

第12期（平成23年度）事業報告書

目次

第1章 事業概要	1
第2章 研究開発事業	7
2. 1. JBICが実施しているプロジェクト.....	7
2. 1. 1. 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発	7
2. 1. 2. ヒトiPS細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発	8
2. 1. 3. JST山中iPS細胞特別プロジェクト.....	9
2. 1. 4. 遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速.....	10
2. 2. JBICが参画しているプロジェクト.....	12
2. 2. 1. 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発	12
2. 2. 2. 有用天然化合物の安定的な生産技術開発	13
第3章 調査企画・成果普及事業	14
3. 1. 調査・企画	14
3. 2. 成果普及・広報活動	15
3. 3. 知的財産権	17
第4章 平成23年度活動一覧	18
第5章 事業報告の附属明細書	19

第1章 事業概要

1. 平成23年4月1日、JBICは新公益法人制度の下で一般社団法人に移行した。

これにより、従来からの研究開発事業に加え、公益目的支出計画に基づき、調査、企画、成果普及の各事業を着実に実施していくこととなった。

2. 平成23年度は、東日本大震災後の混乱に加え、ユーロ危機、タイの洪水等、内外共に激動の年であった。

東日本大震災後、我が国の景気は、平成23年1～3月期の実質GDPが前期比-2%、同4～6月期-0.3%と落ち込みをみせたものの、サプライチェーンの復旧に向けた企業の迅速な取り組みが功を奏したこともあり、同7～9月期以降3期連続のプラスとなり、平成23年度の実質GDPは、マイナス0.0%となった(リーマンショック時の平成20年度はマイナス3.7%、翌平成21年度はマイナス2%)。

今後は、復興関連予算の執行等による各種の政策効果を背景に、景気を持ち直し傾向が確かなものになることが期待されるが、電力供給の制約、ユーロ圏の経済情勢等の内外の動向に引き続き注視していく必要がある。

3. このように厳しい状況下ではあったものの、平成23年度は、JBICの今後の活動に関連するであろう以下のような動きがみられた年であった。

(1)「福島創薬産業拠点整備事業」(仮称)

東日本大震災の本格的復興策を盛り込んだ平成23年度第3次補正予算において、福島県の復興事業の一環として、福島県に創薬産業拠点を整備する事業が盛り込まれた。

また、同補正予算には、東北大学を中心とした「東北メディカルメガバンク計画」が盛り込まれ、東日本大震災の被災地を主な対象地域として大規模な住民ゲノムコホート研究等が実施されることとなっている。

(2)「医療イノベーション5ヵ年戦略(仮称)」策定に向けた動き

平成22年6月に策定された新成長戦略の中で、今後の成長分野のひとつとして掲げられたライフイノベーションを具体化するため、平成23年1月、内閣府に医療イノベーション推進室が設置された。

同推進室を中心に関係各省間で検討が行われ、平成24年央には「医療イノベーション5ヵ年戦略(仮称)」が策定される予定である。

平成24年4月時点での中間報告によれば、次の項目が盛り込まれている。

- ・ 研究資金の集中投入
ライフサイエンス関連予算の配分やがん等の重点分野の研究開発推進の取組について、各府省の役割・機能を明確化した上で、効率的に実施する。
- ・ 創薬支援のネットワークの構築
切れ目なく基礎研究を医薬品の実用化につなげるためのオールジャパンでの創薬支援体制として、関係府省の協力により、医薬基盤研究所が中心となる関係機関等による創薬支援ネットワーク(いわゆる「創薬支援機構」構想)を構築する。

(3)天然物ライブラリーの位置付け

行政刷新会議は、独立行政法人の見直しの過程で公的機関等が保有する創薬関連ライブラリーの評価を行ったが、その中で、JBIC が「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」プロジェクトにおいて構築し、管理している 30 万サンプルを超える天然物ライブラリーが創薬基盤の一翼を担っているものとされた。

なお、天然物ライブラリーについては、次世代天然物化学技術研究組合を通じて、アカデミアのみならず、ひろく製薬企業等においても積極的な利活用が可能になるよう所要のスキームを構築したところである。

4. 主な成果

(1)転写因子 Glis1 による安全な iPS 細胞の高効率作製

- ・ 山中伸弥教授による iPS 細胞の作製は、線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて 4 転写因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を導入することにより行われるが、c-Myc には腫瘍形成のリスクがあり、また、c-Myc なしでは iPS 細胞の樹立効率が極めて低くなるという問題がある。
- ・ 産総研及び JBIC において、より安全かつ作製効率の高い転写因子を探索すべく、NEDO プロジェクトで構築したヒト完全長 cDNA ライブラリーから選出した 1,437 個の転写因子の中から *in silico* の手法を用いる等して Klf4 の代替因子として新規に 18 因子を同定。
- ・ これら 18 因子を用いて山中研で更に研究を行った結果、Klf4 代替効果は認められなかったが、18 因子のうちの 1 つ Glis1 を 3 因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4) 又は 4 因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) と共に導入することにより、高効率に iPS 細胞を作製することができ、腫瘍発生も認められなかった (Nature 2011 年 6 月 9 日号に掲載)。
- ・ この Glis1 については、山中教授自ら、初期化を誘導する「魔法の遺伝子」として評価している。
- ・ 現在、更に、新規因子について探索中。

(2) myPresto による *in silico* simulation の速度・精度の向上

- ・ 「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」プロジェクトにより開発されて来たドッキング計算用のプログラムである myPresto は、累次にわたる改訂(現在の Version は 4.201)を経て、海外の市販ソフトと比べ、解析速度が 10~100 倍で、独自開発されたスクリーニング手法との組み合わせで約 10 倍の解析精度をもつに至っている。
- ・ これは、myPresto の開発が分子動力学、IT 技術面での研究成果のみならず、創薬加速プロジェクトの中で行われている世界最高水準の電子顕微鏡及び NMR によるタンパク質の構造解析の研究成果を相互に活用し、それぞれの研究に反映させていることが背景にある。
- ・ 今般、これらのシステムを用いて、膜タンパク質の標的部位に特異的に結合する化合物を効率的に見出すことに成功した。特に、生理活性の高いペプチドと同等の活性を持つ化合物と標的部位との結合を正確に予測できるようになった。
- ・ この技術をひろく創薬の分野で応用することにより、従来よりも低コストで医薬品リード化合物を見出すことが可能になる。
- ・ 分子動力学を活用した myPresto の解析手法は、創薬のみならず、化学、材料等の分野の企業も関心を示して来ている。
- ・ なお、myPresto は 6 年前から公開しており、JBIC のホームページ等からダウンロードが可能である。ダウンロード件数は、平成 24 年 5 月現在、2,000 件を超えている。

(3) 福島県における抗がん剤開発加速プロジェクト

- ・ タンパク質機能解析・活用プロジェクト(平成 12~17 年度)により開発された DNA マイクロアレイを用い、福島県立医科大学との連携の下に、「遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医薬の実現と抗がん剤開発の加速(TRプロジェクト、平成 19~23 年度)」において 3,500 のがん臨床サンプルを取得して解析した。
- ・ これにより、抗がん剤の臨床段階での有効性の検証、予後の予測等の遺伝子発現データセットの同定を行うとともに、がんに関連する創薬ターゲット候補遺伝子の探索を行い、これらの成果を製薬会社に提供した。
- ・ このような成果を踏まえ、今後は福島県の復興事業の一環として、福島に創薬の拠点を整備する事業が行われることとなっている。

5. 平成 23 年度実施プロジェクトの主な実施内容及び成果等

<JBIC が実施しているプロジェクト>

(1) 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

電子顕微鏡及び NMR を用いた膜タンパク質及びその複合体の立体構造、相互作用を解析するための技術開発に一層磨きをかけることにより、創薬のターゲットとなりうる標的タンパク質のより高精度の解析を行った。

このような構造解析面での研究成果を踏まえ、*in silico* simulation 分野において、実験データと理論計算の融合によるタンパク質-化合物複合体予測技術手法を開発し、平成 23 年 10 月、myPresto version 4.201 として一般に公開した。

(2) ヒト iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発

本プロジェクトの目的達成には①心筋細胞作製と②検出システム開発が必要である。ヒト iPS 細胞から正常機能を持つ心筋細胞への高効率な分化誘導技術の開発では、ヒト iPS 細胞からの心筋細胞誘導化法を確立した。遺伝性心筋疾患患者からのヒト iPS 細胞と疾患心筋細胞分化誘導を実施し、疾患関連の活動電位変化を観察した。創薬スクリーニングシステムの開発部分では、自動化が可能な実用化プロトタイプ機を用いて計測条件等の最適化を行い、標準プロトコールを作成した。システムの標準化に必要なデータの取得、蓄積を行うとともに、海外メガファーマのシステム評価を受けている。

(3) JST 山中 iPS 細胞特別プロジェクト

23 年 6 月に c-Myc を代替する新たな遺伝子 Glis1 の発表を行ったが、更に別の遺伝子の探索を行い複数の新たな遺伝子が探索できた。また、Glis1 の iPS 細胞誘導における機能の解明や新たな遺伝子探索で重要な役割を果たすヒトタンパク質発現リソースの拡充を行った。

(4) 遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速

福島県立医大にて採取したがん臨床サンプルは、プロジェクト開始時からの総計で、乳がんを中心に肺がん・大腸がんなど約 20 種類、約 3,500 サンプルに達し、このうち、遺伝子発現プロファイルを取得した臨床サンプルは約 2,000 となった。これらを最大限活用することにより、企業にて開発中の抗がん剤の感受性鑑別遺伝子発現データセットの検証、新規抗がん剤ターゲット候補及びがんマーカー遺伝子の特定、乳がんの予後判別遺伝子発現データセットの抽出等の様々な成果を挙げることが出来た。また、産業界から、臨床サンプルに近い材料を使った抗がん剤の開発を行いたいとのニーズに基づき、福島県立医大で採取されたがん組織の一部を免疫不全マウスに移植し、担がん動物モデルの作製等を行った。

<JBIC が参画しているプロジェクト>

(1) 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発

エピゲノム修飾を高感度で解析できる技術、解析データの情報処理技術を開発している。開発した解析技術を活用し、ヒト臨床サンプルを対象として、エピゲノム修飾と疾患とを関連づける創薬・診断標的候補分子の探索を行った。さらに、候補分子を制御する因子を用いてその妥当性を検証することにより、本事業でこれまでに開発したエピゲノム技術解析基盤技術の有用性の確認を行っている。

(2) 有用天然化合物の安定的な生産技術開発

放線菌が生産する代表的な天然化合物の生合成遺伝子クラスター情報の取得を行い、これらの正確なシーケンス情報を解読するとともに、化合物と生合成遺伝子を対応づけるデータベースを構築し、生合成遺伝子を探索するツール開発を行った。また、取得した生合成遺伝子クラスターを別の放線菌宿主株に導入し、異種発現生産を確認した。

以下に、JBICプロジェクトの年表(事業費、成果(特許出願件数、論文数、学会発表数))を示す。

JBIC受託プロジェクトの年表
(事業費、成果)

事業費(百万円)
特許出願件数
論文数
学会発表数

研究課題	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24
膜タンパク質等の構造解析	生体高分子構造情報利用技術開発		生体高分子立体構造情報解析					創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発					
	1,147	2,983	1,832	1,284	1,439	1,408	1,275	970	838	886	544	530	511
	0	2	5	3	3	2	1	0	0	0	1	0	
			44	50	72	56	88	37	14	49	54	63	
		50	76	144	135	86	34	45	26	110	96		
ヒトタンパク質機能解析	タンパク質機能解析事業		タンパク質機能解析活用プロジェクト			化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発							
	2,585	2,164	1,603	2,023	2,034	1,834	2,480	2,277	2,141	1,305	888		
	4	2	9	15	4	0	5	5	13	6	11	7	
	10	42	30	20	44	31	93	117	78	70	96		
	4	15	5	86	59	67	110	142	87	51	72		
機能性RNA解析							機能性RNAプロジェクト						
							603	894	850	778	759		
							1	8	6	4	5	2	
							22	51	26	24	73		
							41	50	71	151	166		
幹細胞研究開発							iPS細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発						
							1,295	642	247			5	
							3	6	4				
							6	40	12				
							18	36	17				
							JST山中iPS細胞特別プロジェクト						
							16		15				
							1						
							7						
							7						
橋渡し(Tr)促進技術開発							遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速						
							250	250	600	187	109		
							0	0	1	7	0		
							3	4	17	32	18		
							5	7	10	55	5		
							福島医薬品関連産業支援拠点化事業(医務)						
							190						
遺伝子多様性解析	SNPs関連技術開発												
	823												
	5	6											
	0												
	0												
	標準SNPs解析事業												
1,799	3,551	36											
2	2	0											
遺伝子多様性モデル解析													
3,741	1,154	894	974	744									
0	3	7	6	3	3								
8	13	16	30	23									
16	33	72	74	74									
事業費(百万円)	6,354	12,438	4,625	4,201	4,447	4,589	4,650	4,347	4,007	4,845	2,261	902	721
特許出願件数(国内)	11	12	17	25	13	6	17	11	17	15	27	8	
論文数	10	50	87	86	146	132	232	183	120	215	222	100	
学会発表数	4	31	88	234	277	317	246	252	290	271	273	125	

(見込み)

<参考:JBICが参画しているプロジェクト>

エピゲノム機構解析													
	後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発												
	221	304	326										
	0	1											
天然化合物生産技術開発													
	有用天然化合物の安定的生産技術開発												
	300	300											
	0	37	18										

第2章 研究開発事業

2. 1. JBICが実施しているプロジェクト

2. 1. 1. 創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発

(NEDO 委託事業、受託金額 5.3 億円)

1) 概要

現在の市販薬剤のほぼ 50%が膜タンパク質を作用点としており、膜タンパク質は生命現象のみならず、創薬開発においても重要な標的タンパク質である。膜タンパク質及びその複合体を形成し、その機能を発現している。従って、膜タンパク質及びその複合体の立体構造や膜タンパク質とその複合体及びリガンド間相互作用の情報を取得し、その構造情報に基づいた計算科学的解析により、創薬ヒット化合物を作り出す「立体構造に指南された創薬戦略(Structural-Guided Drug Development: SGDD)」は非常に重要な研究課題である。本プロジェクトでは、この研究課題に取り組み、次世代の創薬基盤技術の開発、さらにはそれらの技術を応用した医薬品候補化合物の取得を目指す。

2) 内容・成果

(1) 電子線膜タンパク質及びその複合体の構造解析技術開発

創薬分野において期待されている GPCR(ET_BR)の構造解析を目指して構造を安定化させるために 400 を超える全てのアミノ酸残基について変異体を作製し、発現系を構築した。この探索により構造を安定化できる変異体の組み合わせの解明ができたことで、結晶化を目指したコンストラクトの探索とそれら発現を進めた。さらに、2次元結晶と3次元結晶化を試みた結果、分解能は低いながらも結晶化ができるようになった。また、胃のHK-ATPase等のように結晶性の良くない2次元結晶についても高い分解能での構造解析に成功した。

(2) 核磁気共鳴法による膜タンパク質及びその複合体とリガンド分子の相互作用解析技術開発

結晶構造が得られない酸性条件下における活性化状態と不活性化状態の構造平衡について、その交換速度を解析することにより、カリウムチャネルのアロステリックな運動制御機構を見出すことに成功した。本研究で得られた知見は、保存性の低い細胞質内領域を標的として活性状態と不活性化状態の間の交換速度を間接的に制御することによって、より選択性が高く副作用の小さい新規化合物を創製できる可能性を示すものである。

(3) 高精度 *in silico* スクリーニング等のシミュレーション技術開発

structure-based drug screening(SBDS)と ligand-based drug screening(LBDS)の全体がつながるように開発を進めたのに加え、実験データと理論計算の融合による双方の長所を生かしたタンパク質-化合物複合体予測方法などを新たに開発した。これらの手法は 2011 年 10 月に myPresto version 4.201 として一般に公開した。化合物データベースは、約 2,000 万化合物の 3次元モデルのデータベース化を行い、さらに平成 22 年度までに開発した水溶解度推定手法を適用し、各化合物について、溶解度、非特異的相互作用をする確率、発がん性データを加えたものを開発し配布した。 μ オピオイド受容体や、農薬の標的となる膜タンパク質へ、今まで開発した計算手法を適用し、新規活性化化合物を発見した。

(研究成果：学会発表 96 件、論文・総説等の発表 63 件、特許出願 0 件)

2. 1. 2. ヒト iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発

(NEDO 委託事業、受託金額 2.4 億円)

1) 概要

平成 23 年度より本プロジェクトの事業基本計画が変更され、プロジェクト名も変更(変更前:「iPS 細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発」)となった。

研究開発項目①: ヒト iPS 細胞等幹細胞から心筋細胞への高効率な分化誘導技術の開発

健康人由来あるいは心疾患患者由来のヒト iPS 細胞等幹細胞から、心筋細胞への誘導効率を高める因子の探索や誘導工程の改良を行う。

研究開発項目②: ヒト iPS 細胞等幹細胞を活用した創薬スクリーニングシステムの開発

細胞電位計測を原理とする薬剤誘発性心毒性スクリーニングシステムの開発を行い、既存法との比較により本プロジェクトで開発する創薬スクリーニングシステムの有用性を検証し、実用化に向け検討を行う。

2) 内容・成果

研究開発項目①: iPS 細胞からの心筋細胞誘導化法において X 因子法+G-CSF 法の組み合わせによる方法を確立した。また拍動性を維持した心筋細胞含有率 90%以上の任意の大きさのヒト iPS 細胞由来の心筋細胞塊作製法の確立と心筋細胞塊を単一細胞へ分散させる分散方法を確立と心筋細胞塊の凍結保存条件を確立した。更に心筋細胞と iPS 細胞の代謝の解析により要求エネルギー源の違いを利用した心筋細胞の純化精製法を構築した。遺伝性心筋疾患患者からの iPS 細胞の樹立では、遺伝性 QT 延長症候群 1 型、2 型、3 型患者皮膚細胞および末梢血液中 T 細胞より iPS 細胞を作製し、心筋細胞の分化誘導を行った。その結果、1 型遺伝性 QT 症候群由来の心筋細胞を用いたフィールド電位計測において、疾患関連と考えられる活動電位変化が確認され、IKr チャネル遮断薬投与の検討では用量依存性に Torsade de point 様不整脈の誘発が確認された。

研究開発項目②: 細胞電位推定機能、細胞間ゆらぎ計測機能、全自動波形解析機能・分析機能、薬剤濃度制御・モニター機能、筋収縮力評価用細胞変位計測高速カメラシステム、長期細胞培養機能を有する操作自動化が可能なシステム即ち実用化プロトタイプ機(第 2 世代システム)を構築した。本システム並びに iPS 細胞由来心筋細胞(プロジェクト内供給及び市販)を用い、偽陰性、陽性薬剤への応答性の改善を検討し、更に既知薬品を用いた検討を行い計測条件等の最適化を行い標準プロトコールを作成した。既知薬品を用いた検討では取得されたデータを既存法による結果と比較し本システムの評価を行い、標準化に必要なデータの取得、蓄積を行った。検討薬剤の提供を受けた海外メガファーマからは、本検討結果に対し高い評価が得られた。

システム評価にはヒト ES 細胞由来心筋塊およびヒト iPS 細胞由来分散心筋細胞から作成した平面細胞シートを用いたが、これらに関する薬物応答性の基礎的データが取得され、心筋細胞塊の品質改善の可能性と開発中である心筋細胞ネットワークシップの研究に寄与するような成果が得られた。次年度以降の本システムの国内外評価に先立ち、「ES 細胞あるいは iPS 細胞から分化した心筋細胞を用いる *In vitro* 心臓安全性薬理試験方法」について世界開発状況の総合調査を行ったが、標準化法を提案するにあたり、システムに採用する iPS 細胞由来心筋についての規格が重要となると考えられた。

(研究成果:学会発表 17 件、論文・総説等の発表 12 件、特許出願 4 件)

2. 1. 3. JST 山中 iPS 細胞特別プロジェクト

(JST 委託事業、受託金額 0.2 億円)

1) 概要

iPS 細胞は多方面での応用が期待されるが、臨床応用するには iPS 細胞の安全性が大きな課題となっている。従来は iPS 細胞を作製するために 4 つの転写因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を導入していたが、原がん遺伝子 c-Myc による腫瘍発生が懸念され、安全な iPS 細胞を効率よく誘導する方法の開発が望まれている。

NEDO プロジェクト「タンパク質機能解析・活用プロジェクト」において開発したヒト完全長 cDNA を基盤とした汎用ヒトタンパク質発現リソースを用いて探索された新規転写因子 Glis1 は、c-Myc なしでも、iPS 細胞を非常に効率よく誘導することが分かった。このリソースを活用して、新たな核初期化因子の探索を行うとともに、ヒトタンパク質発現リソースにおけるヒトの転写因子の拡充を行う。

2) 内容・成果

①ヒト細胞を用いたヒト遺伝子による核初期化因子の探索

ヒト線維芽細胞を用いたヒト初期化因子の探索を行った。山中4因子 (Oct3/4, Sox4, Klf4, c-Myc) の内、c-Myc を除いた3因子とヒト転写因子約 1,400 種をレトロウイルスベクター pMXs-GW-STOP にクローニングし、ヒト線維芽細胞に導入することにより、c-Myc 代替因子を探索した。その結果、転写因子 Zscan4 を含む約 80 種を発見し、米国仮出願を行い、知財確保を行った (unpublished)。

②ヒトタンパク質発現リソースにおけるヒトの転写因子の拡充

細胞の初期化、分化誘導等の細胞制御において、転写因子を組み合わせることで発現させることが極めて有効であることが明らかになってきている。こうした理由から、ヒトの転写因子のクローンリソースを拡充し、整備することは重要である。現在、ヒトの転写因子は2千数百遺伝子と考えられている。本研究ではヒト転写因子を、1,437 クローンから 2,000 クローンまでリソースを拡大し、Gateway エントリークローンを取得した。その結果を踏まえて HGPD データベースの更新を行い、細胞初期化因子の探索に利用した (Maruyama et al., NAR 2012)。

(研究成果：学会発表 7 件、論文・総説等の発表 7 件、特許出願 1 件)

2. 1. 4. 遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速

(NEDO 委託事業、受託金額 1. 1 億円)

1) 概要

本事業の目的は、独自開発の遺伝子発現解析技術による基礎研究成果を、がん臨床、さらには、抗がん剤開発現場へ橋渡しすることである。これにより、現在参画製薬企業が開発中の、および、臨床で既に使用されている抗がん剤について、その効く・効かないを区別できる感受性遺伝子群を同定し、それらを治療方針決定用診断ツールとして活用した個別がん医療の実現を目指す。さらに、がん鑑別診断マーカーや創薬標的となる新たな遺伝子(群)を同定し、それらに関する生物学的解析結果を含むデータを速やかに参画製薬企業に開示することによって、参画製薬企業における新規がん治療薬開発の加速に資する。

2) 内容・成果

本事業は 23 年度で終了であり、プロジェクト開始からの開発内容とその成果は下記の通りである。

研究開発項目①：細胞株を用いた抗がん剤感受性遺伝子群の同定

参画製薬企業が開発中の抗がん剤候補計 12 種類、現在臨床で使用されている抗がん剤 4 種類に対して感受性試験を行い、感受性または非感受性を特定した細胞株または移植細胞塊から遺伝子発現プロファイルを取得した。参画製薬企業が開発中の 4 薬剤候補に対して、このプロファイルのクラスタ分析により、感受性と非感受性を鑑別できる鑑別遺伝子発現データセットの抽出に成功した。また、既存抗がん剤 1 薬剤についても、感受性鑑別遺伝子発現データセットの抽出に成功した。

研究開発項目②：臨床がんサンプルを用いた抗がん剤感受性遺伝子群の有効性検証

福島県立医大附属病院および福島県内関連病院で取得した臨床サンプルは、がん約 20 種類(乳がんを中心に肺がん・大腸がん・胃がん・甲状腺がん・その他)、総計約 3,500 サンプルに達し、遺伝子発現プロファイルを取得した臨床サンプルは約 2,000 となった。また、臨床サンプルに対応する臨床情報を電子カルテから収集するとともに、解析用臨床情報のスコア化、さらに、病理学的所見の充実化を行い、臨床情報・遺伝子発現情報統合データベースとして集積した。

上記の研究開発項目①で特定した参画製薬企業が開発中の抗がん剤候補 4 薬剤に対する感受性遺伝子発現データセットについて、上述した臨床サンプルの遺伝子発現プロファイルで検証を行い、細胞株のデータから抽出した感受性鑑別遺伝子発現データセットを用いた感受性の判別が、臨床段階でも有効であることを確認し、開発企業へ橋渡しした。そのうちの 1 件は開発企業により特許出願が行われた。

研究開発項目③：遺伝子発現情報の解析による創薬標的遺伝子等の同定

乳がん由来細胞株の遺伝子発現プロファイルを解析することにより、染色体上の遺伝子増幅部位を多数特定した。また、乳がんを中心に、がん組織で高発現している遺伝子を多数特定し、新規抗がん剤ターゲット候補として 19 遺伝子を参画製薬企業へ開示し、橋渡しを完了した。

乳がんの臨床情報(予後因子)と遺伝子発現プロファイルをあわせて解析することにより、乳がん予後判別遺伝子発現データセット(福島乳がんセット)を抽出した。また、同様にして急性骨髄性白血病の予後判定を可能にする遺伝子発現データセットの抽出にも成功した可能性がある。さらに、肺がんの

組織型鑑別遺伝子群を中心に、新規がんマーカー遺伝子はすでに数 10 種類程度の特定が完了し、検証を行った。

産業界から、臨床サンプルに近い材料を使った抗がん剤の開発を行いたいとのニーズに基づき、平成 21 年度から新たに「がん組織の特性を維持した新規がん細胞材料創出技術の開発」を開始した。福島県立医大で採取したがん組織の一部を免疫不全マウスに移植し、担がん動物モデルの作製、及び移植がん組織から初代培養細胞と新規細胞株の樹立を行った。

(研究成果：学会発表 18 件、論文・総説等の発表 5 件、特許出願 0 件)

2. 2. JBIC が参画しているプロジェクト

2. 2. 1. 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発

(NEDO 委託事業、受託金額 3.0 億円)

1) 概要

本研究開発ではエピゲノム修飾を標的とした癌の診断及び治療法開発を推進する。ヒト腫瘍細胞から取得したエピゲノム情報に基づいて選定したエピゲノム創薬・診断標的候補分子に対してアッセイ法の構築、リード化合物探索を行い、創薬・診断標的としての妥当性を実証することを目指す。

治療及び診断標的分子を同定する創薬基盤を構築するため、①エピゲノム修飾を高感度で検出するシステムを構築するとともに、②癌との関連付けを行うための基盤技術を世界に先駆けて開発し、③エピゲノム修飾を制御する分子等を用いた探索的実証研究を通じて基盤技術としての有用性を検証する。

2) 内容・成果

①後天的ゲノム修飾解析技術開発

癌組織の DNA メチル化を1塩基レベルで解析するとともに、DNA 脱メチル化の検出に関しては、抗ハイドロキシメチルシトシン抗体による免疫沈降法を用いた網羅的解析法を確立した。

80 近くのヒストン H4 テールの修飾パターンの時系列変化を比較定量できる技術を開発した。ヒストン H3/H4 テールの修飾組み合わせ解析の更なる高感度化と定量法の高精度・高感度化を実施した。

②後天的ゲノム修飾と疾患とを関連づける基盤技術開発

胃癌、肺癌、肝癌、膵癌など累積約 200 例の検体を採取。エピジェノタイピングアレイを用いて癌組織と非癌組織データ取得を行い、高感度かつ高特異的なマーカーの選出に着手し、癌組織特異的マーカーの同定を行い、血液検体における診断マーカーを探索した。

開発したヒストン修飾に対するモノクロー抗体を用い、癌細胞株における免疫組織染色によるの異常・変動を解析した。ヒストン修飾酵素およびDNAメチル化修飾酵素の shRNA ノックダウンによる表現系解析及びヒストン修飾の変動をを調べることによって、新たな創薬診断の標的候補分子を同定し、酵素活性測定系を確立した。

発癌関連因子として注目されるエピゲノム制御複合体と非コードRNAとの相互作用・機能阻害解析を実施し、腫瘍特異的に発現する機能性非コードRNA 候補選抜を実施した。

③探索的実証研究

上記項目①で開発した技術の検証のため培養細胞を用いて細胞周期でのヒストン H4 の修飾組合せ解析を行っている。質量分析計によるヒストンメチル化・脱メチル化活性のスクリーニングに加え、 α -スクリーニング法を用いた活性測定法の開発を行い、ハイスループットスクリーニングに着手している。

ヒストンメチル化酵素 PR-SET7の立体構造に基づき *in silico* でデザインした約 200 化合物の *in vitro* スクリーニングにより、さらに阻害活性の高い化合物を得た。また、ヒストン H3K9 メチル化酵素 G9a の *in silico* および *in vitro* スクリーニングを実施した。

(研究成果：学会発表 52 件、論文・総説等の発表 34 件、特許出願 1 件)

2. 2. 2. 有用天然化合物の安定的な生産技術開発

(NEDO 委託事業、受託金額 3.0 億円)

1) 概要

天然化合物の生合成遺伝子を取り出して目的化合物を安定的かつ効率的に発現する手法を開発する。具体的には、天然化合物の構造的特徴に基づく生合成経路を網羅できるような化合物を 40 個程度選抜し、生合成遺伝子クラスターを取得するとともに、安定に形質転換可能な改良宿主放線菌を用いた異種発現システムを活用し、5 mg/L 以上の生産量で天然化合物の生産を可能とする技術の開発を行なうとともに、その汎用性についても見極めを行なう。

2) 内容・成果

① 生合成遺伝子クラスターライブラリーの構築

放線菌ゲノムは GC 含有率が高くシークエンス解析が困難であることが知られているが、共同研究先の沖縄科学技術大学院大学(OIST)では、ギガシークエンサーを用いてほぼ完全に解読することに成功しており、この手法を用いて 16 菌株について解析を行った。同定した有用な生合成遺伝子クラスター情報を基に、コスミドベクター及び BAC ベクターを用いて生合成遺伝子クラスターのクローニングを行い、それぞれ 23 個と 10 個の生合成遺伝子クラスターを取得した。特に放線菌ゲノムの BAC ライブラリー作製に関しては、世界でも最高水準の技術を確立したと考えられる。また、目的生合成遺伝子クラスターを予測同定する技術を開発するため、放線菌ゲノムに特化したアノテーションソフトをプロジェクトメンバー間で Web 共有出来るようにシステムを確立した。

② 安定生産技術の開発

Avermectin の工業生産株である *Streptomyces avermitilis* から内在性遺伝子発現の多くを欠失させて得た改良宿主 SUKA 株を用い、コスミド法で取得した 10 個の生合成遺伝子クラスターから 6 種類の化合物、BAC 法で取得した生合成遺伝子クラスターのうち 2 化合物の生産に成功し、SUKA 株は異種発現の放線菌宿主として極めて効率の良い宿主であることを再確認した。実際に他の宿主として利用した *Streptomyces albus* G153 株や *Streptomyces reveromyceticus* 株と比較しても、SUKA 株はきわめて良い形質転換効率を示すことが実験的に検証できた。

(研究成果：学会発表 18 件、論文・総説等の発表 37 件、特許出願 0 件)

第3章 調査企画・成果普及事業

3. 1. 調査・企画

3. 1. 1. JBIC バイオ関連基盤技術研究会

これまでのプロジェクトの研究成果と企業のニーズを踏まえ、バイオ関連基盤技術を対象とした「JBIC バイオ関連基盤技術研究会」を平成 21 年度から定期的開催している。今年度も引続き、会員の要望・提案を基に、タンパク質関連、*in silico* 技術開発、バイオインフォマティクス、IT、医療機器等を中心としたテーマで、企業とアカデミアから講師を招き、参加者間で今後の取り組むべき方向性等を議論している。

第8回(平成23年9月開催)「iPS 実用化への取組み～新規因子 Glis1 と網膜再生医療～」

①産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター 五島直樹主任研究員、②理化学研究所発生・再生科学総合研究センター 高橋政代チームリーダー、③京都大学 iPS 細胞研究所 青井貴之教授、④iPS アカデミアジャパン株式会社ライセンス部 白橋三臣部長を講師に迎え開催した。

第9回(平成23年11月開催)「世界最速コンピュータ「京」とIT創薬」

①理化学研究所次世代スーパーコンピュータ開発実施本部 横川三津夫グループディレクター、②東京大学先端科学技術研究センター 藤谷秀章特任教授、③大阪大学蛋白質研究所 肥後順一客員教授を講師に迎え開催した。

第10回(平成24年2月開催)「個別化医療を実現するバイオマーカー」

①早稲田大学先進理工学部生命医科学科 仙波憲太郎教授、②東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター 宮野悟教授を講師に迎え開催した。

いずれもJBIC 会員を対象とした研究会で参加人数は各研究会につき30-50名の規模で、活発な意見が交わされ盛況な研究会となった。

3. 1. 2. 海外技術動向調査

海外におけるバイオ分野の技術動向を把握するため、下記の調査を実施した。

1) 米国におけるバイオ分野の技術動向

- ・訪問先 BIO2011(Bio International Convention)アメリカ ワシントン D.C
- ・期間 平成23年6月23日～7月3日

BIO はバイオ・製薬業界での世界最大のイベントであり、世界各国から1,800社以上の企業が出展し、非常にビジネス色が強いイベントである。今後の医薬品開発やバイオ市場の動向について調査を行った。

2) 中国における微生物資源

- ・訪問先 中国科学院 北京
- ・期間 平成23年7月5日～10日

中国等のアジア諸国でのバイオ研究が盛んであり、中国における微生物資源に関して技術的連携

の可能性を調査した。

3) 欧州におけるバイオ分野の技術動向

- ・訪問先 BIO-Europe2011 ドイツ デュッセルドルフ
- ・期間 平成23年10月26日～11月7日

BIO-Europe は、欧州最大のバイオ展示会であり、欧州でのバイオ市場の動向等について調査した。

4) 欧州における天然物ライブラリーの状況

- ・訪問先 ドイツ及びスペイン
- ・期間 平成24年2月13日～19日

欧州における天然物ライブラリーの最新状況について調査を行った。

3. 2. 成果普及・広報活動

3. 2. 1. 研究成果の普及

1) 転写因子 Glis1 及び汎用ヒトタンパク質発現リソースの普及

Glis1 は、NEDO「ヒト iPS 細胞等幹細胞産業応用基盤技術開発」にて、京都大学・山中伸弥教授及び産業技術総合研究所との共同研究により発見した遺伝子であり、山中教授が以前に発見したものと比較して安全かつ高効率に iPS 細胞を作製することが出来る。これに関する論文は、京都大学及び産業技術総合研究所との共著で科学論文雑誌 Nature (平成23年6月9日号)に掲載された。この成果は、京都大学を通じて公的研究機関に提供され、再生医療を目指した研究がなされている。また、JBIC、京都大学、産業技術総合研究所の三者で iPS アカデミアジャパン(株)とライセンス契約を締結し、この成果を海外も含めて広く普及させる活動を行うこととなった。

Glis1 は、NEDO「タンパク質機能解析・活用プロジェクト」の成果である汎用ヒトタンパク質発現リソースを活用したものであるが、Glis1 の発見によりこのリソースの重要性が再認識され、このリソースを利用した共同研究を JBIC、慶応大学医学部、産業技術総合研究所の三者で実施した。

2) 天然物ライブラリーの普及

天然物ライブラリーは、NEDO「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」の成果であり、製薬企業等から提供を受けたものも含めて約 30 万サンプルの世界最大級のライブラリーであり、広く製薬企業および大学等研究機関で利用可能とすることにより新規医薬品候補化合物の探索源が広がり、創薬研究の効率化を図るものである。JBIC が組合員である次世代天然物化学技術研究組合を通じてこの天然物ライブラリーの製薬企業および大学等研究機関への普及活動を行っている。

3) データベース及びプログラムの公開

myPresto (医薬品開発支援分子シミュレーションシステム)、MEDALS (経済産業省統合データベースプロジェクトのポータルサイト)、HGPD (汎用ヒトタンパク質発現リソースのデータベース)、H-InvDB (統合ヒト遺伝子データベース)等を引き続きホームページで公開した。

3. 2. 2. 研究成果報告会

平成 23 年度のプロジェクト研究成果報告会を平成 24 年 2 月 10 日に日本科学未来館(東京 青海)にてエピゲノム技術研究組合及び次世代天然物化学技術研究組合との共催で開催した。本年度は、講演形式とし、JBIC が実施している次の4プロジェクトについて代表研究者6名による講演形式の研究概要、研究成果が報告された。

- ①創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発
- ②遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速
- ③ヒト iPS 細胞等幹細胞産業応用促進基盤技術開発
- ④JST 山中 iPS 細胞特別プロジェクト

なお、エピゲノム技術研究組合は、「後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発」、次世代天然物化学技術研究組合は、「有用天然化合物の安定的な生産技術開発」についてそれぞれの報告があった。

本会は広く一般に案内し、産業界、アカデミア及び政府関係機関等から約 150 名の参加があった。

3. 2. 3. 展示会等への出展

JBIC の活動状況、プロジェクト成果の展示を以下の展示会にて実施した。

展示プロジェクト成果物としては、高効率に iPS 細胞を誘導する転写因子 Glis1 の発見、myPresto(分子シミュレーションシステム)、及び世界最大級天然物ライブラリーの紹介を中心に行った。

1)BioJapan2011 (平成 23 年 10 月 5 日ー7 日; パシフィコ横浜)

出展ブースでは、JBIC の活動、プロジェクトの紹介の他、ベンチャー会員企業に展示スペースを提供し、製品紹介、パンフレット配布などに活用していただいた。

また、①Glis1(iPS 細胞を安全かつ効率的に作製する新規転写因子)、②myPresto(医薬品開発支援分子シミュレーションシステム)及び③天然物ライブラリー(土壌や海洋中に存在する微生物が作製する医薬品候補として有望な化合物ライブラリー)に関しては、産業技術総合研究所の各担当研究者を講師としてミニプレゼン等を行い、参加者との自由なディスカッションを通じた成果普及活動を行った。

なお、主催者セミナーでは、「エピゲノム創薬の挑戦」をテーマとして企画し、①東京大学先端科学技術研究センター 油谷浩幸教授、②理化学研究所基幹研究所 吉田稔グループディレクター及び③エーザイ株式会社オンコロジーPCU 大和隆志プレジデントに講演いただいた。

2)CPhI JAPAN2012 (国際医薬品原料・中間体展等)(平成 24 年 3 月 21 日-23 日; 東京ビッグサイト)

世界 29 カ国・地域から約 500 社が出展し、医薬品製造、開発のための最新製品・技術を紹介するもので、特に、中国、韓国、インド等アジアからの出展が半数を占める展示会である。今年もこれに出展し、JBIC の活動状況及び天然物ライブラリーの紹介等の成果普及を行った。

3. 2. 3. その他

JBIC 会員をはじめ一般の方々に JBIC の活動を広報するため、JBIC のイベント、セミナーの開催案内や展示会の出展レポート、財務状況等に関する情報を JBIC ホームページやメールマガジンで公開した。また、バイオ関連の他企業・機関のイベントやセミナーの開催についても掲載した。

3. 3. 知的財産権

知的財産権の出願状況は下記のとおり。

(1) 国内特許出願

- ・ 化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発 7 件
- ・ ヒト iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発 1 件

(2) 国際出願 (PCT、米国仮出願)

- ・ ヒト iPS 細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発 3 件
- ・ JST 山中 iPS 細胞特別プロジェクト 1 件

第4章 平成23年度活動一覧

平成23年	
4月	4月1日付で「一般社団法人」として発足し、初年度がスタート
	次世代天然物化学技術研究組合に参画
6月	iPS細胞等幹細胞プロジェクト（中間評価）分科会（NEDO 川崎：川崎）
	第12期第1回理事会（マンダリンオリエンタルホテル：日本橋）
	第12期定時総会（ホテル日航東京：台場）
	米国BI02011（ワシントンDC）等でのバイオ分野技術動向調査
7月	ケモバイオプロジェクト（事後評価）分科会（大手町サンスカイルーム：大手町）
9月	第8回JBICバイオ関連基盤技術研究会「iPS細胞実用化への取組み」
10月	BioJapan2011を共同主催し出展（パシフィコ横浜：横浜）
	BI0 Europe2011（ドイツ；デュッセルドルフ）等での欧州バイオ分野技術動向調査
	第9回JBICバイオ関連基盤技術研究会「世界最速コンピュータ「京」とIT創薬」
平成24年	
2月	2011プロジェクト研究成果報告会（日本科学未来館：青海）
	欧州における天然物ライブラリーの状況調査（ドイツ及びスペイン）
	第10回JBICバイオ関連基盤技術研究会「個別化医療を実現するバイオマーカー」
3月	第12期第2回理事会（ホテル日航東京：台場）
	CPhI 2012（国際医薬品原料・中間体展、等）に出展（国際展示場：有明）
	「NEDO橋渡し研究プロジェクト」終了

第5章 事業報告の附属明細書

附属明細書に記載すべき事項は、特になし。