株式会社）

エクソソーム研究がもたらす未来の再生医療像とは

落谷 孝広（国立がん研究センター研究所）

シンポジウムⅣ「毒性を評価するためのヒト化動物」

座長：松永 民秀（名古屋市立大学大学院）、山田 泰弘（日本薬科大学）

染色体工学技術によるヒト化動物の作製と医学・薬学応用

香月 康宏（鳥取大学大学院）

ヒト化動物を用いた薬物動態予測の可能性

小林 カオル（千葉大学大学院）

ヒト肝細胞キメラマウス "PXB マウス®" の現状と創薬への将来展望

立野 知世（株式会社フェニックスバイオ）

ヒト肝キメラマウスを用いたヒト体内動態の定量的予測

成富 洋一（アステラス製薬株式会社）

実中研の第二世代ヒト化マウスの状況 ―肝臓キメラマウスモデルを中心に―

大西 保行（インビボサイエンス株式会社）

Humanized liver TK-NOG マウスによる薬物代謝研究

山崎 浩史（昭和薬科大学）

■ 3 日目：2016 年 5 月 28 日（土）

第 28 回市民公開シンポジウム「睡眠の健康科学」

座長：深尾 立（HAB 研究機構理事長）、菅沼 彰純（エーザイ株式会社）

"いびき" から始まる "睡眠時無呼吸" ― あなたの "いびき" は大丈夫ですか？ ―

佐藤 誠（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）

睡眠・覚醒の謎に挑む

柳沢 正史（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）

不眠・睡眠不足の心身健康への影響と対策

井上 雄一（東京医科大学）

(2) 招待講演

I. 薬物性肝障害－薬物代謝、免疫、炎症との関係－

横井 毅 (名古屋大学大学院)

薬物性肝障害 (DILI: drug-induced liver injury) は、長い間、医薬品の開発中止及び販売中止の主要な原因の 1 つとなっている。多くの DILI では発症機序はよく分かっていないが、中毒性の DILI の多くは、動物実験で再現でき、非臨床試験で検出可能である。一方、特異体質性の DILI (idiosyncratic DILI: iDILI) については、非臨床試験での検出が困難であり、その予測評価系の開発の価値は大きい。

毒性予測系の開発においては、毒性発現機序の解明とその分子機序に基づく試験系の構築が有用であるが、iDILI に関しては、前述の通り、機序が未解明で、本アプローチを取ることができない。そのような状況において、今回の招待講演演者である名古屋大学の横井毅先生のグループでは、動物種・系統、投与量・回数・方法、飼育条件、阻害薬投与など、様々な条件を検討することで、これまで困難であったマウスやラットでの iDILI 発症薬物による肝障害の再現に成功し、多くの成果を報告されている。本講演では、カルバマゼピンやフェニトインの例を中心に、その成果の一端をご紹介いただいた。これまでに、iDILI の発症には活性代謝物の生成に加えて、免疫系の関与が強く示唆されているが、このような iDILI 再現モデル動物を用いた発現機序の解析から、特定の代謝酵素や代謝物の関与だけでなく、Th2 や Th17、さら

に DAMPs (damage-associated molecular pattern molecules) の関与が示され、今後の予測評価系の開発に有用な知見が集積していることを実感した。

さらに、横井先生らは、インビトロ評価系の開発も進めている。iDILI 発症には薬物代謝系の関与が必須であることから、モデル細胞としてヒト肝細胞様細胞である HepaRG 細胞と代謝能が低いヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用いた比較検討、また、これら細胞の条件培地とヒト好中球様細胞である HL-60 細胞を利用した炎症関連遺伝子の発現変動解析などにより、インビトロ試験を利用した iDILI 予測に有用なマーカー遺伝子を複数同定し、これらの利用が iDILI の発症予測に有用であることをお話いただいた。

今回の学術年会のテーマは、「肝障害を多面的に捉える－分子、細胞、免疫、動物、臨床－」であったが、横井先生は「分子、細胞、免疫、動物、臨床」の全てを考慮した DILI 研究を進められており、当該研究領域をリードする素晴らしい研究成果を挙げられていることを改めて実感させていただいた。今後ますます研究が進展し、横井先生が目指されている「idiosyncratic」という言葉がこの分野の過去の言葉となることを期待したい。

(文責：静岡県立大学 吉成 浩一)

II. 薬物性肝障害の実態

滝川 一 (帝京大学医学部)

薬物性肝障害には「予測可能」なもの
と「予測不可能」なものがある。前者は発
生頻度が高く薬物濃度に依存して直接肝障
害をおこす。一方、後者は頻度こそ低いも
のの患者個体の遺伝的因子、免疫能、代謝
能などの因子、つまり代謝の特異体質、ア
レルギー性機序によっておこされる肝障害
である。近年、薬物性肝障害における「慣
れ現象 (adaptation)」の役割が注目され
ている。これは薬物が共有結合した抗原ペ
プチドが感受性 HLA に作用し、免疫適応
により軽い肝障害を惹起する。感受性者の
90%は「慣れ現象」により免疫的寛容と
なり回復するが、1%未満の者は重症肝障
害に発展して急性肝不全 (0.1% 未満) に
なるというものである。

薬物性肝障害の定義は $ALT \geq 5 \times ULN$ 、
 $ALT \geq 2 \times ULN$ (GGT 増加を伴う骨由来で
ないこと) $ALT \geq 3 \times ULN$ かつ $TB \geq 2 \times ULN$
である。また薬物性肝障害の重症度分類
では①軽症： $TB < 2 \times ULN$ 、②中等度：
 $TB \geq 2 \times ULN$ もしくは有症状の肝炎、③重
症： $TB \geq 2 \times ULN$ かつ次の 1 つ $INR \geq$
1.5、腹水もしくは脳症、DILI (薬剤性肝
障害) による他臓器障害、④致死性的もしくは
肝移植となっている。通常の診断基準で
は①薬物投与と肝障害の出現と消退の時間
的關係、②他の原因の除外診断がポイント
であったが、起因薬として民間薬、健康
食品などもあり、また症状がなく血液生
化学検査異常で発見されたり、さらにアレルギー

性機序の場合は発熱、皮疹の有無、白
血球と分画 (好酸球) の測定、劇症化の予
知のためにはプロトロンビン時間の経時的
変化、意識レベルに注意が必要であるとの
ことである。本講演では講演者が提案して
いる「薬物性肝障害スコアリングの改定案
(DDW-J2004 ワークショップ) の提案と使
用マニュアル」について説明があり、薬物
性肝障害の診断基準 (案) として①発症ま
での期間 0~+2、②経過 -2~+3、③危険因
子 0~+2、④薬物以外の原因の有無 -3~
+2、⑤過去の肝障害の報告 0~+1、⑥好酸
球増多 0~+2、⑦ DLST (薬物によるリンパ
球刺激試験)、0~+2 ⑧偶然の再投与が行
われた時の反応 -2~+3、等をスコア化し総
スコアが 2 点以下は可能性が低い、3、4 点
は可能性あり、5 点以上は可能性が高いと
する診断基準が示された (滝川、他：肝臓
2005；46：85 参照)。

次に薬剤性肝障害の全国集計 (1997年~
2006 年) が報告された。発症年齢分布は
50~60 歳 (22~21%)、平均年齢は 55 歳、
女性にやや多く、薬物使用期間は 0~7 日が
26%で多いが、15~30 日が 62%、90 日
以上も 16%であった。診断時に症状があっ
たものは 66%、倦怠感 36%、黄疸 28%
などであった。薬効別の起因薬の頻度は抗
生物質、精神・神経科用剤、健康食品、解
熱・鎮痛・抗炎症剤などが多かった。これ
らの起因薬は 1989~1998 年の調査と比
較して同様であったが、抗生物質はやや減

少、精神・神経科用剤、健康食品、和漢方薬は増加を示した。また肝障害病型としては肝細胞型が約 60% で以前の集計時 46% より増加を示している。

前述した DDW-J2004 スコア分布でも 3 点以上で 98%、5 点以上で 87% の分布（平均 6.6 点）であり、高い診断基準であることが示された。また DLST は施行例（60%）での陽性率 36% であった。

また近年増加傾向にある健康食品および漢方薬による薬物性肝障害の特長は、健康食品では女性に多く、投与日数は 260 日と長く、肝細胞障害型が 74% と多いことが示された。漢方薬も女性に多く、投与日数は 124 日、肝細胞障害型が 73% と多かったが、DLST 陽性がやや低かった。またこれら薬剤性肝障害患者の転帰は 87% は回復したが、8% は肝機能異常状態が持続、0.4% は肝移植移行、3% は死亡に至っている。その肝移植、死亡に至った症例を生存例と比較すると年齢は 63 歳でやや高く、特に 65 歳以上の症例は 51%（生存例 33%）と高く、黄疸がある症例が 68%（生存例 27%）と優位に高いことが示された。

薬剤性肝障害の起因薬を上げると塩酸テルビナフィン、硫酸クロピドグレル、カルマナゼピン、ロキソプロフェン Na、ゲフィチニブ、塩酸チクロピジン、テガフル・ウラシル、イソニアジド、アトルバスタチン Ca などが上位にある。

講演者が私案として示した薬物性肝障害での投薬中止基準は① ALT が 100 以上に上昇した場合は、数日ごとに経過を注意深く観察する、② ALT が 300 以上に上昇した場合は中止する、③総ビリルビンが 3.0 以上に上昇するが肝障害に基づく症状や皮疹を認める場合は中止するとのことである。

今回の講演はわが国の薬物性肝障害の実態について長年の調査をもとに示して頂いた。最後に今後の研究として薬物性肝障害の発症に関連するバイオマーカーの探索研究、薬物性肝障害症例の GSTM1、T1 の遺伝多型の SmartAmp 法による検討においては GSTM1、T1 の欠損型遺伝子を有するものは薬剤性肝障害のなかで胆汁うったい型に多い可能性がありうることも示され、薬物性肝障害症例の前向き研究などにも触れられ、非常に興味ある御講演であった。

（文責：昭和大学臨床薬理研究所 小林 眞一）

Ⅲ. How do reactive metabolites lead to an immune response that can result in an idiosyncratic drug reaction?

Jack Uetrecht (University of Toronto)

薬に起因する肝障害、特に特異体質性 (idiosyncratic) 肝障害 (DILI, drug-induced liver injury) 研究の世界の第一人者であるトロント大学の Uetrecht 先生の講演を拝聴する機会を得た。*In vitro* cell-based の DILI 検出系については、近年様々な系が提案されており、臨床試験または上市後における DILI 発症リスクの回避に一定の成果を上げつつある。しかし、上市後に極めて稀に重篤な IDILI (idiosyncratic DILI) の発症リスクを予測出来る試験系を開発する事は、現在の大きな研究課題である。

講演は、ネビラピン誘導性のブラウンノルウェイラット副作用モデルにおいて、IL-1 β 等のインフラマゾームの関与の話題から開始され、ヒトにおけるイソニアジド副作用には、抗イソニアジド抗体の産生と副作用の重症度に相関があるものの、IL-17 と IL-10 の産生が重要なマーカーであり、IDILI には免疫因子が重要であることが紹介された。また、重篤な皮膚障害で知られているラモトリギンやカルバマゼピンによって発症する skin rash や SJS (Stevens-Johnson syndrome) は、キノンメチド類の代謝物よりも硫酸抱合代謝物が起因薬と

なっているであろうと紹介されたが、現況ではモデル動物も無く、具体的なエビデンスを得ることは今後の課題であろう。

最新データの紹介として、PD-1 (programmed death 1) ノックアウトマウスに抗 CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4) 抗体を処理した場合に、ヒトにおける臨床症状に類似した IDILI が認められるという発見を、アモジアキン、イソニアジド、ネビラピン、トログリタゾン投与について紹介された。これには CD8+T 細胞が重要な役割を担っていることを、perforin/granzyme の系による細胞障害性によって示した。しかし一方で、CD4+T 細胞、特に Th2 および Th17 細胞からのケモカインやサイトカインも好中球の浸潤に関与していることが紹介された。免疫チェックポイントメカニズムが薬物性肝障害にも関与していることが初めて示され、今後は PD-1 と CTLA-4 との関係を明確にし、肝 CD4, CD8, TH17 および Treg 細胞が増加し、NK 細胞が減少する機序が解明されれば、IDILI のリスク回避および治療に結びついて行くものと期待される。

(文責：名古屋大学大学院 横井 毅)

IV. エクソソーム研究がもたらす未来の再生医療像とは

落谷 孝弘（国立がん研究センター研究所）

今回、「肝障害を多面的に捉える—分子、細胞、免疫、動物、臨床—」をメインテーマとして、肝障害研究に直接携わっている先生方をお招きしましたが、縁あって世界のがん研究をリードされている著名な研究者である落谷先生をお招きすることが出来ました。落谷先生は、成熟肝細胞の作製、がん幹細胞とがん転移のメカニズム、マイクロ RNA (miRNA) 解析によるがんの早期発見やエクソソームを利用した創薬など幅広い分野で重要な発見をされるとともに、臨床現場へ具体的に応用される研究にも大変注力されています。落谷先生の膨大な業績から、肝臓に関係する研究を集めてお話していただきましたが、時間が過ぎるのを忘れてしまうほど大変興味深いご講演になりました。

まず、miRNA の重要性について概説されました。ひとつの miRNA は、複数の異なった情報伝達経路を同時に制御すること、ヒトとマウスは、ゲノム数は同じでもヒトはより多くの miRNA を持ち、miRNA を制御することでヒトはより進化してきたと考えられ、実際にヒト特異的な miRNA は脳に多く発現されていることを述べられました。miRNA は、想像以上に生体機能を高度に調整しており、その一例として miR-27b をあげられました。miR-27b の発現低下に伴って、がん細胞の抗がん剤耐性が増し、悪性度も増します。糖尿病薬と

して知られているメトフォルミンは、乳がんや膵がんにも有効ですが、その作用は、実は miR-27b の発現増強による糖代謝の改善であり、薬物と miRNA が交わる興味深いメカニズムを示されました。また、発生期では抑制され成体では強く発現している miR-148a は、遺伝子メチル化の維持に関係しており、これを制御することで、がん様の培養肝細胞 HepG2 を 2 週間で形態的に正常な肝細胞に変えてしまうことから、miRNA でエピゲノムを制御し、リプログラミングに応用し得ることも示されました。

次に、肝臓再生に関する話に移りました。肝臓中に存在する幹細胞から肝実質細胞と胆管上皮細胞が再生すると長い間信じられてきましたが、実は肝細胞自身が幹細胞になりうる事が判明、落谷先生の研究室では、ラット肝細胞と低分子阻害剤の組み合わせ (YPAC メディウム) で、正常肝細胞から継代しうる肝幹細胞を作製することに成功したことを示されました。この肝幹細胞から得た実質肝細胞をヒト化動物へ移植することも可能であると報告されました。疾患動物からも肝幹細胞を作製できたことから、ゲノム編集を組み合わせた肝疾患治療の可能性について心強いお話をされました。

その次に、miRNA の担体となるエクソソームの概要を説明されました。直径約

100 nm の脂質二重膜でできたエクソソームには、miRNA やタンパク質が含まれ、正常細胞やがん細胞まであらゆる細胞が様々なエクソソームを分泌しており、悪性度の高い転移しやすいがん細胞は、正常細胞とは異なるエクソソームを活発に分泌していることを説明されました。エクソソームががん細胞の性質を特徴付ける例として、悪性度の高い卵巣がんは腹膜播種を起しますが、そのエクソソーム分泌の有無で、がん細胞の腹膜中皮細胞を破る作用が決定されていることを示されました。また、がんの転移では、がん腫によって好発する転移臓器が知られておりますが、がん細胞は、まずエクソソームを転移先に送り、転移しやすいように環境をあらかじめ整えること、そのエクソソームの特異性は、発現されているインテグリン分子の組み合わせによると話されました。

さらに、エクソソームの疾病への関与についても示していただきました。B 型肝炎ウイルスが肝細胞に感染すると、エクソソームが分泌され、星状細胞の活性化を通じて肝線維化を、近傍のマクロファージや T 細胞に対しては IL-21 を抑制することで B 型肝炎ウイルスに対する抵抗性を低下させ、正常肝細胞の増殖刺激になり、肝がんにつながっていくことをお話いただきました。

その一方で、善玉と言ってよい miRNA も存在し、エクソソームを分泌する間葉系幹細胞をあらかじめ静脈内投与しておく

と、四塩化炭素による肝障害を軽減させること、neutroSMase2 をノックダウンしエクソソームを分泌できないように処置した間葉系幹細胞では、肝障害軽減効果は見られないことを示されました。また、このようなエクソソームを直接静脈内投与することによっても肝障害を軽減することを示し、エクソソームによる疾病治療の可能性を示されました。低酸素状態や化合物によるストレス下に細胞を置くことで、再生に関与するエクソソームを誘導できることも報告されており、エクソソームは、幹細胞を使わない究極の再生医療になる可能性も示されました。

最後に、海外では、すでにエクソソームを利用した治療が始まっており、ガイドライン作成のための会合も開かれていることをご説明いただきました。エクソソーム創薬という観点からすると、日本での動きは遅くて大変残念に思っていること、抗体医薬で日本企業は出遅れてしまったが、これをエクソソーム創薬で繰り返してはならないのではないかとのご提言をいただきました。

以上、肝臓を題材に、エクソソームと miRNA に関する話題について、基礎的な領域から将来の展望までを大変理解しやすく講演していただきました。エクソソーム研究と創薬応用に無限の可能性を感じるとともに、肝臓を始めとして多くの疾患を治療に明るい将来を見ることが出来ました。

(文責：エーザイ株式会社 菅沼 彰純)

(3) シンポジウム I

「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線 - 1」

S1-1 薬剤性肝障害リスクと関連する HLA 遺伝子解析の現状と課題

細道 一善 (金沢大学)

S1-2 特異体質性薬物毒性と HLA の関連

平沢 真 (第一三共株式会社)

S1-3 MicroRNA の肝障害バイオマーカー研究の進展と今後の展望

山浦 優 (アステラス製薬株式会社)

はじめに

医薬品の使用により副作用として肝障害が生じることが少なくない。そのような薬物誘発性肝障害のうち、用量依存性が認められ、動物実験でも検出可能なものであれば、創薬の段階での排除も可能であるが、実験動物では発症せず、用量依存性が認められないような特異体質性薬物性肝障害は、上市されて多くの患者に使用されるようになって初めて検出されることとなり、重篤な障害が認められると医薬品の撤退に繋がるケースもあるため、医薬品開発時に毒性を予測・検出できる方法論の樹立が求められている。

ゲノムワイド関連解析 (Genome-wide association study: GWAS) により、特定のヒト白血球抗原 (Human leukocyte antigen: HLA) 遺伝子多型と薬物誘発性肝障害を含む医薬品毒性との関連が、複数の医薬品について報告されるようになってきた。また、遺伝子の転写後調節を担う microRNA が細胞障害あるいは臓器障害により血中に漏出し、血中 microRNA の発現プロファイルが変化することが近年明らかになり、医薬品毒性のバイオマーカーとして体液中

microRNA 測定を利用する試みも検討されている。本シンポジウムでは、HLA 遺伝子解析の現状と課題、特定の HLA 多型と医薬品毒性の発症メカニズム解析、そして安全性試験における microRNA の肝障害バイオマーカーとしての利用の可能性について、3名の先生より最新のご研究の成果をご講演頂いた。

【S1-1】細道 一善

ここ十年の次世代シーケンサー (Next-generation sequencing: NGS) を駆使したゲノム配列解析の高速化によりゲノム多様性に関する膨大なシーケンス情報が産出されている。また、2013年にイルミナ社の NGS システムが米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration: FDA) より診断用医療機器の認可を受け、臨床診断に使用可能となったことは、個別化医療 (Personalized medicine) や精密医療 (Precision medicine) と称される個々人のゲノム情報に基づく治療法や予防法実現を可能とするクリニカルシーケンス時代到来の象徴であった。細道先生のご講演では、薬剤による副作用リスクの回避に向けた

NGS プラットフォームを活用した HLA タイピングの予防医学的応用についてご紹介頂いた。

薬剤による肝障害発生と HLA アレルとの間に有意な関連が認められた例として、抗血小板剤チクロピジンにより肝障害を発症した患者の 68.1% が HLA-A*33:03 を有し、そのオッズ比は、13.04 であったことが紹介された。この HLA-A*33:03 アレル頻度は集団間で異なり、日本人集団で 7.4% と 7 番目に高い頻度で認められるアレルであることから、日本人を対象とした薬剤副作用予防診断システムには、日本人を対象としたゲノム情報の集積が必要であることが強調された。

今後の多様性解析により、HLA 遺伝子群に関連している疾患の原因が、HLA 多型それ自身と関連しているのか、それとも特定の HLA アレルと強い連鎖不平衡下にある非 HLA 遺伝子多型と関連しているのか明らかとなることを期待したい。

【S1-2】平沢 真

従来、特異体質性薬物毒性 (Idiosyncratic drug toxicity: IDT) の原因は、反応性代謝物の高分子への共有結合を介したハプテン形成による免疫系活性化によるというハプテン仮説が主流であったが、近年では、薬物が未変化体の状態で HLA あるいは T 細胞受容体と相互作用することによる免疫反応惹起メカニズム (Pharmacological interaction with immune receptors) が提唱されている。平沢先生のご講演では、特異体質性肝障害と HLA 多型との関連性が報告されている複数の薬物に注目して、関連する HLA 分子との相互作用を *in vitro*

で評価された結果をご紹介頂いた。

ラパチニブ (Lapatinib) は、経口チロシンキナーゼ阻害剤として手術不能乳癌及び再発乳癌の治療に用いられているが、重篤な (Grade 3) アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の上昇および黄疸を伴う肝障害がそれぞれ 1.6% および 0.2% の割合で治療を受けている患者に見られることが報告されている。平沢先生のご研究により、Lapatinib が HLA-DRB1*07:01 へのプロープペプチドの結合を用量依存的に促進することが見いだされた。さらに、分子動力学シミュレーションにより、促進のメカニズムとして、Lapatinib の存在が HLA 分子のペプチド結合溝の構造を大きく変化させ、通常よりも“堅く閉じた”ペプチド結合溝を形成することが示唆された。

今回のご講演で紹介された研究結果は、HLA-DRB1*07:01 アレルを持つ患者における Lapatinib によって引き起こされた IDT (肝障害) の発症メカニズムの新たな観点となる大変興味深い知見であった。

【S1-3】山浦 優

近年、新規肝障害バイオマーカーとして microRNA が注目されており、薬剤性肝障害時に、肝臓に高発現している miR-122 や miR-192 が血中で増加するという報告が多くなされている。しかし、医薬品開発における安全性試験での導入は進んでいるとは言えない状況である。山浦先生のご講演では、安全性試験における miR-122 や miR-192 の肝障害のバイオマーカーとしての利用可能性について、これまで検討されてきたご研究を紹介頂いた。

肝障害を惹起する化合物をラットに投与

した検討から、壊死が認められるものの ALT が増加していない個体において血中 microRNA の増加が認められたという結果を示された。一方、肝細胞壊死が生じた際に必ず血中 microRNA が増加するわけでもなく、壊死が軽度の場合には microRNA の変化は認められなかったことから、より感度の高い測定系の必要性を提唱された。この課題を解決するため、血清よりエクソソームを単離後、エクソソーム中の microRNA を測定する方法 (EXO 法) について検討され、血清中 microRNA を測定する方法に比べ、肝障害時に特異性高く miR-122 を検出できるという結果をご紹介頂いた。加えて、肝臓、腎臓、心臓や骨格筋などの障害時に変動する microRNA を検出する microRNA パネルの開発と安全性試験での化合物の毒性ポテンシャル検出について検討を進めているとのことであり、今後の進展に期待したい。

おわりに

個人ゲノム情報が NGS 解析により精密に分析され、患者のサブグループ分けが行われ、そのサブグループ毎の治療法の確立および予防医療の提供が、Precision medicine の目指す目標である。Precision medicine を支える基盤技術として、細道先生よりご紹介のあった NGS 技術の飛躍的な進歩がある。また、NGS による HLA タイピングを、薬剤による肝障害発症の感受性に対する患者のサブグループ分けの一例としてご紹介頂いた。さらに、平沢先生からは、Lapatinib を例に、特定の HLA アレルとの反応性代謝物を介さない免疫反応惹起メカニズムに関する新たな知見をご紹介

頂いた。IDT としての肝障害発症リスクを回避するための HLA 多型に基づく予測法の確立が示唆された。一方、さまざまな生物学的プロセスや疾患の発症・進行など、多岐にわたる生命現象に関与する microRNA は、臓器特異的に発現しているものもあり、その塩基配列が種間で保存され、測定も容易であることから、薬剤によって引き起こされる臓器障害のバイオマーカーとして、個々人の感受性を指標とする Personalized medicine の実現に貢献することが期待できる。山浦先生からは、EXO 法により、血清中 microRNA を測定する方法に比べ、肝障害時に特異性高く miR-122 を検出できるという結果をご紹介頂いた。

本シンポジウムでご紹介いただいた臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線の研究成果は、これからの医療が目指す Precision Medicine と Personalized Medicine の実現に大きく貢献するものであり、今後の研究の進展を期待したい。

(文責：金沢大学 中島 美紀
大鵬薬品工業株式会社 千葉 雅人)

(4) シンポジウムⅡ

「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線－2」

S2-1 肝毒性の評価・予測における計算科学の活用

竹下 潤一（産業技術総合研究所）

S2-2 肝毒性シミュレーションの活用：DILIsym[®] を用いた Nefazodone のヒト肝毒性予測

長谷川 洵（田辺三菱製薬株式会社）

S2-3 Assessment of drug-induced clinical hepatotoxicity using the DILIsym[®] –Tolvaptan case–

Sharin E. Roth（Otsuka Pharmaceutical Development & Commercialization, Inc.）

はじめに

本シンポジウムでは「臨床肝毒性の予測・評価法研究の最前線」として、安全性評価（肝毒性）に関わる計算科学（竹下先生）・コンピューターシミュレーション（長谷川先生、Roth 先生）について3名の先生方にご講演いただいた。臨床肝毒性の大きな課題である非臨床からの予測性の低さを克服するために期待されるアプローチとして、先生方には、これらの利用と実用化に向けた考え方や取り組み、具体的な実施例についてご紹介いただいた。

【S2-1】竹下 潤一

動物実験に基づいた化学物質の有害性評価は、費用や期間、動物愛護の問題があるため、動物を用いない評価方法（動物実験代替法）の需要が増している。EUでは動物実験を行った成分を使用した化粧品の完全販売禁止などの動きがある。国内においても、平成22年に開催された化学物質審査規制法（化審法）の三省合同審議会において、有害性に関わる統計的推論手法導入

の基本的考え方が示されている。しかし、化学物質の有害性評価に重要な反復投与毒性に関しては、その動物実験代替法の開発はほとんど進んでいない。

このような現状を鑑み、ラット肝臓の化学物質応答性核内受容体（AHR, CAR, PXR, PPAR α , LXR α 等）の *in vitro* 評価結果及び化学物質の記述子情報と、ラット反復投与毒性の肝毒性情報の収集・整備を行い、これらの統計的関連性の解析を行った。ラット肝毒性情報は、（独）製品評価技術基盤機構（NITE）が中心となって開発したインシリコ支援ツールである「有害性評価支援システム統合プラットフォーム（HESS）」を利用した。*In vitro* 評価結果は、静岡県立大学薬学部から提供いただいた。

ラットの *in vivo* 肝毒性を推測する方法として2通りが考えられる。1つ目は、*in vivo* 肝毒性の中から検討すべきエンドポイントを1つ定め、*in vitro* 評価結果と記述子情報から、そのエンドポイントでの影響の有無と強度を定量的に予測する方法（予測アプローチ）、2つ目は、*in vitro* 評価結

果と記述子情報から類似化合物をグループ化し、*in vivo* 肝毒性情報のない化合物の有害性を、その類似化合物の既存 *in vivo* 肝毒性情報から定性的に類推する方法（類推アプローチ）である。

いずれのアプローチにおいても必要な最初のトレーニングセットの構築を以下の通り行った。HESS データより、肝臓重量の変化、肝臓の組織病理学的所見、血液化学検査項目、血液学的検査項目を抽出し、影響が見られる化合物と、影響が見られない化合物を抽出した。そして、HESS データの解析結果に、*in vitro* 評価結果と記述子情報の充足状況を合わせ、肝毒性の陽性化合物と陰性化合物をそれぞれ選定した。

次に、それぞれについて、適切な統計解析手法の検討を行った。「予測アプローチ」については、多重共線性問題の回避や変数選択が同時に可能である Elastic net を用いた統計解析を行い、予測式の構築を検討した。一方、「類推アプローチ」に関しては、クラスター分析に基づき行った。このアプローチでは、類似化合物を適切にグループ化することが重要となることから、*in vitro* 評価結果と記述子情報による化合物の分類と、*in vivo* 肝毒性情報による化合物の分類との一致率が向上するようなアルゴリズム及び化合物間の非類似度（距離）について検討した。

本研究は途中経過の報告ではあったものの、その方法論と可能性についてフロアーに共有された。

【S2-2】長谷川 洵

薬物性肝障害 (DILI) は臨床で頻繁に起こる副作用の一つであり、医薬品の開発中

止や市場撤退の主要因である。特に特異体質性薬物性肝障害 (idiosyncratic DILI) にはヒトの個人差が深く関わっており、大規模な後期臨床試験や市販後に初めて認められることが多い。そのため臨床での肝障害予測を目的とした種々の試験が創薬の探索段階で実施されているが、現時点ではヒトでの肝障害を総合的かつ定量的に予測出来る試験系は確立されておらず、ヒト個人差を加味した評価も現状では困難である。

このような状況下、現在、非臨床試験データの統合的な解釈による臨床での肝毒性予測や患者の疾患、遺伝的背景などの個人差を加味した評価を可能とし得る手法として、シミュレーションモデルの活用が注目されている。

DILI-sim Initiative は種々の非臨床試験データを総合的に評価し、ヒトやモデル動物での肝障害を定量的に予測するためのシミュレーションモデル (DILIsym[®]) を開発するコンソーシアムで、DILIsym[®] Services と製薬企業 13 社によって活動を行っている。DILIsym[®] は現状の試験系では十分に評価出来ない肝毒性課題の解決のために開発が期待されている評価モデルの一つである。発表では DILIsym[®] Services の活動とともに、Nefazodone を用いた DILIsym[®] 解析事例が紹介された。

Nefazodone は非臨床試験では認められなかった肝障害がヒトで稀に発現し、市場撤退したことが知られており、胆汁うっ滞、ミトコンドリア毒性、反応性代謝物生成といった複数の機序で肝障害を引き起こすとされている。*In vitro* 試験においてもこれを示唆する結果が得られたため、これから *in vitro* 試験の結果を用いて DILIsym[®]

による肝障害予測を行ったところ、確かにラットでは発現しない肝障害が一部のヒトで発現するという予測結果が得られた。複数の機序が肝障害に関わっていると言われている Nefazodone であったが、シミュレーションでは上述の機序のうちミトコンドリア毒性に強く依存して肝障害が発現することが示唆された。またヒト個人差解析においては、ミトコンドリア機能の低下したヒトでのみ肝障害が発現すると予測された。

以上の結果から DILIsym[®] を用いた肝障害予測は、複数の肝毒性発現機序の影響を総合的に解釈した肝障害リスク評価や機序解析、実験動物とヒトの種差解析、そしてヒトの個人差を考慮した臨床予測を実現し得る評価法であることが示された。

【S2-3】 Sharin E. Roth

本発表では、医薬品の臨床開発段階で認められた肝毒性に対して、DILIsym[®] を用いたシミュレーションの実施例が示され、その中で得られたメカニズム予測及び高感受患者セグメントの予測が紹介された。

Tolvaptan is a vasopressin V2 receptor antagonist inducing water diuresis without depletion of electrolytes. It is marketed in the US for the treatment of clinically significant hypervolemic and euvolemic hyponatremia including patients with cardiac failure, and syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (also approved in some regions for Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD)). Although Tolvaptan has a favorable liver safety profile in healthy subjects and

in non-ADPKD indications, a pivotal clinical trial in subjects with ADPKD showed evidence of liver toxicity with an incidence of ALT >3x ULN of 4.4% in Tolvaptan-treated subjects compared to 1.0% in placebo-treated subjects.

Tolvaptan and an oxobutyric acid metabolite have been shown to inhibit bile acid transporters and mitochondrial respiration. Systems modeling was utilized to test whether these mechanisms could account for the hepatotoxicity observed in the clinical trial for ADPKD. Pharmacokinetics, transporter inhibition constants, and quantitative assessments of mitochondrial respiration inhibition of both Tolvaptan and metabolite were entered into DILIsym[®]. Toxicity was modeled in the DILIsym[®] baseline patient and in a simulated ADPKD patient population. No toxicity was predicted for a non-ADPKD population. Clinically significant serum ALT elevations were predicted in 7.9% of the simulated ADPKD population given the highest dose used in the ADPKD clinical trials (120 mg/day for 180 days), similar to the observed rate from TEMPO 3:4 (4.4%). Simulations suggested that inhibition of both bile acid transporters and mitochondrial respiration were necessary to account for the observed hepatotoxicity. The most significant patient-specific risk factors predicted by DILIsym[®] include basal mitochondrial electron transport chain (ETC) flux, mitochondrial respiratory reserve capacity, and BSEP function; exposure-related characteristics were less correlated with susceptibility. Amongst the

molecular species tested, simulated toxicity was found to be more commonly driven by Tolvaptan but also influenced by the metabolite. DILIsym[®] has therefore suggested hypotheses for genetic and non-genetic biomarkers that may assist in risk management of Tolvaptan hepatotoxicity. DILIsym[®] recapitulated the observed hepatotoxicity from TEMPO 3:4 by combining inhibition of bile acid transporters and mitochondrial respiration. Although other mechanisms may contribute, the identification of patient-specific risk factors support further investigation of these predictive biomarkers in archived urine and plasma samples from the pivotal clinical trial.

おわりに

本シンポジウムでは臨床肝毒性の評価・予測に向けた計算科学・コンピューターシミュレーションの活用について、利用と実用化に向けた考え方や取り組み、実施例について具体的にご紹介いただいた。現時点ではすぐに利用できる段階ではないものの、その必要性和可能性、加えて具体的な利用の場面を会場全体で共有できた。臨床予測という命題において、将来の医薬品開発の非臨床評価の一端を担う技術としてフロアーからの関心も高く、活発な質疑がなされた。安全性、薬物動態、臨床薬理、計算科学、バイオインフォマティクス等の多分野の複合的な連携を含めて、今後の発展を期待する。

(文責：東京大学大学院 楠原 洋之
アステラス製薬株式会社 岡田 晃宜)

(5) シンポジウムⅢ 「*In vitro* 試験系による肝毒性の予測・評価法研究」

S3-1 ダイレクトリプログラミングによる肝細胞の作製とその応用

鈴木 淳史 (九州大学生体防御医学研究所)

S3-2 酸素透過プレートやマイクロ流体デバイスを用いた階層的肝組織構築

酒井 康行、Eric Leclerc (東京大学生産技術研究所)

S3-3 3D プリント技術で作成する組織体の生体組織モデルとしての応用

松崎 典弥 (大阪大学大学院)

S3-4 薬剤性肝障害の感受性を決めるミトコンドリア毒性評価

関根 秀一 (千葉大学大学院)

S3-5 *In vitro* 肝毒性試験法の開発

石田 誠一 (国立医薬品食品衛生研究所)

はじめに

薬物性肝障害の非臨床試験での予測、特に *in vitro* 評価では、用いる細胞ソースと評価法の組み合わせで結果が大きく左右される。細胞ソースについては、代謝酵素やトランスポーターの発現が比較的生体に近い状態で維持されているという観点から、現時点でヒト初代培養肝細胞が最適と考えられている。しかし、ロット間差や安定供給の観点から制限も多いことが問題である。培養法については、一般に薬物代謝や輸送に関わる肝細胞特有の蛋白質が培養とともにダウンレギュレーションすること、加えて、細胞の毒性感受性そのものが培養液や大気の組成により変化しうることも指摘されている。これらは毒性予測結果に直接的に影響しうる問題である。以上のような細胞ソース、評価法の問題点を踏まえ、シンポジウムⅢでは、ヒト初代培養肝細胞の弱点を補う新たな細胞ソースの可能性、

生体により近いレスポンスが得られる培養法・評価法構築につながることを期待し、以下の 5 名の先生からご講演いただいた。

【S3-1】鈴木 淳史

本講演においては、ダイレクトリプログラミングという、定まった細胞分化の状態を、細胞の周辺環境や遺伝子発現パターンに人為的に操作を加える手法を用い、培養可能となる肝細胞作出及び性状が提示された。iPS の誘導には山中 4 因子が必要であるが、著者らのグループは Hnf4 α 及び Foxa1、2 あるいは 3 のいずれかをマウス線維芽細胞へ導入することで、肝細胞の性質を有する細胞 (induced hepatocyte-like cells: iHep 細胞) を作出した。この細胞再分化は未分化の状態を経ずに肝細胞へ直接変化しており、再現性よく作出されている。マウス iHep 細胞においては、脂質の蓄積や ApoB の分泌も確認され、代謝酵素

などの発現、誘導も認められている。これらの肝細胞機能は、培養下で適切に維持され、凍結保存も可能であった。iHep 細胞を肝不全状態にしたマウス体内に移植すると、生体において肝機能が上昇し、個体をレスキューすることが確認されているが、一方で、*in vitro* での培養下のままではそれぞれの活性は低く課題も残る。ヒト線維芽細胞を用いた場合には、他の因子も必要になることも明らかになっているものの、毒性スクリーニング等には有用なツールとなる可能性を有している。

【S3-2】 酒井 康行

肝細胞の静置ポリスチレンプレート培養では酸素供給不足が起こることが知られており、その抜本的改善のために酸素透過性膜（ポリジメチルシロキサン、PDMS）を底面とするプレートが開発されている。本講演では、酸素透過膜を底面とするプレート使用の有用性が示された。PDMS プレートを用いることで、増殖性肝由来細胞からの層化組織の自発的形成や、好氣的呼吸の培養条件下での再現など、従来のポリスチレン培養では見られない現象を観測することが可能となっている。

初代培養ラット肝細胞は、PDMS プレート上では、ポリスチレンプレート上に比べて酸素消費速度が 10 倍程度高いことが示されている。さらに、類洞内皮由来細胞株とラット肝細胞との共培養について、ポリスチレンプレート上では、プレート底面にて島状になった肝細胞の隙間を類洞内皮細胞が埋める同一平面上でのヘテロな単層形成が観察されたのに対し、PDMS 上では、下層に肝細胞・上層に類洞内皮がそれぞれ単層を形成し、

生体内と同様に個々の細胞レベルで完全な階層的共培養組織を構築することが示された。PDMS 上のマトリゲルサンドイッチ培養と比較して、アルブミン合成・解毒酵素・胆管形成・各種トランスポーター発現のいずれにおいても、更なる向上がみられ、PDMS 膜の有用性が示された。現在はさらにヒト肝細胞を用いて同様の階層的共培養系の確立を進めていると報告された。

後半は、マイクロ流体デバイスが紹介された。静置培養では再現できないせん断応力の影響について、マイクロ流体デバイス技術を用いて再現できるとのことであった。すでにプロトタイプの Liver on-a-chip デバイスについて、カイネティックモデルとの融合利用による肝毒性の予測への利用を考えている。最近では、ヒト iPS 細胞からの肝分化誘導への適用を開始し、類洞内皮細胞を含む自律的な三次元化とそれに伴う早期または亢進した肝機能が観測されている。生体肝のヘテロ階層構造やダイナミックな環境を再現する生理学的培養系は、薬効・毒性評価系に加えて、肝疾患モデル系としても有望と考えられている。

【S3-3】 松崎 典弥

本講演では、立体構造を再現するために 3D プリンター技術を用いている研究事例が紹介された。具体的には、連続積層により高速かつ高精度に三次元構造を造形する「3D プリンター」を用いて、生体組織を構成する様々な細胞とタンパク質を三次元で統合し、生体組織類似の機能を有する三次元組織を構築することで、生体組織に近い薬効・毒性応答を得ようとするものである。インクジェットプリンターは、ピコリットル単

位で液滴を精密に吐出できるため、吐出点で溶液を固化できれば、連続積層により三次元構造体を自在に構築可能であり、細胞にダメージを与えることなく、細胞を吐出溶液ごと瞬間に固化でき、生体臓器の複雑な三次元構造を構築できる。また、コラーゲンなどの生体高分子と細胞をプリントすることで、肝細胞のみならず、心臓弁や耳介、皮膚、腎臓を模倣した構造物の作製も報告されている。心臓を再構成した事例として、心臓の iPS と血管内皮の共培養の事例が紹介され、そこでは血管内皮がネットワークになり中空の連続構造を形成する様子も認められていた。毛細血管内皮ネットワーク、リンパ管内皮ネットワークのいずれも心臓細胞との共培養により再現できることが示され、さらに細胞、細胞外マトリックスのインクジェットプリントにより作製された 3D マイクロ組織アレイなど、毒性試験への利用が期待される事例も報告された。

【S3-4】 関根 秀一

本講演では、薬剤性肝障害のリスク評価に関して、特にミトコンドリア毒性感受性の種差を左右する因子について報告された。臨床において脂質の異常蓄積を伴った肝障害が認められているある薬物の毒性について、特にミトコンドリア毒性に着目してサルとマウスを比較したところ、サルでよりミトコンドリア毒性感受性が高いことが確認された。マウスとサルのミトコンドリア毒性の感受性の差は、ミトコンドリアの MPT Pore を構成する Cyclophilin D の発現量の差にあるらしいとのことだった。またミトコンドリア毒性の評価のために、代謝依存的な系、及び Crabtree 効果を回避する系を構築した成果が示され

た。前者では特に、活性代謝物の単離精製を経ることなくミトコンドリア毒性を評価可能になる点を、後者では特に、培地中の糖源としてガラクトースを用い、さらに酸素供給量を増加させ Crabtree 効果を回避することで、より高感度にミトコンドリア毒性が評価可能となる点を強調されていた。

【S3-5】 石田 誠一

近年では OECD や環境毒性の領域などで盛んに行われ始めている Adverse Outcome Pathway (AOP) という概念を用いた解説がされた。AOP は、毒性発現を化学物質の物性の規定から始め、受容体などとの相互作用から惹起される細胞応答、さらにそれらが集積した生体応答へと解釈を積み重ねて理解する手法である。本講演では AOP 評価を実施する上で特に重要な *in vitro* における分子学的な解析や細胞応答から個体レベルの応答まで網羅的に解説された。最近話題の肝細胞資源として HepaRG 細胞、PXB マウス由来肝細胞及び iPS 細胞などが提示された。代謝酵素発現量やロット差などに関するデータが示され、いずれの細胞においても一長一短があり、その特徴をよく理解して使用する必要がある。このほか、三次元培養や他の肝臓構成細胞等との共培養系についても紹介がなされ、一例として星細胞との共培養の重要性を示されていた。最後に、多臓器間の影響について、小腸と肝臓の関係などにも着目して評価を実施する必要があることが解説された。

(文責：千葉大学大学院 伊藤 晃成
協和発酵キリン株式会社 鈴木 睦)

(6) シンポジウムⅣ 「毒性を評価するためのヒト化動物」

S4-1 染色体工学技術によるヒト化動物の作製と医学・薬学応用

香月 康宏（鳥取大学大学院）

S4-2 ヒト化動物を用いた薬物動態予測の可能性

小林 カオル（千葉大学大学院）

S4-3 ヒト肝細胞キメラマウス "PXB マウス[®]" の現状と創薬への将来展望

立野 知世（株式会社フェニックスバイオ）

S4-4 ヒト肝キメラマウスを用いたヒト体内動態の定量的予測

成富 洋一（アステラス製薬株式会社）

S4-5 実中研の第二世代ヒト化マウスの状況－肝臓キメラマウスモデルを中心に－

大西 保行（インビボサイエンス株式会社）

S4-6 Humanized liver TK-NOG マウスによる薬物代謝研究

山崎 浩史（昭和薬科大学）

はじめに

医薬品の薬物動態は、薬効や毒性に大きな影響を及ぼす。毒性予測試験を行うモデル系として、ヒトの薬物動態特性を持つヒト化動物は非常に有用である。これまで多くのヒト化動物が作製されているが、その中でも多くの実績を有し、高い評価を受けている3つの機関より、その作製の経緯や特徴などについて講演頂いた。また、そのヒト化動物を用いたユーザーの成果についても作製機関と並行して講演頂いた。

【S4-1】 香月 康宏

クローン化 DNA 断片を使用するトランスジェニック技術において導入可能な DNA は通常 100 kb ～ 1 Mb が限度である。CYP3A をはじめとした CYP 遺伝子群はクラスターを形成することが多く、これまで用いられてきたウイルスベクター等による cDNA 導入法では、

ヒト CYP3A 遺伝子群をマウスなどの実験動物に同時に導入することは困難であった。香月先生が所属される鳥取大学医学系の押村光雄教授らのグループは、ヒト 21 番染色体より不要な遺伝子領域を削除したヒト人工染色体 (HAC: Human Artificial Chromosome) ベクターを作製し、ベクター上に 200 kb ～ Mb 単位の任意の遺伝子が搭載可能なシステムを開発、ベクター上の遺伝子は細胞や個体レベルで機能することを明らかにしている。しかし、HAC を用いたトランスクロモソミックマウス作製法では、保持率がバラつき、モザイクとなり、特に血球系細胞で弱いなど組織によっては必ずしも安定に保持されなかった。そこで、香月先生のご講演では HAC を用いたモデル動物に加え、Mb 単位のヒト染色体（群）を極めて安定に導入可能で、血球系細胞でも安定に保持され、かつ、子孫伝達可能となったマウス正常染色体から開発された Mouse

Artificial Chromosome (MAC) ベクターについて紹介された。

薬物代謝関連遺伝子をヒトと実験動物で置き換えたヒト化動物はヒト特異的な薬物代謝や安全性を予測する上で大きな役割を果たす。そこで、薬物代謝で最も重要な CYP3A 遺伝子クラスター (7 番染色体上に約 700 kb のクラスターとして CYP3A5, CYP3A7, CYP3A4, CYP3A43 の 4 遺伝子が存在) の染色体領域を HAC (MAC) ベクター上に搭載することで、CYP3A-HAC (MAC) を保持するマウスを作製し、ヒト型の発現様式ならびに代謝様式を示すことを紹介された。さらに、CYP2C クラスター (380 kb、CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19 の 4 遺伝子) と第二相薬物代謝酵素 UGT2 遺伝子クラスター (1.5 Mb、10 遺伝子)、トランスポーター MDR1 (210 kb)、核内受容体 PXR のヒト化マウスの作製にも成功し、ヒト型の発現様式ならびに代謝様式を示したとのことであった。一方、薬物動態学・毒性学分野で汎用されるラットに人工染色体技術を導入し、さらにゲノム編集技術と融合することで完全ヒト化 CYP3A ラットの作製にも成功している。このラットはヒト型の発現様式ならびに代謝様式を示す。すなわち、外来プロモーターによる強制発現系では不可能であった組織特異的または時期特異的な遺伝子発現が内在性の CYP3A プロモーター領域も搭載することにより可能となった。これにより、他のヒト化薬物代謝モデル動物に無い様々な性質を獲得することに成功していることから、医薬品候補化合物の影響を効果的に調べることができる。

以上の様に、染色体工学技術を基盤とした人工染色体技術はヒト化薬物代謝モデル動物や細胞システムの開発等に有用な技術である

ことから、医学・薬学分野に大きく貢献できるものと期待された。

【S4-2】 小林 カオル

鳥取大学医学系の押村光雄教授らのグループは遺伝子サイズに制限がなく、任意の遺伝子が搭載可能な「ヒト人工染色体ベクター: Human Artificial Chromosome (HAC) ベクター」を開発した。また、この HAC ベクター上にヒト CYP3A 遺伝子クラスター (CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43 遺伝子とその調節領域) 約 700 kb をクローニングし、その CYP3A-HAC が子孫に伝達するトランスクロモソミックマウスを作製した。小林先生の講演では、このヒト型 CYP3A クラスター導入マウス (CYP3A-HAC マウス) を用い、肝臓と小腸に特異的な CYP3A4 の発現が再現されていることを示された。また、成体期特異的に発現する CYP3A4 は成体期に、胎仔期特異的に発現する CYP3A7 は胎仔期にそれぞれ発現し、CYP3A 分子種の時期特異的な発現も再現されることも紹介された。

CYP3A-HAC マウスに発現する CYP3A 分子種が機能的であることを明らかにするための薬物代謝学的検討では、マウス内因性 Cyp3a 遺伝子群をノックアウトし、ヒト CYP3A 遺伝子クラスター (CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43 遺伝子とその発現調節領域) を HAC ベクターにより導入した CYP3A-HAC/KO マウスを作製、野生型マウスおよび CYP3A ノックアウトマウス (CYP3A-KO マウス) の肝ミクロソームにおける CYP3A 基質トリアゾラムの代謝活性と比較した。その結果、CYP3A のノックアウトにより代謝活性はほぼ完全に消失し、CYP3A-HAC/KO マウスではヒトの約半分程度の代謝活性を示

すことを紹介された。このマウスの小腸マイクロソームにおける代謝活性はヒト小腸マイクロソームにおける代謝活性とも同等の値であったことから、トリアゾラムの代謝特性がヒトとよく一致していることを示された。また、マウス人工染色体 (MAC) ベクターを用いてヒト CYP3A 遺伝子クラスターを導入した CYP3A ヒト化ラットにおいても同様に検討した。その結果、野生型ラットでは *in vitro* および *in vivo* のどちらにおいても、トリアゾラムの主代謝物は 4 位水酸化体であったのに対し、CYP3A ヒト化ラットではヒトと同様に主代謝物が α 位水酸化体であったことから、トリアゾラムの代謝プロファイルがヒトとよく一致していることを示された。

CYP3A はリファンピシンにより誘導され、その発現誘導には核内受容体 pregnane X receptor (PXR) の活性化が関与することが知られている。PXR のリガンド認識には種差があり、リファンピシンはヒト PXR を強く活性化するが、マウス PXR の活性化は弱い。一方、CYP3A と PXR の二重ヒト化マウス (CYP3A-PXR ヒト化マウス) では、CYP3A のみをヒト化したマウスと異なり、リファンピシン投与により肝 CYP3A4 の発現および活性が著しく上昇し、ヒトと同じような反応を示すことを紹介された。また、CYP3A4-PXR ヒト化マウスにリファンピシンを投与し、トリアゾラムを投与するとその血中濃度は CYP3A のみをヒト化したマウスと比較して顕著に低下することも明らかにされた。このことは、*in vivo* において CYP3A4 の誘導が認められ、代謝活性が上昇したことが示唆される。

以上の結果は、CYP3A および PXR のヒト化動物は CYP3A によって代謝される薬物の血中動態を予測することがある程度可能であ

ることを示唆し、ヒト化動物としての有用性を示すものであった。

【S4-3】立野 知世

広島県組織再生プロジェクトにおいて、urokinase-type plasminogen activator transgenic (uPA) /severe combined immunodeficient (SCID) マウスを用いて、マウス肝臓の 70% 以上がヒト肝細胞で置換された高置換のキメラマウスが 2001 年 10 月に作成された。しかし、ホストマウスとして uPA/SCID マウスを用いた場合、高置換キメラマウスに補体抑制剤を毎日投与しなければならないのに加え、体重も 15 g 程度と小さかった。また、高置換のキメラマウスが大量生産できるようになったが、導入遺伝子の欠失により、残存する正常マウス肝細胞コロニーの成長に伴い、ヒト肝細胞の割合の減少、即ち置換率の減少が問題であった。立野先生の講演では、最近新たにホストマウスとして作成した uPA cDNA が 1 コピー導入された cDNA-uPA/SCID マウスについて紹介された。このホストマウスは、従来の uPA/SCID マウスのような相同組換えによる遺伝子の欠失が起こらないため、ヒト肝細胞による置換率は向上し、長期間安定である。また、体重も 18 g 以上となる。血中ヒトアルブミン値より推定される正常なヒト肝細胞置換率が 70% 以上のものを PXB マウスと呼び、試験に提供されるマウスの置換率は、概ね 80 ~ 85% であることを示された。

PXB マウスは高置換率の為、*in vivo* における代謝プロファイル実験においてヒトと同じような結果が得ることができる。しかし、マウスにおいてヒトよりも非常に代謝速度が速く、代謝プロファイルが異なる場合には、残存している正常マウス肝細胞の影響が大きくな

り、ヒトでの予測は困難となることがあった。この問題を解決するため、マウスの Cyp3a 遺伝子群をノックアウトしたマウス (Cyp3a knockout/cDNA-uPA/SCID マウス) を樹立した。このマウスでは残存している正常マウス肝細胞に Cyp3a 遺伝子が発現していないため、種差の影響はおそらくないことを示された。

また、B 型あるいは C 型肝炎ウイルス (HBV・HCV) は PXB マウスに効率よく感染・増幅するので、PXB マウスは抗ウイルス薬の薬効評価試験や感染防御試験等にも多く使われるようになって来ている。インターフェロンなどの薬剤による抗ウイルス効果を確認することもできる。その為、PXB マウスを用いた HBV あるいは HCV 研究論文がこれまで多く報告されていることを示された。また、PXB マウスを用いた薬物動態試験研究についても多数発表されており、2007 年からは毒性関連の論文が増加していることを紹介された。今後、PXB マウスを用いた毒性試験の増加やその他の用途への利用が期待されている。

一方、PXB マウスからコラゲナーゼ灌流法により分離した新鮮ヒト肝細胞 (PXB-cells) は、ヒト肝細胞の純度が 90% 以上である。また、コラーゲンコートしたプレートにコンフルエントに播種することができ、30 日以上の長期間培養が可能である。この細胞は、現在 HBV 感染実験に多く用いられているとのことであるが、薬物代謝試験、薬物代謝誘導試験、毒性試験にも有用と考えられる。

【S4-4】成富 洋一

(株) フェニックスバイオが開発した PXB マウスは、ヒト肝細胞を移植して作成されたヒト肝キメラマウスであり、肝臓の大部分 (70% 以上) がヒトの肝細胞で置換されており、移

植後もヒトの肝臓での薬物代謝機能 (酵素やトランスポーター) が維持されているので、ヒトの薬物代謝機能を mimic できるモデル動物であると考えられている。したがって、投与された薬物のヒト体内動態の定量的予測を実施する際に、PXB マウスは他の実験動物種 (通常のラット、イヌ、サルなど) を用いた IVIVE や allometric scaling より有用であると考えられる。そこで、クリアランスが薬物代謝酵素 (シトクロム P450 あるいは UDP-glucuronosyl transferase や aldehyde oxidase などの non-P450) に依存している薬物について、ヒト全身クリアランスと分布容積の予測について PXB マウスを用いて、single-species allometric scaling で検討したところ、ほとんどの薬物において非常に良好な予測結果が得られた。更に、complex dedrick plot による静脈内投与時の血漿中濃度推移のシミュレーションについても良好な予測結果が認められた。しかしながら、一部の薬物で予測結果が外れた現象も認められたので、その原因の解明とそのような薬物の予測法についての検討が早急に必要であると思われる。また、肝薬物トランスポーターが関与する薬物についての定量的予測法の検討や移植したヒト肝細胞の lot (ドナー) の相違による予測性の相違などについても明らかにすることによって、ヒト肝キメラマウスを用いたヒト体内動態予測の有用性がより明確になると考えられる。

【S4-5】大西 保行

免疫不全の NOG マウスを宿主動物としたヒトの血液・免疫系がマウス体内で機能的に再構成されたヒト化マウスを 2002 年に実験動物中央研究所から報告された。それ以来、ヒトの生理により近似するヒト化や、特定研究目的に特化したヒト化マウスを開発するため

に継続的な改良研究を実施されてきた。その一例としてヒト IL3 と GM-CSF 遺伝子を同時に遺伝子導入した NOG マウスを作出され、このマウスのヒト化では、全般的なヒトの造血亢進が認められるとともに、顆粒球、単球・マクロファージ系細胞の分化が改善された。このヒト化マウスでは、ヒトのアレルギー反応の解析や抗がん剤の血液毒性を検討する研究ツールとして期待されている。一方、肝臓のヒト化を目指して、薬物投与によって肝臓が特異的に傷害されるように設計された TK-NOG マウスが宿主マウスとして開発された。このマウスは、現在知られているマウスの中で免疫不全度が最も高い NOG マウスがベースであり、若齢から成人までの広範なヒト肝臓細胞の移植において、極めて高いキメラ率のヒト化が実現されている。現在、マウス組織適合抗原の不活化、あるいはヒト組織適合抗原を導入した TK-NOG マウスが作出され、ヒトの免疫系と肝臓が同一個体で再構成できるマウスモデルの開発が進められている。

【S4-6】山崎 浩史

TK-NOG マウスに市販の凍結ヒト肝細胞を移植したヒト肝細胞移植キメラマウス (Humanized liver TK-NOG マウス、Hu-liver TK-NOG マウス) を活用したヒト型薬物代謝および動態の研究事例がいくつか報告されている。その中でも、最も興味を持たれるのは、サリドマイドの催奇形性に関する報告である。サリドマイドの通常の催奇形性試験を実施した場合、実験動物 (マウス、ラット、ハムスター) では催奇形性が認められないが、霊長類とウサギでのみ感受性が高く催奇形性が認められると報告されており、そのためにサリドマイド薬害 (サリドマイド胎芽症の新生児) が生じたのであ

るとされている。しかし、Hu-liver TK-NOG マウスでも催奇形性が確認されたので、その原因解明について、Hu-liver TK-NOG マウスを用いてサリドマイドのシトクロム P450 (CYP) による代謝について検討した。その結果、サリドマイドの芳香環水酸化に伴い、還元型グルタチオンと結合しうるヒト特異的反応性代謝物の検出を契機に、CYP3A4/5 による肝代謝クリアランス、P450 酵素誘導や酵素活性促進を含めた薬物相互作用も確認された。反応性代謝物は、生体内の種々のタンパク質と不可逆的に結合して、意図しない副作用 (特異体質性毒性) を示すことがある。したがって、サリドマイドなどのように、代謝プロファイルに大きな種差があって、ヒト特異的反応性代謝物が生成される場合、実験動物では安全性が高いと評価される場合があるので、ヒト特異的な毒性を予測し評価するという観点から Hu-liver TK-NOG マウスは有用な実験モデル動物であると思われる。

おわりに

今回、モデル動物作製 3 機関と、そのユーザーを代表して 3 研究室 (研究機関) から講演を頂いた。通常、日本で開催される学会では、このような競合する機関の講演を同時に聞く機会はほとんどないと思われるが、作製の手法の違いにより、得意とする評価項目があるなど、互いの特徴等をより理解できる機会となったと思われる。これらモデル動物は、今後ともより安全で有効な医薬品の開発に貢献するであろうと確信した。

(文責：名古屋市立大学大学院 松永 民秀
日本薬科大学 山田 泰弘)

(7) ランチョン・プレゼンテーション

年会 2 日目昼食時に、細胞工学系研究者と薬物動態系研究者との交流の場として、ランチョンプレゼンテーションを企画いたしました。オーガナイザーの金森敏幸先生（産業技術総合研究所）、柿木基治先生（エーザイ株式会社）他、組織委員の先生方のご尽力により 27 題の発表が集まりました。

当日は多くの年会参加者が会場に訪れてポスター発表者の先生方と活発に意見を交わし合う姿が見られ、有意義な時間となりました。また、組織委員の先生方の選定によりベストポスター賞として両分野から 1 名ずつ、竹村晃典先生（千葉大学大学院）、杉浦慎治先生（産業技術総合研究所）が選出され、学術年会閉会時に表彰が行われました。

ポスター演題

- 1 胆汁酸トランスポーター OST α/β の薬物の消化管吸収に対する寄与の検討
中山 丈史（東京大学大学院）
- 2 成体幹細胞より分化させたヒト小腸上皮細胞を用いた新規経口吸収評価系の構築
武中 徹（大鵬薬品工業株式会社）
- 3 ACAT model の活用による薬物の消化管アベイラビリティ（FaFg）の予測法の検討
前田 和哉（東京大学大学院）
- 4 肝障害誘発化学物質のバイオアッセイとバイオインフォマティクス解析による有害性予測研究
曾根 秀子（国立環境研究所環境リスク研究センター）
- 5 一過性虚血ストレスによる薬剤性肝障害増悪機序の解明
佐藤 智之（千葉大学大学院）
- 6 階層的ハイドロゲルシートを用いた細胞遊走の 3 次元制御と定量評価
杉本 愛実（千葉大学大学院）
- 7 ヒト肝 P450 発現模倣細胞（Ad-P450 細胞）を利用した薬物代謝評価
佐々木 崇光（静岡県立大学）
- 8 長期肝障害刺激下における臓器サイズ異所性肝臓の作製
鵜頭 理恵（千葉大学大学院）
- 9 ジクロフェナク誘導性肝障害モデルマウスにおけるアシルグルクロン酸代謝物の毒性的役割の検討
織田 進吾（名古屋大学大学院）
- 10 マルチスループット Organs-on-a-chip の開発
杉浦 慎治（産業技術総合研究所）

- 11 Cell-able® で 3 次元培養したキメラマウス由来ヒト肝細胞 PXB-cells® (PXB-able) の微小構造解析と薬物性肝障害予測への応用
城村 友子 (東洋合成工業株式会社)
- 12 酸化還元応答性ハイドロゲルを基材とするスフェロイドならびに細胞シート形成と機能評価
神谷 典穂 (九州大学大学院)
- 13 ヒト肝細胞キメラマウス由来新鮮肝細胞 "PXB-cells" の毒性評価への応用
山崎 ちひろ (株式会社フェニックスバイオ)
- 14 ハイドロゲルを用いる培養細胞の電氣的刺激・計測システムの開発
長峯 邦明 (東北大学大学院)
- 15 三次元培養肝細胞による長期曝露を可能とした代謝酵素誘導評価系の有用性
荻原 琢男 (高崎健康福祉大学大学院)
- 16 肝毛細胆管形成阻害に着目した肝毒性評価法の構築
竹村 晃典 (千葉大学大学院)
- 17 不死化ヒト肝細胞 HepatoCells を用いたスフェロイド培養と毒性試験への応用
和田 格人 (コーニングインターナショナル株式会社)
- 18 グルタチオン枯渇モデルラットを用いた薬物性肝障害リスク評価
小林 鋭祐 (アステラス製薬株式会社)
- 19 ヒト iPS 細胞 (hiPSC) から分化誘導した疾患肝臓・膵臓細胞の作製
松永 昌之 (DefiniGEN Ltd.)
- 20 3D 培養法を用いたヒト iPS 細胞由来肝細胞の薬物代謝酵素評価法
Zachary Yu-Ching Lin (株式会社リプロセル)
- 21 ヒトの原腸形成期の細胞運動の定量
大沼 清 (長岡技術科学大学大学院)
- 22 Micro-scaffold を用いた肝オルガノイド培養による新規代謝スクリーニング系の開発
伊藤 学 (SCIVAX ライフサイエンス株式会社)
- 23 化学刺激型の神経チップを目的とした神経シグナル解析システムの開発
原田 侃太郎 (芝浦工業大学)
- 24 プライマリーオルガノイドを用いたハイスループットスクリーニングとオルガノイド自動分配装置
伊藤 三郎 (ヤマハ発動機株式会社)
- 25 形態指標による光分解性ゲルからの細胞分離技術の開発
田村 磨聖 (産業技術総合研究所)
- 26 星細胞の VECCELL 培養器による脱活性化効果
石田 誠一 (国立医薬品食品衛生研究所)
- 27 コラーゲン微粒子を足場として利用する多層組織のワンステップ作製法の開発
矢嶋 祐也 (千葉大学大学院)

4. 市民公開シンポジウムの報告

第 28 回 HAB 研究機構 市民公開シンポジウム

「睡眠の健康科学」

日時：2016 年 5 月 28 日（土） 13：00～16：40

場所：産業技術総合研究所筑波センター共用講堂

座長：深尾 立（千葉労災病院名誉院長、HAB 研究機構）
菅沼 彰純（エーザイ株式会社）

“いびき”から始まる“睡眠時無呼吸”

—あなたの“いびき”は大丈夫ですか？—

佐藤 誠（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）

睡眠・覚醒の謎に挑む

柳沢 正史（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）

不眠・睡眠不測の心身健康への影響と対策

井上 雄一（東京医科大学睡眠学講座）

総合討論

5 月 28 日（土曜日）に、産業技術総合研究所筑波センター共用講堂において第 28 回市民公開シンポジウムを開催いたしました。

夜なかなか寝つけない、なんども目が覚めてしまう、朝なかなか起きられないなど、睡眠障害は身近で重要な問題です。第 28 回市民公開シンポジウムは「睡眠の健康科学」という主題を掲げ、3 人の専門家をお招きしました。

筑波大学国際睡眠統合研究機構（IIS）佐藤誠教授からは「“いびき”からはじまる“睡眠時無呼吸”—あなたの“いびき”は大丈夫ですか—」というご演題でご講演をいただきました。

睡眠時無呼吸症候群（SAS）の症状は、寝ている間に息が止まり十分な睡眠がと

れない病気ですが、この SAS は熟睡できないという個人の問題だけでなく、SAS 患者が昼間居眠りをしてしまうことによる交通事故が後を絶たず、大きな社会問題ともなっています。SAS の患者は約 200～400 万人いると推定されているそうですが、専門医を受診する人は多くないとのことでした。最近いびきが大きくなったというような人は、「無呼吸なおそう.com」（<http://659naoso.com/>）を参照して、専門医を受診して下さいとのことでした。

IIS 機構長柳沢正史教授からは「睡眠・覚醒の謎に挑む」というご演題でご講演をいただきました。医学研究が進んだ今日も睡眠/覚醒メカニズムは解明されておらず、大きなチャレンジ領域であるということからこの領域の研究に入られたとのこと

で、オレキシンの発見からオレキシンの作用を実験動物のビデオを交え分かり易くご説明いただきました。また、睡眠治療薬のほとんどが GABAA 受容体に作用するベンゾジアゼピン系薬ですが、オレキシンをターゲットとした新しい作用機序のオレキシン受容体拮抗薬が IIS との共同で開発され、すでに上市されていること、そしてさらに新しい医薬品も開発中であることもご紹介いただきました。

東京医科大学睡眠学講座井上雄一教授からは「不眠・睡眠不足の心身健康への影響と対策」というご演題でご講演をいただきました。睡眠不足による判断力、作業効率の低下、そしてその結果としての交通事故、

さらに睡眠不足のもたらす高血圧、心臓疾患、鬱病、糖尿病といった生活習慣病・メタボリック症候群についてご説明いただきました。ご来場者の皆様は睡眠の重要性を再認識していただけたことと思います。

今回は会場の都合で、茨城県つくば市の産業技術総合研究所筑波センター共用講堂で開催いたしました。つくば市民の皆様にくわえ、リピーターの皆様にも電車バスを乗り継いでご参加いただき、盛会なシンポジウムを開催することができました。今後とも皆様の関心のあるテーマを選んで市民シンポジウムを開催いたしますので、どうぞよろしくお願いします。

(文責：HAB 研究機構事務局)



(写真：総合討論)

5. <連載>

(1) 毒性学研究の現状と将来

公益社団法人薬剤師認定制度認証機構代表理事、昭和大学名誉教授

吉田 武美

第2話 毒性学の課題 – 毒性発現機序の解明 –

1. はじめに

表題での第一回目は、毒性学の成り立ち、毒性を検出するための各種毒性試験法と毒性学研究の方法の展開などを概観し、また慢性毒性試験結果からは、最大無作用量、無毒性量、最小毒性量、一日許容摂取量、一日耐用摂取量などの重要な安全性指標が導かれることで、本学問分野の役割を示した。毒性学研究は、医薬品はじめ化学物質の安全性に関わる研究者・技術者の活動によって、科学技術の進歩に対応しながら大きな展開を遂げている。

今回は、毒性学上の基本的な事項をさらに取り上げ、毒性発現につながる解析過程の話題とその例を取り上げる。特に強毒性有機リン系殺虫剤及び1990年代半ばに化学テロ事件として国内外を震撼させた神経毒ガスサリンやタブンを代謝し、解毒する酵素パラオキシナーゼ (paraoxonase) を主に取り上げ、その酵素機能の多様性など最近の話題と関連事項を述べる。

2. 毒性学の基本的な用語

毒性学は、今日まで多数の物質の毒性を明らかにし、毒性発現を整理している。すなわち、医薬品や化学物質による毒性が明らかに

された主要な臓器に対する毒作用として、肝毒性、腎毒性、肺毒性、血液毒性など臓器名で表している。しかし、化学物質の毒性は、用量－反応関係から、曝露量が多ければ多数の臓器に障害を引き起こすことは言うまでもない。また、医薬品や化学物質による毒性が現われ易い臓器を標的器官や標的臓器と称する。毒性が現われる最小濃度を臨界濃度、毒性が標的臓器で現われる最小量を閾値と称する。さらに発現する毒性が、可逆的か不可逆的であるかは極めて重要であり、一回の曝露でも生涯にわたる障害が残ることもある。また、微量でも化学物質への慢性的な曝露により発現する毒性は、原因不明なまま社会的な差別を受けたり、疫学的調査で明らかにされたりするが、原因物質の証明、実際の毒性発現機構の証明など極めて困難を伴うことは、第一話で述べた通りである。毒性学研究が発展している現在においてもなお、メチル水銀、カドミウムやヒ素など金属由来物質による個体や細胞レベル、さらに分子レベルでの研究は進められているのが現状であり、一種類の化学物質の生体影響としての毒性を科学することで発現機序を解明し、毒性の全体像を明確にすることが如何に困難なことであるかが分かる。

2-1 毒関連の用語

毒関連の日常的用語の poison は、広義の毒全体を、toxin は動植物や微生物など由来のもの、venom はへびやハチなど動物由来の毒を意味し、また toxicant は毒性化学物質一般を意味している。日本では、毒の由来に応じて、動物毒（生物由来でハチ毒、へび毒など）、植物毒、鉱物毒、魚介類の毒、海洋生物の毒などと分類している。さらに、薬学に古くから裁判（鑑識）化学の領域があるが（この用語は、現在の薬学・薬剤師教育の中ではほとんど使われなくなっている）、その分野では毒性の発現様式に対応して、腐食毒、実質毒、酵素毒、血液毒、神経毒などと分類される。

3. 毒性発現に影響を及ぼす因子

医薬品はじめ化学物質は摂取量や曝露量次第では、生体に対する毒性を有することは言うまでもない。医薬品や化学物質の作用は用量が増えるに伴って、毒性は強まり、また毒性が現われる組織や器官も多方面に渡る。

一方、生体にとって必須成分であるビタミン類や鉄、亜鉛、カルシウム、セレンなどの金属類は、摂取量が不足すると確実に欠乏症

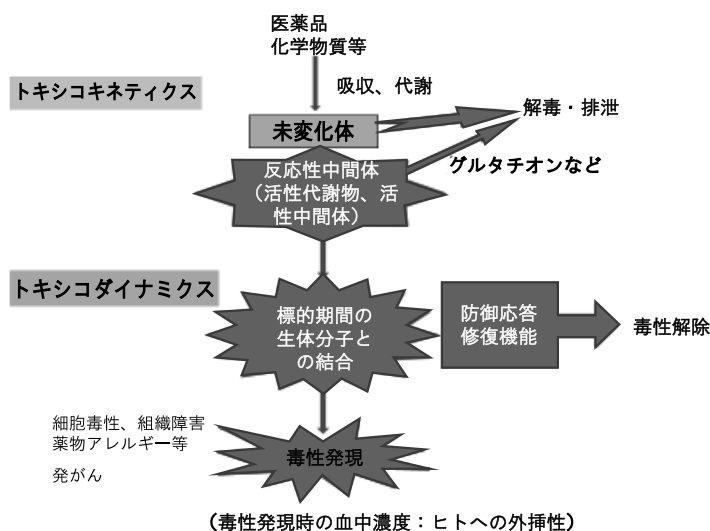
に陥ることはよく知られているし、補充することにより回復が早いことも特徴的である。

このような、化学物質の摂取量や曝露量の問題に加え、生物側の有する遺伝的背景など様々な生理的要因や生活習慣などの環境要因もまた、毒性発現に大きな影響を及ぼす。すでに本誌の医薬品開発と薬物動態に関するシリーズで説明されているように、ヒトにおける個人差の存在は、薬の効果や副作用・有害作用の発現と関連して薬理遺伝学として大きく展開しており、毒性学においても同様な観点からの研究が進められている。以下に毒性に関するいくつかの要因を述べる。

3-1 トキシコキネティクス (TK) とトキシコダイナミクス (TD)

医薬品の薬理効果の発現は、ファーマコキネティクス (PK) とファーマコダイナミクス (PD) での理解が進んでいる。同様に医薬品や化学物質による毒性発現は、トキシコキネティクス (TK) とトキシコダイナミクス (TD) との関連で理解する必要がある。すなわち、図 1 に簡潔に示すように、医薬品などが毒性発現に至るまでの生体内での吸収、分布、代謝、排泄の過程

図 1 トキシコキネティクスとトキシコダイナミクス



を明らかにするのがTKである。そして、医薬品等化学物質の母化合物あるいは代謝物が毒性発現部位に到達して生体分子と相互作用することによって、生体に好ましくない有害作用が起こること（毒性）を明確にすることがTDである。実際にこの両者を明らかにしていくには、実験的な研究によらざるを得ないことはいうまでもない。しかし、実験動物で得られる毒性発現臓器とそこに至る時点での血中濃度の動態を知ることが、ヒトにおける毒性発現とその際の血中濃度の予測が可能となり、動物種差や個人差を考慮した安全係数が設定され、ヒトにおける安全用量の設定が可能となる。

このTK/TDは、医薬品開発における多くの事例があるが、毒性学は、医薬品による有害作用は勿論、それ以外の化学物質の毒性評価も行うことが求められる。詳細な説明は、誌面の都合上省くが、いずれも遺伝的な背景や生活環境からの複雑な影響を受けることから、化学物質に対する感受性に個人差が存在することにつながる。また、TDにおける毒性標的となる生体分子にも遺伝的背景に基づく個人差が存在する。この観点も踏まえ、毒性学では図1のTK/TDと関連する以下のようなことを常に考慮しておく必要がある。

- 1) 生体は、日常生活の中で、外界（水、空気、食物など）から常に化学物質を取り入れている。
- 2) 化学物質は、吸収、分布、代謝、排泄の過程を経ると同時にこの過程に影響を及ぼすことがある。
- 3) 生体は恒常性を維持するように動的平衡を維持している。
- 4) 化学物質が生体成分との相互作用の結果好ましくない影響（毒性）が現れても、通常は修復、防御応答系が機能する。

5) 3) と 4) の機能が正常に機能すれば毒性症状は、改善ないし消失する。

6) 化学物質の侵襲の強度と防御応答系、修復系の反応の結果、後者の破綻が毒性発現につながる。

さて、このTK/TDの実例を示しながら、毒性学研究の現状を見てみることにする。

3-2 神経毒ガスサリンや有機リン系殺虫剤を解毒する酵素タンパク質

我々の体内には、外界から摂取される化学物質に対して、シトクロム P450 (CYP) を中心とする薬物（異物）代謝酵素が存在し、その作用で摂取物質の水溶性を高め体外へ排泄する機構が存在する。梅、モヤシ、キャッサバなど植物には、各種の青酸配糖体が存在し、摂取すると体内で青酸ガスが発生し、毒性を発現するが、通常の食事程度の摂取量であればロダネーゼという酵素タンパク質の作用により、ロダンに変換され、解毒するという機構が備わっている。¹⁾

同様に、1994年の長野県松本市と1995年東京地下鉄において宗教団体による化学テロで用いられ、日本のみならず世界を震撼させた神経毒ガスサリンや強毒性物質パラチオンの活性（毒性）代謝物などを解毒代謝や生理的にも内因性の酸化脂質の代謝に関与し、酸化ストレスの関連疾患の予防に寄与している多機能性酵素が存在するので、その話題を取り上げる。パラオキシナーゼ (PON) である。

3-3 パラオキシナーゼ (PON) の名称の由来と性質

本酵素名は、イネのニカメイチュウ駆除などのために用いられた強毒性有機リン系殺虫剤パラチオンの活性（毒性）代謝物パラオキ

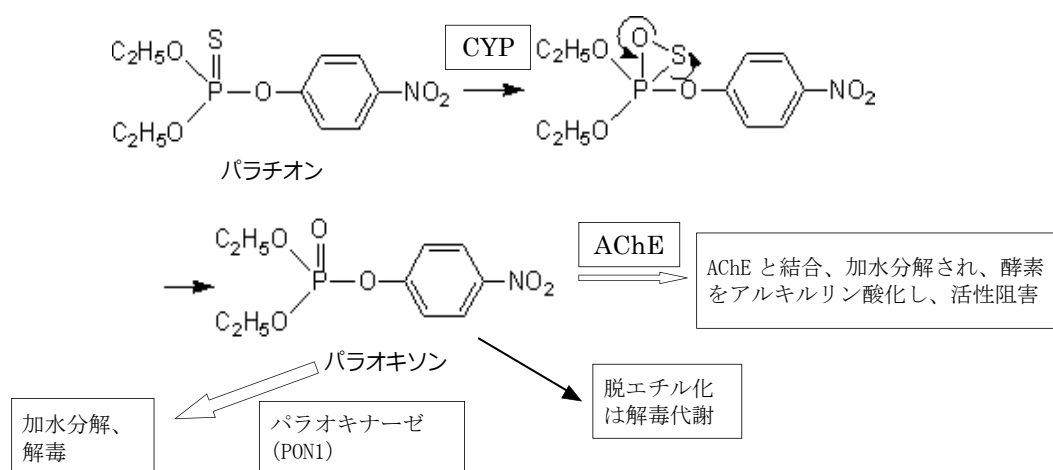
ソンを加水分解し、解毒することが明らかにされた最初の基質に由来する。パラチオンの農薬としての、そしてヒトや動物に対する毒性の本体であるパラオキソンは、血中に存在する酵素で加水分解され、無毒化されることが明らかにされ、その加水分解を担っている酵素としてパラオキシナーゼ (PON) と命名され、その後の研究が進められてきている。PON は、 Ca^{2+} 依存性アリルエステラーゼの一種であるが、毒性代謝物名に由来して名付けられ、今日まで名称が継承されている稀な酵素名である。^{2~5)} パラチオンは、有機リン系化合物合成の第一人者であるドイツの化学者 G.Schrader らが、神経毒ガスなどとも関連して合成した殺虫剤である。経口、粘膜、経皮的に吸収される。図 2 には、TK で重要な吸収後の代謝とその TD としてのアセチルコリンエステラーゼ (AChE) の阻害を示している。パラチオンは、生体内で CYP 酵素により酸化的脱硫化を受けパラオキソンとなる。図 2 に示すこの酸化的脱硫化反応は代謝活性化であり、一般的にパラチオンのようなチオノ型の有機リン系殺虫剤 (OPs) はいずれも CYP による代謝を受けオキソン体となり標的の AChE を母化合物より強力に阻害

し、ACh の蓄積によるコリン作動性などの各症状を呈する。例えば、頭痛、痙攣、視覚異常、嘔吐、腹痛、激しい下痢、意識喪失、震え、呼吸困難、そして肺浮腫および呼吸停止などの毒性症状が曝露の程度に対応して発現する。重篤な場合には、死に至る。

一方、パラチオンが脱エチル化を受けると毒性は消失することから、解毒排泄の反応となる。パラチオンは、1952 年に導入後、毒性の強さにもかかわらず、農薬の取り扱いや安全性への配慮が不足していたこともあり、農業従事者を中心に中毒事故が相次ぎ、最大時には年間 1 万 8 千人以上もの中毒者を出し、また自殺・他殺による死亡例も多かった。その後、フェニトロチオンやマラチオンなど低毒性 OPs が開発されたことにより、1971 年に使用禁止となり現在は特定毒物としてその使用は厳しく規制されている。

この PON は、パラオキソンだけではなく、OPs のクロロピリホスやダイアジノンの活性代謝物であるクロロピリホスオキソンやダイアオゾキシソンの代謝、さらにはサリンやタブンなど神経毒ガスの加水分解も行い、解毒する。いわゆるこれらの猛毒な化合物に対する防御機構ともいえる。さらに、PON1 は、そ

図 2 パラチオンの代謝



のエステラーゼ活性に加え、内因性に生成する酸化脂質やラクトン類を加水分解する。

3-3-1 PON1 の遺伝多型など^{6~8)}

PON1 には、192 番目のアミノ酸が Gln(G)192 から Arg(R) に置換したものと 55 番目のアミノ酸 Met(M)55 から Leu(L) に置換したもの、さらにプロモーター領域 (T-108C) に遺伝子多型をもつものが存在する。PON1_{R192} は、パラオキシノンやクロロピリホスオキシノン、PON1_{Q192} は、サリンやタブンを、ダイアゾオキシノンは両者が効率よく加水分解できることなど、神経毒ガスや有機リン系化合物に対する基質特異性も異なっている。

また、PON1 の総酵素活性は、個人差が大きいことが明らかにされており、遺伝型ではなくて、遺伝型と表現型としての総酵素活性の状態が、OPs や神経毒ガス曝露などに対する感受性あるいは抵抗性という点での重要性があるとしている。

なお、PON1 は成長過程では、年齢から見ると、出生時では活性は極めて低く、1~2 歳児まで増加していくが、7 歳児近くではほぼ酵素活性が完成するとされており、その間は有機リン系殺虫剤に対する感受性が高いことが考えられる。海外では子供の PON1 の低活性は、OPs への感受性が高くなることからその曝露状況が憂慮されている。また、PON1 活性は加齢で減少して行くことが示されている。

3-3-2 PON とヒトの疾患との関連性^{9~11)}

PON1 は、肝臓で合成され、血中に分泌されるが、血液中では HDL と会合しており、そのエステラーゼ機能は、生体内で生成する酸化型リン脂質の加水分解やラクトン環の開環反応など多彩な機能を有している。このこと

から、PON1 のヒトの生理的に重要な点は、酸化ストレスの防御機能であり、その関連疾患として、動脈硬化、心血管系や糖尿病の予防効果との関係である。ヒトにおいて、血清 PON1 活性は、40 倍もの個人差があることが明らかにされている。⁵⁾ その理由は、PON1 の遺伝的多型の存在で説明は可能であるが、本酵素の誘導性など外因性の要因による影響も大きいことからさらなる検討が必要であろう。

PON1 は、ヒトにおける遺伝的多型などとの関連性についての研究が進んでおり、その発現状態と各種の神経変性性疾患との関連での研究も進められている。PON1 は、酸化型脂質など神経毒性物質の解毒的代謝も含め、生体内の有害な物質の解毒という多彩な機能を有しているともいえる。心血管系疾患においては、遺伝子型よりも、PON1 の遺伝子型と血清中の活性 (PON1 の状態) の方が、より予測性に優れているとされている。また、PON1 の活性は、女性が男性より高いことも明らかにされており、酸化ストレスに関連する疾患の発症との関連に、今後の詳細な検討が期待される。

毒性化学物質名から命名された PON1 の生理的状态 (遺伝子型と表現型としての血清酵素の活性) としての総酵素活性が、ヒトの動脈硬化、循環系、神経変性性疾患など各種疾患とも深く関係していることを述べるにとどめておくこととする。

3-3-3 PON1 は誘導酵素

PON1 は、上述のように肝臓で合成され、血液中へと分泌され、血中では HDL と会合している。PON1 は、エステラーゼとして OPs の活性 (毒性) 代謝物や神経毒ガスの加水分解、内因性の酸化脂質の分解、ラクトン

環の加水分解などその多彩な酵素機能からみて薬理学的や毒性学的にも本酵素が誘導されるかどうかは重要であり、研究が進められ、PON1 は誘導酵素であることが明確になっている。^{13~19)} 特に文献 12 は、総説としてその時点までの各種治療薬による PON1 活性への影響を臨床的にも、研究的な論文をまとめているのでそれを参考にする。

血清 PON1 活性は、OPs の CYP での代謝的活性化との関連もあり、農業従事者や一般的な OPs 曝露に対するヒトの感受性の決定因子である。PON1 活性を上昇させるためには、医薬品や食事成分の摂取が考えられる。医薬品としては、抗高脂血症薬フィブラート系やスタチン類¹⁴⁾、抗糖尿病薬ロシグリタゾン、加えてアスピリンの作用¹⁵⁾ も検討されている。しかし、PON1 活性調節のためにこれらの薬を健常成人に慢性的に投与することは、むしろ副作用や有害作用の問題がある。生理的物質のビタミン C と E による活性上昇が、減少の結果もあるが、胆汁酸は、PON1 を負に調節するとされている。¹⁶⁾

また、食事由来脂質による PON1 誘導も明らかにされている。¹⁷⁾

実際には、日常的に摂取する食品中成分やサプリメントの適用が推奨されることから、数多くの検討が進められている。

抗酸化作用が明らかにされているポリフェノール類で赤ワインなどに含有されるレスベラトロール¹⁷⁾、ウコンのクルクミン¹⁸⁾、ソラマメなどのイソフラボンのゲニステインやケルセチン¹⁹⁾、ワサビなどの成分アリールイソチオシアネート²⁰⁾ による *in vitro* 細胞系や一部 *in vivo* での誘導研究がある。しかし、研究の大部分は細胞系での遺伝子発現やタンパク質発現誘導の報告であり、*in vivo* での肝

臓での遺伝子や酵素タンパクの誘導は、まだ確実に示していることは少ない。*In vivo* 誘導が起こりにくいとされる一つの要因として、これら化合物の腸管からの吸収性が低く、PON1 誘導に至る有効量に達することがないであろうことが考えられる。

これらの化合物による PON1 の誘導機序としては、PON1 誘導には、PKC, MAPK, Sp1, SREBP-2, AhR, PXR など各種の情報伝達系や転写因子が関与して上向き調節しているとされているが、^{16, 21, 22)} AhR 介在でも CYP 誘導とは関連していないなど機構解明には、今後の詳細な検討が必要であろう。また、PON1 の活性や発現の面からは、喫煙、高脂肪食、環境中の金属類など、PON1 活性を減少させるような因子も無視することは出来ないとされている。

今後 PON1 活性の効率のよい HTS 系のアッセイ法の構築が期待される。

4. 選択毒性の話

さて、上述の PON1 の説明の中で、パラチオンなど強毒性 OPs からマラチオンやフェントロチンなどの低毒性 OPs の開発の話題に触れた。それは毒性学の重要な概念の一つである選択毒性が適用されている例である。本例は、OPs の生体内代謝に関することで、特にマラチオンは、ヒトや動物においてはカルボキシエステラーゼによる代謝で解毒されるが、殺虫剤としての標的となる有害な害虫類には本酵素が存在しないため、酵素的に代謝的活性化され、殺虫効果が得られる。このように、比較生化学的な差異に基づく選択毒性の概念は、医薬品、農薬など現実の生活の中で幅広く応用されている。

その他の例として、ヒトは、タマネギ、ニラ

やニンニクなどの野菜を日常の食生活において安全に摂取しているが、これらの含有成分である有機硫黄化合物のアリルイソプロピルジスルフィドや硫化アリルなどは、ネコやイヌでは有毒となる。その理由は、これらの有機硫黄化合物の代謝酵素をネコやイヌは

有していないことから、解毒できずに溶血などの有害作用が生じることによる。

選択毒性に関する医薬品や農薬のさらなる事項に関しては、次回の課題としても取り上げることにする。

参考文献

1. Wilson J: Cyanide in human disease: a review of clinical and laboratory evidence. *Fundam Appl Toxicol*, **3**: 397–399 (1983).
2. Costa LG, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lusi A, and Furlong CE: The role of paraoxonase (PON1) in the detoxication of organophosphates and its human polymorphism. *Chem Biol Interact*, **119–120**: 429–438 (1999).
3. Furlong CE: Genetic variability in the cytochrome P450–paraoxonase 1 (PON1) pathway for detoxication of organophosphorus compounds. *J Biochem Mol Toxicol*, **21**: 197–205 (2007).
4. Cole TB, Jansen K, Park S, LiW–F, Furlong CE, and Costa LG: The Toxicity of mixtures of specific organophosphorus compounds is modulated by paraoxonase 1 status. *AdvExp Med Biol*, **660**: 47–60 (2010).
5. Worek F, Seeger T, Goldsmith M, Ashani Y, Leader H, Sussman JS, Tawfik D, Thiermann H, and Wille T: Efficacy of the rePON1 mutant IIG1 to prevent cyclosarin toxicity in vivo and to detoxify structurally different nerve agents in vitro. *Arch Toxicol*, **88**: 1257–1266 (2014).
6. Richter RJ and Furlong CE: Determination of paraoxonase (PON1) Status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics*, **9**: 745–753 (1999).
7. Povey AC: Gene–environmental interactions and organophosphate toxicity. *Toxicology*, **278**: 294–304 (2010).
8. Costa LG, Giordano G, Cole TB, Marsillach J, and Furlong CE: Paraoxonase 1 (PON1) as a genetic determinant of susceptibility to organophosphate toxicity. *Toxicology*, **307**: 115–122 (2013).
9. Povey AC: Gene–environmental interactions and organophosphate toxicity. *Toxicology*, **278**: 294–304 (2010).
10. Gugliucci A and Menini T: Paraoxonase 1 and HDL maturation. *Clin Chim Acta*, **439**: 5–13 (2015).
11. Lee YH, Kim JH, Seo YH, Choi SJ, Ji JD, and Song GG: Paraoxonase 1 Q192R and L55M polymorphisms and susceptibility to amyotrophic lateral sclerosis: a meta–analysis. *Neurol Sci*, **36**: 11–20 (2015).
12. Fülöp P, Harangi M, SeresI, and Paragh G: Paraoxonase–1 and adipokines: Potential links between obesity and atherosclerosis. *Chem Biol Interact*, Apr 7. pii: S0009–2797 (2016).

13. Costa LG, Giordano G, and Furlong CE: Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1). activity and expression: the hunt goes on. *Biochem Pharmacol*, **81**: 337–344 (2011).
14. Gouédard C, Koum-Besson N, Barouki R, and Morel Y: Opposite regulation of the human paraoxonase-1 gene PON-1 by fenofibrate and statins. *Mol Pharmacol*, **63**: 945–956 (2003).
15. Jaichander P, Selvarajan K, Garelnabi M and, Parthasarathy S: Induction of paraoxonase 1 and apolipoprotein A-I gene expression by aspirin. *J Lipid Res*, **49**: 2142–2148 (2008).
16. Gutierrez A, Ratliff EP, Andres AM, Huang X, McKeehan WL, and Davis RA: Bile acids decrease hepatic paraoxonase 1 expression and plasma high-density lipoprotein levels via FXR-mediated signaling of FGFR4. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **26**: 301–306 (2006).
17. Curtin BF, Seetharam KI, Dhoieam P, Gordon RK, Doctor BP, and Nambiar MP: Resveratrol induces catalytic bioscavenger paraoxonase 1 expression and protects against chemical warfare nerve agent toxicity in human cell lines. *J Cell Biochem*, **103**: 1524–1535 (2008).
18. Schrader C, Schiborr C, Frank J, and Rimbach G: Curcumin induces paraoxonase 1 in cultured hepatocytes in vitro but not in mouse liver in vivo. *Br J Nutr*, **105**: 167–70 (2011).
19. Schrader C, Ernst IM, Sinnecker H, Soukup ST, Kulling SE, and Rimbach G: Genistein as a potential inducer of the anti-atherogenic enzyme paraoxonase-1: studies in cultured hepatocytes in vitro and in rat liver in vivo. *J Cell Mol Med*, **16**: 2331–41 (2012).
20. Curtin BF, Seetharam KI, Dhoieam P, Gordon RK, Doctor BP, Nambiar MP, Schrader C, Graeser AC, Huebbe P, Wagner AE, and Rimbach G: Allyl isothiocyanate as a potential inducer of paraoxonase-1—studies in cultured hepatocytes and in mice. *IUBMB Life*, **64**: 162–8 (2012).
21. Guyot E, Coumoul X, Chassé JF, Khallouki F, Savouret JF, Poirot M, and Barouki R: Identification of a new stilbene-derived inducer of paraoxonase 1 and ligand of the Aryl hydrocarbon Receptor. *Biochem Pharmacol*, **83**: 627–32 (2012).
22. Ponce-Ruiz N, Rojas-García AE, Barrón-Vivanco BS, Elizondo G, Bernal-Hernández YY, Mejía-García A, and Medina-Díaz IM: Transcriptional regulation of human paraoxonase 1 by PXR and GR in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro*, **30**: 348–54 (2015).

(2) 学会の思い出話

HAB 学会の歩みと連結して発展してきた薬物動態 IVIVE

理化学研究所 杉山特別研究室

杉山 雄一

ヒト組織を用いた *in vitro* 試験が創薬研究に繁用されている

近年、薬物動態を決定する多様な代謝酵素・トランスポーターの分子実態が明らかとなり、種々の *in vitro* 実験系を用いて、分子の機能を定量的に求めることが可能となっている。従って、これら *in vitro* 実験から得られた情報を基に、全身での薬物動態・薬効・副作用を予測できるような生理学薬物速度論モデル (PBPK モデル) を構築することが出来れば、個々のパラメータの意味づけが明確となり、各パラメータの変動が、最終的な薬効にどのような影響を与えるかについて科学的な意味づけを持たせることができる。*In vitro* 試験の結果から *in vivo* を予測することは IVIVE (*in vitro-in vivo* extrapolation) と呼ばれ、日本を含むグローバル企業において日常の業務に定着している。これを手助けするソフトウェアも多く開発されており、規制側も *in vitro* 試験結果を基に PBPK モデルを適用することにより、不要な臨床試験を回避することを承認し、医薬品開発の迅速化を薦めている。また、PBPK モデルによる予測計算結果を、新薬の添付文書にも反映されることも薬物間相互作用について実施されている。私が動物実験データを基にして PBPK モデリングの研究を始めた 35 年ほ

ど前に、このような時代が来ることを想像することは困難であった。この 35 年間の世界の動きを HAB の活動とあわせて振り返ってみよう。

私の初期研究と HAB の歩み

私は 33 歳頃から、東京大学薬学部にて PBPK モデルを用いて、細胞、オルガネラを用いた *in vitro* 代謝、輸送の実験結果から *in vivo* での動態 (クリアランス、組織取り込み・排泄能力、薬物間相互作用) を予測するという研究を発展させてきた。世界のこの領域においてもかなり、認知された状況であったと思う。解熱鎮痛剤のエトキシベンズアミド (EB) の血中濃度推移、組織中濃度推移を、*in vitro* のデータ (代謝、結合、輸送) のみを用いて、ラット、ラビットの両種で全く異なる投与量依存性を示す *in vivo* データを予測できた時には (Lin et al., 1982) ¹⁾、大変な喜びであったことを今でも鮮明に覚えている。この後、数年間、類似の研究を繰り返し実施していたが、やがて私自身が行き詰まりを感じた。結局、動物のデータを用いて予測できたと言ってもヒトに適用できなければ意味がない。理論的な展開はすでに世界の研究者や私たちによって重要なところは研究されており、より精密にしていくことが残っているだけで

そんな研究をしても意味がない、と感じた。そこで、トランスポーターの細胞生物学、分子生物学という領域に入り、研究室としての新しい研究ツールの開発のための研究に専心することにした。トランスポーター研究は発展し、この判断は間違っていなかったと思うが、この時の経験から、もっと粘り強くあるべきだったという反省が残っている。もう少し詳細に説明する。

私が45歳頃から、世界ではヒト組織（肝細胞、肝ミクロソームなど）の利用できる道が開けて、これまでに動物実験を基に確立されてきたIVIVEの予測法がヒトに適用することが可能な時代になってきた。現在では、前述のように世界の多くの製薬企業の動態研究所でこの手法が用いられている。ヒト組織の入手ができることに私が気づいたときには、既に他の幾つかの研究グループがヒトでの動態予測に関する研究をスタートさせており、私たちも遅ればせながら本領域の研究に加わり競いあった。動物で多くの経験を持っていた私たちは、最初は遅れはとったものの、比較的早く世界のグループと競合できるようになった。最初に大きな成果を得たのは山之内製薬からの研究生、岩坪博士と実施したCYP3A4基質の投与量依存性の予測であった（Iwatsubo et al, 1997）²⁾。動物でほぼ同じアプローチで予測を成功させてから15年後の研究成果であった。しかし、15年前にヒトでの研究を諦めることなく、世界の研究所を行脚してでもヒト組織の入手に必死になるという行動をとらなかったことは今でも悔いている。これだけ研究進行が早い時代においては、絶好のチャンスは多くあるものでない。研究目

的が明確であれば、何が何でもその目的に向かって最大の努力をするという研究姿勢の重要性を主張したい。諦める前に、もう一度考えてみよう。“本当に無理なのか？”と。

HAB研究機構は、医学・薬学関係者らの専門家有志によって1994年に設立された「HAB協議会」を先駆けとして、2002年に内閣府より認証されたNPO法人である。1994年5月には、第1回HAB協議会研究会が開催され、主題：「医学・薬学領域におけるヒト組織の有効利用に関するシンポジウムー日本と欧米の現状ー」のシンポジウムが行われた。私がヒト組織（実際には肝ミクロソームや肝細胞）を用いた研究を行い始めた時期も、HABの設立時期とほぼ同じである。当時、HAB研究機構およびカリフォルニアのSRI Internationalの両方からヒト組織を提供して頂いて研究を進めたことを覚えている。

私自身はIVIVEをテーマにした講演・研究発表をHAB協議会、HAB研究機会の年会において、ほぼ20年近く行ってきた。最初にヒト組織を用いて肝代謝のIVIVEに成功した時、トランスポーターの関わる輸送のIVIVEに成功した時、代謝酵素とトランスポーターの両方が関わる時のIVIVEに成功した時、複雑な薬物間相互作用の予測に成功した時、それぞれの場合において感じたサイエンスへの信頼がHABの会員に伝わっておれば幸いである。

今後のHAB研究機構への期待

入手できるヒト試料（例えば、肝細胞、腎尿細管上皮細胞、消化管上皮細胞）はロット間のばらつきが大きく、かつ同一ロットのサンプルは有限であること、また、数日

の培養で重要な蛋白の発現量の増減が見られ安定培養系を確立することが極めて困難であるという重大な問題がある。肝臓での輸送や、代謝特性の評価は薬物スクリーニングのために必須なものであるが、それら进行评估するのに用いられるヒト肝細胞は、多くの場合、海外から輸入される凍結細胞に頼っている。わが国において医薬品のスクリーニングに用いるためのヒト組織を確保する体制を作ることが早急に必要である。さらに、それと並行して、種々のヒト細胞の機能を持つES、iPS細胞由来の均一かつ無限に入手可能な分化細胞を用いたアッセイ系の確立が望まれる。分化細胞として、ヒト組織細胞を自由に供給できるようになれば、同じ遺伝的バックグラウン

ドを有する細胞を無限に安定的に用いることができるようになると共に、異なる遺伝子変異を有するES、iPS細胞から分化させた細胞株を使うことで、遺伝子多型を有するヒトにおける薬物動態についても実験的に予測することが可能となる。しかし、そのような時代が来たとしても、わが国において自前のヒト組織が供給できるようになることは必須であり、HAB研究機構に期待するところは大である。そのためには、HAB研究機構の中に研究のできる環境（スペース、人材ともに）を作ることを再考すべきではないだろうか？先駆的なヒト組織の利用方法を世の中に研究成果として示すことによりリーダーシップを発揮して頂きたいと願っている。

参考文献

1. Lin JH, Sugiyama Y, Awazu S and Hanano M: Physiological pharmacokinetics of ethoxybenzamide based on biochemical data obtained in vitro as well as on physiological data. *J Pharmacokinet Biopharm*, **10**:649-661 (1982).
2. Iwatsubo T, Suzuki H, Shimada N, Chiba K, Ishizaki T, Green CE, Tyson CA, Yokoi T, Kamataki T and Sugiyama Y: Prediction of in vivo hepatic metabolic clearance of YM796 from in vitro data by use of human liver microsomes and recombinant P-450 isozymes. *J Pharmacol Exp Ther*, **282**:909-919 (1997).

6. HAB 研究機構 会員の頁

HAB 研究機構では多くの賛助会員・正会員の皆様との共同研究を行っております。
このコーナーではそういった皆様から頂きました研究報告や研究所・教室の御紹介、
その他ヒト組織の有効利用に関することなど、多岐に渡る御意見・感想を掲載しています。

(1) 千葉大学大学院薬学研究院 臨床薬理学研究室の紹介

千葉大学大学院薬学研究院

樋坂 章博、佐藤 洋美、畠山 浩人

私たちの臨床薬理学研究室は 2014 年 4 月に上野光一先生が主宰されていた高齢者薬剤学研究室を引き継ぎ活動を開始しました。これまでの薬物治療に関する研究に加え、新しい領域に挑戦したいとの考えから、2015 年 4 月より現在の名称に改めました。研究室の英語名は「Clinical Pharmacology and Pharmacometrics」としています。Pharmacometrics は「計量薬物学」と訳されることもありますが、この言葉を使ったのは、今後の医薬品研究の 1 つの鍵を握る「モデリングとシミュレーション」を積極的に進め、それを薬物治療への貢献に生かそうとの意図が込められています。世界中でモデリングと言えば私たちの研究室も思い出していただけるようになる、それが私たちの目標です。

少し自己紹介すると、私（樋坂）は 1984 年に北大薬学部修士課程を修了後、万有製薬（現在の MSD）で 21 年間薬物動態分野の研究を経験しました。その間、1999 年に東大薬学部の杉山先生のご指導で博士号をとりました。2005 年からの 9 年間は、東大病院薬剤部で鈴木洋史先生のもと

で研究を進めました。ですので、企業と病院の両方の経験が長いところが私の特徴です。なお今年度から PMDA の専門委員にも着任しました。佐藤洋美助教は千葉大学薬学部博士課程を 2009 年に修了後、上野先生のもとで癌、糖尿病、コネキシンなどの研究を進めてきました。畠山浩人助教は 2008 年北大薬学部博士課程を修了後、原島秀吉先生のもとでリポソームを用いた DDS の研究を進め、2013 年からは米国 MD アンダーソンがんセンターに留学し、今年 1 月に私たちの研究室に着任しました。二人とも多くの研究の可能性の中から特に私の領域に共感してタッグを組んでくれており、大いに信頼する研究室のスタッフです。現在の教室の学生は 4 年生が 4 人、5 年生と M1 が 3 人、6 年生が 5 人、社会人 D1 が 1 人、D3 が 1 人の 14 人います。最近は社会人大学院生の問い合わせが増えており、教室の人数は増加傾向です。また企業などからのコンサルタント・共同研究の申し込みにも積極的に対応しています。研究室は千葉大亥鼻キャンパスの薬学部医薬系総合研究棟 1F にあります。

モデリングの役割

この研究室で推進するモデリングは、目的がはっきりしていて役に立つことが重要と考えます。医療や創薬の現場で必要なのは、例えばどの治療法を選択するか、あるいはどのバイオマーカーや候補化合物を選択するかなどの方針の決定（decision making）です。この研究室が目指すのは、実験結果をモデルがよく説明するだけではなく、何かを決定できる役に立つモデリングです。

MBMA

あまり耳慣れない言葉ですが、この研究室の研究アプローチとして重要なので「モデル基盤のメタアナリシス（MBMA: Mode-Based Meta-Analysis）」との言葉を紹介します。多数の臨床研究の情報を統合する解析をメタアナリシスと呼びますが、その中で、特にモデルに基づいて行う解析方法を MBMA と呼びます。Top-down のモデリングの典型例とも言えるでしょう。モデリングには解析の不確かさが少しつきまといますが、これを多数のエビデンスを集めて吹き飛ばそうとするものです。これからの big data の解析に必要な技術と言えます。一方で多様な情報を集めるので、個体間差や試験間差などの多様性を数理的にきちんと取り扱うところに、それなりのノウハウがあります。私の東大時代からの研究で意図せずに MBMA のアプローチをとっていたものに、薬物相互作用の研究があります。これは CYP の分子種ごとの寄与率、阻害率を *in vitro* ではなく多くの臨床試験の成績から求めて相互作用を系統的に予測するもので、最終的に現在

PMDA を中心に作成中の「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」にその考え方を生かすことができました。詳しくは参考文献を参照ください。現在は同様に多数の臨床試験や臨床の情報をもとにモデル解析する研究を、薬物動態関連では小児の適正薬用量の設定、小腸代謝の寄与、経口クリアランスの人種差などのテーマで進めるほかに、薬効を含めた解析としては新規経口抗凝固薬の NOAC の適正用量探索、さらに薬効のみのモデリングとして、アルツハイマー病のバイオマーカーの解析、心不全の心臓負荷のモデリングなど、極めて広範に展開しています。特にアルツハイマー病の解析は東大病院と共同で、SReFT と名付けた PPK 解析をさらに拡張する新たな解析法を開発しています。信頼されるモデル解析として、これらの MBMA が今後は治療の選択、あるいは臨床試験の計画作成に広く使われていくことになるかと期待しています。

QSP

Bottom-up のモデリングはミクロな *in vitro* の情報から多様な知識を集約し、最終的にマクロな *in vivo* の帰結を予測するアプローチです。生物学の分野ではシステム生物学の考え方がこれに相当します。薬物動態学の分野では生理学的薬物速度論（PB-PK）がこれに近いでしょう。薬物動態学と薬効を結びつける PK-PD 解析にもこの型のものがあります。ヒトの薬効あるいは毒性の発現には、このような機構が重層的に関与すると考えるのが自然です。この重層構造をそのまま定量的に解析しようとするのが「定量システム薬理学（QSP:

Quantitative Systems Pharmacology)」と呼ばれるアプローチです。QSP は以前には PB-PK、PK-PD、あるいはシステム生物学的な解析と呼ばれていたものに、薬効の解析を志向してより包括的な名称をつけたとも言えます。臨床薬理学研究室では、ウェットの研究を基盤とした QSP も積極的に推進する考えです。当研究室の伝統である細胞実験や動物実験の結果を統合し、ヒトでの効果を予測する枠組みです。私たちが現在積極的に取り組んでいるのは、なんとアルツハイマー病です。アルツハイマー病では HAB からヒトの脳脊髄液の試料提供を受け、疾患の開始要因を探索する研究を始めたところ です。癌では佐藤先生がこれまでも耐性癌を克服するためにコネキシンの発現に着目したユニークな研究を

進めてきました。また畠山先生は着任したばかりですが、これまでのリポソーム研究の経験を生かして、癌の生物学的製剤の薬効の個体差を解明するモデリングの研究を始めたところ です。

その他の活動

その他の活動で特筆すべきは、私たちの研究室は千葉大薬学部の中で薬剤師の卒後教育を担当する研究室になっているところ です。毎年 4 月から 6 月に 3 回研究会を開催しています。今年のテーマは「地域の健康を支える薬剤師～処方監査と薬物治療～」でした。今後も医療と新薬開発の現場意識にアンテナを張りつつ、研究と教育に楽しく邁進する、そんな研究室を目指しています。

参考文献

1. 大野能之, 樋坂章博 (鈴木洋史監修). これからの薬物相互マネジメント～臨床を変える PISCS の基本と実践～じほう, 2014
2. 大野能之監修. 特集 薬物相互作用. 薬局 2016 年 7 月号.

(2) 大鵬薬品工業株式会社・ 研究本部・薬物動態研究所の紹介

大鵬薬品工業株式会社 研究本部 薬物動態研究所

千葉 雅人

大鵬薬品は、1963年に大塚グループの一員として創立されました。まだ、経口抗がん剤が汎用されていない時代に、経口テガフル製剤「フトラフル」を発売（1974年）し、その後、1984年発売の「ユーエフティー」により術後補助化学療法のエビデンスを構築しました。また、1999年発売の「ティーエスワン」によって、進行再発胃がんや胃がん及び膵がんにおける術後補助化学療法の標準治療を確立しました。さらに、2014年には新規作用機序を有する経口抗がん剤「ロンサーフ」を世界に先駆けて日本で発売し、2015年には米国での自社販売を開始し、2016年4月には欧州でも承認を取得しています。このように大鵬薬品は、世界のがん化学療法に貢献できる薬剤開発にチャレンジを続ける一方、免疫・アレルギー、泌尿器領域においてもユニークで新規性のある医薬品開発に精力的に取り組んでおり、患者さんの生活の質の改善、さらには根治に繋がる新薬の創造にチャレンジを続けています。

薬物動態研究所が所属する研究本部（つくばエリア）は、2009年8月に、大鵬薬品が万有製薬株式会社（現MSD株式会社）から買収した研究施設（茨城県つくば市）にあります。ここでは、がん、免疫・アレルギー、泌尿器の3領域におけるアンメットメディカルニーズに対し、新薬の候補化合物の創製に挑戦しています。化学、生物、インフォマティクス、分子設

計、薬物動態、天然物を利用した創薬等、各専門分野における知識・経験と最先端の技術を活用し、新規標的の探索、作用機序の解明、新規化合物の合成や物理化学的な性質の評価、有用性や安全性に関する評価、薬物動態試験を行っています。また、個別化医療の実現に向けたバイオマーカー研究も遂行しています。

現在の薬物動態研究所は、臨床開発候補化合物創製のための構造最適化を担当していた創薬薬物動態研究室（つくば研究センター）と、臨床移行及び承認申請のための薬物動態分野に関わる開発業務を担当していた薬物動態研究所（徳島研究センター）が、2013年4月に統合されて発足しました。大鵬薬品における唯一の薬物動態関連部署であるため、創薬初期段階での薬物動態スクリーニングから、前臨床での薬効・毒性試験支援、臨床移行のための前臨床薬物動態試験、臨床生体試料中の濃度測定と代謝物分析、臨床薬物動態解析、並びに、承認申請資料作成及び照会事項への対応と、文字通り、新薬創製の始めから完成までに関わっています。限られたリソースで、タイムリーな対応を可能にするため、研究所は、機能別に分けられた1つの課（薬物動態研究推進課）と2つの研究室（生体試料分析室及び薬物動態研究室）から構成されています。

臨床試験からの生体試料中濃度測定は、「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析

法のバリデーションに関するガイドライン」に基づき GLP (Good Laboratory Practice) に準拠した信頼性基準を確保して行われています。また、臨床試験データの薬物動態解析及び報告書は、GCP (Good Clinical Practice) 体制の本で解析・作成されています。したがって、薬物動態研究推進課は、SOP 整備及び改訂、外部委託施設の選定及び調査、試験、被験物質及び機器の管理などを通して、QAU (信頼性保証部門) 及び GCP 監査に適合するための研究所内信頼性管理体制を維持する役割を担っています。

生体試料分析室では、リキッドハンドリング / 自動分注機及び高速液体クロマトグラフィー / 質量分析計を駆使して、最大限の効率化を達成しながら、創薬・探索段階での薬効薬理試験の血漿中及び標的臓器内の化合物濃度測定、前臨床 PK (Pharmacokinetics) 試験での生体試料中化合物及び主要代謝物濃度の測定、*in vitro* での代謝物同定と代謝プロファイルの種差の検討、並びに、臨床試験からの生体試料 (血漿及び尿) 中濃度測定及び代謝物の同定など、生体試料中化合物の分析に関わる全ての業務を担当しています。前臨床試験からの生体試料分析結果は、タイムリーに創薬プロジェクト窓口担当者にフィードバックされます。また、臨床試験の分析結果は、開発本部に移管され、CDISK (Clinical Data Interchange Standards Consortium) 標準に準拠してデータベース化されると共に、薬物動態分析報告書として、薬物動態研究室の開発プロジェクト窓口担当者による解析に委ねられます。

薬物動態研究所では、薬物動態研究室内にリキッドハンドリング / 自動分注機を用いた HTS (High Throughput Screening) システムを持ち、化合物探索段階での肝ミクロソーム中代

謝安定性及び UPLC (Ultra-Performance Liquid Chromatography) / 高分解能質量分析計による代謝「ソフトスポット」の同定、並びに、主要ヒト P450 分子種に対する競合型及び時間依存型阻害能の評価をしており、創薬化学部門での構造変換による開発候補化合物への最適化に貢献しています。探索後期段階では、生体試料分析室での代謝プロファイリングに加えて、(安全性) 試験動物での PK 試験結果、(凍結保存) 遊離肝細胞での肝クリアランス評価、並びに、モデル動物での薬効薬理試験データを統合して、推定薬効用量を算出します。その後、臨床開発に向けて前臨床開発試験が開始され、新薬臨床試験開始届 (IND) パッケージ / 治験薬概要書 (IB: investigator's brochure) を作成します。治験が開始されると、Phase I の進行に合わせて迅速に薬物動態分析及び解析を行い、臨床試験を推進します。また、前臨床での酵素阻害や誘導試験結果をガイドラインに照らし合わせて必要となる薬物相互作用試験、製剤変更による同等性試験、ヒト・バイオアベイラビリティ試験、ヒト・マスバランス試験、並びに、食事の影響試験など、承認申請に必要となる臨床薬理試験とプロトコルの提案及びデータの解析もこのグループの重要な職務です。さらに、集積された薬物動態データに母集団薬物動態解析法を適用して、母集団パラメータを推定し、申請資料を作成します。

このように、大鵬薬品工業株式会社・研究本部・薬物動態研究所は、薬物動態に関する専門集団として、知識及び技術の統合ならびに高度化に努めるとともに、他部門との連携を強化して集中的に業務を遂行し、新薬の探索から臨床開発及び市販後医薬品の LCM (Life Cycle Management) に貢献しています。

7. 会議議事録

(1) 第35回理事・監事会議事録（抜粋）

日時：2016年2月22日（月）18:00－20:00
場所：東京駅地下八重洲倶楽部 第2会議室
定刻に至り事務局から定款に基づく定数を満たしたので本会議は有効に成立した旨が報告された。

審議事項

1) 2015年度活動報告案

事務局より2015年度活動報告案が説明された。今年度のヒト試料提供事業としては、例年の提供試料に加え、臍島細胞の供給が1回、肝臓の供給が1回あった。また試料提供事業以外には、11月16日に開催されたDIA日本年会において、シンポジウム「創薬創出へのヒト臓器・組織利用」を共催し深尾 立理事長、町野 朔先生、堀井 郁夫理事、楠原 洋之理事が講演した。審議の結果、2015年度活動報告案は理事会案として満場一致で承認された。

2) 2015年度補正予算案

事務局より、2015年度補正予算案について説明された。一般会計については、年会費を長期滞納している者を退会扱いとすることが了承された。また、今年度理事会を3回開催したため、会議費および旅費交通費が増額修正となった。事業会計については、収入の部は、ほぼ予算どおりの経常収入があったものの、支出の部では2012年末から続くドル高円安も峠を越えたものの、この一年間は120円前半で推移したため、試料取り扱い費、および運搬費が増額修正となった。また、第27市民公開シン

ポジウムの開催を朝日新聞に広告をだしたことから、その費用を予備費を補正して対応することなどが説明された。また他の項目はほぼ予算通りであったことが報告され、補正予算案について慎重審議の結果、2015年度補正予算案は理事会案として満場一致で承認された。

次に、本年はNDRIから2016年度Partnershipの値上げ要求が無かったことが報告され91,670ドルを支払うことが承認された。

3) 2016年度活動計画案

事務局より、2016年度活動計画案について、例年行っている事業を2016年度も継続して行うことが説明された。また、以下の事業に関してそれぞれ詳細が説明された。

①雨宮プロジェクトに関連して

2013年に昭和大学病院有賀 徹院長を訪問して雨宮プロジェクトへの参加をお願いした結果、昭和大学でも心臓死ドナーは多くないため、当面は消化器外科で行われる臍頭十二指腸切除術や大腸がん切除術の際に、切除された小腸正常部位を研究者に供給し、実績を積んだうえで心臓死ドナーへも拡大するという方針で行うこととなり、一昨年中にこの手術切除組織の研究利用については倫理委員会や教授会の承認を得て、環境整備や段取りも全て整ったが、その後進展がないため、木内 祐二理事、吉田 武美理事を中心に問題点を整理して供給が実現するよう検討を行っていくこととした。

また、深尾 立理事長が筑波大学消化器外

科大河内 信弘教授を昨年訪問し、昭和大学同様臍頭十二指腸切除術や大腸がん切除術の際に、切除された正常部位を供給していただけるよう依頼した。その後、東京大学大学院薬学研究科前田 和哉先生と大河内 信弘先生を訪問し、小腸切除組織を用いた共同研究の打ち合わせをしたものの、こちらは東京大学薬学部内の倫理委員会で審査が遅れ、共同研究に至っていないことが説明された。

以上の活動計画案について質疑応答の結果、2016 年度活動計画案は理事会案として満場一致で承認された。

4) 2016 年度予算案

事務局より 2016 年度予算案が説明された。本予算案は試料提供事業を 2015 年度決算を参考にして計上したこと、そして昭和大学創立 90 周年記念事業の一環として進められている新上條講堂建設事業への 50 万円の募金が計上されていること等が

補足説明された。以上の予算案について質疑応答の結果、理事会案として満場一致で承認された。なお、総会で予算案が承認されるまでの間、本予算案で暫定的に事業を運営していくことが満場一致で承認された。

5) その他

①第 2 次人試料委員会活動報告

深尾 立理事長より、昨年 12 月 20 日まで計 10 回の委員会を開催し、報告書がまとめられたことが説明された。今後報告書・意見書をまとめ、上智大学出版から上梓する予定である。

②その他

事務局より正職員、パート職員から退職願いが出されたことが報告され、それぞれ退職することが承認された。なお、業務に遅滞が生じないよう後任者を早急に決めることとし、出席役員に適任者の推薦が要請された。

以上

(2) 第 36 回理事・監事会、第 14 回評議員会合同会議議事録 (抜粋)

日時：2016 年 5 月 26 日 (木) 12:30 - 14:00

場所：産業技術総合研究所つくば中央

5-1 棟 2 階会議室

定刻に至り事務局から定款に基づく定数を満たしたので本会議は有効に成立した旨が報告された。

審議事項

1) 2015 年度活動報告案

千葉 康司総務副委員長より、2015 年度活動報告案が説明された。今年度のヒト試料提供事業としては、例年の提供試料に加

え、臍島細胞、耳介軟骨試料が供給されたことが報告された。審議の結果、2015 年度活動報告案は理事会案として満場一致で承認された。

2) 2015 年度決算案

五十嵐 隆財務委員長より、2015 年度決算案が説明された。会費・入会金収入に関しては、今年度 7 名が正会員として新入会したこと、賛助会員は 1 社が退会したことが報告された。その他の会費・入会金収入はほぼ予算通りであった。また、事業収入は昨年度の

約 0.87 倍の収入にとどまったものの、NDRI への支払は円安の影響を受け増加した。最終的に、事業支出は昨年度の 1.01 倍となり、当期収支差額合計は昨年比 5 割減になったことが説明された。

次に、横澤 良和監事より 5 月 20 日に附属研究所会議室において五十嵐 隆財務委員長、栗原 厚財務副委員長、伊藤・細矢税理士法人佐々木 宏之税理士立会いのもと、事務局より提出された決算書および証拠書類を監査した。その結果、予算が適正に執行されたものと認められた旨の報告がなされた。最終的に、会計報告案は理事会案として承認された。

3) 2016 年度活動計画案

千葉 康司総務副委員長より、HAB 研究機構 2016 年度活動計画案について説明された。質疑応答の結果、2016 年度活動計画案は理事会案として満場一致で承認された。また、第 23 回学術年会長の菅沼 彰純氏より、本年はつくばで開催することとなったが、事前参加申し込みが 160 余名そして当日参加申し込みが 21 名と、例年並みの参加者数で、盛会な学術年会を開催中であると

の報告があった。これに対して、深尾 立理事長から、年会の企画、運営に尽力していただけたことに対して謝辞が述べられた。

4) 2016 年度予算案

五十嵐 隆財務委員長より、2016 年度予算案が説明された。協議の結果理事会案として満場一致で承認された。

5) その他

事務局より以下の事が報告された。

①主たる事務所閉鎖及び定款変更について
事務局より主たる事務所を閉鎖するに至った経緯が説明された。それに伴って、主たる事務所が現在の市川総合病院内事務所に移転することになった事が説明された。これらの件について以下の様に定款変更を諮った結果、理事会案として満場一致で承認され、本理事会後に開催される総会に諮ることとした。(下部参照)

②第 2 次ヒト試料委員会

深尾 立理事長より、第 2 次ヒト試料委員会を 2014 年 10 月から開始し、2015 年 12 月まで計 10 回の委員会を開催し、移植不使用臓器の研究転用に関して検討を行った。その報告書 / 意見書を上智大学出版から出版する

変更前

(事務所)

- 第 2 条 この法人は、主たる事務所を東京都文京区弥生 2 丁目 4 番 16 号に置く。
- 2 この法人は、前項のほか、従たる事務所を千葉県市川市菅野 5 丁目 11 番 13 号に置く。

変更案

(事務所)

- 第 2 条 この法人は、主たる事務所を千葉県市川市菅野 5 丁目 11 番 13 号に置く。

ための準備をしている。また、同委員会の報告書を受け、今年度はアドホック委員会を設置し、移植不使用臓器の研究転用についてその方策を検討していくことが説明された。

③職員退職

事務局より職員 2 名が退職したことが報告された。

④職員採用

第 35 回理事会以降、理事各位に新職員の推薦を依頼したところ 3 名の応募があり、1 名を採用することとなったことが説明された。

以上

(3) 第 14 回総会議事録 (抜粋)

日時：2016 年 5 月 26 日 (月) 14:00 - 14:30

会場：産業技術総合研究所つくば中央共用講堂

出席者数：66 名 (内委任状 44 名)

審議事項

事務局から本日の総会は定款所定数を満たしているので成立する旨が告げられた。次に、議長の選任方法を諮ったところ、満場一致をもって深尾 立理事長が選任された。続いて議長より開会挨拶の後、以下の議案が審議された。

第 1 号議案：2015 年度活動報告

総務委員会副委員長千葉 康司理事より 2015 年度活動報告案について詳細に説明を行なった。2015 年度活動報告について議場に諮ったところ、満場一致で承認された。

第 2 号議案：2015 年度決算報告

財務委員長五十嵐 隆理事より 2015 年度決算案について詳細に説明を行なった。続いて、本決算案に関して、横澤 良和監事より、5 月 20 日に市川研究所において、五十嵐 隆理事、栗原 厚理事、伊藤・細矢 税理士法人佐々木 宏之税理士立会いのもと、証憑書類を精査した結果、適正に運用されていることを確認したとの報告があった。決算報告について議場に諮ったところ、

満場一致で承認された。

第 3 号議案：2016 年度活動計画案

総務委員会副委員長千葉 康司理事より 2016 年度活動計画案について説明を行なった。議場に諮ったところ、満場一致で承認された。

第 4 号議案：HAB 研究機構 2016 年度予算案
財務委員長五十嵐 隆理事より 2016 年度予算案について詳細に説明を行い、議場に諮ったところ、満場一致で承認された。

第 5 号議案：主たる事務所閉鎖および定款変更
議長より、業務を集約して効率化を図るため、主たる事務所を従たる事務所へ整理統合する案について説明がなされ、それに伴い、定款第 2 条を変更する議案を諮ったところ、満場一致で承認された。

第 6 号議案：特定非営利活動促進法第 2 条及び第 12 条の確認

議長より、議案説明がなされ、特定非営利活動法人エイチ・エー・ビー研究機構が特定非営利活動促進法第 2 条第 2 項第 2 号及び同法第 12 条第 1 項第 3 号の規定に該当することを満場一致で確認した。

以上

8. お知らせ

(1) 「会員の頁」に掲載する原稿募集

賛助会員および正会員の皆様からの原稿を募集致します。研究所や研究の紹介など、特に内容は問いません。多数のご応募をお待ちしております。また、今後は会員の皆様に原稿の依頼をお願い致したく考えております。ご協力をお願い申し上げます。

(2) 正会員および賛助会員の募集

正 会 員： 入会金 10,000 円
 年会費 8,000 円
 賛助会員： 年会費 一口 70,000 円

問合わせ先： HAB 研究機構事務局(巻末参照)

HAB 研究機構 賛助会員一覧

1	あすか製薬株式会社	28	田辺三菱製薬株式会社
2	アステラス製薬株式会社	29	中外製薬株式会社
3	アスピオファーマ株式会社	30	帝國製薬株式会社
4	株式会社アプライドメディカルリサーチ	31	トーアエイヨー株式会社
5	EA ファーマ株式会社	32	東和薬品株式会社
6	エーザイ株式会社	33	鳥居薬品株式会社
7	株式会社 LSI メディエンス	34	ニチバン株式会社
8	大塚製薬株式会社	35	日東電工株式会社
9	株式会社大塚製薬工場	36	ニプロ株式会社
10	小野薬品工業株式会社	37	日本化薬株式会社
11	花王株式会社	38	日本ケミファ株式会社
12	科研製薬株式会社	39	日本新薬株式会社
13	キッセイ薬品工業株式会社	40	日本たばこ産業株式会社
14	協和発酵キリン株式会社	41	日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
15	興和株式会社	42	バイエル薬品株式会社
16	参天製薬株式会社	43	久光製薬株式会社
17	株式会社三和化学研究所	44	ファイザー株式会社
18	ジェノスタッフ株式会社	45	富士ソフト株式会社
19	塩野義製薬株式会社	46	富士ソフト・ティッシュエンジニアリング株式会社
20	株式会社資生堂	47	マルホ株式会社
21	株式会社新日本科学	48	Meiji Seika ファルマ株式会社
22	積水メディカル株式会社	49	株式会社メドレックス
23	株式会社セプトサピエ	50	持田製薬株式会社
24	千寿製薬株式会社	51	リードケミカル株式会社
25	第一三共株式会社	52	リンク・ジェノミクス株式会社
26	大正製薬株式会社	53	ロート製薬株式会社
27	武田薬品工業株式会社		

(平成 28 年度、五十音順)

HAB 研究機構とは？

HAB 研究機構の活動は医学・薬学を中心とする学会、製薬企業を中心とする産業界、さらに医療・医薬品に関わる行政の理解と支援により進められています。

1. ヒト由来試料の有用性に関する資料の刊行

機関誌として「NEWSLETTER」を年2回発行しています。こちらには各界の先生方よりヒト組織の利活用についてのご意見や、実際にヒト試料を使った研究者の報告などを一般の方々にも判りやすく掲載しています。一般の方々からのご意見も随時募集しております。

2. ヒト由来試料利活用に関する科学的、倫理的情報の調査研究事業

研究推進委員会では、HAB 研究機構が入手したヒト試料を国内の研究者に提供して、ヒト試料の有用性を実証するために、共同で科学研究を推進しています。

また生命倫理研究委員会では、ヒト試料に関する倫理問題に関しての調査を行っています。

3. ヒト由来試料の有用性に関する学術的交流事業

年1回学術年会を開催し、疾病のメカニズムの解明や医薬品の開発に、ヒト由来の組織・細胞がどのように活用されているか、その過程における技術的および倫理的な問題について、研究者だけではなく広い分野の方々と交えて議論しています。こちらには一般市民の方もお参加頂けます。

4. 国外の非営利団体から供与を受けたヒト由来試料を用いた共同研究事業

ヒト由来試料の有用性を広く実証するために、米国の非営利団体 NDRI (The National Disease Research Interchange) と国際パートナーシップの協約を締結しております。このヒト由来試料を用いて研究を行う際には、外部有識者を含む倫理委員会において厳正な審査を受けることが課せられています。

HAB 研究機構 役員一覧

理事長	深尾 立	独立行政法人労働者健康福祉機構千葉労災病院 名誉院長
副理事長	小林 眞一	昭和大学臨床薬理研究所 所長
	豊島 聡	武蔵野大学大学院薬科学研究科 教授
理 事	雨宮 浩	国立小児医療研究センター 名誉センター長
	有賀 徹	独立行政法人労働者健康安全機構 理事長
	五十嵐 隆	信州大学医学部附属病院 研究支援センター 副センター長
	大森 栄	信州大学医学部附属病院 薬剤部長
	岡 希太郎	東京薬科大学 名誉教授
	木内 祐二	昭和大学薬学部 教授
	楠原 洋之	東京大学大学院薬学研究科 教授
	栗原 厚	第一三共株式会社 薬物動態研究所
	小林 英司	慶應義塾大学医学部 特任教授
	杉山 雄一	理化学研究所 イノベーション推進センター 特別招聘研究員
	田端 健司	アステラス製薬株式会社 薬物動態研究所 所長
	千葉 康司	横浜薬科大学薬学部 教授
	千葉 雅人	大鵬薬品工業株式会社 薬物動態研究所 所長
	寺岡 慧	国際医療福祉大学熱海病院 名誉病院長
	中島 美紀	金沢大学医薬保健研究域薬学系 教授
	樋坂 章博	千葉大学大学院薬学研究院 教授
	平林 英樹	武田薬品工業株式会社 薬物動態研究所
	福嶋 教偉	国立循環器病研究センター 移植医療部長
	堀井 郁夫	ファイザー株式会社、ケンブリッジ大学客員教授
	吉田 武美	公益社団法人薬剤師認定制度認証機構 代表理事
	吉成 浩一	静岡県立大学大学院薬学研究院 教授
監 事	飯島 倍雄	元 中小企業金融公庫
	横澤 良和	元 中小企業金融公庫

事務局閉所・業務統合のお知らせ

HAB 研究機構第 14 回総会（2016 年 5 月 26 日開催）で議決したとおり、事務局（東京都文京区弥生）を閉所し、附属研究所（千葉県市川市菅野）に業務を統合することになりました。9 月末に移転認証変更、登記手続きが完了いたしましたので、ご報告いたします。これを機に職員一同心を新たに、さらに一層の努力をして参りますのでよろしくお願い致します。

HAB 研究機構 事務局 / 附属研究所

千葉県市川市菅野 5-11-13 市川総合病院 角膜センター内

電話：047-329-3563 FAX：047-329-3565

編集後記

- 2016 年 5 月 26 日（木）、27 日（金）、28 日（土）にエーザイ株式会社の菅沼彰純先生を年会長にお迎えして、第 23 回 HAB 研究機構学術年会「肝障害を多面的に捉える一分子、細胞、免疫、動物、臨床一」を産業技術総合研究所筑波センター共用講堂にて開催いたしました。ご参加いただいた皆様、組織委員をはじめ開催にご協力いただいた皆様には、深く御礼を申し上げます。次回、第 24 回 HAB 研究機構学術年会は、千葉大学の樋坂章博先生に年会長をお願いいたしまして、2017 年 6 月 1 日（木）～3 日（土）に昭和大学上條講堂にて開催いたします。現在、組織委員の先生方と共に素晴らしい年会となるよう企画しております。是非ともご参加の検討をお願いいたします。
- 2016 年 11 月 26 日（土）に第 29 回市民公開シンポジウム「心臓病とたたかう」を、慶應義塾大学薬学部芝共立キャンパス記念講堂にて開催いたします。重篤な疾患が潜む心原性失神、働き盛りを襲う心臓突然死の原因と対策、進化し続ける抗凝固薬ワルファリンの歩み等、昭和大学医学部循環器内科教授の小林洋一先生をはじめ、循環器の専門の先生方にわかりやすくご講演いただく予定です。皆様お誘いあわせの上、是非ともご参加いただきますようお願いいたします。

（HAB 研究機構事務局）

NEWSLETTER Vol. 23 No. 1 2016 09 28

2016 年 9 月 28 日 印刷・発行 特定非営利活動法人エイチ・エー・ビー研究機構

編集責任者 広報担当理事 岡 希太郎
中島 美紀

発行責任者 理事長 深尾 立

発行所 HAB 研究機構事務局

〒272-8513 千葉県市川市菅野 5-11-13 市川総合病院 角膜センター内

TEL：047-329-3563 FAX：047-329-3565 <http://www.hab.or.jp/>

© Copyright, 2016, by HAB Research Organization.



トップダウンモデリングと ボトムアップモデリングの拓く 新薬創成と新しい医療

会 期 2017 年 6 月 1 日 (木)・2 日 (金)・3 日 (土)

会 場 昭和大学上條講堂 (品川区旗の台 1-5-8)

年会長 樋坂 章博 (千葉大学大学院薬学研究院)

詳細はホームページにて随時掲載致します

<http://www.hab.or.jp>

＜お問い合わせ・お申し込み＞ 特定非営利活動法人HAB研究機構 事務局

〒272-8513 千葉県市川市菅野 5-11-13 市川総合病院角膜センター内

電話：047-329-3563 FAX047-329-3565

第29回HAB研究機構市民公開シンポジウム

心臓病とたたかう

日時：2016 年 11 月 26 日 (土) 13:30～

会場：慶應義塾大学薬学部 芝共立キャンパス2号館記念講堂
(東京都港区芝公園 1-5-30)

入場
無料

定員 250 名 (先着順)

失神について

小林 洋一 先生 (昭和大学医学部循環器内科 教授)

急にフラットとなってその場にしゃがみこむ、一瞬目の前が暗くなるといった経験をされた方も多くいらっしゃると思います。これは、一過性に脳の血流が途絶え、意識を失ってしまう失神 (一過性意識消失) とよばれる状態です。この失神は様々な原因で起こる発作ですが、重篤な疾患が隠れている場合もあります。危険な失神の代表としては心臓病による失神 (心原性失神) があります。この心原性失神の多くは不整脈によるもので、予後は良くありません。この危険な失神について、小林洋一先生からご解説いただきます。

主催：特定非営利活動法人エイチ・エー・ビー研究機構
共催：慶應義塾大学薬学部

心臓突然死 (ポックリ病) の対策

櫻田 春水 先生 (大久保病院 院長)

突然死は、予期しない急死のことで、発症から24時間以内の死亡と定義されています。原因は、心筋梗塞をはじめ、心筋症、弁膜症、心不全などの心臓病によるものが6割以上を占め、そのほとんどが心室で生じる致死的な不整脈に起因するといわれています。この心室細動とは、心室が1分間に300回以上不規則に震えるように痙攣 (けいれん) する状態のことで、これが起こるとたちまち死につながる不整脈です。櫻田春水先生からは、この心臓突然死について、その原因から対策についてご解説いただきます。

脳梗塞を予防するために ～進化する抗凝固療法～

早崎 剛典 先生 (バイエル薬品株式会社)

心房細動は高齢者に多く見られる不整脈です。心房細動がおこると、血液の流れが悪くなり、大きな血栓ができやすくなります。この血栓が脳に運ばれ脳血管を詰まらせると「心原性脳塞栓症」を引き起こしてしまいますので、血液が簡単に固まらないように、「抗凝固薬」を使って血液をサラサラにしておく必要があります。「抗凝固薬」としてワルファリンが長い間使われてきましたが、最近になって血液凝固因子の研究から新薬が創出されてきましたので、早崎剛典先生からは、この抗凝固療法の最先端をご紹介します。

