高度化研究1. 脳機能安全性評価基盤構築（大阪大学・中川晋作）

研究背景・目的

脳機能においては、明らかな器質的あるいは神経病理的な変化を伴わない場合においても、脳の複雑な神経回路機構の変調により、身体的あるいは精神的異常を呈する場合が少なくない。本研究では、薬物の安全性を脳機能に対しても評価することを目的とし、マウスを用いて運動協調機能、認知機能、注意／感覚情報処理機能に関する脳機能評価系とともに、一般行動や不安様行動、鬱様行動等の「行動」を評価できる行動薬理学的試験系を確立し、脳機能に対する安全性評価としての基盤を構築する。

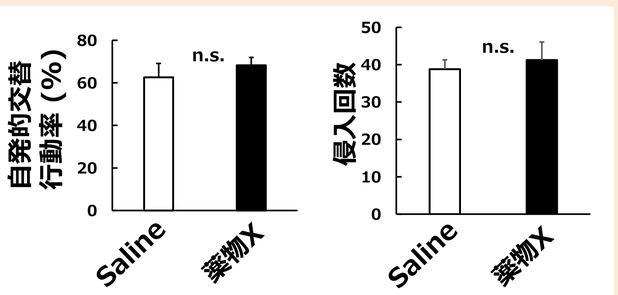


成果

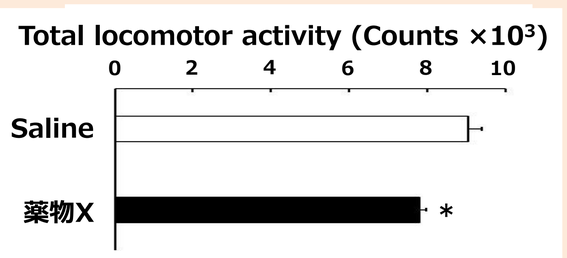


BALB/c、♀
6週齢

Day 1：薬物Xを Day 1～21まで 皮下投与(300 μg/day)
Day 20：Y-maze試験
Day 21：オープンフィールド試験
Day 22：採血 臓器摘出



Y-maze試験

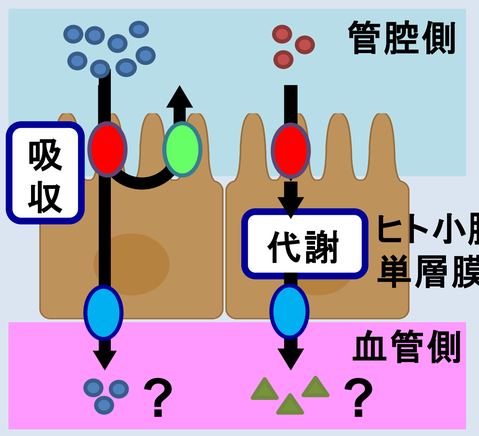


オープンフィールド試験

脳機能に対する安全性評価基盤として各種行動薬理学的試験系を確立した。支援依頼者の薬物Xは、Y-maze試験に影響を与えなかった一方、オープンフィールド試験では、総移動活動量を有意に低下させた。薬物Xは、脳機能に対する安全性として自発的運動量或いは探索行動を低下させる作用がある可能性が示唆された。

高度化研究2. In vitro 腸管薬物動態試験系開発（大阪大学・水口裕之）

研究背景・目的

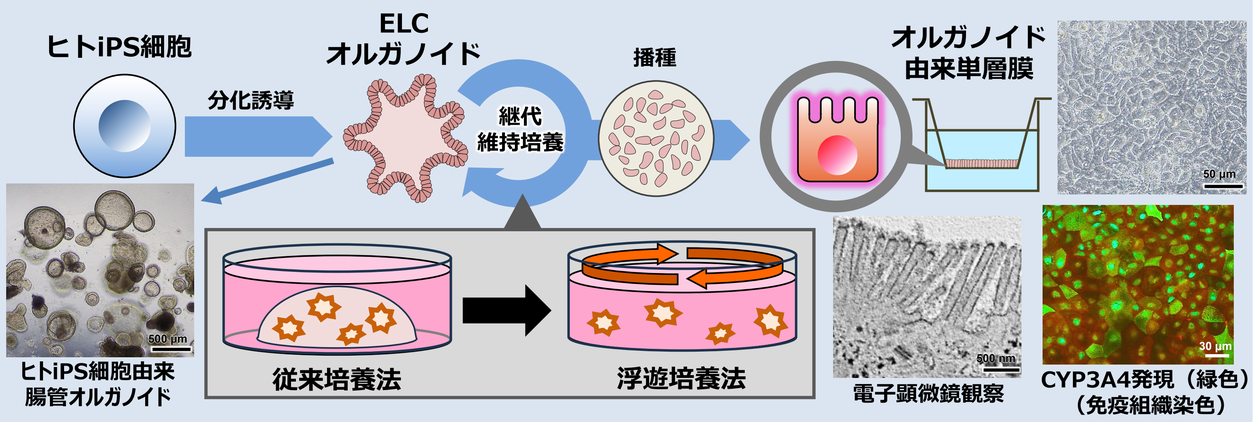


- 経口投与される薬の大部分は「小腸」にて吸収・代謝・排泄される。
- しかしながら、「小腸」における吸収・代謝・排泄を正確に予測できるモデルはない。
- 小動物由来小腸組織を用いた方法や、Caco-2細胞を用いた系が汎用されているが、種差や薬物代謝酵素活性の欠落等の問題がある。
- ヒトiPS細胞から分化誘導した腸管上皮細胞の利用が期待されているが、安定的な細胞製造や機能面で改善すべき点がある。

これら課題を解決するin vitro腸管薬物動態試験系を開発する。

成果

- ヒトiPS細胞から高機能かつ維持培養可能な腸管オルガノイドを開発した
- オルガノイドを単層化することでヒト小腸に近い機能を有する培養系を構築できた
- 低コストで高効率にオルガノイドを増殖できる浮遊培養系を確立した



分化誘導技術とオルガノイド培養技術を着見合わせることでヒトiPS細胞を由来とする高機能な腸管上皮細胞の培養系の開発に成功した。さらに、簡便かつ低コストで高効率に細胞を増殖できる浮遊培養系を確立することで、汎用性を大きく高めた。

開示すべきCOI： J-TEC社と特許実施契約

高度化研究3. がん術後臨床検体を用いたがんオルガノイド培養系構築（大阪大学・上田裕子）

研究背景・目的

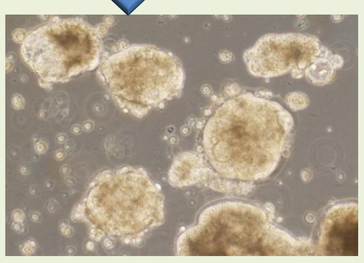
がん術後臨床検体を用いたがんオルガノイド培養系構築

3次元培養評価系は、2次元培養評価系よりも、よりヒトのがん組織に近い*in vitro*評価モデル系である。特にスフェロイド、オルガノイドの3次元培養系は、元のがん組織のがん細胞の多様性や階層性を保持した臨床評価への高い外挿性ある培養系と考えられている。そこでがん生体模倣評価系として大腸がん、胃がん、卵巣がん、膵がん等のがんスフェロイド、オルガノイドを臨床医との連携により作製し、生命科学・創薬研究への応用を展開することを目的とする。

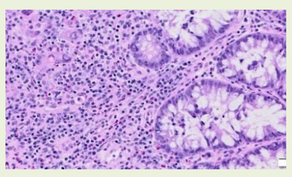
大腸癌ステージIIA 症例



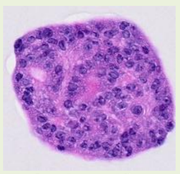
オルガノイド培養



大阪医科薬科大学、鹿児島大学医学部附属病院等と連携し、脳腫瘍、肺がん、大腸がん、腎がん、腎がん、卵巣がん等の癌部と非癌部組織を使用

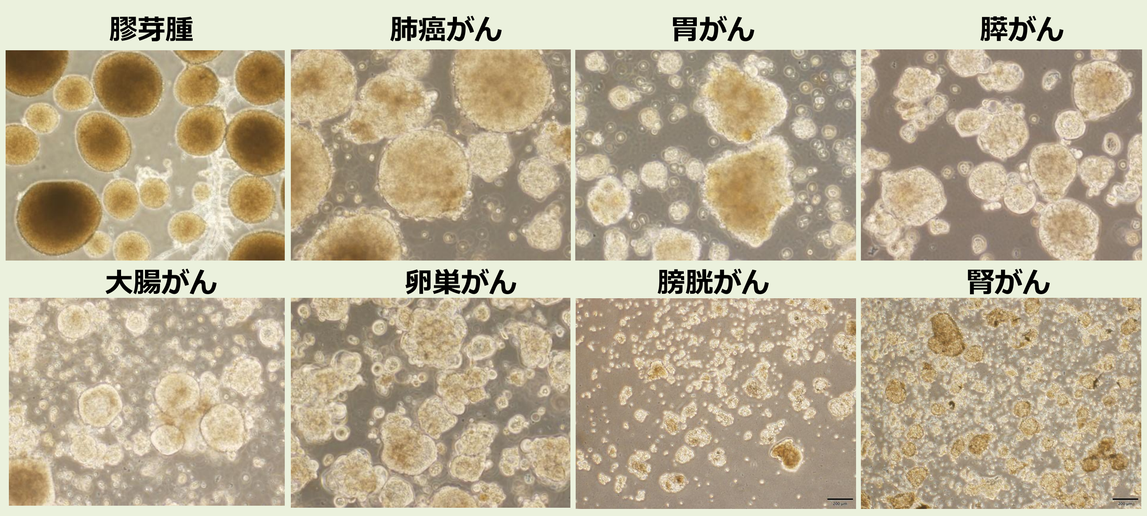


大腸癌組織



大腸癌オルガノイド

成果

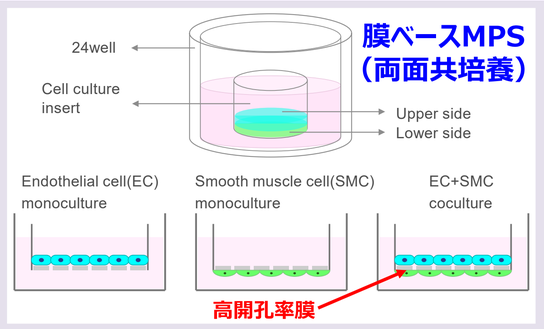


1000症例以上の術後がん組織（13種）から3次元培養系の構築を行い、生命科学研究や創薬研究に活用できる基盤が構築できた。

高度化研究4. organ-on-a-chip構築（大阪大学・柿沼千早、和歌山県立医科大学・美馬伸治）

研究背景・目的

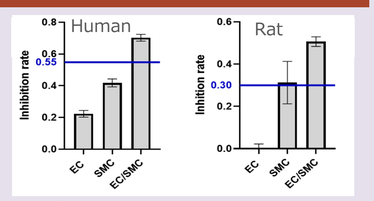
血液脳関門（BBB）は脳微小血管内皮細胞・ペリサイト・アストロサイトの相互作用により形成され、中枢神経系疾患および脳腫瘍に対する創薬の最大の障壁である。本研究では、ヒト細胞と organ-on-a-chip（OOC）技術を用いてBBBモデルを構築し、薬物の脳移行性評価基盤の確立を目指した。OOCとしては、膜を介した細胞間相互作用を可能とする膜ベースMPS（高開孔率膜）を並行して検討した。



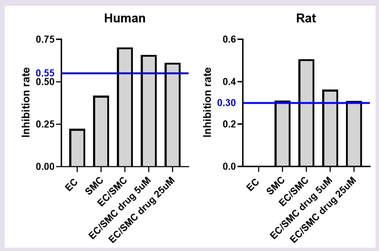
【使用細胞 ／ 透過性トレーサー】
M1：ヒト・ラットの EC＋SMC ／ FITC-デキストラン 70 kDa
M2：ヒトBBB 3細胞・初代培養 ／ Lucifer Yellow
M3：ヒトBBB 3細胞・iPS細胞由来 ／ Lucifer Yellow、ローダミン123

成果

M1 末梢血管モデル（EC＋SMC）



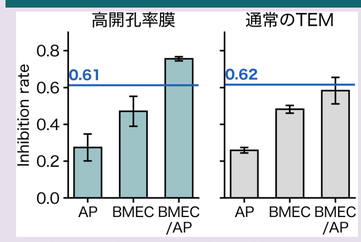
青線：ブリス予測値（独立作用時の期待阻害率）
高開孔率膜で相乗的効果が発現



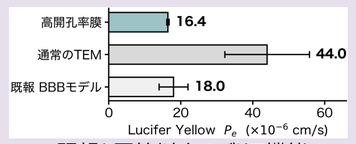
フェノルドパム：ラットで顕著にバリア機能が低下

高開孔率膜を介した細胞間相互作用により、従来評価系では再現できなかったDIVIの種差を再現した。

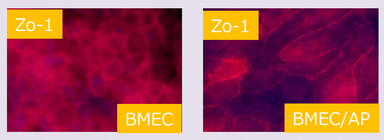
M2 BBBモデル（ヒト初代培養）



高開孔率膜でのみ相乗効果が発現

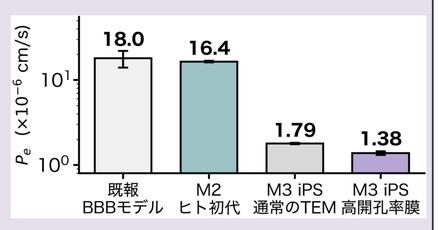


既報と同等以上のバリア機能

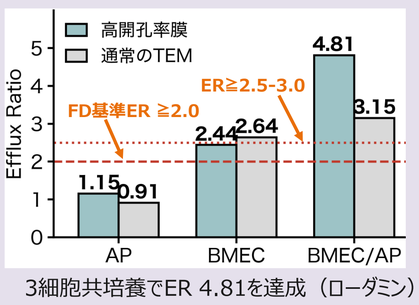


BBB担当細胞おいても膜を介した相乗効果を発現した。既報と同等以上のバリア機能を示す評価系を確立した。BMEC/AP共培養によって紡錘形となった。

M3 BBBモデル（iPS細胞由来）



iPS由来ではPeが約1/12に低下（LY）



3細胞共培養でER 4.81を達成（ローダミン）

iPS細胞由来の系では既報を上回るバリア機能とP-gp排出活性を達成。

膜ベースMPSの高度化（高開孔率膜）により、流路を持たない静置培養系においてもTGF-β/ALK5経路を介した内皮細胞の成熟を誘導し、細胞間相互作用に基づく生体模倣を実現した。脳腫瘍・中枢神経系疾患を対象とした薬効・薬物動態評価基盤への展開が期待される。

今後の発展

大阪大学大学院薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点は、アカデミア創薬研究を支援する組織として、BINDSと連携して基礎研究の推進とその研究成果を創薬研究などの実用化研究に繋げることを目的とした公的研究支援を行っている。本拠点では最新の研究設備や機器を整備しており、これまでも、またこれからもアカデミアや製薬企業などで創薬研究・開発に多様な実績を持つ研究者が、創薬標的分子の探索・評価、評価系の構築と特徴的低分子化合物ライブラリーを用いたスクリーニング、誘導体合成展開から薬物動態・安全性評価により日本のアカデミア創薬研究をシームレスかつ強力に支援していく。

生命科学・創薬研究支援基盤事業（BINDS）	
連携・融合ユニット（課題代表者：辻川和丈） ヒット化合物創出ユニット（辻川和丈）・モダリティ探索ユニット（春田純一）	薬効・安全性評価ユニット（課題代表者：中川晋作）

大阪大学薬学研究科　創薬サイエンス研究支援拠点			
化合物ライブラリー・スクリーニングセンター		創薬センター	
創薬標的探索ユニット	ケミカルライブラリーユニット	構造展開ユニット	薬物動態・安全性試験ユニット

標的分子探索、創薬研究機器整備・共用 → 化合物ライブラリー提供・スクリーニング → 構造展開によるヒットからリードの創出 → In vivo薬物動態試験 In vivo安全性試験