薬効・安全性評価ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
楠原洋之（東京大学大学院薬学系研究科科・教授）

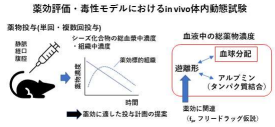
新規薬効成分の薬物動態解析と体内動態特性予測の支援

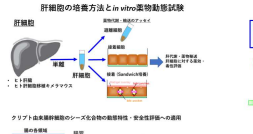
補助事業分担者（所属・職名）
前田和哉（北里大学薬学部・教授）、水野忠快（東京大学大学院薬学系研究科・助教）、橋本芳樹（東京大学大学院薬学系研究科・助教）

概要

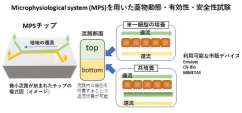
F7-1 薬物動態解析支援（in vivo）
実験動物におけるシーズ薬物の投与条件（投与経路・投与液組成）を検討し、血中・組織中濃度の測定に基づいて、薬効発現に必要な曝露を確保できる投与量・投与経路を提案
・優れたPK特性を有するシーズ薬物の選択
・PKパラメータに基づいた改善点の提案

F7-2 薬物動態・毒性評価支援（in vitro）
肝細胞（遊離、通常培養、サンドイッチ培養）や肝ミクロソームなど、Caco-2細胞、小腸上皮細胞におけるin vitro薬物動態試験（細胞透過や薬物代謝）
in vitroデータの解析
新たに開発された薬物動態モデルの、代表的な薬物輸送能や代謝能の評価、既存モデルとの比較も支援いたします。In vitroデータに基づいて、in vivo体内動態特性を推定





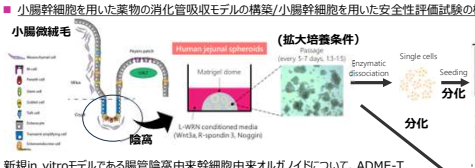
F7-3 生体模倣評価系による薬効・薬物動態評価支援
生体模倣評価系の1つであるMicrophysiologic System（MPS)として、Emulate製チップ、CN-Bio製チップ、Mimetas製チップ上で細胞を培養する機器を利用可能。これらのチップ上での細胞培養、薬効・薬物動態評価を支援



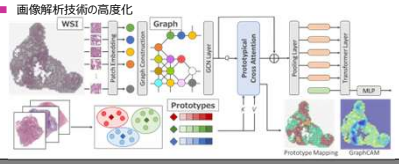
F7-4 毒性/安全性評価支援（in vivo）
Chemicl Levaraged-Modelを利用して、化合物処理を施したラット肝臓の病理画像に基づいて、異常検知や他の毒性物質との類似性評価

高度化
①新規医薬品候補化合物の体内動態・安全性評価技術の高度化(in vivo)
投与経路の追加（マウスおよびラット）
当初　静脈内投与(IV)、経口投与(PO)、腹腔内投与(IP)、皮下投与(SC)
追加した投与経路：　経肺投与、経鼻投与、脳室内投与、浸透圧ポンプの包埋による長時間持続投与
採血および解剖後の臓器採取（マウスおよびラット）：脳脊髄液の採取および血液のコンタミ指標の高度化

②新規医薬品候補化合物の体内動態・安全性評価技術の高度化(in vitro)
■ 小腸幹細胞を用いた薬物の消化管吸収モデルの構築/小腸幹細胞を用いた安全性評価試験の構築 **（分化条件）**



新規in vitroモデルである腸管陰窩由来幹細胞由来オルガノイドについて、ADME-T試験に向けた最適化、薬剤誘導性消化管障害・毒性と関連した表現系の探索
■ 画像解析技術の高度化



培地添加物による特定細胞集団の割合を高めたオルガノイドの作製

支援の内容

実施体制

補助事業代表者　東京大学　楠原洋之　「薬活・薬物動態・毒性評価」
- **動物試験のデザインと実施**
- **ヒト実験動物由来細胞の分化条件・ADME-T試験系の構築**

研究開発分担者：
北里大学薬学部　前田和哉　「薬物動態評価とin vitro評価系の構築」
- **動物試験の実施**
- **ヒト由来細胞のソースの拡充と分化条件・ADMET試験系の構築**
- **実験動物由来細胞の分化条件の最適化とADMET試験系の構築**

補助事業参加者：
水野忠快（東京大学大学院薬学系研究科・助教）：Chemical Leveraged modelの開発
橋本芳樹（同上・特任助教）：小腸幹細胞由来細胞を用いたADME-T試験法の開発

連携

構造展開ユニット：金光佳世子
（東京大学 大学院薬学系研究科附属創薬機構）
- **実験動物におけるin vivo PK試験のデザインと実施**
- **データ抜け会に参加**

発現機能解析ユニット：大槻純男
（熊本大学 大学院生命科学研究部）
- **高分子化合物（バイオ）の定量**

薬物動態解析支援（in vivo）

薬物動態解析支援（in vivo）の提供項目
1. 投与関連
・マウス及びラット静脈内投与（単回・反復）
・マウス及びラット経口投与（単回・反復）
・マウス及びラット腹腔投与（単回）
・マウス及びラット皮下投与（単回）
・マウス経肺投与
・マウス経鼻投与
・マウス脳室内投与(単回)
・マウス浸透圧ポンプ包埋による持続投与（脳室内投与）
・マウス浸透圧ポンプ包埋による持続投与
（24時間、1 週間、2 週間皮下投与）
2. 採血及び種々組織採取
・マウス及びラット尾静脈採血(経時的採血可)
・マウス及びラット腹大静脈採血
・マウス脊髄液（Cerebrospinal Fluid)採取
・ラット脊髄液（Cerebrospinal Fluid)採取(経時的採取可)
・尿採取(単回(膀胱),代謝ケージによる経時採取
・マウス及びラットの各種臓器(肝臓、腎臓、肺、脳)採取
3. 投与液調製のための可溶化
投与溶液中の被験物質の可溶化（特に静注時）のためのアドバイス
（シクロデキストリンを用いた可溶化技術）
新規可溶化剤ノナノス（精水化学）EMTAを締結し、利用可能とした
4. サルin vivo試験実施のためのコンサルティング
5. 薬効評価モデルとしてAAV（支援依頼者が作成）の投与環境を構築
6. 生体試料中の低分子化合物の定量
LC-MS/MSを用いた定量法の開発と分析
7. 血漿中濃度の時間推移に基づいたPKパラメータ取得

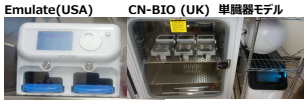
黒字：申請時の支援内容
赤字：BINDS支援依頼に対応するため新たに習得・導入した新規技術および実験環境

薬物動態・毒性評価支援（in vitro）

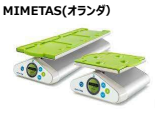
シーズ化合物のin vitro ADME-T特性評価
1．ADME特性評価
◆ **既存のin vitro評価システムの利用**
・ヒト肝細胞（遊離、通常培養、サンドイッチ培養）やヒトミクロソームなど肝薬物輸送および代謝
◆ **高度化技術を活用した支援：**
・実験動物から小腸を単離し、陰窩の回収とオルガノイドを樹立と拡大培養
・ヒト摘出腸器由来細胞を利用する際の倫理委員会申請書・説明同意文書作成支援
・小腸幹細胞からのADME試験のための分化条件探索
・薬物の細胞透過性および薬物代謝の評価
2．Tox特性評価
高度化技術を活用した支援：
・小腸幹細胞からのTox試験のための分化条件探索
（特定細胞集団の割合を高めた2D-/3D-オルガノイド構築
・オルガノイドを利用してシーズ化合物の毒性表現型を探索

生体模倣評価系による薬効・薬物動態評価支援

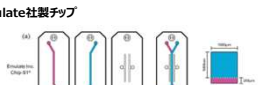
Emulate(USA)　CN-BIO (UK)　単膜器モデル



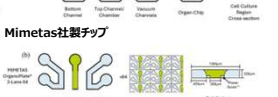
MIMETAS(オランダ)



Emulate社製チップ



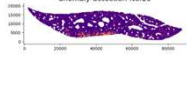
Mimetas社製チップ

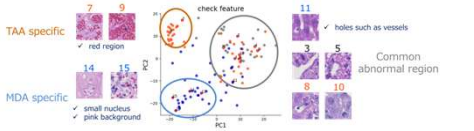


毒性/安全性評価支援（in vivo）

1．毒性病理画像の数値化

2．異常検知





in vivo体内動態試験において中核的な役割を果たしている人材

鈴木則男 学術専門職員（2024．5 ～）
（東京大学）



- 製薬企業において40年以上にわたり創薬研究における非臨床動物試験に従事し、薬効・安全性評価に関する豊富な経験と高度な動物実験技術を有する。
- 大学院生・技術補佐員への動物試験の指導も実施

久礼康之 技術補佐員（2023.11～）
（北里大学）



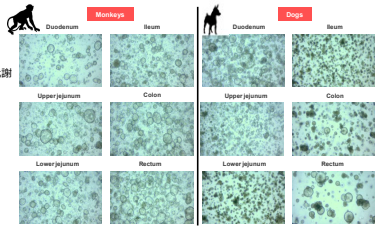
- 実験動物生産会社にて動物の飼育・繁殖および複数の製薬企業にて、薬効評価に係る動物実験技術を有し、実験動物1級技術者資格を保有
- BINDSを通じて、LC-MS/MSによる薬物定量や小腸オルガノイド培養維持技術も獲得し、各種支援にも参画している。

動物試験を円滑に実施するため環境を整備



使用機器：
吸入麻酔器（酸素供給装置付き）
脳位固定装置
実体顕微鏡
遠心機
サンプル保管庫
LC-MS/MS（SCIEX QTRAP 5500）

実験動物の腸管の各領域からオルガノイドを樹立



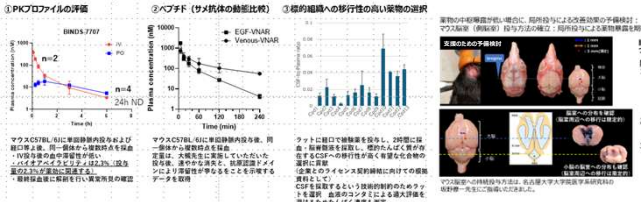
支援の成果

薬物動態解析支援（in vivo）の物実験数

年度	動物種	支援数（動物試験のみ;試験群数をカウント）						
		経口投与	静脈内投与	腹腔内投与	皮下投与	その他	合計	技術支援
2022	マウス/ラット	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
2023	マウス/ラット	7/2	6/2	9/0	0/0	0/0	22/4	経気道投与のデモンストレーション
2024	マウス/ラット	11/0	9/0	24/7	2/0	10/0	56/7	
2025	マウス/ラット	16/13	19/-	11/-	8/-	-/-	54/13	静脈内投与時の投与液調整 脳局所投与方法（脳室内投与法）の導入 浸透圧ポンプの導入
2026【10月末】	マウス/ラット	20/-	17/4	10/-	12/-	3/-	62/4	遺伝子組み換え動物の確保 AAV投与のための環境整備

被験化合物：低分子化合物、抗体（サル抗体）、融合たんぱく質、ペプチド（直鎖・環状）
系統：マウス　ICR, FVB, C57BL/6J, Balb/c ; ラット Sprague-Dawley
性別：雌雄、2～4匹/投与経路

①PKプロファイルの評価　②ペプチド（サメ抗体の動態比較）　③標的組織への移行性の高い薬物の選択



マウスC57BL/6Jに単回静脈内投与および経口投与後、同一個体から複数時点を採血
・IVは与薬の血中濃度推移用に
・バイオアベイラビリティ（以下、F）は2.3%（投与量の2.3%が薬剤に到達する）
・最終採血後に解剖を行い異常所見の確認

マウスC57BL/6Jに単回静脈内投与後、同一個体から複数時点を採血。
薬物動態を採取し、標的たんぱく質が存在するCSFへの移行性が高く有望な化合物の選択に貢献
（企業とのクイセンス契約締結に向けての提案資料として）
CSFを採取するという技術的難易のあるラットを選択。血液のコンタミによる過大評価を避けるためたんぱく濃度も測定

ラットに経口で被験薬を投与し、29匹に採血・解剖個体を採取し、標的たんぱく質が存在するCSFへの移行性が高く有望な化合物の選択に貢献
（企業とのクイセンス契約締結に向けての提案資料として）
CSFを採取するという技術的難易のあるラットを選択。血液のコンタミによる過大評価を避けるためたんぱく濃度も測定

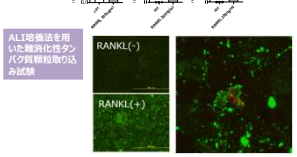
開発化合物の開所投与では、皮下(POM)を判定しづらいと考え、使用する動物モデルと実験法の提案

開発化合物のPOC試験を支援するための実施項目
1. 他のサンプルが移行性を改善するための適切な組み換え動物（P-gpKOマウス）の導入とその検証試験の実施
2. 浸透圧ポンプの皮下に包埋し、長時間薬剤の補給（24時間での検証を当プ）→1週間、2週間の長期間持続投与
3. 薬効評価モデルとしてAAV投与環境を構築（利用申請手続きを含む）
投与後2週間で脳を採取し、たんぱく質発現を確認

マウス脳室への移行性を確認。
当社が一元ヒに指導いたします。

薬物動態・毒性評価支援（in vitro）

農研機構　古澤先生「膜管上皮細胞による難消化性タンパク質粒取込みのin vitro検出系の確立」
スギ花粉米：イネ種子胚乳中に存在する難消化性タンパク質顆粒（プロテインボディ-ライフ：PB-1）に改変スギ花粉アレルゲンを蓄積
独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）にPOC（Proof of Concept）取得まで必要な試験等として、指摘
「手術残余検体を利用するために倫理委員会の承認を取得」



薬物動態解析支援:PBPKモデルおよびパラメータ最適化

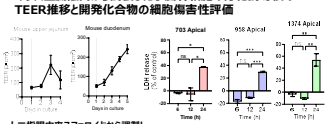
エーザイ［薬物動態学的薬物相互作用の内因性バイオマーカーの動態解析支援］
サルにおける肝有機アニオントランスポーター阻害薬を投与後、内因性バイオマーカー（coproporphyrin 1およびその前駆物質）の血漿中濃度の変動ならびに阻害剤の血中濃度の時間推移データに基づき、薬物相互作用に関連するパラメータをCGNMを用いて推定し、両物質の動態変動をリーズナブルに説明するパラメータを取得
→ ヒトへの外挿性を検証するため、共同研究による臨床試験の実施
（1件開始、1件契約書の作成中）

日清食品［腸肝連結MPSから得られたin vitro実験結果の速度論パラメータ解析支援］
名古屋市立大学　松永教授が作製した小腸・肝臓細胞の連結MPSデバイスに各種化合物をアプライして、一定速度で還流した際の経時的な親化合物および代謝物の濃度推移のデータから、CGNMを用いた代謝および膜透過の速度論パラメータ探索を支援
→ ヒtin vivoにおける薬物動態特性への外挿性を検討中

	前臨床実験動物種				
小腸領域	マウス・ラット	イヌ	サル	ミニブタ	ヒト
十二指腸					
空腸	**東京理科大学・青木先生** 安全性試験［消化器毒性ワクチン候補、Covid19治療薬開発］ **東京大学定量研・宮島先生、木田先生** 安全性試験［消化器毒性ワクチン候補、肝臓標的化治療薬の開発］ **東京大学・大和田先生** 薬物動態研究[プロドラッグ化の有効性評価] **エーザイ・野崎** 薬物の消化管吸収のIVIVC	**住友ファーマ・臼井** 安全性試験［毒性の種差と新薬の悪心・嘔吐リスク予測の予測］ **→創薬基盤推進研究事業（R8年度）** **住友ファーマ・臼井** 安全性試験［エビジェネティクス医薬品の安全性予測］	**薬物動態研究 武田薬品工業・山本** 薬物動態研究［小腸における薬物代謝の種差・新薬のPK特性予測］	スフロイド樹立（研究成果の点有）	**ベーリンガーインゲルハイム・石黒** 薬物動態研究［医薬品の小腸代謝，新薬のヒト特異的代謝物探索モデル］ **農研機構・古澤先生** 薬物動態研究［M細胞への外挿条件の樹立および経口ワクチンの細胞透過性評価］
回腸					**ベーリンガーインゲルハイム・石黒** 薬物動態研究［医薬品の小腸代謝，新薬のヒト特異的代謝物探索モデル］

実験動物の腸管の各領域からオルガノイドを樹立

マウス空腸陰窩から調製した小腸幹細胞の分化誘導後のTEER推移と開発化合物の細胞傷害性評価



十二指腸由来スフェロイドから調製した分化細胞は安定したTEER推移を示す

十二指腸由来スフェロイド由来分化細胞を用いた細胞傷害性の評価

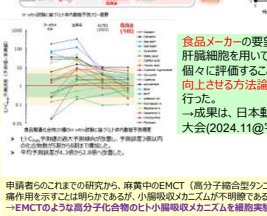
①ヒト小腸由来細胞を用いたDPP-4阻害薬の消化管吸収におけるDPP-4分子種の関与の検討（横浜薬科大学　吉門先生）
申請者らの既報(Nakamura et al. Clin Transl Sci, 2024)で、糖尿病型のDPP-4がDPP-4阻害薬linagliptinの腎両吸収に関与することが数理モデル解析から明らかになった。
→小腸も膜貫通型DPP-4の発現量が多い、吸収過程の投与量依存性も観察。
→**膜貫通型DPP-4を介した新たなDPP-4阻害薬の消化管吸収機構の存在を示唆**

②ヒト小腸由来細胞を用いた抗がん剤による消化管での代謝酵素の転写誘導の定量的解析（金沢大学　加藤先生）
マルチキナーゼ阻害薬TSU-68は、CYP1Aにより代謝されるとともに、CYP1Aを自己誘導することから、繰り返し投与時に血中濃度が低下する現象が知られている。
→小腸におけるCYP1Aの転写誘導の程度を定量的に検証

③ヒト小腸由来細胞を用いた生薬・麻黄の新規活性成分EMCTの腸管吸収の解析（北里大学東洋医学総合研究所　日向先生）

ヒト薬結肝細胞およびhiSIECsを用いた天然物の体内動態予測系の検証





食品メーカーの要望に従い、ヒト由来小腸および肝臓細胞を用いて天然物の吸収・代謝・排泄を個々に評価することで、体内動態の予測精度を向上させる方法論の開発にアドバイス・協力を行った。
→成果は、日本動物実験代替法学会第37回大会(2024.11@千都窓)にて発表

申請者らのこれまでの研究から、麻黄中のEMCT（高分子縮合型タンニン）がマウスモデルにおいて経口投与で鎮痛作用を示すことは明らかであるが、小腸吸収メカニズムが不明瞭である。
→EMCTのような高分子化合物のヒト小腸吸収メカニズムを細胞実験系で明らかにする。