薬効・安全性評価ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
山本　正道（国立循環器病研究センター・特任部長）

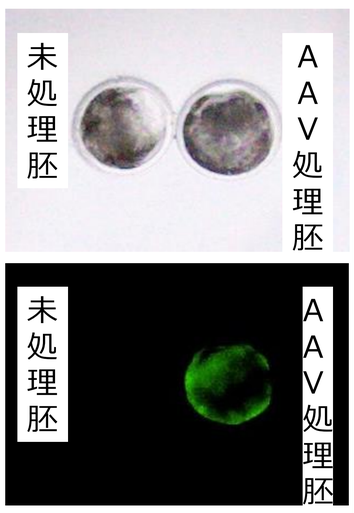
エネルギー代謝可視化を利用した病態モデル作出から薬効試験の臨床予測向上と支援

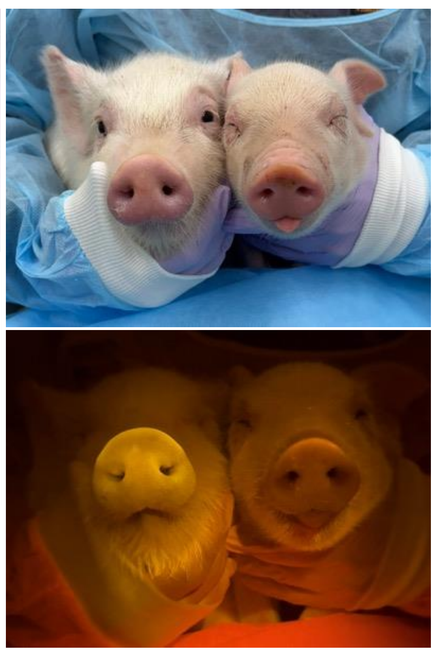
補助事業分担者（所属・職名）
朔　啓太（国立循環器病研究センター・部長）、藤原　祥高（国立循環器病研究センター・部長）、今井　宏彦（岐阜大学医学部・特任准教授）

高度化における研究背景・目的と成果

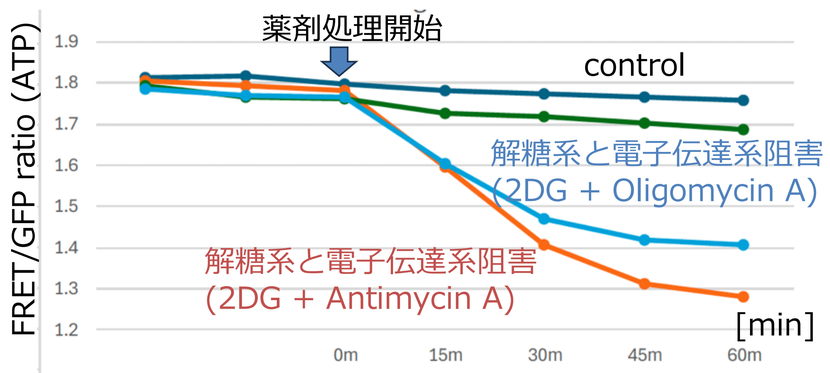
全体背景：前臨床研究における「臨床予測性」の限界と高度化の必然性
生命科学・創薬研究において、前臨床段階で有望視された候補化合物の多くが臨床試験で開発中止となる最大の要因は、従来のマウス・ラットを中心とするげっ歯類モデルとヒト生体との間に横たわる「生理学的・解剖学的・代謝的乖離」にある。細胞アッセイや静的な死後組織解析、あるいは一般的な血液生化学検査では、生体内で動的に変動する微細な薬効応答や臓器特異的な代謝毒性を捉えきれない。 あらゆる生命活動・細胞恒常性の根幹を担う「ATP動態」および「エネルギー代謝フラックス」は、疾患の進行や治療介入による回復を最も鋭敏に反映する普遍的ベンチマークである。当グループでは、世界に先駆けてマウス生体内のATP動態可視化技術（AVID/mAVID）を確立し、モデル作出から薬効評価までのワンストップ支援を展開してきた。しかし、真にヒト臨床へ外挿可能な高精度前臨床プラットフォームを完成させるためには、げっ歯類にとどまらない「臨床近似モデルの開発」と「非侵襲的かつ臨床展開可能な計測技術の導入」が不可欠である。 具体的には、①ヒトに近い生理・解剖学的特徴を備える中型動物（ブタ）へのATP動態可視化技術の展開、②ヒト臨床を忠実に模倣した中型動物疾患モデルの作出、③動物からヒトまで同一手法・同一プローブでエネルギー代謝フラックスを非侵襲的に追跡できる超偏極$^{13}¥text{C}$-MRIシステムの確立、の3項目を並行して推進している。本事業の高度化では、これらを統合することで、非臨床と臨床の深いギャップを埋め、臨床予測性を飛躍的に高める革新的創薬支援基盤を構築することを目的とする。

中型動物（ATeamブタ）開発の目的
ヒトと近似した心血管系・代謝特性・臓器サイズを有するブタを生体内代謝評価モデルとして確立するため、ATP感受性蛍光プローブ（ATeam）を恒常的に生体内で発現する「ATP可視化遺伝子改変ブタ」を世界で初めて作出・樹立することを目的とする。 体外受精（IVF）および体外培養技術を基盤とし、AAV（アデノ随伴ウイルス）ベクターを用いた高効率な遺伝子導入法と受精卵移植系を確立することで、組織・細胞レベルでATP動態をリアルタイムかつ定量的に計測可能な中型動物リソースを創出・提供する。これにより、げっ歯類では検証困難であった臨床用量の薬物動態や臓器連関代謝の解析を可能にする。



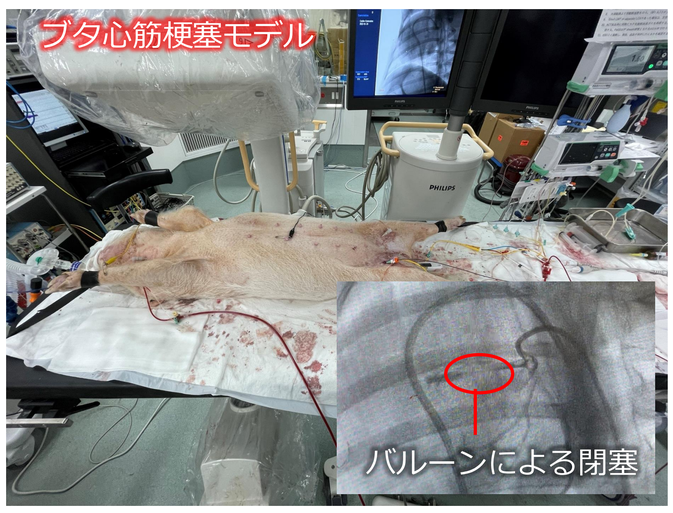


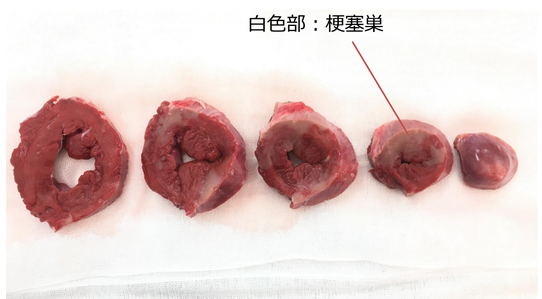
右上：ATPセンサーノックインブタ
右下：野生型



ATP可視化ブタから樹立した線維芽細胞を用いたATP動態解析

中型動物（ブタ）における疾患モデル作製の目的
非臨床薬理試験および創薬シーズの臨床外挿性を高めるため、ヒトの主要な血管病態を模倣した「ブタ心筋梗塞モデル」および「ブタ脳梗塞モデル」などの高精度な中型動物循環器・脳血管疾患モデルを低侵襲手技により確立することを目的とする。
心筋梗塞モデル： 臨床の冠動脈インターベンション（PCI）と同様のカテーテル手技を用いたバルーン閉塞により、開胸を伴わない低侵襲かつ遠隔期までの長期飼育が可能な虚血再灌流モデルを確立する。同時に、臨床で用いられる左室補助装置（VAD）やECMO等の補助循環デバイス、高濃度酸素療法と連動させ、虚血下における心筋酸素消費とエネルギー代謝の包括的な評価系を構築する。
脳梗塞モデル： カテーテルや塞栓術を用いた脳血管閉塞手技を確立し、ヒトに近い脳構造（脳回転や白質・灰質比率）を持つブタにおいて、脳虚血急性期の代謝破綻およびペナンブラ領域における組織救済効果を定量評価できる高次中枢疾患プラットフォームを構築する。

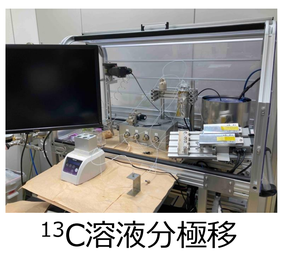




超偏極^{13}C-MRIによるピルビン酸代謝フラックス計測
蛍光イメージングの光透過限界（深部臓器計測の難しさ）を克服し、実験動物からヒト臨床まで同一原理で非侵襲的にエネルギー代謝経路を追跡できる「超偏極13C-MR代謝フラックス計測技術」を構築・本格稼働させることを目的とする。パラ水素誘起偏極法等により各磁気共鳴信号を飛躍的に増強した1-^{13}Cピルビン酸プローブを用い、生体内における嫌気的解糖（乳酸への変換）とミトコンドリア酸化的リン酸化（重炭酸への変換）のリアルタイム分岐動態を非侵襲的に計測する。さらに、生体イメージングのみならず、凍結生検組織（ex vivo）の微小検体を用いた超早期の薬効・悪性度スペクトル判定へも応用を展開し、創薬・個別化医療支援の基盤を飛躍的に拡大することを目指す。



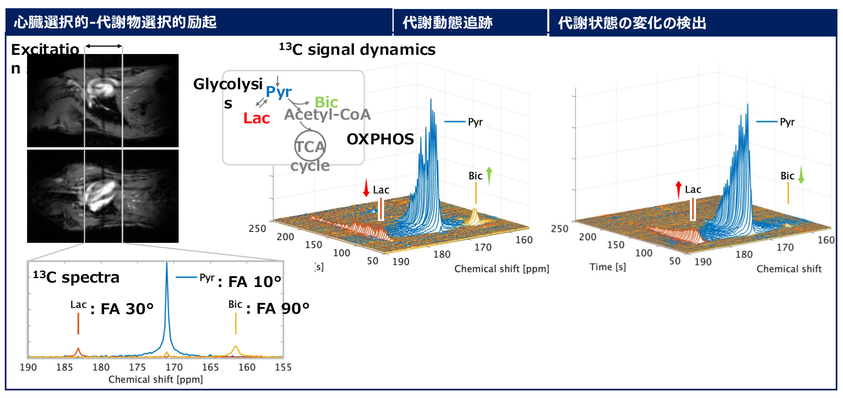
パラ水素変換装置



^{13}C溶液分極移動装置



7T MRI 装置



今後の発展

代謝イメージング技術の多角化：ATPから乳酸・複合代謝ネットワークの生体内直視化へ
本事業で確立した生体内ATP動態可視化技術（AVID/mAVID）の知見を基盤とし、今後は細胞内エネルギー代謝の動的連関をより多角的に捉えるため、FRET技術等を応用した新規代謝分子プローブの導入を推進する。とりわけ嫌気的解糖の亢進を直接反映する「乳酸イメージング技術」の確立に注力し、虚血性組織やがん微小環境におけるワールブルグ効果および解糖系シフトの時空間動態を捉える。さらに、ATPと乳酸の同時・連続イメージングや、NADH/NAD$^+$、細胞内pH等の代謝関連因子との統合解析を実現することで、単一指標の観察にとどまらない「生体内複合代謝ネットワークのリアルタイム直視化系」へと進化させ、創薬標的の同定および薬効評価の解像度を飛躍的に高める。

中型動物（ATeamブタ×疾患モデル）評価プラットフォームの本格稼働
作出に成功した遺伝子改変ATeamブタの系統繁殖と安定的供給体制を整えるとともに、低侵襲カテーテル手技により確立した「ブタ心筋梗塞モデル」および「ブタ脳梗塞モデル」との融合を果たす。ヒトと極めて類似した心血管・脳血管解剖および臓器サイズを有するブタ生体内において、心筋や脳組織のATP動態をリアルタイム計測する基盤を本格稼働させる。さらに、臨床現場で用いられる左室補助装置（VAD）やECMO等の急性期補助循環デバイス、高濃度酸素療法などの介入下で、血行動態、組織酸素消費量、エネルギー代謝を三位一体で評価可能な標準プロトコルを確立する。これにより、カニクイザル等の霊長類実験が国際的に高騰・逼迫する課題を克服し、非臨床試験からヒト臨床治験への移行成功率を劇的に引き上げる中大動物評価のデファクトスタンダードを構築する。

超偏極^{13}C-MRIの臨床・ex vivo展開：ヒトがん生検組織を用いた超早期薬効・悪性度予測
超偏極13C-ピルビン酸を用いた代謝解析技術について、生体（in vivo）計測の精度向上を進めるとともに、臨床応用を見据えた「ヒトがん組織（内視鏡や穿刺生検等で採取される微小凍結生検検体）」に対するex vivo代謝フラックス解析技術の標準化を推進する。従来の組織学的・ゲノム解析では時間を要していた抗がん剤や分子標的薬の感受性評価を、微小検体への薬剤添加に伴う乳酸生成フラックスの抑制動態等を指標とし、数時間オーダーで判定する超早期薬効予測システムを確立する。これにより、創薬前臨床試験における臨床外挿性の向上のみならず、患者個々の検体を用いたプレシジョン・メディシンの実現に資する革新的支援技術を創出する。