

「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発」

中間評価報告書（案）概要

目 次

分科会委員名簿	1
プロジェクト概要	2
評価概要（案）	2 1
評点結果	2 9

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 研究評価委員会

「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発」(中間評価)

分科会委員名簿

(平成23年7月現在)

	氏名	所属、役職
分科 会長	かねだ やすふみ 金田 安史*	大阪大学 大学院医学系研究科 分子治療学講座 教授
分科 会長 代理	はなだ のぶひろ 花田 信弘	鶴見大学 歯学部 探索歯学講座 教授
委員	きのおか まさひろ 紀ノ岡 正博*	大阪大学 大学院工学研究科 生命先端工学 教授
	ごとう としお 後藤 俊男	独立行政法人理化学研究所 社会知創成事業 創薬・医療技術基盤プログラム プログラムディレクター
	さくらだ かずひろ 桜田 一洋	株式会社ソニーコンピュータサイエンス研究所 主任研究員
	たかばし よしこ 高橋 淑子	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 教授
	なかむら ゆきお 中村 幸夫	独立行政法人理化学研究所 バイオリソースセンター 細胞材料開発室 室長

敬称略、五十音順

注*：実施者の一部と同一組織であるが、所属部署が異なるため（実施者：大阪大学 微生物研究所）「NEDO 技術委員・技術評価委員規程(平成22年7月1日改正)」第34条（評価における利害関係者の排除）により、利害関係はないとする。

プロジェクト概要

最終更新日

平成 23 年 7 月 20 日

プログラム名	健康安心プログラム	
プロジェクト名/ 番号	ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発 (旧名称：iPS 細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発)	P08030
担当推進部/ 担当者	バイオテクノロジー・医療技術部 担当者氏名 吉羽 洋一 (平成 21 年 3 月 27 日～平成 21 年 9 月 30 日) 担当者氏名 上村 研一 (平成 21 年 3 月 27 日～平成 23 年 7 月 20 日現在) 担当者氏名 大友 純 (平成 21 年 10 月 1 日～平成 23 年 7 月 20 日現在)	
0. 事業の概要	本プロジェクトは、様々な細胞組織に分化できるヒト iPS 細胞等幹細胞の産業利用を促進することを目的として、iPS 細胞への効率的な誘導因子の探索を行う。同時に、多様な幹細胞操作技術の成果を活用し、iPS 細胞の新規誘導法開発に結びつける。また、細胞源として iPS 細胞等幹細胞を一般に供給する上で必要となる、細胞の性質や品質を評価する技術や細胞の安定供給を可能とする基盤技術を確立する。さらに、iPS 細胞等幹細胞から心筋などの細胞に効率よく分化させ、これを利用して、開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を、ヒト個体と高い相関性をもって予測する創薬スクリーニングシステムの開発を行う。これにより、我が国が世界を先導している科学的成果である iPS 細胞等幹細胞を、いち早く産業応用に繋げることが期待できるとともに、創薬研究のより早い段階において、開発候補薬の効率的で的確な絞り込みを行うことが可能となり、創薬研究の短縮や研究開発費の削減、さらにはより安全な医薬品の開発の促進が期待される。	
I. 事業の位置付け・必要性について	幹細胞は様々な組織に分化する能力を有しており、その性質を用いることで神経、心筋、膵臓β細胞等の様々な細胞を試験管内で得ることができる。これを用いることで従来は治療することが困難であった神経疾患や心臓疾患の根本的治療法の開発や、創薬分野におけるヒトの細胞を用いた薬効評価や安全性薬理試験などの創薬スクリーニングに利用できる利点を有する。中でも iPS 細胞 (人工多能性幹細胞) は、皮膚等の組織から作製可能であることから倫理的な障壁が低く、加えて遺伝的に多様な細胞が得られること、免疫拒絶反応を回避、あるいは軽減可能であること等から、有用な細胞源として期待が大きい。しかし、iPS 細胞等幹細胞を産業で利用するためには、細胞の効率的な作製方法、腫瘍化の問題、様々な分化状態が混在したヘテロな分化細胞集団からの標的細胞の評価・選別、品質管理方法の確立、機能発現のための細胞から組織への再構築技術の開発など、様々な解決すべき課題がある。 iPS 細胞の早期な産業応用が期待される創薬分野においては、近年、研究開発費が大	

幅に伸びている一方で、新薬の承認数は低下する傾向にある。特に、臨床開発の最終フェーズにおいて、有効性が確認できないことや、安全性等が原因となって開発中止となるケースが増加している。また、従来の非臨床試験及び臨床試験において安全性に何ら問題のなかった薬物でも、市販後において患者に実際に投与されてから初めて致死性不整脈を誘発することが判明したため急遽市場から撤退した事例もある。さらに制ガン剤や抗菌剤などの人体に毒性を持つことが知られている薬剤では、薬効と副作用は表裏一体の関係にあり、ヒトに対する安全域の程度が許容範囲となるかどうかを的確に推測することが開発候補薬として臨床開発に進めるかどうかを判断する上で非常に重要な技術課題となっている。このような事態を改善し、より安全性の高い医薬品を効率良く開発するためには、創薬研究のより早い段階で、開発候補薬のヒトでの薬効と安全性をより精度高く予測する基盤技術の開発を行うことが求められている。

よって、今後、世界に類を見ない少子高齢化社会を迎える我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現を目指すことを目的に、低迷している国内外の創薬業界の活性化とこれにより期待されるバイオ・医療産業の発展に資する重要な課題であり、NEDOが関与し「健康安心イノベーションプログラム」の中の「幹細胞産業応用促進基盤技術開発」の一環として本プロジェクトを実施する。

II. 研究開発マネジメントについて

事業の目標	<p>ヒト iPS 細胞等幹細胞の産業利用を促進することを目的として、iPS 細胞への効率的な誘導因子の探索を行うと同時に、多様な幹細胞操作技術の成果を活用し、iPS 細胞の新規誘導法開発に結びつける。また、細胞源として iPS 細胞等幹細胞を一般に供給する上で必要となる、細胞の性質や品質を評価する技術や細胞の安定供給を可能とする基盤技術を確認する。さらに、iPS 細胞等幹細胞から心筋などの細胞に効率よく分化させ、これを利用して、開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を、ヒト個体と高い相関性をもって予測する創薬スクリーニングシステムの開発を行う。これにより、我が国が世界を先導している科学的成果である iPS 細胞等幹細胞を、いち早く産業応用に繋げることが期待できるとともに、創薬研究のより早い段階において、開発候補薬の効率的で的確な絞り込みを行うことが可能となり、創薬研究の短縮や研究開発費の削減、さらにはより安全な医薬品の開発の促進が期待され、我が国バイオ産業の競争力強化・新産業の創出を図り、国際的優位性を確保する。</p> <p>(1) 最終目標 (平成 25 年度末)</p> <p>安全で均質な形質を持ち、高い効率で心筋細胞へ誘導可能なヒト iPS 細胞等幹細胞を活用し、性質と品質がそろったヒト心筋細胞等へ効率的に分化を行い、これを用いて開発候補薬の潜在的な致死性不整脈を誘発する可能性を、ヒト個体と高い相関性をもって予測する、産業上利用可能な創薬スクリーニングシステムを確認する。</p> <p>(2) 中間目標 (平成 23 年度末)</p> <p>従来法に比べ、より安全で高効率なヒト iPS 細胞の誘導を可能とする新規誘導因子、新たな細胞操作技術を含む新規誘導法を少なくとも 1 つ以上見いだす。また、iPS 細胞等幹細胞や分化誘導細胞の性質を規定する有用なマーカーの開発及び取得したマーカーを活用した選別、評価のための要素技術の開発に目途をつける。さらに、心筋細胞への誘導効率が高い分化技術の開発に目途をつけるとともに、同じ性質を持った細胞を選別し、毒性評価のための創薬スクリーニングツールとして活用する。毒性評価のための創薬スクリーニングシステムについては、ハードウェア及び解析ソフトウェアの試作を完了し、産業上実際に利用できるシステム構成となるよう目途をつける。</p>				
事業の計画内容	主な実施事項	H20fy	H21fy	H22fy	H23fy
	研究開発項目① 「安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発」	→		→	
	研究開発項目② 「細胞の選別・評価・製造技術等の開発」	→		→	

	研究開発項目③ 「iPS細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発」				
開発 予算 単 位： 百万 円)	会計・勘定	H20fy	H21fy	H22fy	H23fy
	交付金	--	995	855	648
	補助金	1000	--	--	--
	加速予算	--	15	55	--
	総予算額	1000	1010	910	648
開発 体制	経産省担当原課	経済産業省製造産業局生物化学産業課			
	プロジェクト リーダー	財団法人先端医療振興財団先端医療センター センター長 鍋島 陽一（平成23年3月31日まで） 国立大学法人東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授 安田 賢二（平成23年4月1日から）			

		委託先	<p>○一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム(JBiC) 参画企業</p> <p>天然化合物ライブラリー提供企業 8社 メルシャン株式会社、田邊三菱製薬株式会社、第一三共株式会社、武田薬品工業株式会社、味の素株式会社、明治製菓株式会社、合同酒精株式会社、財団法人微生物化学研究会</p> <p>技術開発系企業 3社 東レ株式会社、アスピオファーマ株式会社、三菱化学メディアエンス株式会社</p> <p>共同研究機関 10機関 独立行政法人産業技術総合研究所(バイオメディシナル情報研究センター、バイオセラピューテック研究ラボ、器官発生工学研究ラボ)、京都大学 iPS 細胞研究センター、東北大学大学院薬学研究科、大阪大学微生物病研究所、広島大学大学院医歯薬学総合研究科、慶応義塾大学医学部、京都大学大学院医学研究科、京都大学大学院理学研究科、東北大学大学院医学系研究科、東京医科歯科大学学生体材料工学研究所</p> <p>○産業技術総合研究所/国立成育医療センター/川崎重工業(株)/大陽日酸(株)/アルブラスト(株)/(株)セルシード連携チーム</p> <p>共同研究機関 東京大学(2009年4月1日より浅島誠副学長が産総研に異動のため委託先を外れる)、独立行政法人産業技術総合研究所(糖鎖医工学研究センター)、国立成育医療センター</p> <p>参画企業 4社 川崎重工業株式会社、大陽日酸株式会社、アルブラスト株式会社、株式会社セルシード</p> <p>○東大チーム 共同研究機関 東京大学大学院総合文化研究科、東京大学大学院農学生命科学研究科</p>
--	--	-----	---

情勢 変化 への 対応	内外の研究開発動向に鑑み、研究開発項目①及び研究開発項目②を発展的に統合し、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」を新たに設定。再生医療への応用を可能とする細胞源の確立を目標として、平成23年度から5年計画で新規に着手した。	
中間 評価 結果 への 対応	該当しない	
評価 に 関 する 事項	事前評価	なし
	中間評価	23年度 中間評価実施
	事後評価	26年度 事後評価実施予定
Ⅲ. 研究開 発成果につ いて	<p>研究開発項目① 「安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発」</p> <p>1. ヒト cDNA 発現ライブラリーから、遺伝子発現調節に関与する転写因子、シグナル伝達系因子をコードする遺伝子群から MEF 細胞を用いて新規 iPS 細胞誘導遺伝子の探索を行い、18 種の新規 iPS 細胞誘導遺伝子を同定した。この中には Klf4 代替機能をもつ 4 遺伝子が含まれており、特に 3 遺伝子 Glis1、Dmrtb1、Pitx2 はヒト線維芽細胞でも Klf4 の代替機能を有しており、三胚葉分化能、キメラマウス作製能、ジャームライトランスミッションも確認できた。更に Klf4 の代替因子として同定した G6 は iPS 細胞作製効率の劇的な上昇をもたらし、c-Myc (M) を除いた山中 3 因子 Oct3/4 (O)、Sox2 (S)、Klf4 (K) (ガン化効率は非常に低い) が iPS 細胞作製効率は低い) に Glis1 遺伝子を組み合わせると、OSK と比較して数百倍の iPS 細胞誘導効率を示すことも明らかとなった。また、iPS 細胞誘導においては偽陽性細胞が発生することが知られているが、Glis1 遺伝子は真の iPS 細胞の取得率を顕著に増大させることも明らかとなった。なお、最近、OSK が相互に結合する報告されているが、Glis1 は OSK と結合することによって相乗効果をもたらしている可能性が示唆されている。</p> <p>2. レトロウイルスベクター等の挿入型ベクターを用いて樹立された iPS では染色体上に残った因子が再活性化される可能性があり、このリスクを解消するために、化合物による iPS の誘導を試み、カビから Klf4 遺伝子の発現を誘導する物質を見出したが、作用については今後の解析が必要である。</p> <p>3. 一方、誘導因子をタンパク質として導入する方法として、セミインタクト細胞リシール法を用いて iPS 細胞の誘導を試みた。GFP-Oct4 とそのプロモーター領域を含む上流配列と共にノックインしたマウスより MEF 細胞を調製し、山中 4 因子のリコンビナントタンパク質 (His-Oct4, GST-Sox2, GST-Klf4, GST-c-Myc) を導入後リシール(再封入)した。また、ES 細胞細胞質の導入など様々なカクテルの可能性を</p>	

検討した。その結果、4因子導入のリシール細胞でのみ、1日目から Oct4-GFP 陽性の細胞が現れ始め、2~3日後にはその細胞が細胞集団となって増殖して行く様子が観察されたが、コロニー形成はタンパク質導入後5日目頃から停止し、その殆どが脂肪細胞様に形態が変化した。本方法では、MEF細胞の核が山中の4因子タンパク質に同時にしかも一気に暴露されることより Oct4、Nanog などが一度に発現してくると考えられるが、iPS 誘導にはそれらの発現時期、発現量の正確なコントロールが必要であると思われ、今後、本方法の利点を活かすには導入因子、その量比の考察等、多面的な検討を必要としている。

4. 遺伝子に組み込まれない持続発現型センダイウイルスベクター (SeVdp ベクター) の開発、改良に取り組み、4つの多能性誘導遺伝子を単一のベクターに搭載した SeVdp(*c-Myc/Klf4/Oct4/Sox2*)を用いることによって高効率で、質的均一性が高い iPS 細胞を3週間程度で樹立することに成功した。

5. 一方、SeVdp の残存が何らかの作用を引き起こす可能性が有り、ウイルスゲノムの除去に取り組んだ。SeVdp ゲノムはゲノム RNA を複製しながら動的な平衡を保っていると予想され、ゲノムを複製する RNA ポリメラーゼの活性を阻害することで除去できると推定し、RNA ポリメラーゼの活性ユニットと考えられる L タンパク mRNA に対する siRNA を用いて発現を抑制すると比較的早い速度で、不可逆的に除去できることが確認された。また、培養条件を検討し、40°Cで1週間、培養することにより、細胞内の残存ウイルス RNA 量が顕著に減少することや、3個のエンベロープタンパク質をコードする遺伝子 (M, F, HN) のうち、少なくとも2個の遺伝子を欠損させることによって自立複製可能なベクター粒子の出現を抑えることにも成功し、全体としてセンダイウイルスベクターによる誘導の効率化、安全性に関する多くの成果が得られた。

6. iPS 細胞の実用化にあたってはどの組織から細胞を採取するかを考慮しなければならない。これまで iPS 細胞は皮膚などの細胞より樹立してきた。今回、全血から単核球を比重分離し、抗 CD3 抗体、IL2 でセレクションした T 細胞に、センダイウイルスベクターを用いて山中4因子を導入することにより iPS 細胞の樹立に成功した。本方法は、T 細胞提供者に苦痛を与えず、また短期間で iPS 細胞を樹立できることから、有効な iPS 細胞作製方法である。しかし、T 細胞由来 iPS 細胞は T 細胞レセプター遺伝子に不可逆な再構築が起こっており、完全な造血幹細胞を作製できず、T 細胞白血病の発症の危険がある。そこで、遺伝子再構成が起こっていない末梢血由来単球細胞から iPS 細胞を誘導する方法も併せて開発した。

7. 心筋疾患、遺伝性疾患を始め、多数の疾患特異的 iPS 細胞の誘導に成功した。これらの細胞を疾患/病態の理解に結びつけるには、的確に分化した細胞を誘導する技術が鍵である。

研究開発項目② 「iPS 細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発」

本課題は多面的な解析、開発が必要な段階にあり、複数のグループにより以下に記載するような多面的な研究、解析を進めた。

(1) iPS 細胞は株毎にその特性が異なっており、iPS 細胞の特性・安全性を確認する技術、使用目的に適した iPS 細胞を選定する技術の開発が重要である。そのためには、iPS 細胞成立過程の遺伝子発現プロファイルデータと生物学的特性情報を統合したデータ解析アルゴリズムを開発し、樹立された iPS 細胞の特性や安全性を統一的に現す必要がある。本研究ではその基盤となる研究を進め、以下の結果を得た。

1. iPS 細胞の生成過程の分子変化を解析するには効率良く iPS 細胞を誘導できるシステムの開発が必要であり、その方法の開発を試み、以下の結果を得た。

(a) 始原生殖細胞から山中 4 遺伝子のうち 1 種類の遺伝子を導入することで、iPS 細胞を誘導できることを見出し、始原生殖細胞に特異的発現する遺伝子と山中 4 遺伝子との組み合わせによる iPS 誘導を検討した。その結果、MEF 細胞に Prmt5、Klf4 および Oct3/4 を導入することで iPS 細胞を効率よく誘導することに成功した。(b) c-Myc を導入して樹立した iPS 細胞とそれ以外の遺伝子を導入して作製した iPS 細胞の遺伝子発現パターンに違いがあることを見だし、c-Myc の意義解明へと進めている。(c) 幹細胞の自己複製、多能性維持に効果のあることが示唆されているシグナル伝達阻害剤の組み合わせを検討し、CHIR 99021 (GSK-3 β inhibitor)、PD325901 (MEK inhibitor) および A83-01 (TGF- β type-1R inhibitor) を用いることで、遺伝子導入なしに効率的に iPS 細胞が誘導できることを見いだした。

2. iPS 細胞の生成過程を解析するため、細胞を溶解後、直接 cDNA を合成、2 回の RNA の増幅によりごく微量の細胞から網羅的遺伝子発現を解析する方法を開発した。この微量解析法では 100 個の細胞があれば解析でき、かつ、発現パターンは既存の方法と相関性が高いことが確認された。iPS 生成過程で形成されるコロニーに含まれる細胞数は 100-1,000 個程度であり、本手法は今後の iPS 化メカニズム解析に威力を発揮すると期待される。

3. 開発された方法によりマウス始原生殖細胞の iPS 化過程で変動する遺伝子の解析を行い、その過程で 1) 分化特性の喪失、2) 多分化能の獲得、3) 多分化能の維持・安定化に関連する遺伝子を見出した。この研究が iPS 細胞の特性を評価するマーカー遺伝子の同定、ヒト iPS 細胞の解析方法の確立へと発展することが期待される。

(2) iPS 細胞は株毎にその特性が異なっており、多数の細胞/組織をオリジンとする多種類の iPS 細胞を樹立し、遺伝子、糖鎖、形状、核型、エピジェネティクス等の各種性状から iPS 細胞間の性質を比較し、iPS 細胞標準化技術の開発を試みた。

1. 4 因子をレトロウイルスベクターにより遺伝子導入する方法によりヒト羊膜由来 iPS (8 細胞株)、ヒト子宮内膜由来 iPS 細胞株 (4 細胞株)、ヒト胎盤動脈由来 iPS 細胞株 (4 細胞株)、ヒト胎児肺組織由来繊維芽細胞 iPS 細胞株 (3 細胞株) を樹

立、提供した。各細胞について、継代数5～10代、10代以上、さらに20代以上を経た細胞を供給した。

2. これらの細胞の遺伝子発現解析、細胞表面糖鎖解析に供し、更にこれらのデータのバイオインフォマティクス解析を進め、細胞の樹立・培養方法が安定しており、安定供給、大量調整、保存技術の開発に貢献することができた。

3. 開発してきたレクチンアレイを更に改良し、幹細胞評価に適するレクチンレパートリーを加え、96種類のレクチンを固定化した高密度レクチンアレイを開発し、iPS細胞誘導に伴うレクチンの変化を解析した。その結果、9種類のレクチンはiPS細胞で高いシグナルを示し、29種類のレクチンシグナルの低下が観察された。また、35種類のレクチンを糖鎖結合特異性に基づいて6グループに分類して、iPS誘導に伴う糖鎖構造の変化を抽出した。これらの結果を総合して、iPS細胞判別能向上、iPS新規マーカー発見に成功した。

4. 各種iPS細胞の遺伝子発現プロファイルの網羅的解析、ならびにそのクラスタリング解析を行い、iPS細胞の未分化状態の判別及び分化指向性を解析した。特にばらつきの要因として樹立方法、親細胞、培養方法、継代数を解析し、(a) 2520種類のiPS細胞特異的な遺伝子マーカーを同定し、(b)これによりiPS細胞の性質に関与すると推定される親株毎の違いを見分けることに成功し、更に(c)同一親株由来のiPS細胞株間の違いを見分けることにも成功した。また、(d)継代による遺伝子発現の変化も確認された。なお、(e)誘導したiPS細胞が由来細胞、作製方法などによるクラスターを形成する傾向も観察され、遺伝子発現パターンの網羅的解析がiPS細胞の分別標準化の有用な指標になることを示唆し、安定大量供給のための条件検討に大きく貢献する結果となった。

5. 118種のiPS細胞のDNAマイクロアレイ解析データに基づき、特異的パスウェイ解析を行い、28のヒトiPS細胞特異的制御ネットワークを同定した。また、レクチンアレイ計測データと併せてヒトiPS細胞特異的な13の糖鎖転移酵素を同定した。

(3) エピゲノムの変化はiPS細胞誘導の分子基盤であり、また、iPS細胞、幹細胞の生物学的な性質の理解、機能解析には、染色体の状態、エピゲノム解析が必須であることから、産総研チーム、東大チームによってその基礎研究を進めた。

1. iPS細胞の核型解析、染色体解析のための細胞調製法の最適化、評価法を確立した。また、iPS細胞解析の鍵の一つであるエピジェネティクスの解析を進めるために、ヒト全ゲノムから27000カ所のCpGサイトの解析ができるアレイシステムを用いて、メチル化状態の解析を進め、iPS細胞評価法の開発を進めた(産総研)。

2. エピジェネティクス解析を効率よく進めるための独創的な方法論の開発を進め、体細胞、ES細胞、iPS細胞のゲノムの状態を解析し、その特徴を明らかにした。山中4因子によって誘導されたiPSはESとはメチル化パターンが異なっ

いると判断され、iPS 誘導の分子基盤解析に役立つデータと考えている（東大）。

（4）iPS 細胞自動培養装置による、安定供給・大量調製・保存技術の開発を目指して研究を進め、（a）20 継代以上にわたってヒト iPS 細胞を自動連続培養装置で培養を継続すること、（b）未分化の iPS 細胞コロニーを判別し、選択的に剥離すること、（c）10 代以上にわたってヒト iPS 細胞を酵素処理せずに継代培養すること等に成功した。また、（d）iPS 細胞を凍結保存し、解凍後に平均生存率 50%以上を達成できた。これらの成果は iPS 細胞クローンを選別し、継代培養を自動的に進め、大量に培養すること、また、得られた細胞を安定に供給・保存する事が可能である事を示している。

（5）幹細胞の医学応用は多面的であり、目的に最も相応しい細胞、分化誘導技術の開発を必要としており、その一環として成体由来幹細胞の可能性を検討し、ヒト成体由来の多能性幹細胞「Muse 細胞」を発見し、その培養法を確立し、以下の結果を得た。

Muse 細胞は、（a）3 胚葉（内胚葉、外胚葉、中胚葉）の細胞に分化する能力を有する、（b）ヒト成体から SSEA-3 をマーカーにしてセルソーティングにより簡便に分離することができる、（c）腫瘍性増殖を示さないが、特定の培養法により増殖させることが可能である、（d）ストレス耐性である、（e）劇症肝炎、脊髄損傷、筋変性等の各種モデル動物に Muse 細胞を静脈内投与すると、損傷組織に遊走、正着し、遊走先の細胞に分化し、組織再生に寄与する、などの特徴を有する。Muse 細胞は組織再生、損傷治癒、正常組織の再構築等において重要な役割を果たしていると推定され、その分子機構の解明、医学応用の可能性を検討することが今後の課題であり、その基盤となる研究の発展が期待される。

研究開発項目③ 「iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発」

新規化合物の毒性を早期に確認することは新規薬剤開発の重要なステップであるが、特に QT 延長、不整脈の発生等、心毒性、心筋細胞への影響を調べることは重要である。本プロジェクトでは ES あるいは iPS 細胞から誘導した心筋細胞を用いて心毒性を効率よく検出するシステムの開発に取り組み、以下の成果を得た。

③-1 (a) ヒト iPS 細胞から効率よく心筋細胞を分化誘導する方法の開発

1. 心筋細胞を安定的に大量に供給するため、心筋細胞の発生メカニズムを調べ、心筋細胞はその発生過程で G-CSF の分泌が上昇し、また、その受容体である G-CSFR の発現が顕著に増加し、自らその信号を受け取り、細胞増殖を誘導している事を示した。

2. ES 細胞、iPS 細胞由来の心筋細胞も同様の機構で著しく増殖することを観察した。また、投与時期、投与濃度の調節により、その増殖を調節できる。この成果は、心筋細胞に分化させることが難しいことが知られているヒト ES 細胞、あるいはヒト iPS 細胞から心筋細胞を作成し、創薬のスクリーニングや再生医療に応用する際の鍵

となる技へと発展すると期待され、心臓再生医療実現の大きな一歩と考えられる。

③-1 (b) スクリーニングシステムへのヒト iPS 細胞由来心筋細胞の供給

ヒトの心筋細胞を用いたスクリーニング系が待ち望まれており、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いたスクリーニング系を確立するため、定期的に東京医科歯科大学安田研にヒト iPS 細胞由来の心筋細胞を供給し、MEA (Microelectrode Arrays) 法による活動電位の計測を行った。また、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いる事により、心筋細胞特異的 Na 電流、K 電流、Ca 電流を記録し、更に特異的チャネル阻害薬により電流が阻害されることを確認し、評価班のユーザーフォーラムへ評価用心筋細胞として供給している。

③-2 (a) 心筋毒性を検出する装置システム (ハードウェア) の開発

1. ヒト細胞を利用して、バイオチップ上に心臓組織のネットワークモデルを構築して計測することができれば、ヒト個体の不整脈発生/心機能異常のモデルとして利用できる可能性がある。そこで、ヒト iPS 細胞等幹細胞からヒト心筋細胞を誘導し、これをチップ上に 1 細胞単位で構成的に配置することで、細胞間の興奮伝導や協同性 (コミュニティ・エフェクト) をチップ上に再現できる臓器・組織の応答をモデル化した *in vitro* 細胞ネットワークモデル (*quasi-in vivo* 系) を構築し、これを用いて致死性不整脈発生の発生原因となる心筋細胞間の興奮伝導の異常発生を直接定量的に観測できる創薬スクリーニングシステム (オンチップ・リエントリーモデル) の開発をめざした。その結果、「細胞ネットワーク興奮伝導 (空間伝達)」「1 細胞波形ゆらぎ (時間変化)」の 2 つの観点を実現するチップの試作に成功し、更に多面的な課題を解決した第 2 世代装置システムの開発へと進んでいる。

2. 創薬スクリーニングシステムを実用化するためにはハードウェア(装置システム)の開発に続くソフトウェア (プロトコル) 開発を必要としており、(a) 1 細胞レベルでの細胞外電位遅延 (FPD) 応答の「時間的ゆらぎ」計測法の開発とその評価、(b) 細胞ネットワークを用いた心室 (ST 領域)「興奮伝導」の「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発、(c) 強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発を進めた。

③-2 (b) 解析・判断プロトコル・データベース (ソフトウェア) の開発

上記で開発した装置システムを利用して、薬物のヒトでの致死性不整脈誘発リスクの大きさを推定できる装置システムのプロトコル開発を行った。具体的には、(a) ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いた既存 *in vitro* 計測法による偽陰性・偽陽性検査の改善の定量的評価、(b) 「時間ゆらぎ」とイオンチャンネルブロックの相関計測による「ゆらぎ」についての原理的解明、(c) 1 細胞レベルでの細胞外電位遅延 (FPD) 応答の「時間的ゆらぎ」計測法の開発とその評価、(d) 強制拍動刺激系を用いた「時間ゆらぎ」「空間伝導ゆらぎ」計測法の開発、(e) ヒト幹細胞由来心筋細胞を用いたトラフィック計測技術の開発を進め、正確で再現性のある装置システム、ソフトを開発しつつある。

	<p>③-2 (c) システム評価</p> <p>ヒト臨床データと極めて近い試験結果を供することが期待されるヒト iPS/ES 細胞由来心筋細胞を用いて、開発システムの有効性を検証することを目標に設定した。</p> <p>1. 既に <i>in vitro</i> <i>in vivo</i> 試験から薬効が明らかにされている化合物を用い、開発システムのデータとこれまで取得された試験データの比較を行うために、(a)東京医科歯科大技術の技術トランスファーを実施し、(b) 致死性不整脈 (TdP) を誘発するリスクの大きさが判明している薬剤を含む 15 薬剤、(c)Na⁺, Ca²⁺, K⁺チャンネルブロッカー、(d) hERG 偽陽性薬剤の評価を進め、(e)ヒト幹細胞由来モデル心筋の性状評価、比較を行った。</p> <p>2. これらのデータに基づいてユーザーフォーラムの構築、製薬企業等との情報交換を進め、同時にメガファーマとの交流と技術共同評価を進めた。この結果、当初目標としていた薬剤について、その評価を完了させた。</p> <p>3. この技術を三菱化学メディエンスに導入し追試に成功し、複数拠点での相同性確認にも成功した。</p> <p>4. 動物実験との比較評価を行い、本プロジェクトにて開発した 2 次元 FPD マップによる評価で十分に既存計測法と同等以上の精度での評価が可能であることを確認することに成功した。</p> <p>5. 国内外の製薬企業との情報交流、ビップファーマとの共同評価を開始しており、製薬企業が希望する化合物についての評価を推進している。</p> <table border="1" data-bbox="338 1176 1415 1413"> <tr> <td data-bbox="338 1176 710 1249">論文/文献/学会発表等</td> <td data-bbox="710 1176 1415 1249">「論文/文献」 121 件、「学会/研究会」 119 件</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 1249 710 1323">特 許</td> <td data-bbox="710 1249 1415 1323">「出願済」 14 件 (うち国際出願 6 件)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 1323 710 1413">その他の外部発表 (プレス発表等)</td> <td data-bbox="710 1323 1415 1413">「新聞/マスコミ」 43 件</td> </tr> </table>	論文/文献/学会発表等	「論文/文献」 121 件、「学会/研究会」 119 件	特 許	「出願済」 14 件 (うち国際出願 6 件)	その他の外部発表 (プレス発表等)	「新聞/マスコミ」 43 件
論文/文献/学会発表等	「論文/文献」 121 件、「学会/研究会」 119 件						
特 許	「出願済」 14 件 (うち国際出願 6 件)						
その他の外部発表 (プレス発表等)	「新聞/マスコミ」 43 件						
IV. 実用化、事業化の見通しについて	<p>研究開発項目① 「安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発」</p> <p>①-1 新規多能性誘導因子の探索</p> <p>新規 iPS 細胞誘導因子に関する特許出願 6 件 (米国仮出願 4 件、PCT 出願 2 件)、高効率な iPS 細胞誘導法で米国仮出願を申請しており、知財確保を行っている。これらの知財のライセンスングに関しても検討しており、市場ニーズは大きい。現在、新規因子で作製されたマウスの長期の発がんテストを行っており、成果の実用化の可能性は極めて高い。</p> <p>①-2 多分化能誘導法を効率化する化合物の探索</p> <p>Klf4 プロモーター活性化化合物に関しては、現在専門家が詳細な検討を進めている。本検証において、有効性が確認された場合、マウス ES 細胞と同等な性質を持った、霊長類初の ES 細胞の確立が可能となり、市場ニーズは極めて高いと考えられる。また、センダイウイルス除去法に関しては、詳細な検証を①-3 グループで進めている</p>						

が、再生医療での応用を考えないのであれば、開発した手法で十分応用が可能と考えられる。また、センダイウイルス除去物質に関しては、現在最終的な活性を確認中であるが、有効な活性が認められれば今後継続するグループへ予算に応じて提供することも可能である。

①-3 安全な遺伝子導入法の開発

安全な遺伝子導入法の実用化の進捗状況としては、産総研が開発した iPS 細胞作製用 SeVdp ベクターは、22 年度は iPS4 拠点の 1 つ東京大学・医科学研究所で評価が開始された。それに続いて 23 年度からは京都大学・iPS 細胞研究所での評価も開始される予定で、実用化に向けた評価は順調に進捗している。今後は、これらの専門家からフィードバックされた評価情報と、産総研独自の研究成果とを組み合わせ、さらに実用化に向けた改良を重ねる予定である。

これまでは数多く樹立した iPS 細胞からごく少数の分化能が高い iPS 細胞を選び出す必要があったため、医療や創薬への応用はなかなか実現せず、いったん完成した良質の iPS 細胞を多くのユーザーが使うという状況であったためベクターそのものの市場ニーズが高いとはいえなかった。しかし、SeVdp ベクターが iPS 細胞作製の標準法として実用化されれば、個々の患者の末梢血から均質な iPS 細胞を樹立して医療や創薬・基礎研究に応用することが現実のものとなり、受託事業としても一気に普及することが期待されるので、幅広いニーズがあると予想される。実際に、論文発表後は海外からの問い合わせもあるので、日本標準ではなく世界標準にできるように頑張りたい。

SeVdp ベクターによる iPS 細胞の作製は産総研独自の特許に基づく成果であり、他に例をみない効果を持ったシステムなので、実用化できる可能性は極めて高い。ただ、この分野は非常に競争が激しく、新たな技術が出て成果はすぐに陳腐化してしまう恐れがある。常に世界のトップレベルの成果を目指して今後とも気を許さずに研究を続けたい。

①-4 iPS 細胞の安定供給・大量調製・保存技術の開発

(1) iPS 細胞大量調製の自動化技術の開発

川崎重工業株式会社、独立行政法人 国立成育医療研究センター

iPS 細胞の自動培養機能については、先ずは一括方式（すべてのコロニーを継代する）にて継代するプロトコルを、川崎重工業製の自動培養装置のソフトウェアに組み込んだ。使用を希望する顧客に対しては、開発中の製品であるとの条件付で、使用いただくことにしている。より完成度が上がった段階で、正式に製品仕様に組み入れたい。その時期は 2011 年度後半を予定している。

(2) ガラス化法等を用いた iPS 細胞の自動凍結保存技術の開発

大陽日酸株式会社、独立行政法人 国立成育医療研究センター

これまでのプロジェクトの成果で、ヒト iPS 細胞でも緩慢法による予備凍結を経て

凍結保存可能であることが判明した為、予備凍結から凍結保存、解凍まで可能な凍結保存装置の自動化は比較的短時間で実現可能と考えられる。さらに今後 iPS 細胞安定供給の実用化に向けた装置開発は、他品種のヒト iPS 細胞での評価及び、自動培養装置との連携、装置小型化に向けての開発を経て数年後には実現可能と考えられる。

(3) 安定供給・大量調製に適した温度応答性培養器材の開発

株式会社 セルシード、川崎重工業株式会社

本研究によって検討を行った iPS 細胞培養に適した温度応答性培養器材の製造条件を最適化することにより、iPS 細胞用の新たな培養器材としての製品化が見込まれる。

研究開発項目② 「iPS 細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発」

iPS 細胞等幹細胞やそこから誘導した分化誘導細胞の性質を規定する有用なマーカーの開発及び取得したマーカーを活用した選別、評価のための要素技術の開発は、安定した一定基準の分化細胞を再生医療等に供給するためには必須の開発項目である。研究開発項目②では、これらのマーカー探索を実施しているが、そのアプローチは先端科学を応用した方法により行っている。ひとつはモデル細胞系を用いる遺伝子発現解析を網羅的に行い、細胞の性質や特徴を評価し、選別するために有用なマーカー遺伝子を開発することである。もうひとつは、新たに見出された Muse 細胞を用いて、細胞学的あるいは構造蛋白的な解析を行い、細胞の性質や特徴を評価し、選別するために有用なマーカー物質の確立を目指している。

②-1 高感度 DNA チップを用いた発現解析技術を基盤とした iPS 細胞の選別・評価・製造技術等の開発

モデル iPS 細胞において遺伝子導入後の初期遺伝子発現の解析が進んだので、今後ヒト iPS 細胞等で変化の普遍性を追及していく。すなわち、1) 分化特性の喪失、2) 多分化能の獲得、3) 多分化能の維持・安定化に関連する遺伝子に焦点を絞り、マーカーとなりえる遺伝子の選択を行う。このことにより、遺伝子導入後のリプログラミング過程を明らかにしていくことが可能となる。

マーカー遺伝子を同定してもそれを実用化するには多くの問題がある。特に iPS 細胞化過程の細胞がごく少数であるため、微量細胞からの網羅的遺伝子発現解析を行う技術の開発が必要となる。現在までに 1,000 個の細胞から、網羅的に遺伝子発現解析を行う技術を完成している。iPS 細胞生成過程で形成されるコロニーの数は 100-1,000 個程度であり、コロニー毎に網羅的遺伝子発現解析することが重要であることから、本手法は今後の iPS 細胞化メカニズム解析に威力を発揮すると期待される。

②-2 成体由来の多能性幹細胞の操作技術を基盤とした iPS 細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発

成人ヒトの間葉系細胞から新たな多能性幹細胞 Muse 細胞を見いだした。Muse 細胞は損傷組織に遊走、生着、分化し、組織修復に寄与することが明らかになった。多能性がありながら腫瘍性の無い Muse 細胞の特性は再生医療等の細胞移植において有効

であると期待される。Muse 細胞の性質を解明することで再生医療等への応用の可能性を高めていく。

iPS 細胞のもつ最も画期的な臨床的側面は、さまざまな疾患の患者から皮膚などの組織を用いて疾患特異的 iPS 細胞を樹立できることである。疾患特異的 iPS 細胞を用いた研究を進めるためには患者の病態を反映するような評価系を構築することが最も重要である。疾患特異的 iPS 細胞を用いて、患者の罹患している臓器の細胞に分化させ、その過程を分析することにより疾患の病因、病態解析につながると考えられる。この疾患モデル細胞は新規薬剤の開発、毒性の検定などに応用される。

②-3 iPS 細胞の各種性状解析

(1) 由来の異なる iPS 細胞の樹立

独立行政法人 国立成育医療研究センター

我々が樹立した iPS 細胞については、既に一部については医薬基盤研究所の細胞バンクに寄託しており、利用可能となっている。さらに今回新たに樹立した iPS 細胞についても順次公的バンクへの寄託を進め、バンクを通して希望する研究機関への配布を行っていく。

(2) iPS 細胞における遺伝子発現プロファイルの解析と特異的遺伝子マーカーの探索

独立行政法人 産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター

研究ツールにすぎない iPS 細胞を真に社会に役立てるためには、iPS 細胞の規格を決定することが必須である。そして、本研究成果は iPS 細胞のみならず ES 細胞及び間葉系幹細胞を規格化する上での効果的な指標となる遺伝子マーカーを同定した。本研究はこれまでにない多くの幹細胞株を元に算出したものであり、汎用性も高く、ソフト化などの実用化の可能性は極めて高い。

(3) システム生物学的アプローチによる iPS 細胞における特異的パスウェイ及びマーカーの探索

独立行政法人 産業技術総合研究所 生命情報工学研究センター

本課題で確立した少数分子候補絞り技術は、汎用性を持つ。絞り込みに際する利用者の設定項目は、1つの有意確率の設定のみであり、様々な状況で計測されたデータに関して適用可能である。適用を重ねることで、頑強な少数分子候補の安定的な選定が可能であり、実験検証のプロセスとの継続的な協調が可能である。また実際、本技術の適用可能性の検証のため、脂肪分化、糖尿病、大腸がん等の少数分子候補の選定を行い、実験検証段階にある。

以上のように、実験検証の結果を待つ必要はあるが、技術自体はほぼ確定しており、ソフトウェア化の段階に至っている。

(4) iPS 細胞の染色体安定性の検証

アルブラスト株式会社 (H21 年度まで)

独立行政法人 産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター

研究ツールにすぎない iPS 細胞を用いて、特に再生医療をゴールとして産業応用を進めるには、iPS 細胞の核型が正常であることを簡便に確認できるシステムを確立する必要がある。本研究の成果は核型解析の標準プロトコールとして実用化の見通しがある。

(5) iPS 細胞のエピゲノム情報の解析

川崎重工業株式会社、

独立行政法人 産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター

本研究で得た、これまでに例を見ない数の iPS 細胞等幹細胞からのエピゲノムに関する基礎データは他の実施項目において得られる「遺伝子発現データ」「レクチンアレイデータ」と共に、幹細胞の性質である分化指向性を予測するためのデータのの一つとして実用化されうる。

研究開発項目③ 「iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発」

③-1 iPS 細胞等幹細胞から心筋細胞への高効率な分化誘導技術の開発

健常者および遺伝性QT延長症候群由来のヒト iPS 細胞由来の樹立と心筋細胞への誘導は順調に経過しており、実用化は直前の状態まで進んでいると考えられる。これまで製薬業界では薬剤開発の際に、CHO 細胞等に hERG 遺伝子を発現させた細胞を用いて Ca^{+} 、 Na^{+} 、 K^{+} イオンチャネルの内 K^{+} チャネルへの作用を見ることで、薬剤の催不整脈作用を判定してきた。いままで用いられてきた動物細胞ではなくヒト iPS 細胞由来の心筋細胞を用いることにより、hERG 試験の精度が向上することが期待できる。更に今回の研究で本邦初の健常者、遺伝性QT延長症候群の心筋細胞が流通すれば、各種イオンチャネルに対する作用を見ることも可能になる。

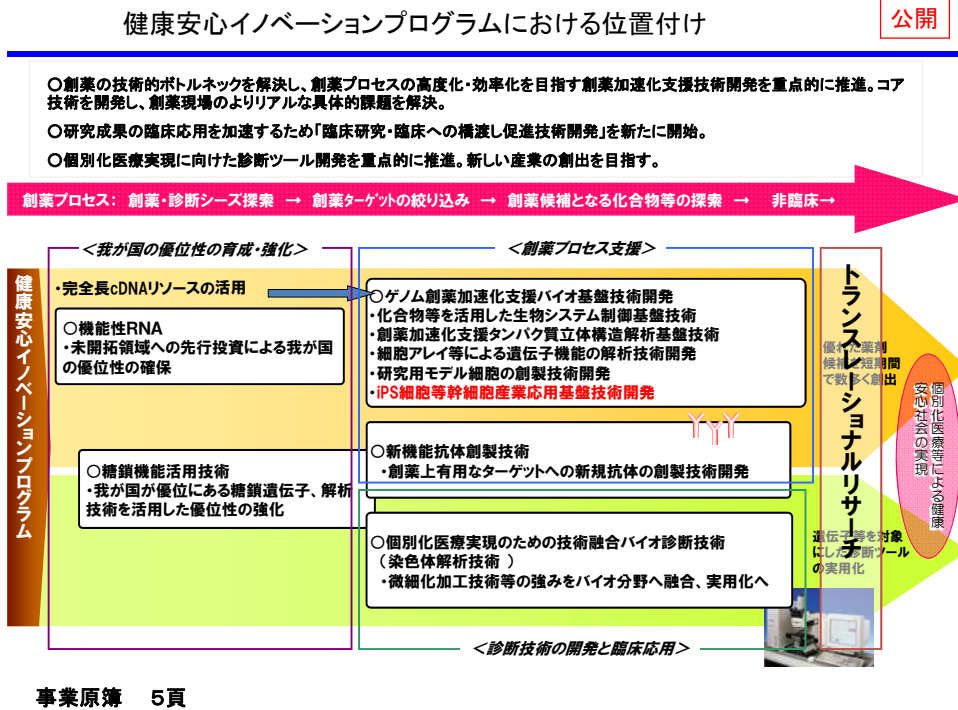
③-2 iPS 細胞等幹細胞を活用した創薬スクリーニングシステムの開発

すでにプロトタイプシステムは第2世代機プロトタイプまで完成しており、評価班での評価も進んでいる。引き続き、評価班、ユーザーフォーラム、外部製薬会社にプロトタイプを実際に評価してもらいながら、使用に際するさまざまな問題点のフィードバックを受ける。そのフィードバックを基にユーザーフレンドリーでより精度の高い実用機（第3世代機システム）の開発を目指す。更に国際標準化組織である HESI や ICH 等での標準化についての検討対象となることで国際機関とともに標準化を目指すとともに、並行して国内外の有力製薬企業と実用化評価を共同で行い、実質的に世界標準の心筋毒性試験とすることを旨とする。すでに実用化されている既存動物実験（AV-block 犬モデル）と同程度以上の精度での結果が得られたことから、現状の技術においてすでに、成果の実用化の可能性は充分高いと思われる。そのためには、最適細胞、システム構築、システム評価を行う共同研究グループが協力して目標を達成することが必要である。創薬という観点では心毒性検査市場の規模は 100 億円–300 億円以上あると考えられる。

V. 基本計画に関する事項	作成時期	平成 21 年 1 月、制定
	変更履歴	平成 23 年 1 月改定。内外の研究開発動向に鑑み、研究開発項目①及び研究開発項目②を発展的に統合し、研究開発項目①「ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発」を新たに設定。再生医療への応用を可能とする細胞源の確立を目標として、平成 23 年度から 5 年計画で新規に着手すべく改訂。なお、平成 22 年度補正予算により前倒しで着手。

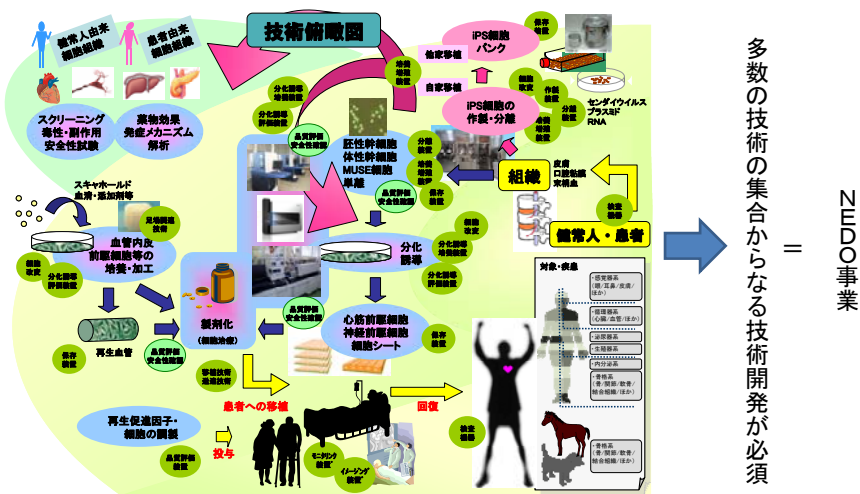
技術分野全体での位置づけ

(分科会資料6—1より抜粋)



NEDO事業としての必要性(幹細胞の産業応用)

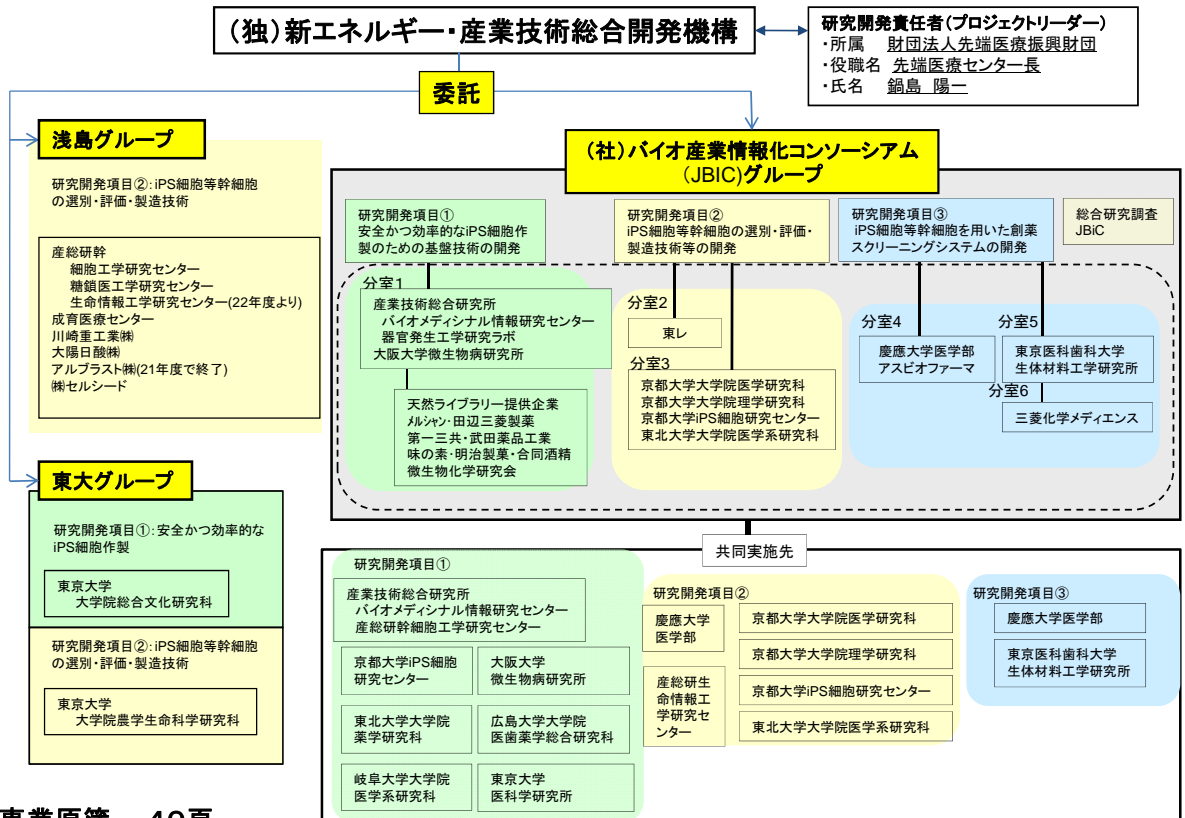
公開



全体の研究開発実施体制

「iPS細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発」実施体制

公開



事業原簿 40頁

「ヒト幹細胞産業応用促進基盤技術開発」（中間評価）

評価概要（案）

1. 総論

1) 総合評価

iPS 細胞に関連する類似したプロジェクトが多く存在する中、従来の発生学などを含む生物学を中心とした基礎的な研究内容を含むだけではなく、NEDO の主眼である産業応用に関する工学的検討が多く含まれたプロジェクトである。そして、ヒト iPS 細胞技術の本質を客観的に評価する研究と、ヒト iPS 細胞技術が実用に供するポテンシャルを持っているという仮定を前提とした応用研究が有機的に展開された。その結果、ヒト iPS 細胞の品質を高める技術、ヒト iPS 細胞の差異を簡便識別する技術ならびに心疾患分野における応用研究に関して波及効果のある研究成果を得た。特に、iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発の最終ゴールとしての創薬研究における心毒性評価システムの作製は、2年半で産業へのバトンタッチが見えてきたことは評価できる。

一方で、iPS 細胞作成とそれからの心筋作製については、不均一性、技術の不安定性がまだ完全に払拭されたわけではない。また、他省庁に関連したプロジェクトが多く存在する中で、NEDO のプロジェクトの位置づけ、差別化について、今後より説明を行う必要がある。そして、22 年度末で新規プロジェクトへ移行になった 2 つのテーマの中で開発された手法や機器は今後 iPS 細胞に限定せず、広く幹細胞の研究に応用可能であるので、NEDO としてはそれらの活かし方を明確にすべきである。

2) 今後に対する提言

安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発、iPS 細胞の選別・評価・製造技術等の開発の課題で集積された成果には十分な意義があると認識する。当該成果を今後のプロジェクト内でどのように利用していくのかを明確にしてほしい。iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発の課題は順調に進展していると評価できる。多くの企業がコミットするような体制の構築を期待する。また、なるべく早い段階で規制当局との交渉も開始し、社会的なコンセンサス形成を進めてほしい。

iPS 細胞の考え方、技術は高く評価する。一方で、iPS 細胞の問題点と限界が少しずつ見え始めた。国際的に爆発的な勢いで進む当該分野の国際動向を視野に入れた研究計画が強く求められる。また、なぜ山中因子でリプログラミング

が起こるのかに対してそのメカニズムを解明する研究にもっと深く切り込むべきである。そのためにエピジェネティクスの研究、高速シーケンサーを用いた ChIP-seq の解析などを本当に専門とする研究者に予算を投じるべきである。またこれらの解析研究を iPS 細胞と言う狭い領域で捉えず、幹細胞生物学として広くとらえ生命現象解明の一助とすべきである。

2. 各論

1) 事業の位置付け・必要性について

iPS 細胞関連技術は産声をあげたばかりの萌芽的な領域であり、樹立方法も維持培養方法も未だに確立されていない。従って、民間企業が社運をかけて当該分野に投資するような段階には到っていないと考えられ、産業応用に向けた研究開発において NEDO が関与することは妥当である。また、本プロジェクトは日本が特に力を持っている科学領域での創薬応用を目指すものであり、健康安心イノベーションプログラムの目標達成のために寄与している。

一方で、他省庁に関連したプロジェクトが多く存在する中で、NEDO のプロジェクトの位置づけ、差別化について、今後、より説明を行う必要がある。また、将来像についても、中間以降にはより詳細に描けることが必要である。

2) 研究開発マネジメントについて

難しい研究課題を適切にマネジメントし、ヒト iPS 細胞技術の客観的評価と実用化を並行して進め、どちらに関しても成果を出した。その結果、研究開発の方向をヒト iPS 細胞に特化したものからより幅広く幹細胞の実用化を目指すものへと発展的に変更することを可能とした。このような変更を決定する時期も適切であったと考える。また、知財については専門メーカーが実用化につなげることを前提に大学と共願し、ライセンスは通常実施権にして、他社の参画も可能にしていることは適切である。

しかしながら、研究開発目標設定に関しては国内外の技術動向、市場動向が示されていない。また、全体的に個別研究の集合であり、あまり有機的な連携が図られたようには見受けられない。そして、費用対効果をより厳密に検討した研究開発が求められる。一方で、安全性試験の専門家をチームに入れる必要もある。

3) 研究開発成果について

いずれも当初の中間目標値を達成している。誘導法で Glis1、遺伝子導入法でセンダイウィルス法とリシール法が実効性のある方法として開発、また選別・評価技術として疾患特異的細胞誘導やレクチンアレイ解析が進展、製造技術と

して自動化技術やクライオライブラリー技術が開発された。また、心筋分化誘導法と心筋毒性スクリーニングシステムが開発された。特に、分化 iPS 細胞の大量調整装置、レクチンアレイ、オンチップ・細胞ネットワーク計測法などは世界初の成果であり、意義も高い。成果の普及に向け、国内医薬品企業やメガファーマとの間でコンソーシアムを設立したことは、実用化に向け適切である。また、知的財産権は特に誘導法について確保されており、論文は着実に出されている。

しかしながら、しっかりとしたサイエンスに立脚しない限り、世界をリードするイノベーションは難しい。投入された予算規模からすれば、成果は大きいとは言い難い。また、一般に向けて iPS 細胞の現状と限界を正確に伝えることが必要である。

4) 実用化の見通しについて

画期的な計測法の開発による心毒性評価システムは企業も乗り出しているとの報告を受けており、事業化可能性は高く、創薬システムの効率化へ向け期待できる。また、iPS 細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発に関しては糖鎖アレイシステムや自動培養装置などトップレベルでの技術構築がなされており、iPS 細胞に限定することなく広く応用可能であろう。さらに、In vitro の心筋機能計測法の概念と基本技術は、薬物スクリーニング系として他の細胞系にも応用可能であろう。

一方で、安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発については、まだ均一な iPS 細胞が再現性高く得られる汎用性の高い技術までの革新がなされていないと判断する。また、iPS 細胞の比較・評価技術は多く開発されたが、それらをどのように用いれば iPS 細胞の標準化ができるかというレベルまで至っていない。

個別テーマに関する評価

	成果に関する評価	実用化の見通しに関する評価	今後に対する提言
安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発	<p>誘導因子としての Glis1 の発見は世界最高水準にあると評価できる。また、センダイウィルスベクターで複数の遺伝子を導入する方法は、均質な細胞形成の点でメリットがあり、レトロウィルスベクター系より優れており、これは世界にはない技術である。従来の方法と比較して iPS 細胞の誘導効率が高まり、また安全性も高まった可能性がある点が評価できる。</p> <p>しかしながら、新しい誘導因子ならびにセンダイウィルスベクターを用いても、解決すべき課題である初期化の不完全性、デノボの DNA の変異や構造変化に基づく iPS 細胞の特性の不安定性という根本問題が解決したわけではない。また、この根本問題を解</p>	<p>新しい技術が開発され、さらに従来の技術と比較して作製効率が高まった点は実用化の観点で重要な進歩であったと考える。特に、Glis1 等の発見は、再現性・安全性等を目指したさらなる有効分子の探索を誘発するものであり、波及効果が期待できる。</p> <p>しかしながら、安全性の高い細胞を効率よく樹立する方法の開発は発展途上にある。さらなる研究開発が必要である。また、今後進める薬剤スクリーニング系の実用化には、iPS 細胞の多様性や初期化の不完全性を制御可能な技術が必要である。そして、体細胞が iPS 細胞となる分子機構の解明が求められる。</p>	<p>Glis1 については、現在ヒト iPS 細胞で問題となっている初期化の不完全性やデノボの変異導入、DNA の構造変化にどのように影響を与えるのかを至急明らかにすることが必要である。この点が明らかにならなければ、本技術に実際に有用性があるかどうかを確定しない。また、今後は、樹立後の安全性維持にも技術開発が必要である。細胞そのものの臨床応用を考えた場合には、最終産物の安全性こそが重要なものであることを勘案するに、どのような変異を有する細胞は移植に使用することが不適切なのかの検討が重要と考える。さらに、本テーマは日進月歩の分野であるが故にマイルストーンの設定が難しいが、一度決めたマイルストーン</p>

	<p>決するための方策も見出されたわけではない。従来の山中4因子に代わるものを探すというレベルでは、いつも現象論にとどまってしまう恐れがある。これらの因子が核内で何が起こってリプログラミングにまで至るのかという分子メカニズムの解明をする必要がある。</p>		<p>であっても臨機応変に変更していく必要がある分野である。</p> <p>一方で、多くの一般人は、iPS細胞ですぐにでも難病治療ができると信じている。iPS細胞の現状について国民に知らせるべきであろう。また、iPS細胞の研究にはもっとやるべき基礎研究分野があり、それを担当する研究者に対しての予算を配慮すべきである。</p>
<p>iPS細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発</p>	<p>品質管理に関する糖鎖アレイ技術や凍結処理の自動化を含めた自動培養装置の開発に関しては、世界的トップレベルを維持しており、得られた知見はiPS細胞という狭い領域に限らず今後幹細胞研究に広く応用可能である。MUSE細胞の発見は独創的な発見であり、このMUSE細胞を用いてiPS細胞を誘導することで、ヒトiPS細胞が分化した細胞よ</p>	<p>実用化のイメージとしてiPS細胞大量培養法としての20代連続自動培養法、自動凍結保存法が確立できたことは評価できる。自動培養装置や自動細胞保存装置の開発は、幹細胞応用領域のみならず、広く多種多様な細胞応用研究に波及効果が期待できるものである。MUSE細胞を用いた起原細胞の最適化研究は安全かつ効率的なiPS細胞作製のための</p>	<p>細胞の特性解析における遺伝子発現解析の有用性は明白であり、遺伝子発現解析によってiPS細胞の特性をある程度予想できる段階にまで達している。今後、様々な樹立法や維持培養法で作成されたiPS細胞を継続して解析していくことで、さらに重要な情報が蓄積できるはずである。その際、iPS細胞の標準化技術として今後様々なオミックス解析を</p>

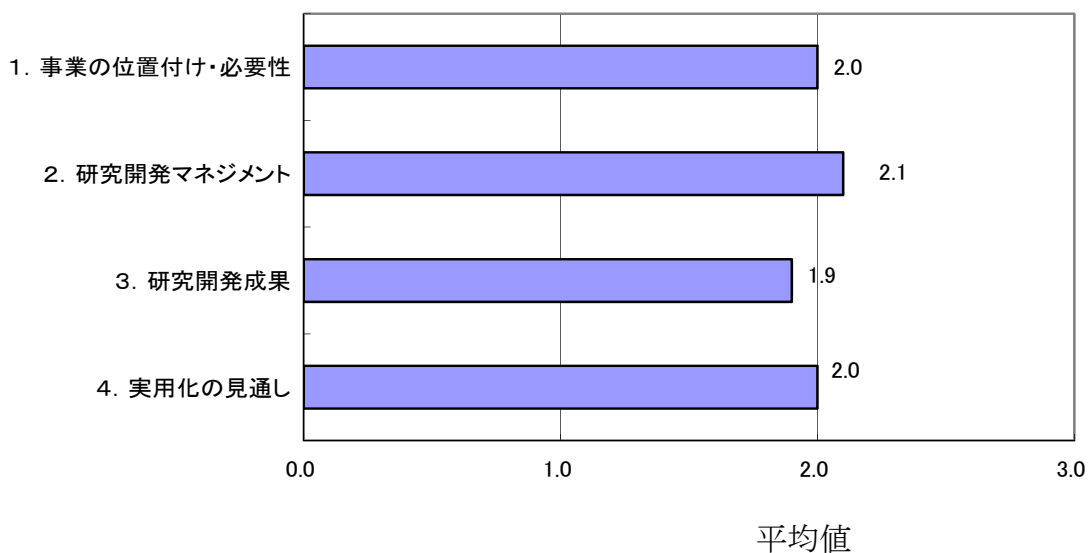
	<p>りもむしろ組織中の幹細胞や前駆細胞から誘導されることを明らかにした。</p> <p>また、iPS細胞に由来組織によって分化傾向が異なるという発見も従来のヒト iPS 細胞に対する仮説を否定するものであり重要な結果である。遺伝子発現特性や細胞表面の糖鎖を解析することで前向きにヒト iPS 細胞の違いを分類できるようになったことも技術的な成果である。</p> <p>一方で、ヒト iPS 細胞を現時点の技術レベルで実用化するのであれば、微量細胞から全エピゲノム解析を実施する技術開発が求められる。また、iPS 細胞分別システムとして実用化するには、レクチンアレイ解析・遺伝子発現パターン解析・ネットワーク解析・エピゲノム解析それぞれにつき、より精細な検討と標準化が必要である。</p>	<p>基盤技術の開発に加えて、ヒト iPS 細胞の品質構造に応用できる可能性がある。</p> <p>一方で、ヒト iPS 細胞技術が当初予想されていたよりも多くの課題が存在することが明らかになってきた。ヒト iPS 細胞は不安定なので、本プロジェクトで開発された技術はヒト iPS 細胞の特性のばらつきや不安定性が用途に大きく影響を与えない場合のみ、実用化に供することが可能となる、応用範囲の狭いものとなる。また、開発の各段階でマイルストーンを決めてきたのか、不明であり、各技術を如何に統合して iPS 細胞の標準化に集約するかということがなされていない印象を受ける。</p> <p>iPS 大量培養後の細胞が、次のステップとして、心毒性スクリーニングシステムに使用する心筋細胞への分化誘導が可能かどうか</p>	<p>導入して総合的に解析することが重要であり、様々な解析方法による結果を含むバイオインフォーマティクス検討が重要性を増す。</p> <p>また、臨床試験の前の段階で、免疫学や感染症に関する専門家をチームに加える必要がある。</p>
--	--	--	--

		かの検証が必要である。	
iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発	<p>ヒト iPS 細胞/ES 細胞から心筋細胞を分化誘導する技術、分化誘導した心筋細胞を用いた創薬への応用のどちらも世界トップレベルの成果である。特に、心筋細胞増殖因子として GCSF (granulocyte-colony stimulating factor; 顆粒球コロニー刺激因子) の新機能の発見、分化誘導因子としての X-factor 発見、またその組み合わせによる高効率かつ高純度の心筋細胞作製法を確立したことは画期的である。そして、得られた成果は心筋に副作用のある薬剤のスクリーニングや、心筋障害疾患のための治療薬開発へと発展することが期待できる。即ち、QT 延長作用に限らず様々な影響への応用が可能と考える。また、幹細胞由来の心筋細胞の応用例の成功は、幹</p>	<p>幹細胞由来の心筋細胞を創薬研究に応用するという実用化イメージが明確であり、創薬における心臓への副作用予測では、すでに企業も注目を始めておりこの領域における技術的、経済的、社会的な大きな波及効果が期待できる。ゆらぎ測定チップ計測システムはメガファーマも興味を示しているとのことで、実用化に向けて期待は大きい。iPS 細胞からの心筋細胞もそれと合体させれば応用可能であろう。</p> <p>一方で、この方法を利用したスクリーニングにより1つでも新規の薬剤を創製する実績を示すことが重要であり、そのための戦略が必要である。また、QT 延長症候群に焦点を当てていることは当初の計画どおりなので異論はないが、今後は遺伝性の心疾患の</p>	<p>1型 LQT (QT 延長症候群) 患者由来心筋細胞を樹立して、QT 延長と心室頻拍が誘導できたことはすばらしい。この研究は、心毒性試験システム構築だけでなく疾患細胞モデルとして将来性がある。また、今回の成果はヒト iPS 細胞だけではなくヒト ES 細胞にも応用可能な技術である。今後は今回開発された技術を患者由来ヒト iPS 細胞を用いて、どこまで個別医療に応用できるかを、メカニズムと実施データの両面から実証することが必要である。</p> <p>一方で、幹細胞由来の心筋細胞が真に生理的な心筋細胞を再現しているか否か、即ち、幹細胞由来の心筋細胞を用いた解析で評価をすることが科学的に妥当なのか否かの検証は綿密に行う必要がある。また、初期化の不完全</p>

	<p>細胞由来の他の細胞（肝臓細胞等）の応用へとつながることが期待される。さらに、心筋細胞のネットワークを形成し ECG (electrocardiograph; 心電図) の測定に成功し、そのゆらぎ測定法を知財化できたことはすばらしい。</p> <p>一方で、iPS 細胞から心筋への分化については、必ずしも完全なものではない。その技術革新は依然として必要である。</p>	<p>解析にどこまで応用できるか等、他の心筋疾患への発展性も考慮して研究を進展して欲しい。</p>	<p>性やデノボの DNA 変異、構造変化の頻発は、患者由来の DNA 配列情報とは異なる原因で表現型の異常が発現する可能性があり、これを区別するための統計解析の手法なども解析していくことが必要である。</p>
--	---	---	---

評点結果〔プロジェクト全体〕

3. 1 プロジェクト全体



評価項目	平均値	素点 (注)							
		A	A	C	B	B	C	B	
1. 事業の位置付け・必要性について	2.0	A	A	C	B	B	C	B	
2. 研究開発マネジメントについて	2.1	A	B	C	B	B	B	A	
3. 研究開発成果について	1.9	B	B	C	B	B	C	A	
4. 実用化の見通しについて	2.0	B	B	C	A	A	C	B	

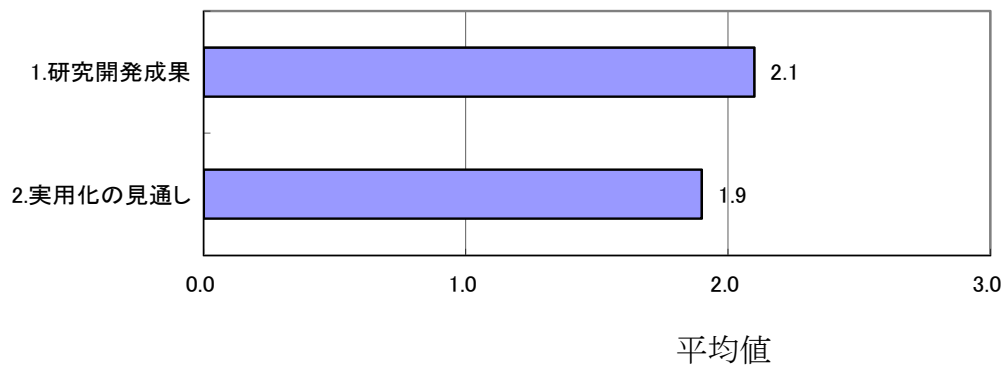
(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

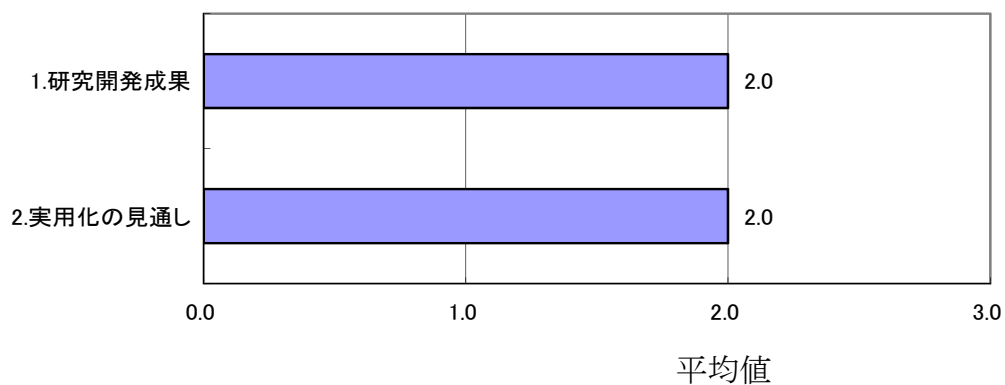
1. 事業の位置付け・必要性について	3. 研究開発成果について
・非常に重要 →A	・非常によい →A
・重要 →B	・よい →B
・概ね妥当 →C	・概ね妥当 →C
・妥当性がない、又は失われた →D	・妥当とはいえない →D
2. 研究開発マネジメントについて	4. 実用化の見通しについて
・非常によい →A	・明確 →A
・よい →B	・妥当 →B
・概ね適切 →C	・概ね妥当であるが、課題あり →C
・適切とはいえない →D	・見通しが不明 →D

3. 2 個別テーマ

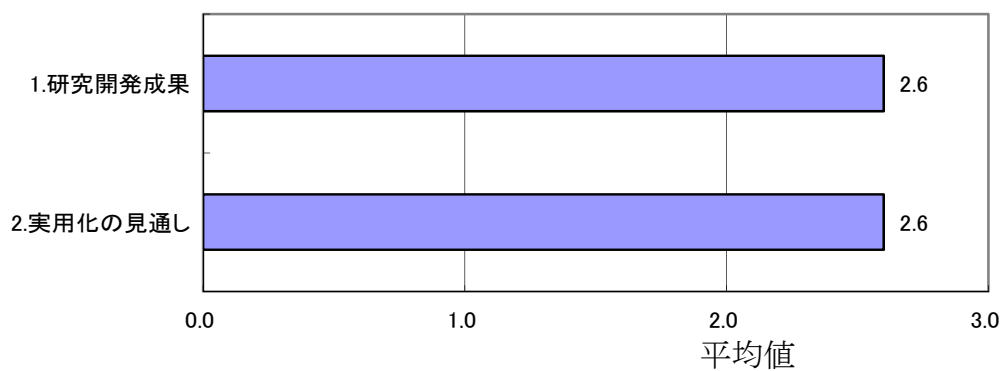
3. 2. 1 安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発



3. 2. 2 iPS 細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発



3. 2. 3 iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発



個別テーマ名と評価項目	平均値	素点（注）							
3. 2. 1 安全かつ効率的な iPS 細胞作製のための基盤技術の開発									
1. 研究開発成果について	2.1	A	B	B	B	B	B	B	B
2. 実用化の見通しについて	1.9	A	B	B	C	B	D	A	
3. 2. 2 iPS 細胞等幹細胞の選別・評価・製造技術等の開発									
1. 研究開発成果について	2.0	A	B	A	B	B	C	C	
2. 実用化の見通しについて	2.0	B	B	A	B	B	C	B	
3. 2. 3 iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発									
1. 研究開発成果について	2.6	C	A	A	A	A	B	A	
2. 実用化の見通しについて	2.6	C	A	A	A	A	B	A	

（注） A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

1. 研究開発成果について

- ・非常によい
- ・よい
- ・概ね適切
- ・適切とはいえない

2. 実用化の見通しについて

- A ・明確 →A
- B ・妥当 →B
- C ・概ね妥当であるが、課題あり →C
- D ・見通しが不明 →D