

組織線維化の筋線維芽細胞を 正常化する医薬品開発

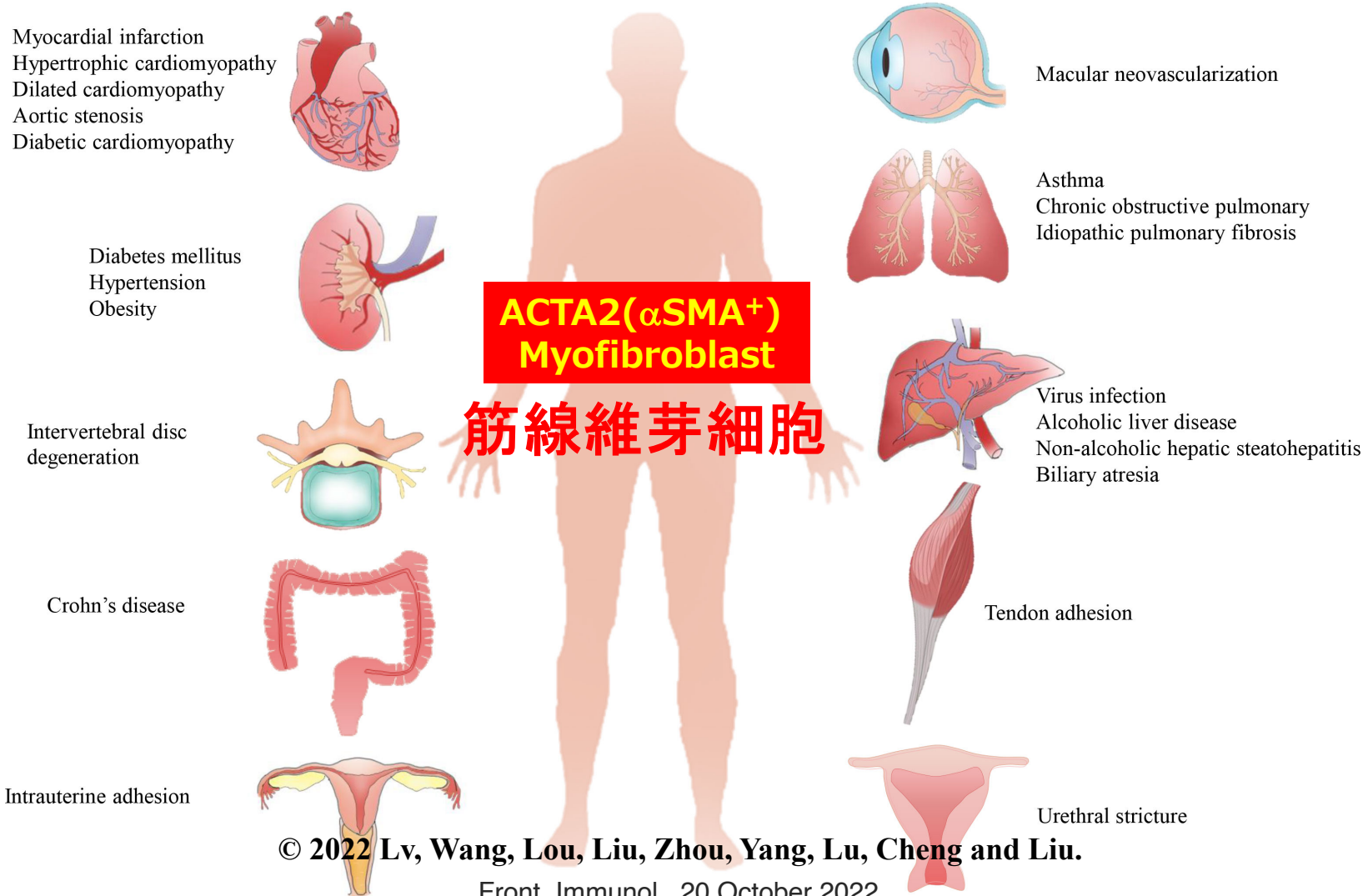
木戸 丈友（東京大学 定量生命科学研究所）

宮島 篤（東京大学 定量生命科学研究所）

大栗 博毅（東京大学 理学系研究科）

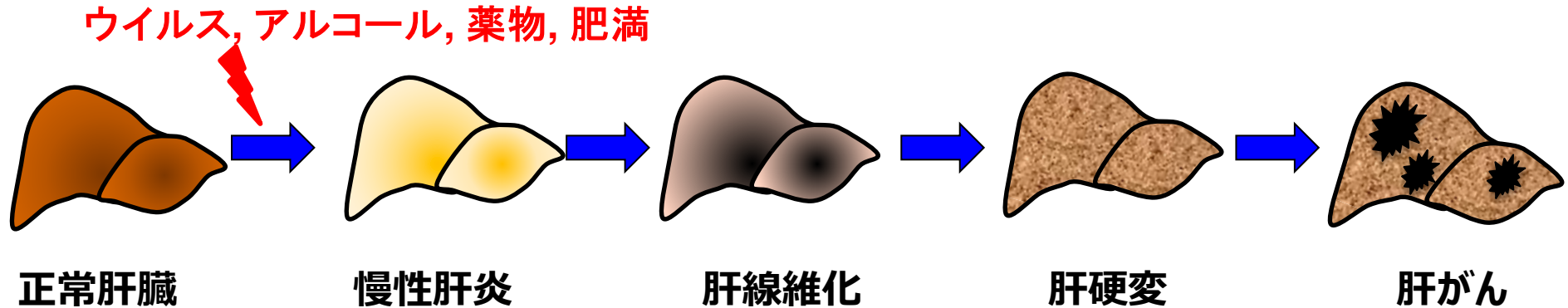
線維化の主体は臓器が異なっても α SMA陽性の筋線維芽細胞

- ✓ 臓器線維症：コラーゲンなどの細胞外マトリクスが過剰に蓄積し臓器の機能不全を引き起こす疾患。
- ✓ 肝臓、肺、腎臓、心臓、消化管などの線維症では、患者の予後が不良で治療薬の開発が急務である。

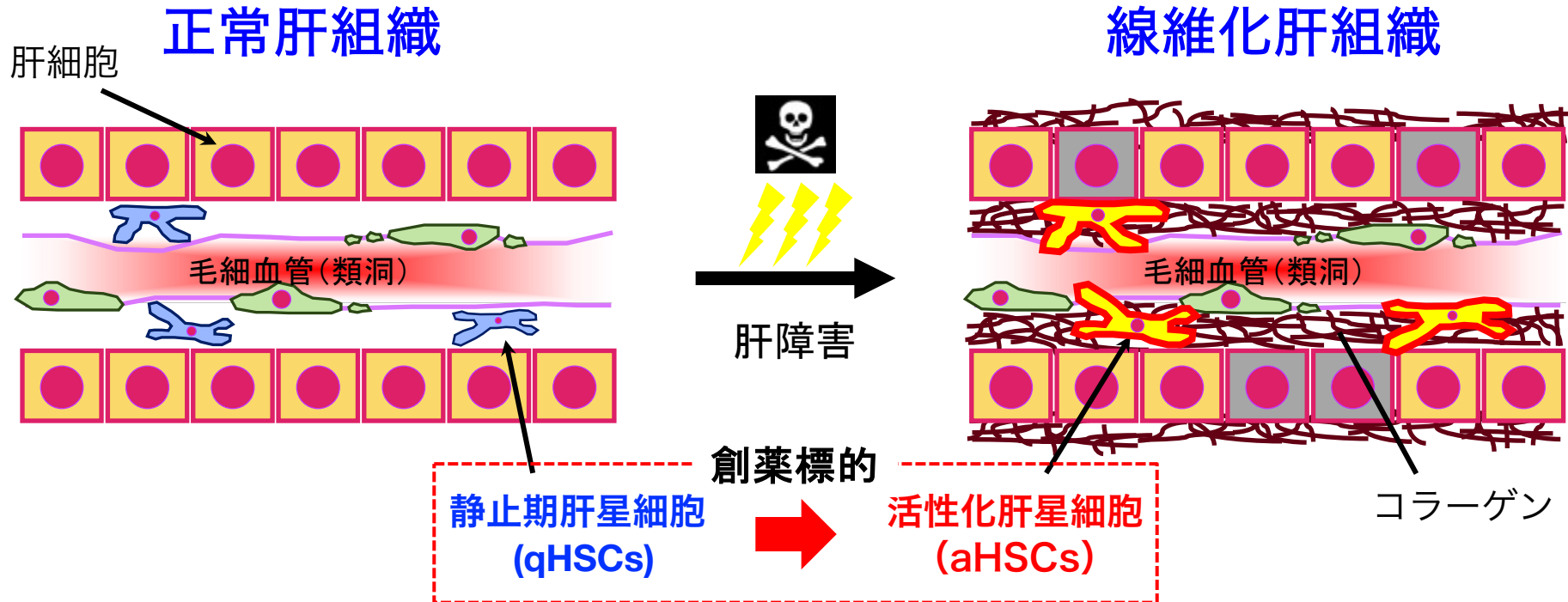


筋線維芽細胞を標的とした薬剤開発

肝臓における α SMA陽性の筋線維芽細胞は 活性化肝星細胞

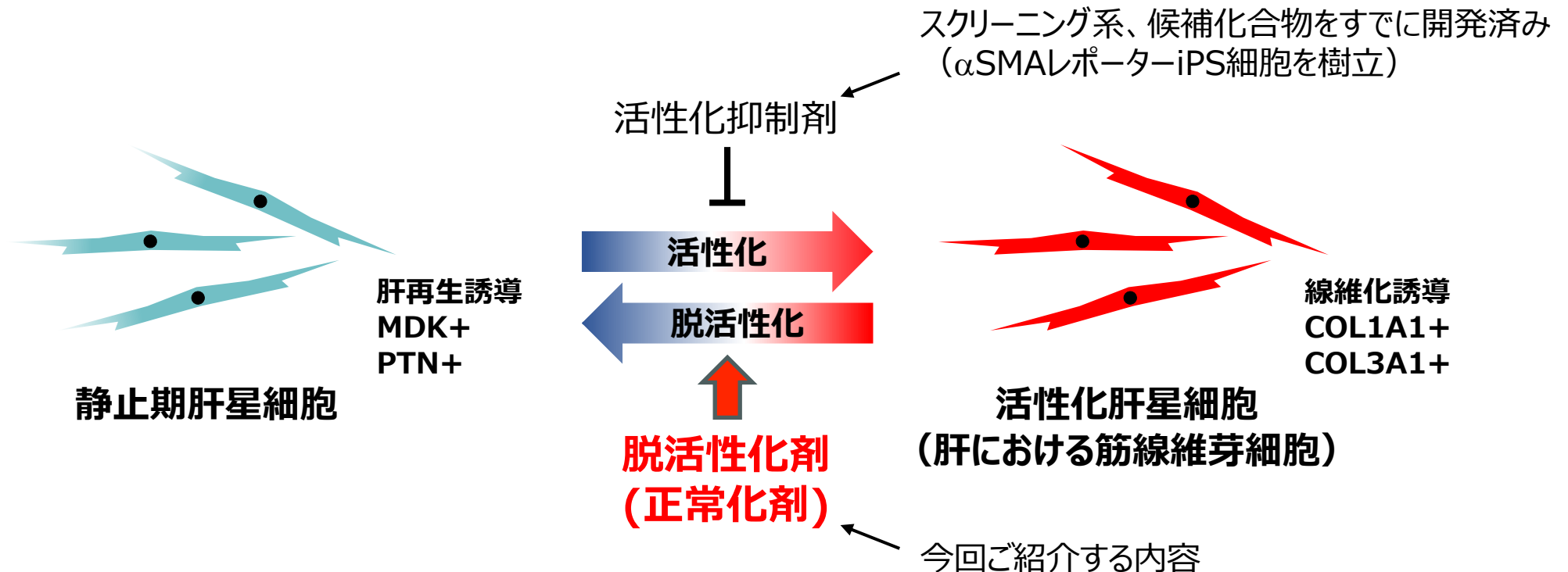


肝臓での線維化過程では、肝星細胞が主要な役割を果たす



脱活性化剤は線維化と肝機能を同時に改善

・**脱活性化肝星細胞**：線維の産生を止め、PleiotrophinやMidkine等の肝細胞の環境因子を発現し、線維化改善のみならず肝機能の正常化にも寄与する。



従来技術とその問題点

- ・創薬研究に利用可能な線維化のドライバーである静止期肝星細胞、活性化肝星細胞を大量かつオンデマンドで調製できないため線維症治療薬の開発は遅れている。

- ・静止期肝星細胞の活性化過程、活性化肝星細胞の脱活性化過程を定量的に評価できない。



- ・肝線維症の治療薬の開発は遅れており、肺線維症の治療薬としてピルフェニドン、ニンテダニブの2剤があるのみである。

新技術の特徴・従来技術との比較

- ヒトiPS細胞から静止期肝星細胞と活性化肝星細胞を大量かつオンデマンドで調達可能にした（世界的に見ても我々独自の技術）。



肝星細胞を利用した創薬スクリーニング系は世の中に存在しないため、本研究では従来の系では見つからない治療薬シードの探索が可能である。

- 既に、ヒトiPS細胞由来の肝星細胞を用いた線維症治療薬のスクリーニング系を樹立。
- 既に、約4,000種の化合物ライブラリーから脱活性化作用を有する複数の化合物を同定。

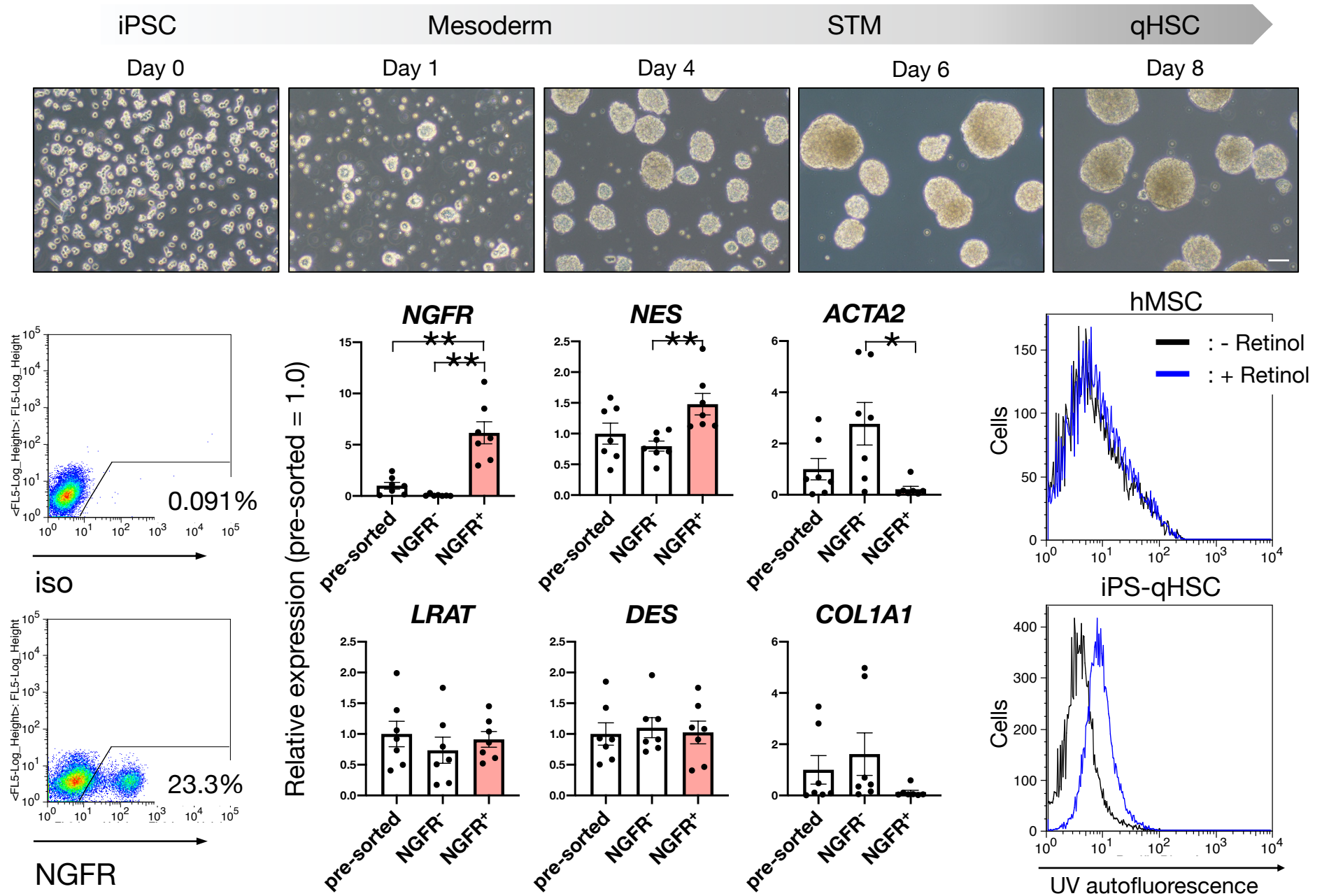


競合に対して技術的に優位であり、治療薬シードを迅速に開発可能

われわれのアプローチ

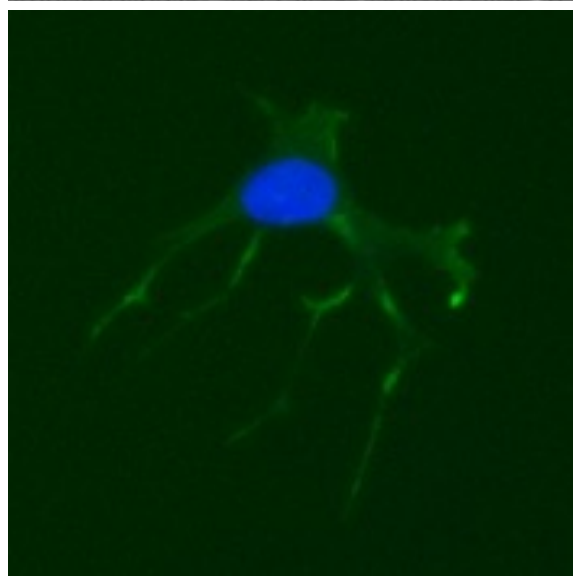
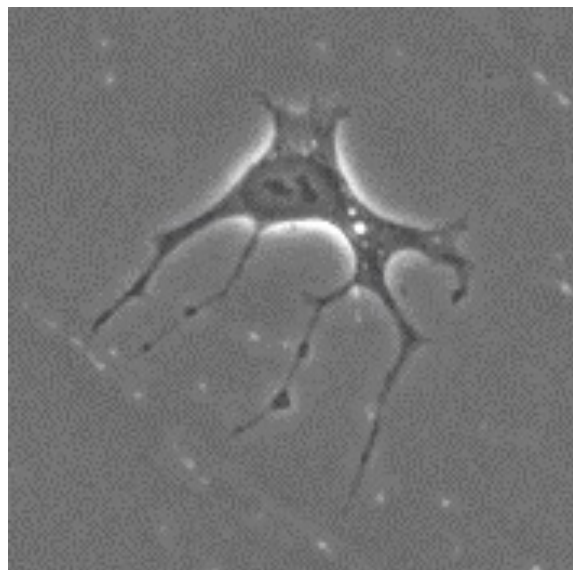
1. ヒトiPS細胞から活性化能を有した静止期肝星細胞分化誘導系の樹立
2. 活性化肝星細胞に対する脱活性化剤スクリーニング系の開発
3. 化合物ライブラリーから脱活性化剤候補化合物群を同定

ヒトiPS細胞由来から静止期肝星細胞の分化誘導

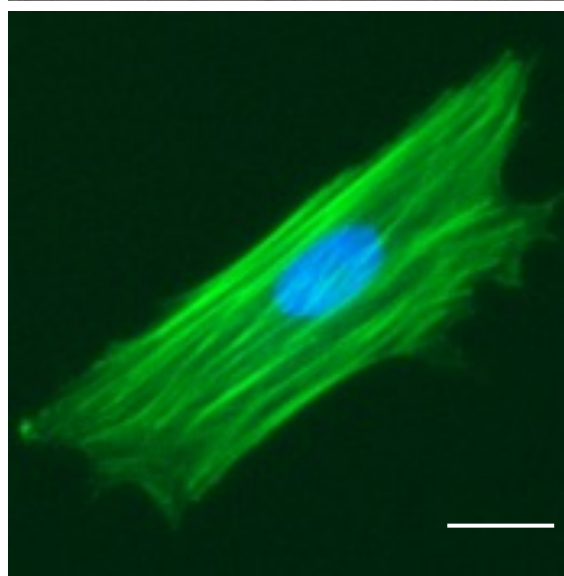
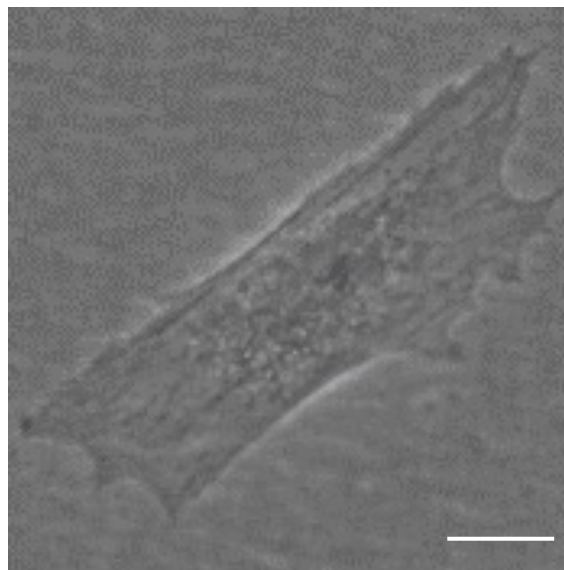


ヒトiPS細胞由来の静止期肝星細胞と活性化肝星細胞

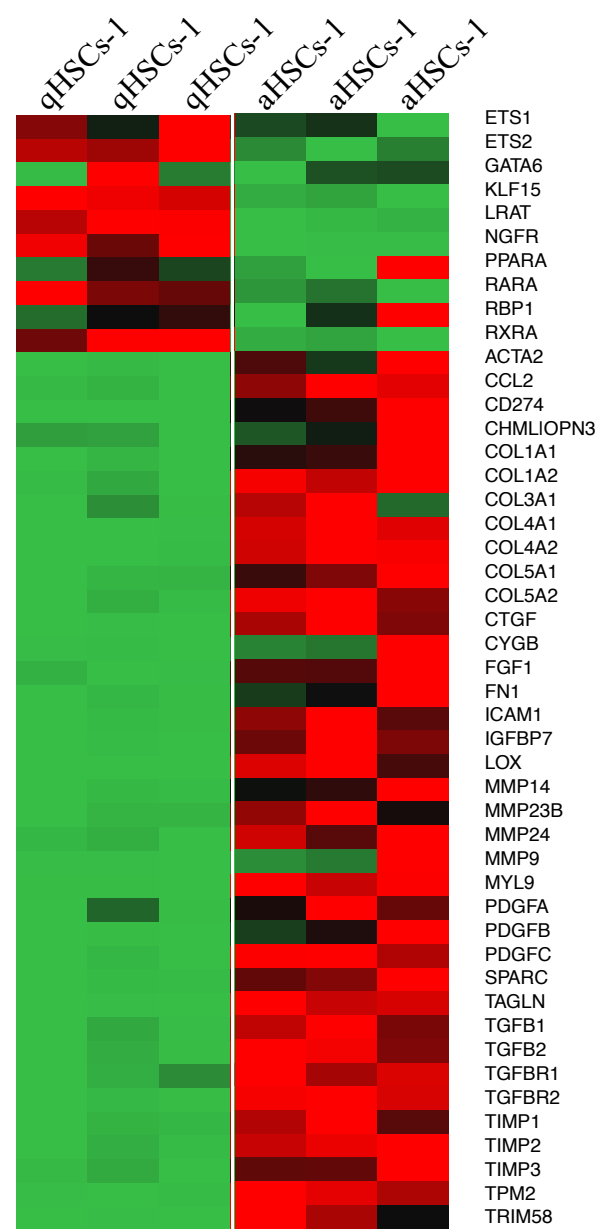
iPSC-静止期肝星細胞
(正常な細胞)



iPSC-活性化肝星細胞
(線維化を促進)



静止期肝星細胞 活性化肝星細胞



静止期肝星細胞マーカー

活性化肝星細胞マーカー

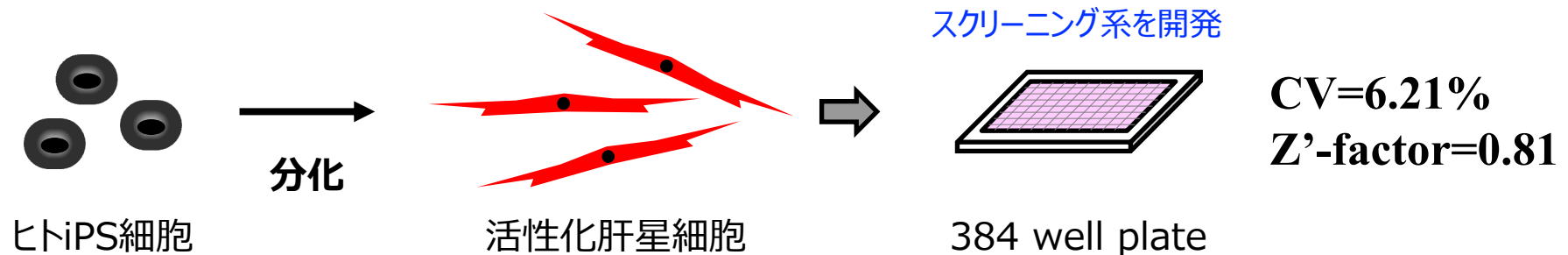
Bright field

Phalloidin / DAPI

ヒトiPS細胞技術を基盤として 脱活性化剤スクリーニング系を開発

脱活性化の定量にActin scoreを開発

- **SiR Actin** ; silicon-rhodamine (SiR)-Actin : 生細胞におけるF-actinの可視化
- **Actin score** ; $\text{SiR-Actin intensity} / \text{SiR-Actin (+) area}$: 単位面積あたりのF-actinの発現量



Stem Cell Reports. 2021.

出願番号 : 特願2019-025802

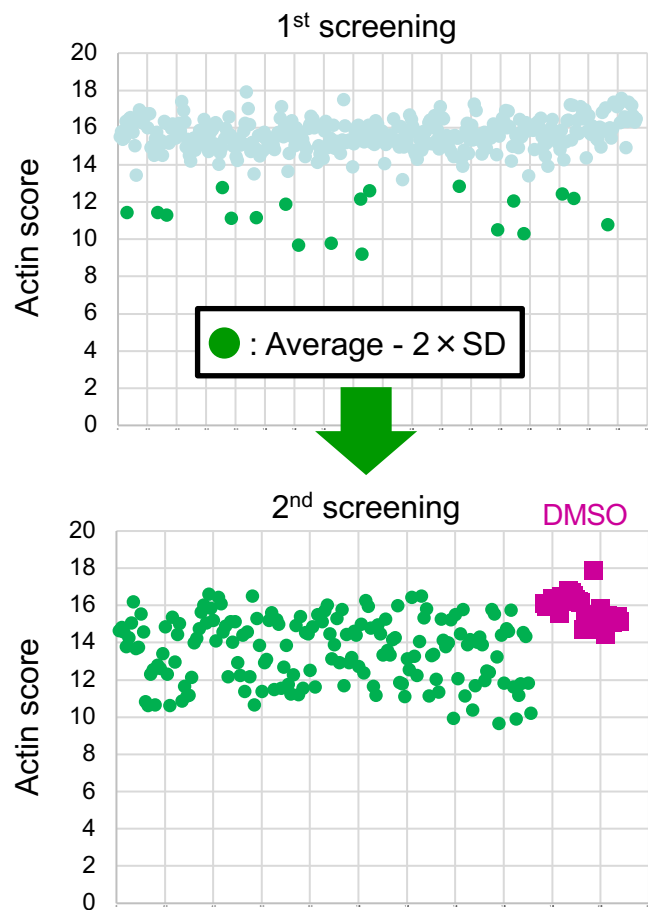
bioRxiv. 2023.

出願番号 : PCT/JP2022/020895

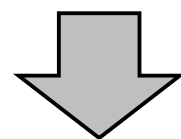
出願番号 : PCT/JP2022/020894

- ・再生医療実現化研究事業 (R3~R5)、ヒトiPS細胞由来静止期肝星細胞を用いた肝疾患治療薬の開発 (JP21bk0104136)
- ・幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム (H28~H30)、ヒトiPS細胞由来肝構成細胞による肝線維化モデルの樹立と応用 (JP18bm0404021)

約4,000種の化合物ライブラリーから 脱活性化誘導剤候補化合物群25種を同定

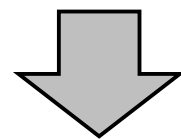


3,909 compounds



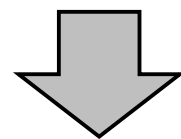
1st screening
(SiR-Actin,
Compounds: 2 μM)

171 compounds



2nd screening
(SiR-Actin,
Compounds: 2 μM, 400 nM)

25 compounds

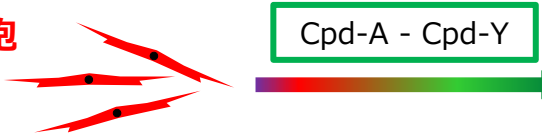


3rd screening
(qPCR)

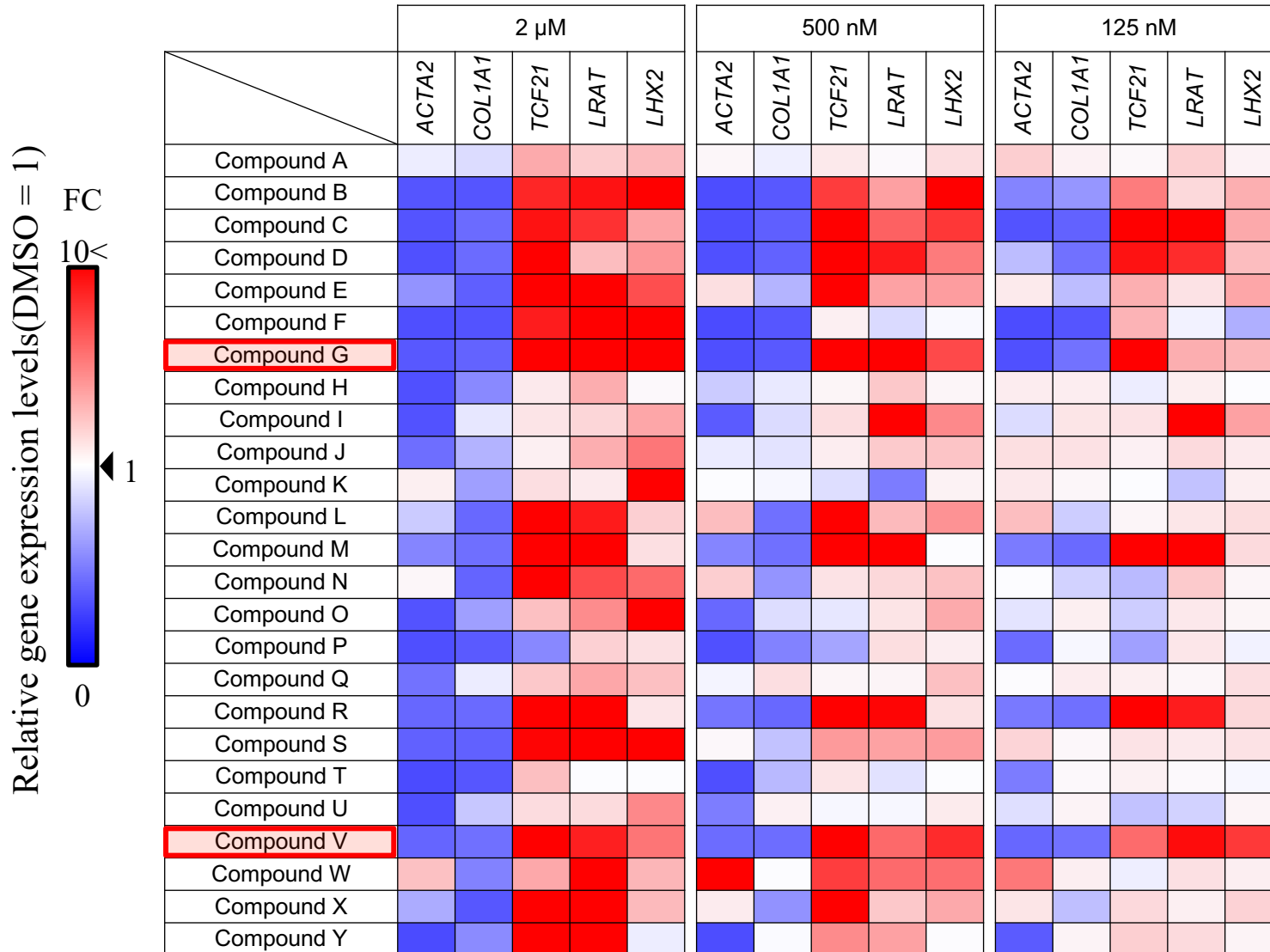
Deactivation agents

同定した25種の脱活性化剤候補化合物群 (Compound A - Compound Y)

活性化肝星細胞



遺伝子発現解析

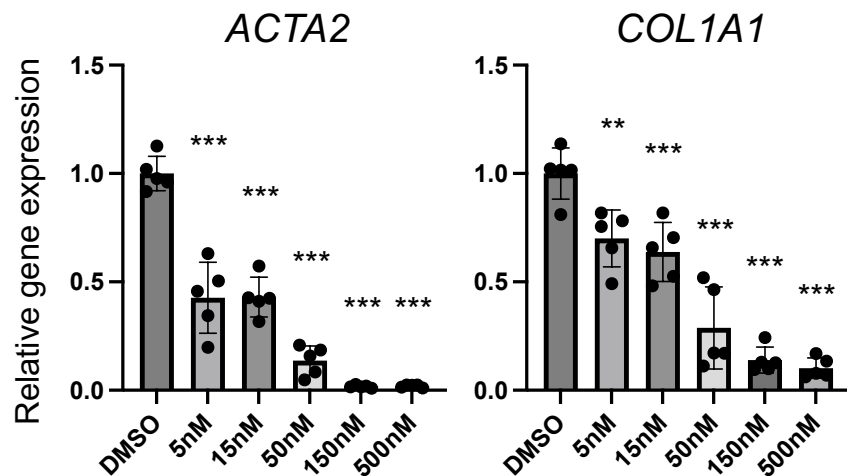


Cpd-Vは抗線維化作用と脱活性化作用を有する

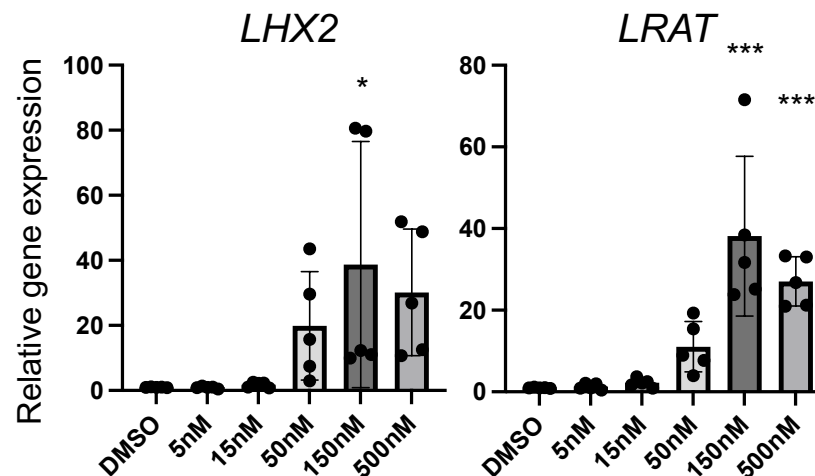
Compound V: GZD824 (Olverembatinib): Bcr-Abl inhibitor

BioRxiv 2023

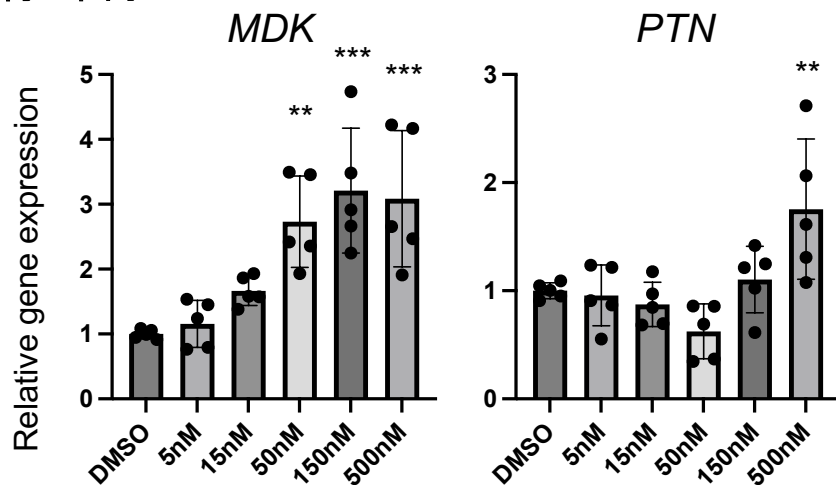
・線維化マーカー



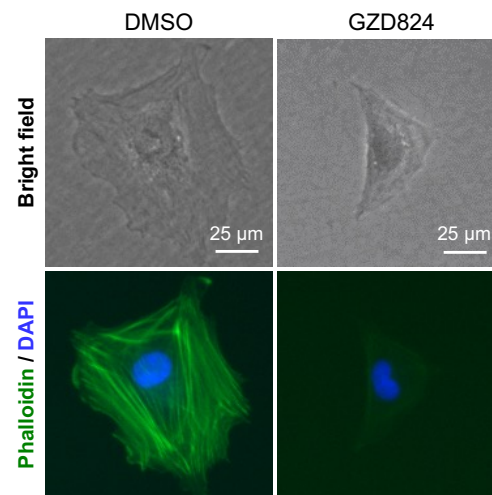
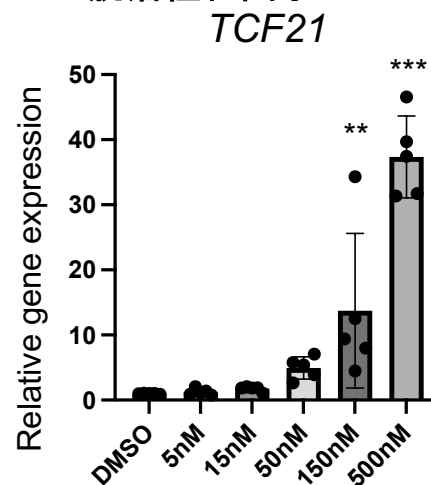
・静止期マーカー



・肝再生因子



・脱活性化因子



*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

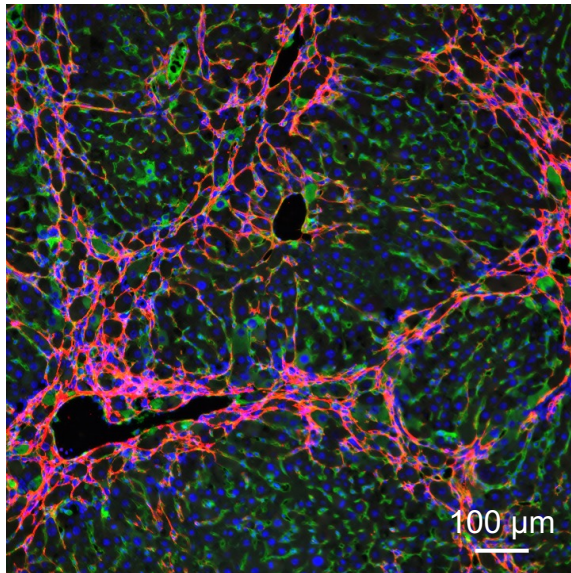
Cpd-Vは線維化マーカー (ACTA2, COL1A1) を抑制し、脱活性化因子 (TCF21)、静止期肝星細胞マーカー (LHX2, LRAT)、肝再生因子 (MDK, PTN) を誘導する。また、細胞形態、F-actinの集積を静止期様へ戻す。

Cpd-V (GZD824) は線維化と肝機能を改善する

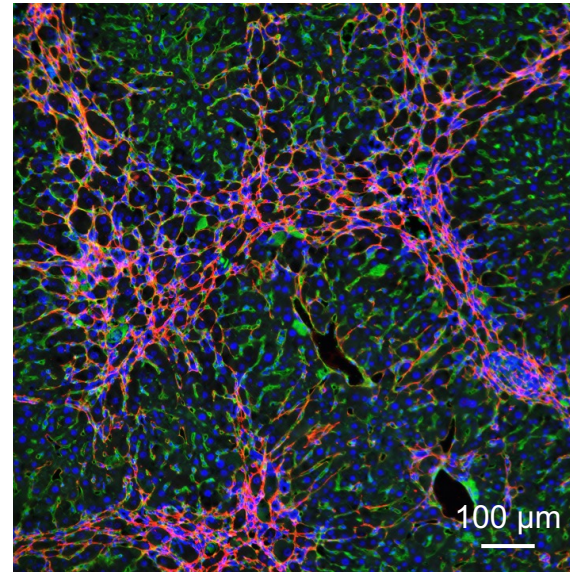


Desmin / Collagen I / DAPI

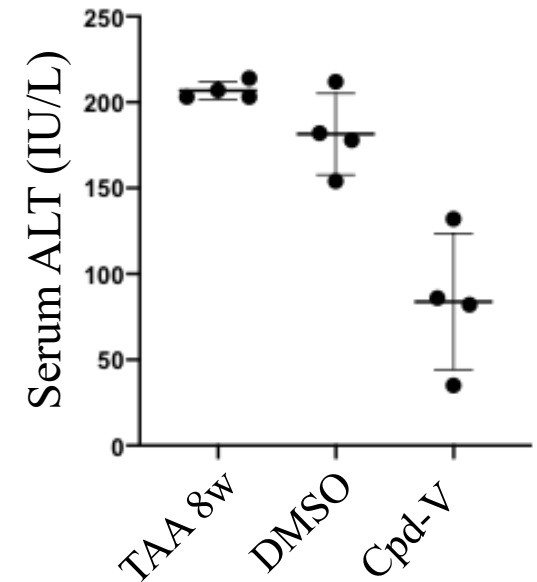
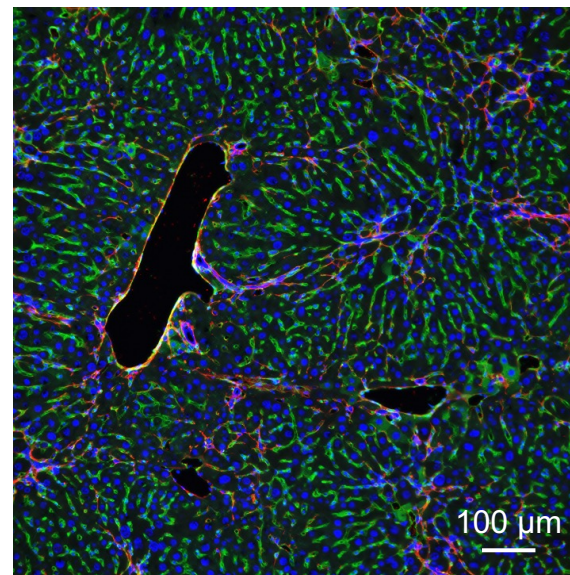
TAA 8w



DMSO



Cpd-V



筋線維芽細胞を標的とした薬剤は

他の臓器線維症にも有効である可能性が高い

- Cpd-Gは肝線維化モデルマウスにおいて、肝線維化と肝機能を改善した。
- Cpd-Gの腎線維化に対する治療効果を評価中（東京大学医学部附属病院、腎臓・内分泌内科との共同研究）
- Cpd-Gの心臓線維化に対する治療効果を評価中（東京大学大学院医学系研究科、循環器内科学講座、重症心不全治療開発講座との共同研究）



有望な結果が得られている。

※データについてはお問い合わせください。

Cpd-Gと特発性肺線維症（IPF）治療薬 （ピレスパ、オフェブ）との比較

Cpd-Gはピレスパ、オフェブと比較して

- 線維化マーカーCOL1A1, COL1A2, COL3A1の発現を抑制した。
- 線維化誘導因子TGFB1の発現を抑制した。
- 脱活性化誘導因子TCF21の発現を促進した。
- 肝再生因子PTNの発現を促進した。

※データについてはお問い合わせください。

新技術のまとめ

- ヒトiPS細胞から、静止期肝星細胞、活性化肝星細胞、（さらに老化肝星細胞）を大量かつオンデマンドで調達可能にした。
- 活性化肝星細胞に対する脱活性化剤スクリーニング系（と静止期肝星細胞に対する活性化抑制剤スクリーニング系）を開発した。
- Cpd-G, Cpd-Vを含む25種の脱活性化剤候補化合物群を同定した。

想定される用途

- iPS細胞由来の静止期および活性化の状態を反映する肝星細胞を使用した線維症治療薬シードの評価

この細胞を使用するメリット： ①ヒト肝星細胞に対する作用

②静止期肝星細胞、活性化肝星細胞それぞれに対する作用

③活性化抑制 and/or 脱活性化（正常化）？

- 開発したスクリーニング系について、化合物等のライブラリーから線維化抑制剤および脱活性化剤の探索
- Cpd-G, Cpd-Vを含む25種の脱活性化剤候補化合物群について、線維症克服へ向けた共同研究開発への利用

実用化に向けた課題

- iPS細胞からの静止期肝星細胞および活性化肝星細胞の調製方法、線維症治療薬のスクリーニング技術は既に確立されており、課題は想定されない。
- 脱活性化剤候補化合物群の開発においては、既知薬理活性物質も含まれるため、毒性、物性評価、ターゲット同定が必要、知財の強化が課題である。

企業への期待

- 本技術を活用することで、未だ革新的な治療薬が開発されていない肝線維症に対しては、有望な治療薬シードの探索が可能となる。



線維症治療薬の開発を考えている企業に、幅広い視点から本技術の導入を期待したい。

- 物性、毒性評価、構造展開の知見・技術を有する企業との共同研究への発展を希望。

企業への貢献、PRポイント

- 線維症治療薬開発を加速化する創薬プラットフォーム技術の提供。
- 企業が保有する線維症治療薬シードの評価や化合物等のライブラリーから抗線維症活性を有する新たな薬剤の開発に貢献。
- Cpd-Gを含む25種の脱活性化剤候補化合物群の開発による共同出願が可能。

本技術に関する知的財産権

- 脱活性化剤 (Cpd-V) : 出願 (公開) 番号 : 特願2022-134436
発明者 : 宮島篤、木戸丈友、中野泰博、宮戸みつる
発明の名称 : 線維症治療又は予防薬
出願人 : 国際スペースメディカル株式会社、国立大学法人東京大学
出願日 : 2022年8月24日
- 肝星細胞の脱活性化関連 : 出願 (公開) 番号 : PCT/JP2022/020895
発明者 : 宮島篤、木戸丈友、中野泰博、宮戸みつる
発明の名称 : 活性化肝星細胞に対する脱活性化誘導剤スクリーニング系
出願人 : 国際スペースメディカル株式会社、国立大学法人東京大学
出願日 : 2022年5月19日
- 出願 (公開) 番号 : PCT/JP2022/020894
発明者 : 宮島篤、木戸丈友、中野泰博、宮戸みつる
発明の名称 : 活性化星細胞を脱活性化する方法
出願人 : 国際スペースメディカル株式会社、国立大学法人東京大学
出願日 : 2022年5月19日
- 静止期肝星細胞の作製方法 : 出願 (公開) 番号 : 特願2019-025802
発明者 : 宮島篤、木戸丈友、厚井悠太
発明の名称 : 静止期肝星細胞の調製方法と活性化評価モデル
出願人 : 国立大学法人東京大学
出願日 : 2019年2月15日

産学連携の経歴

- 富士フイルム共同研究
2019/5/31-2021/3/31
2018/8/1-2019/3/31
2017/7/1-2017/12/31
- サイフューズ共同研究
2018/2/6- 継続中
- ISM株式会社共同研究
2022/1/5-2024/3/31

お問い合わせ先

東京大学TLO

T E L 03-5805-7661

e-mail info@todaitlo.jp