

ゲノム創薬・創発フォーラム 第7回シンポジウム
「基礎および治療薬の研究のための最先端オルガノイド技術」

2021年6月28日（月）12:00 - 17:40

ゲノム創薬・創発フォーラムはヒトゲノム解明が進みつつあった1998年に発足したゲノム創薬フォーラムに源流をもちます。2013年には創薬だけでなく様々な医療分野への展開を目指したゲノム創薬・医療フォーラムとなり、2019年より、異なる分野の専門家の議論によるイノベーションを誘発したいという思いが「創発」という言葉に込められ、新たにゲノム創薬・創発フォーラムとして発足しました。

第7回目となる今回のシンポジウムは、「基礎および治療薬の研究のための最先端オルガノイド技術」として企画いたしました。

従来型の創薬研究では、「細胞株や健常人から単離した細胞を用いて *in vitro* の薬効を検証した薬剤を、*in vivo* モデルで評価し、臨床開発候補品を取得する」スキームで、多くの上市品を生み出してきました。このスキームは、「前臨床試験の結果が、ヒト病態において外挿性がある場合」には非常に有効です。しかし、このスキームでアプローチできる標的は限界に近づいてきています。

一方、「オルガノイド」は、培養細胞やスフェロイドに比べ、組織学的・機能的に生体内の器官に近い特徴を有しており、正常組織や疾患組織から構築されたオルガノイドは、各種の基礎および応用研究に活用されて来ています。ヒトの病態環境に存在する多様な細胞集団を疑似することにより、創薬研究の従来の創薬スキームでは取得できない臨床開発候補品の創製にも貢献してきています。

今回は、オルガノイド領域の研究をけん引している大学、ベンチャー、企業の先生方に、以下の専門領域における研究内容を講演して頂く機会を得ました。

- ・iPS細胞由来のオルガノイド自体を薬にする研究
- ・生体由来の幹細胞や病態組織オルガノイドを創薬スキームに活用する研究
- ・疾患 iPS細胞由来のオルガノイドを創薬スキームに活用する研究
- ・オルガノイド研究の現状と今後の可能性

多くの皆様にご参加いただき、専門家との意見交換を通じて、新たな気付き「創発」が得られる会になりますと幸いです。

オーガナイザー

東京大学先端科学技術研究センター シニアリサーチフェロー 油谷 浩幸
アステラス製薬株式会社研究本部 専任理事 小泉 智信

ゲノム創薬・創発フォーラム 第7回シンポジウム
The 7th Symposium of Genome Drug Discovery & Emergence Forum

日時: 2021年6月28日 12:00-17:40 / Time & Date: 12:00-17:40, June 28th, 2021

会場: ウェブ会議 / Venue: Web meeting

主要テーマ: 「基礎および治療薬の研究のための最先端オルガノイド技術」

Main theme: State-of-the-art Organoid Technology for Basic and Therapeutics Research

座長: 東京大学先端科学技術研究センター シニアリサーチフェロー 油谷 浩幸

アステラス製薬株式会社研究本部 専任理事 小泉 智信

Chairs: Hiroyuki Aburatani, MD, PhD, Senior research fellow, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

Tomonobu Koizumi, PhD, Executive fellow, Drug Discovery Research, Astellas Pharma Inc.

12:00-12:05 「開会挨拶」 松島 網治 東京理科大学 生命医科学研究所 教授

“Opening remark” Koji Matsushima, MD, PhD, Professor, Graduate School of Biological Sciences, Tokyo University of Science

12:05-12:10 「開催趣旨」 油谷 浩幸 東京大学先端科学技術研究センター シニアリサーチフェロー

“Organizing purposes” Hiroyuki Aburatani, MD, PhD, Senior research fellow, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

12:10-13:00 1. 「肝臓におけるオルガノイド創薬の展開」 武部 貴則

東京医科歯科大学統合研究機構 教授、横浜市立大 特別教授、シンシナティ小児病院オルガノイドセンター 副センター長、シンシナティ小児病院消化器部門・発生生物学部門 准教授

“Frontiers of Liver Organoid Medicine” Takanori Takebe, MD, PhD, Professor, Institute of Research, Tokyo Medical and Dental University/ Specially appointed Professor, Yokohama City University/Director of Commercial Innovation, Center for Stem Cell & Organoid Medicine (CuSTOM)/Associate Professor, Divisions of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition and Developmental Biology, Cincinnati Children’s Hospital Medical Center

13:00-13:40 2. 「胆汁排泄路を備えた肝臓オルガノイドの開発」 谷水 直樹

札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所組織再生学部門 准教授

“Generation of hepatobiliary organoid” Naoki Tanimizu, PhD, Associate Professor, Department of Tissue Development and Regeneration, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine

Break

13:45-14:35 3. 「iPS細胞を用いた腎疾患に対する病態解析と創薬研究」 長船 健二

京都大学 iPS 細胞研究所増殖分化機構研究部門 教授

“iPS cell technology-based disease modeling and drug discovery for kidney diseases” Kenji Osafune, MD, PhD, Professor, Department of Cell Growth and Differentiation, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University

14:35-15:25 4. 「オルガノイドによるヒト消化器疾患モデル」 佐藤 俊朗

慶應義塾大学医学部坂口光洋記念講座オルガノイド医学 教授

“Modeling human gastrointestinal diseases using organoids technology”

Toshiro Sato, MD, PhD, Professor, Department of Organoid Medicine, Sakaguchi Laboratory, Keio University School of Medicine

15:25-16:05 5. 「がんオルガノイド(F-PDO)を用いた抗がん剤やがん免疫療法の評価システム」

高木 基樹 福島県立医科大学医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 教授/福島医大トランスレーショナルリサーチ機構 副理事長

“Assay Systems using Patient-derived Tumor Organoid (F-PDO) for Evaluating Cancer Drugs and Cancer Immunotherapy” Motoki Takagi, PhD, Professor, Translational Research Center,

Fukushima Medical University, and Vice-chairman, Fukushima Translational Research Foundation

Break

- 16:10–16:45 6. 「Organoid/organ-on-chip 技術の医薬品の研究開発への活用」
手塚 和宏 アステラス製薬株式会社研究本部薬物動態研究所
“Implementation of organoid/organ-on-chip technology in drug discovery and development”
Kazuhiro Tetsuka, PhD, Analysis & Pharmacokinetics Research Labs., Drug Discovery Research, Astellas Pharma Inc.
- 16:45–17:10 7. 「大脳オルガノイド回路の複雑な神経活動」 池内 与志穂
東京大学生産技術研究所 准教授
“Complex neural activity of connected cerebral organoids” Yoshiho Ikeuchi, PhD, Associate Professor, Institute of Industrial Science, The University of Tokyo
- 17:10–17:35 8. 「神経オルガノイドの創薬応用と産業化」 川田 治良
株式会社 Jiksak Bioengineering 代表取締役 共同経営者
“Drug discovery and commercialization of Nerve organoid” Jiro Kawada, PhD, Co-CEO, Jiksak Bioengineering, Inc.
- 17:35–17:40 「閉会挨拶」 小泉 智信 アステラス製薬株式会社研究本部 専任理事
“Closing remark” Tomonobu Koizumi, PhD, Executive fellow, Drug Discovery Research, Astellas Pharma Inc.

肝臓におけるオルガノイド創薬の展開

東京医科歯科大学統合研究機構 教授

横浜市立大学 特別教授

シンシナティ小児病院オルガノイドセンター 副センター長

シンシナティ小児病院消化器部門・発生生物学部門 准教授

武部 貴則

多能性幹細胞(ES, iPS 細胞)や、生検サンプルを活用したプライマリ細胞などを活用し、ヒト器官に類似した組織体を生み出すオルガノイド(Organoid)研究が隆盛を極めている。すなわち、解剖学的・機能的に生体内に存在する器官に近い特徴を示すヒューマン・オルガノイドを用いることで、これまで研究対象とすることが困難であったヒトにおけるさまざまな生命現象に迫ることが可能となった。

本講演では、消化器、特に、肝胆膵システムを対象としたオルガノイド研究を事例に、多能性幹細胞から血管系、間質系、免疫系、ひいては、周辺臓器との連結が付加された複雑化したヒト器官の人為構成技術を概説するとともに、それらを活用することで、明らかとなりつつある臓器発生における新知見を紹介する。免疫系細胞の相互作用を加味したヒト肝臓オルガノイドを活用することで、炎症や線維化などいまままで研究対象とすることが困難であった高度なヒト疾患モデル研究について報告する。さらに、非アルコール性脂肪性肝炎などの個体差の著しい疾患に対し、ゲノム背景の明らかなオルガノイドライブラリーを駆使することで明らかとなりつつある、個体差を加味した疾患・創薬研究事例を紹介する。

以上を通じ、医薬品開発や再生医療応用など臨床医学への実質的還元を目指す新潮流、オルガノイド医学(Organoid Medicine)研究の最前線について議論したい。

胆汁排泄路を備えた肝臓オルガノイドの開発

札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所組織再生学部門 准教授

谷水 直樹

【背景】

オルガノイド培養は Ex vivo で3次元的な組織構造を誘導する手法として広く利用されている。今後、生体内と同様の臓器機能や代謝産物動態を再現するためには、組織間の空間配置や接続部構造を有するオルガノイドを構築する必要がある。我々は、肝臓組織内での胆汁輸送を再現するために、肝細胞が形成する毛細胆管と胆管が接続した新規肝臓オルガノイドの誘導を目指した。

【成果】

新規治療薬の開発や毒性試験に使用可能な培養系を構築するためには、高度な肝細胞の代謝機能の誘導と胆汁輸送の再現が必要である。従来用いられてきた iPS 細胞などの幹細胞からの分化誘導では十分な肝機能誘導が困難であることから、我々は成熟分化する能力を有する成体マウス由来の肝前駆細胞と胆管上皮細胞を共培養することにした。その結果、世界で初めて肝細胞が形成する毛細胆管と胆管を機能的に接続し、胆汁排泄路を備えた新規肝臓オルガノイド Hepatobiliary Tubular Organoid (HBTO) を作成することに成功した。HBTO では、高いアルブミン分泌能や薬剤代謝酵素活性が長期間維持されており、肝細胞が取り込んだ胆汁酸やビリルビンが、生体内の肝組織と同様に肝細胞から胆管へ輸送されることが明らかになった。さらに将来的な治療薬開発や毒性試験への応用を見据えて、ヒト初代肝細胞から誘導されたリプログラミング肝細胞とマウス胆管上皮細胞の共培養を行い、ヒト肝細胞の毛細胆管とマウス胆管が接続した Hybrid HBTO の作成にも成功した。

【今後の可能性】

これまでの肝細胞の培養系では組織構造が再現されていないため、化合物の薬理活性や有効性に関わる重要な項目とされる ADME すなわち吸収 (Absorption)、分布 (Distribution)、代謝 (Metabolism) および排泄 (Excretion) を一括してアッセイすることができなかった。肝細胞代謝産物の組織内動態を反映している HBTO を用いた ADME アッセイ系を構築することで、より生体内に近い環境で薬物毒性を検証することが可能と考えられる。in vitro 試験から動物実験に移行した後の新規薬品開発の中断リスク軽減が期待できる。現在、HBTO を用いた胆汁うっ滞モデルを開発中である。胆汁うっ滞は、薬物障害による肝疾患 (Drug induced liver injury: DILI) を含む多くの慢性肝疾患で見られる病態である。Ex vivo で胆汁うっ滞を再現し、慢性肝疾患の病態解明や新規治療薬開発を可能にすることを目指している。

iPS 細胞を用いた腎疾患に対する病態解析と創薬研究

京都大学 iPS 細胞研究所増殖分化機構研究部門 教授

長船 健二

無限の増殖能と腎臓を含む全身のすべての細胞種への多分化能を有する iPS 細胞(人工多能性幹細胞)が樹立され、細胞移植療法(狭義の再生医療)の開発に加え、難治性疾患に対する疾患モデル作製研究(disease modeling)が可能となった。それは、疾患発症に関わる遺伝情報を有する疾患特異的 iPS 細胞を樹立、in vitro において罹患細胞種に分化誘導することによって病態を再現する系を構築し、詳しい病態解析や創薬を行う研究のことである。従来の実験動物を用いた in vivo 疾患モデルと相補的に活用できるヒト細胞を用いたより簡便な in vitro 疾患モデルとして期待を集めている。

演者らは、難治遺伝性腎疾患である常染色体優性多発性嚢胞腎(autosomal dominant polycystic kidney disease; ADPKD)の患者由来 iPS 細胞株と CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集技術を用いて健常者由来 iPS 細胞株において ADPKD の原因遺伝子 PKD1 に変異を導入した ADPKD 特異的 iPS 細胞株を樹立した。そして、ヒト iPS 細胞から胎生腎前駆細胞であるネフロン前駆細胞を経てネフロンオルガノイドに分化させることによって、腎嚢胞形成を再現する病態モデルの作製に成功した。さらに、ADPKD の治療薬候補化合物が嚢胞形成の抑制効果を示すことより、本モデルが治療薬探索に使用できる可能性を確認し、現在、ADPKD に対する創薬スクリーニングを実施している。

また演者らは、ヒト iPS 細胞から集合管オルガノイドを分化誘導する方法を確立し、ゲノム編集技術によって遺伝子変異を導入した iPS 細胞株を集合管へ分化させることで多嚢胞性異形成腎(multicystic dysplastic kidney; MCDK)などの先天性腎尿路異常(congenital anomalies of the kidney and urinary tract; CAKUT)の病態モデル作製にも成功した。

本発表では、演者らの研究結果をはじめとして、ゲノム編集技術と iPS 細胞由来腎オルガノイドを用いた難治性腎疾患に対する疾患モデル開発と創薬研究の現状と今後の展望について提示したい。

オルガノイドによるヒト消化器疾患モデル

慶應義塾大学医学部坂口光洋記念講座オルガノイド医学 教授

佐藤 俊朗

シーケンス技術の進歩によりヒト疾患のゲノム研究が急速に進んだ。一方、ゲノム異常がどのようにして、臨床で観察される疾患形質につながるのだろうか？ これまでの医学生物学研究では、こうしたゲノム異常と疾患形質の関連付けはマウス遺伝子改変モデルによって進められてきた。しかしながら、ヒト腫瘍疾患の多くは複雑なゲノム異常を有し、その再構築はしばしば困難である。また、種差を超えた疾患再現には限界がある。近年のオルガノイド培養技術の開発と CRISPR-Cas9 によるゲノム編集技術によって、こうしたヒト疾患研究におけるボトルネックが打開されつつある。

オルガノイド技術は、組織幹細胞の維持に寄与するニッチ因子を組み合わせることにより、組織幹細胞を生体内に近い環境で培養する技術である。オルガノイド培養は、マウス小腸上皮の培養法として開発され、その後様々な臓器、あらゆる種の動物に応用されてきた。さらに、ヒトの正常組織および疾患組織の培養に応用され、疾患組織の生物学的な振る舞いを容易に観察することが可能になった。また、ゲノム編集技術の応用によって疾患関連遺伝子異常を正常組織細胞に導入することができるようになり、従来の遺伝子改変マウスモデルとは異なるヒト組織細胞による Genotype-Phenotype 関連の研究手法が確立された。こうした疾患組織モデルとゲノム編集オルガノイドを両輪とする研究アプローチにより、ヒト疾患研究は新機軸を迎えた。

本講演ではオルガノイド技術の開発から疾患組織研究によって得られた洞察を基にし、最新の研究成果を発表したい。

がんオルガノイド(F-PDO)を用いた抗がん剤やがん免疫療法の評価システム

福島県立医科大学医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 教授

福島医大トランスレーショナルリサーチ機構 副理事長

高木 基樹

我々は、がん組織の状態を反映した抗がん剤評価モデルの開発を行うために、患者のがん組織から長期培養が可能ながんオルガノイド (patient-derived tumor organoid, PDO)の作製を進めている。我々の研究における“PDO の樹立”とは、長期培養が可能であることに加えて、網羅的遺伝子発現解析により元のがん組織と、作製したモデルの遺伝子発現プロファイルの類似性の高さを指標に樹立の可否を判断している。現在までに、PDO モデルを 100 系統程度作製しており、F-PDO®と名付け、製薬企業やアカデミックの研究者に提供している。

本講演では、最初に F-PDO のがん組織との類似性などの特徴やハイスループット評価システムを用いた抗がん剤の評価データを紹介する。さらに、F-PDO を用いた免疫応答による細胞傷害性を検出する評価システムにフォーカスして紹介する。現在、様々な腫瘍に対して、顕著な有効性を有する新規のがん免疫療法が臨床利用・研究開発されている。このため、生体内を模倣した免疫細胞と腫瘍細胞の複雑な相互作用をモデル化し、様々な免疫療法や抗体医薬の有効性を簡便かつ迅速に試験できる in vitro アッセイ法の開発が急務となっている。そこで、固形腫瘍由来 F-PDO を用いて、抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC 活性)、細胞傷害性 Tリンパ球やナチュラルキラー細胞などのエフェクター細胞による細胞傷害活性、がん免疫チェックポイント阻害活性等の評価系を構築した。

これらの結果から F-PDO を用いた in vitro 評価システムは、高い再現性と簡便なワークフローで、がん免疫に作用する抗がん剤や免疫療法の評価が可能であることを示した。今後、F-PDO の共培養アッセイ系や Tumor-on-a-Chip への活用を行い、さらなるがん免疫に関連するアッセイ系の構築を目指している。

[参考文献]

1. Tamura H, *et al.* Evaluation of anticancer agents using patient-derived tumor organoids characteristically similar to source tissues. *Oncol Rep.* 40, 635–646 (2018)
2. Takahashi N, *et al.* An in vitro system for evaluating molecular targeted drugs using lung patient-derived tumor organoids. *Cells*, 8, 481 (2019)
3. Takahashi N, *et al.* Construction of in vitro patient-derived tumor models to evaluate anticancer agents and cancer immunotherapy. *Oncology Letters*, 21: 406 (2021)
4. Higa A, *et al.* High-Throughput In Vitro Assay using Patient-Derived Tumor Organoids. *J Vis Exp.*, in press (2021)

Organoid/organ-on-chip 技術の医薬品の研究開発への活用

アステラス製薬株式会社 研究本部 薬物動態研究所

手塚 和宏

Organoid や organ-on-chip は 2010 年代後半のライフサイエンス分野のホットトピックである。例えば organoid は Nature Method 誌の Method of the Year in 2017 に選出されており¹⁾、organs-on-chips は世界経済フォーラムが公表する 2016 年の世界 10 大新興技術に選出されている（因みに、他の新興技術としてブロックチェーンや自律走行車などが挙げられている）²⁾。これらのテクニカルタームがより一般的になったことから、「organoid と spheroid の違いは何か?」、「organ-on-chip と microphysiological system の違いは何か?」、あるいは「organoid を使って organ on chip を作れるのか?」といった議論が派生している。そこで本発表では、製薬企業に在籍している研究者がこれらの技術をどのようにとらえているかを整理した上で、これらが創薬のどのような課題を解決できると期待しているかについて、社内外の実施例と共に紹介する。

【Organoid/organ-on-chip の定義】

演者らは、organoid や organ on chip などを個別に定義する代わりに、3D 培養モデルや microphysiological system を内包する形で「再構築ヒト臓器モデル」と定義している。いうなれば、ヒト臓器のレスポンスを（部分的に）とらえることが可能な ex vivo モデルと表現できるだろう³⁾。一方 FDA は“alternative method working group”の中で microphysiological system の定義をウェブサイトで公開しており、今後この定義が軸となるかもしれない⁴⁾。

【Organoid/organ-on-chip の活用法】

現在、例えば肝臓や腎臓、消化管などの organoid/organ-on-chip が開発されている。これらは医薬品や医薬品シーズの体内動態、安全性、有効性（作用機序の検証）に活用できる可能性がある。製薬企業で実施されている医薬品の研究開発プロセスの個別の課題に対して適切に活用することで、新薬を患者さんに早く安全に届けることができるようになると期待される。

参考資料

- 1) Nat. Methods, 15, 1 (2018).
- 2) World Economic Forum. “These are the top 10 emerging technologies of 2016.”: <<https://www.weforum.org/agenda/2016/06/top-10-emerging-technologies-2016/>>, accessed June 1st, 2021.
- 3) Biol. Pharm. Bull. 43, 375–383 (2020).
- 4) FDA. “Advancing Alternative Methods at FDA.”: <<https://www.fda.gov/science-research/about-science-research-fda/advancing-alternative-methods-fda>>, accessed June 1st, 2021.

大脳オルガノイド回路の複雑な神経活動

東京大学生産技術研究所 准教授

池内 与志穂

ヒトの脳は、情報の分散と統合をくりかえして処理し、高次の機能を達成する。脳を構成する神経細胞の層などの局所的な機能ユニットは、単体では高次機能を発揮できないし、単純に並列に並べただけでも高次機能を獲得できないが、これらが互いに複雑につながりあうことではじめて脳の機能を発揮できる。すなわち、脳内の一つの領域から伸びた軸索が他の領域につながり、巨視的な神経回路(ネットワーク)を構築することが、脳が能力と機能を獲得するために最も重要な要素の一つであると言える。これは、他の臓器にはみられないユニークな脳の特徴である。近年脳オルガノイド研究が発展し、ヒトの脳の発生、疾患、機能を調べる新たな手段を提供しているが、局所的な構造や回路を模倣するものであり、巨視的神経回路を真似することができなかった。

当研究室では organoid-on-a-chip 手法を用いて脳オルガノイドから伸びる軸索を制御し、体内の巨視的回路を模倣する方法を開発してきた。本セミナーでは、技術の概要と、軸索で接続して巨視的神経回路を模倣したヒト大脳オルガノイドの神経活動について報告する。従来のオルガノイドに比べて、接続されたオルガノイドは、より強く、複雑な振動活動を生じた。また、光遺伝学的な操作により、接続されたオルガノイドは、外部刺激に見られる時間的パターンを時間を追って再現することができ、接続されたオルガノイドは時間的な記憶を形成し保持することができる。

接続した脳オルガノイドは、ヒトの脳の巨視的な回路の役割を調べるための強力なツールになることと、疾患モデルとしての可能性を秘めていることについて議論したい。

神経オルガノイドの創薬応用と産業化

株式会社 Jiksak Bioengineering 代表取締役

川田 治良

神経変性疾患は、神経細胞が死滅し、減少することによって神経系の機能が蝕まれる病気である。代表的な神経変性疾患として Parkinson 病・Huntington 病・Alzheimer 病・筋萎縮性側索硬化症(ALS)・Charcot-Marie-Tooth 病などが知られており、それぞれの疾患において異なる種類・部位の神経細胞が選択的に死滅するが、特定の神経が死滅する理由は十分に理解されていない。疾患の発症メカニズムを明らかにし、ターゲット分子を同定することが、治療開発への近道であると考えられている。いまだ神経変性疾患を根本的に治癒できる薬の開発には至っておらず、新たなアプローチによる研究が期待されている。

弊社では、iPS 細胞由来神経細胞のスフィアと軸索束組織が一体となった神経オルガノイドと呼ばれる培養技術を用いて、ALS 創薬に応用している。主に、社内プロジェクトでは神経筋接合部(NMJ)と呼ばれる運動神経と骨格筋を結ぶシナプスの強化する治療薬開発を進めている。

神経オルガノイドの軸索束組織自体を移植し、末梢神経損傷に対する再生医療技術を開発するプロジェクトも進行しており、神経オルガノイド技術を様々な新しい分野へ応用している。

本イベントでは、進行中のプロジェクトの紹介やアカデミアと進めている神経オルガノイドを用いた病態解析などの共同研究の紹介を行う。