

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
本格研究開発ステージ ハイリスク挑戦タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: イオンチャネル標的創薬のための新規スクリーニング系実用化
プロジェクトリーダー	: 長瀬産業(株)
所属機関	: 長瀬産業(株)
研究責任者	: 今泉祐治 (名古屋市立大学)

1. 研究開発の目的

創薬標的としてイオンチャネルは近年その重要性を増している。しかし、酵素や G タンパク質共役型受容体などの他の創薬標的タンパクと比べて、現在臨床利用されているイオンチャネル作用薬は少ないのが現状である。この大きな原因として、イオンチャネルを標的とする創薬においては、高効率スクリーニング系の整備が充分でないことが挙げられる。本研究開発では、3種のチャネル遺伝子を導入した遺伝子改変細胞株を新規に作製し、簡便で費用対効果の高い新規スクリーニング系を商品化することが目的である。同時に、全ての領域での創薬に求められる催不整脈副作用試験(hERG 試験)にも、本方法が活用できることから、より広範な需要の見込まれる新規安全性試験法への応用商品化も目的の一つである。

2. 研究開発の概要

①成果

創薬標的として有望なイオンチャネルについて、細胞の生死判定で簡便かつハイスループットで行える新規スクリーニング系の実用化を目的とし、創薬標的となるイオンチャネル発現細胞株の樹立、ハイスループット化及び安定性向上に関する検討を実施した。標的イオンチャネル定常発現株樹立または遺伝子導入により、スクリーニング系の有用性を確認することに成功した。一方で、樹立株の長期保存後の遺伝子発現量低下に対して、回復させる条件を確立した。ハイスループット化のため電気刺激装置開発に取り組むことでコスト・形状について検証することができ、将来的にコストパフォーマンスに優れインパクトの大きい創薬スクリーニング系の開発への発展性を見出すことができた。

研究開発目標	達成度
①創薬標的イオンチャネル細胞樹立: 基本試験細胞に創薬標的として有望なイオンチャネルを定常発現させ、ライブラリーを構築する。	①創薬標的となるイオンチャネルの定常発現細胞の樹立に成功した。定常発現細胞について、既知の作用薬等を用いて、スクリーニングを実施したところ、パッチクランプ法と同等の正確性が示された。一部の標的イオンチャネルについては、期間内に発現率が 60%を超える細胞を樹立することができなかった。しかし、一過性発現させた細胞において、その有用性を明らかにした。
②hERG 試験用細胞製品化検討: 基本試験細胞に hERG チャネルを定常発現させ、hERG 安全性試験に応用して製品化する。	②hERG 定常発現細胞の樹立に成功し、既知薬による小規模(200-300 検体)でのスクリーニングに成功した。また、その正確性はパッチクランプと同等であった。

<p>③ハイスループット製品化検討： 高効率スクリーニング化に不可欠な電気刺激装置を調達する。</p> <p>④生産スケールアップ化： hERG 試験用細胞及び創薬標的イオンチャンネル細胞が完成した後、量産性の向上を計り、1000 検体分の細胞を試作・確保する。</p> <p>⑤製品安定性評価・最適化： 凍結解除した細胞間のバラツキを少なくし、3ヶ月間品質が保証できるようにする。凍結解除後の細胞において、変異型 Na⁺チャンネルの発現が低下する傾向にあるので、発現量を回復させる最適方策を検討する。</p>	<p>③本研究開発で考案した刺激装置の有用性の証明し、高効率・低コストスクリーニング系への可能性を見出した。</p> <p>④上記②で述べた通り、性能を維持したまま hERG 定常発現細胞を 300 検体までスケールアップすることに成功した。</p> <p>⑤検討を行った標的イオンチャンネル発現細胞 1 株について、3 か月間凍結保存しても性能は維持されていた。一方、hERG 発現細胞では性能の低下が認められた。凍結復帰後に低下した変異型 Na⁺チャンネル発現量の回復に成功した。</p>
--	---

②今後の展開

本プログラムにおいて見出された高効率・低コストでの創薬標的となるイオンチャンネルスクリーニング系の可能性を広げるため、更なるイオンチャンネル定常発現試験細胞ライブラリーの作製を実施する。細胞死の誘発に十分な電流量を各ウェルに均一に与えることができるように電気刺激装置を改良し、ハイスループット化に応用する。また、長期保存後の性能維持を向上させるため細胞作製方法、凍結方法、培養方法、解凍方法などの最適化を目指す。

3. 総合所見

一定の成果は得られており、イノベーション創出の可能性はある。

名古屋市立大学のシーズ技術を用いて樹立した 5 種類の創薬標的イオンチャンネル発現細胞株が、創薬スクリーニング細胞として感度、精度および品質において実用化レベルにあることを確認し、また、樹立した「hERG 定常発現細胞」を用いて新たに開発した hERG 試験法が、パッチクランプ法に代わる可能性がある、簡便で、高感度・高精度のハイスループット可能な hERG 試験法であることが確認された。これらの成果は創薬スクリーニングにおいて実用化の可能性は高い。今後は、本プロジェクトで未達であったハイスループット用 96 穴プレートの開発を行うとともに、新しいイオンチャンネルへの応用に向けた開発を期待する。