

Shonan iPark

Science SJ Journal

湘南アイパーク
サイエンス・ジャーナル



湘南アイパークテナント各社のボランティア研究者により、2019年7月に湘南アイパークサイエンスカフェが設立されました。第1期では、それぞれの専門分野の領域と関連する最新のサイエンティフィックプレゼンテーションを、自己紹介を兼ねつつ、企業サイエンティストが発表いたしました。

この冊子は、第1期での発表内容をそれぞれ1ページにまとめたものにメンバーによるサイエンティフィックレビューを併せて、湘南アイパークサイエンスカフェの活動記録として発行し、湘南アイパーク内外へ配布します。私たちの活動記録であるこの冊子を通じて、湘南アイパークのサイエンス深化やネットワーキング、新たなイノベーションの創成にさらに貢献することが私たちの願いです。

Shonan Health Innovation Park
湘南ヘルスイノベーションパーク

〒251-8555 神奈川県藤沢市村岡東二丁目26番地1
E-mail: shonan-health-innovation-park@takeda.com
Website: <https://www.shonan-health-innovation-park.com/>



**Shonan iPark
Science Café**
Website QR code



ご挨拶 ■■■

2019年7月、湘南アイパークに勤務する研究者によって設立された湘南アイパークサイエンスカフェは、2020年1月現在、発表回数も20回を超え、発表者や参加者のみなさんのサイエンス上の成長や、会社間の垣根を超えたサイエンスコミュニティの醸成に貢献して参りました。本冊子は、「湘南アイパークサイエンスカフェ」でメンバーが発表した内容をそれぞれ1枚にまとめたものに、サイエンティフィックレビューを合わせて創刊しました。まさに私共のボランティア活動をみえる「カタチ」にしたもので、湘南アイパークサイエンスのさらなる深化に本冊子が貢献することを切に願っています。創刊にあたり、多くのご負担をお掛けするにも関わらず快く引き受けてくださったメンバーのみなさんには心より御礼申し上げます。なお、本冊子の内容は、それぞれのメンバーが所属する会社の活動とは一切関係がありません。

湘南アイパークサイエンスカフェ・代表 野上 真宏

湘南アイパークサイエンスカフェの取り組みが1つの冊子にまとまった事、大変うれしく思います。本取り組みは、多岐に渡るライフサイエンス分野の進捗をまとめている事に加え、湘南アイパークに所属する各テナント企業の研究員が「どういうバックグラウンドで何に関心を持っているのか」を見える形にしたという点で、大変意義深いものだと感じています。いかなる場合においても、良いパートナーシップを築くためには「互いをよく知ること」が欠かせません。本冊子が、専門性や所属団体の異なる研究員間の“相互理解”を深め、新たなライフサイエンス領域の発展そして患者さんを救う革新的な創薬・医療創出の一助になる事を期待しております。

湘南アイパークサイエンスカフェ・副代表 小笠原 彬

昨年5月、湘南アイパーク1周年記念フォーラムで開催されたピッチ大会で、武田薬品の研究者・野上真宏さんが、サイエンスカフェの開催を提案されました。ひとりの研究者が600人の聴衆を前に呼びかけて始まったこの定例会は、次々と輪を広げ、現在では9社38人のメンバーを擁するコミュニティとなっています。「アイパークが掲げる『響き合え、科学。』という言葉に共感して、思い切って提案しました」とうかがい、サイエンスの響き合う場が実現したことを、あらためて嬉しく思いました。週に1度、企業を超えて集い、サイエンスを愉しむ研究者のエネルギーが、きっといつか、ヘルスイノベーションを世界に送り出す原動力になると信じて、アイパークはこれからも、研究者の皆様のサイエンスを応援していきたいと思えます。

湘南アイパーク 日比野 はるか



目次

はじめに

1. 「ご挨拶」湘南アイパークサイエンスカフェ・代表 野上 真宏
2. 「ご挨拶」湘南アイパークサイエンスカフェ・副代表 小笠原 彬
3. 「ご挨拶」湘南アイパーク 日比野 はるか

サイエンティフィック・レビュー

1. 「Geroscienceの視点から見た創薬と予防医療の展望」小笠原 彬
2. 「Digital Therapeuticsを用いた疾患治療介入における最近の潮流」新名 芳有

第1期 発表内容

1. 「核内TDP-43の消失は、LINEレトロトランスポゾンコードクロマチンの脱凝集と関連する」
2. 「シングル核RNAシーケンスから明らかとなった変異モザイクを持つレット症候群患者の脳組織の特徴」
3. 「高密度CMOS-MEAおよび多電極brain machine interface (BMI)の進捗とその応用」
4. 「iPS細胞を用いたヒトのニューロンの動態およびダウン症候群のin vivoモデルの確立」
5. 「脳オルガノイドによるヒト大脳皮質と同一の細胞多様性の再現」
6. 「神経回路の非侵襲的制御のための音響標的的化学遺伝学」
7. 「In vivoで分子認識能を有するDNAナノロボットによるドラッグキャリアとしての可能性」
8. 「遺伝子に潜在的にコードされるmodifier geneで、筋ジスが根治される可能性」
9. 「小児注意欠陥・多動性障害又は成人多発性硬化症に対するデジタル治療介入の概念実証研究」
10. 「オフターゲット毒性は、臨床試験中の抗がん剤に共通した作用メカニズムである」
11. 「レーバー先天黒内障10型の視力喪失を改善するためのin vivoゲノム編集治療」
12. 「ヒト脳皮質オルガノイドの機能を測定する」
13. 「まばたきするヒトの眼表面モデルによって示されたドライアイ治療薬開発の可能性」
14. 「老化に伴うミクログリアの貪食機能低下は、CD22の抑制で改善する」
15. 「血液脳関門透過性ナノ免疫複合体は神経膠腫治療のための局所的免疫応答を誘発する」
16. 「PCDH15およびRELNのコピー数変異を伴う患者由来の人工多能性幹細胞を使用した
双極性障害および統合失調症のin vitroモデリング」
17. 「CRISPRiに基づくヒトiPSC由来ニューロンにおけるマルチモーダル遺伝的スクリーニング」
18. 「なぜ遺伝子操作モデル動物で期待した表現型が得られないのか？」

編集後記

Geroscienceの視点から見た 創薬と予防医療の展望

小笠原 彬（田辺三菱製薬株式会社）
✉ ogasawara.akira@ma.mt-pharma.co.jp

はじめに

加齢に伴い、多くの疾患・死亡のリスクは指数関数的に上昇する事が示されている。こうした事実に基づき、老化自体を種々の疾患に共通する主要な危険因子と見なし、老化現象へ介入する事で複数の慢性疾患の発症を予防・遅延させようという“Geroscience仮説”が提唱されている¹⁾。老化という現象は非常に複雑であるものの、特に重要と考えられる特徴が“The hallmarks of aging”としてまとめられ²⁾、体系的な理解が進みつつある。また、老化研究の知見に基づき疾患治療を試みる例も複数出てきている³⁾。そこで本稿では、「老化研究が、どのように疾患治療・予防へ応用されようとしているのか」という視点で現況を概説したい。

老化研究に基づく疾患治療アプローチ

老化現象への介入手段には大きく分けて「1. カロリー制限に関するPathwayへの介入」、「2. 血中老化促進因子/抑制因子への介入」、「3. 老化細胞への介入」の3つの方法が知られている。各介入手段についてそれぞれ以下に紹介する。

1. カロリー制限に関するPathwayへの介入

初期の老化研究における重要な発見として、1939年にMcCayらによって報告されたカロリー制限という現象が挙げられる。栄養不良にならない程度に摂取カロリーを制限する事で寿命が延長するというこの現象は、齧歯類・酵母・線虫などの様々な生物種で共通して確認されている³⁾。霊長類（アカゲザル）についてはWisconsin大学と米国国立研究所（National Institute on Ageing：NIA）で相反する結果が得られていたものの、再解析により「中高年からのカロリー制限により寿命が延びる」という統一見解が2017年に出された⁴⁾。注目すべき事に、カロリー制限は寿命を延長させるだけではなく老化関連疾患の発症を抑え³⁾、健康寿命延長にも貢献する。実際、アカゲザルでは、カロリー制限群でがん発生率が15-20%ほど低く、糖尿病や脳卒中などの老化関連疾患の発症も遅い⁴⁾。1980年代後半以降、突然変異体などの解析を通してカロリー制限に関わるPathway・因子の解析が急速に進み、Insulin/Insulin様経路・mTOR 経路・Sirtuinなどが主要なものとして同定されてきた。特にmTOR阻害剤RapamycinやSirtuin-activating compounds (STACs) は、カロリー制限模倣化合物として、健康寿命の延長効果が種々の生物モデルにおいて報告されている³⁾。

1-1. Rapamycin

Rapamycinによる寿命延長効果は、遺伝的背景の異なるマウスの寿命延長効果を指標にNIAが実施した介入試験プログラム（Interventions Testing Program：ITP）で見出された⁵⁾。Rapamycinが中年期からの介入でも雌雄

問わずマウス寿命を延長させる事および複数の加齢疾患を遅延させる事は、注目に値する。免疫抑制作用やインスリン抵抗性などの副作用懸念から、ヒトへの使用については慎重を要す声もあるが「①既に認知機能低下などが起き病態が進行したアルツハイマー病モデルマウスでも症状の改善報告が複数出ている事」、「②高齢者に投与した場合でも比較的軽微な副作用しか報告されていない事」、「③アルツハイマー病と関連が深い老化を遅延させる働きがある事」を踏まえ、Rapamycinを用いて軽度～中程度のアルツハイマー病患者への臨床試験実施を強く提言する報告が出されている⁶⁾。また、市民科学者（citizen scientists）と連携し、研究室ではなくヒトと同じ生活環境内において、Rapamycinによるイヌの寿命延長効果を検証するDog Aging Projectが米国で進行中である。

1-2. Sirtuin-activating compounds (STACs)

Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD+) 依存型脱アセチル化酵素であるSirtuinにはSIRT1-7の7種類があり、酵母で寿命延長効果を持つ事が見いだされたSir2と最も相同性の高いSIRT1が特に精力的に研究されている。赤ワイン中のポリフェノールであるレスベラトロールのSIRT1活性化作用が報告されて以降、発見者であるDavid Sinclairらが設立したSirtris Pharmaceutical（2008年GlaxoSmithKlineに買収、2013年に閉鎖）により、種々のSIRT1活性化剤（STACs）が報告された。Pfizer からスクリーニングアッセイ系の妥当性について疑問を呈する声も出たものの「SIRT1にアロステリックに作用して、基質への親和性を上げる」というSTACsの詳細なSIRT1活性化機構が解明されたことで⁷⁾、偽陽性への懸念は払拭されたように思われる。最も有望とされていた化合物SRT2104は14の臨床試験が行われ、2000mgまで忍容性があり、血中のコレステロール・LDL・トリグリセリド値を下げる事などが報告されている。一方で種々の臨床試験結果から、この化合物は経口投与時に薬物動態上の課題があり、暴露量の低さとそれに伴う患者間でのバラツキの大きさが課題として認識されるようになった。例えばII型糖尿病患者に対して行われた臨床試験では、脂質パラメーターの改善は認められたものの、薬物動態上の課題により血糖及びインスリンコントロールの改善までは確認できていない。また中程度～重篤な乾癬患者を対象にした臨床試験では、薬剤応答性のある患者において乾癬関連遺伝子の発現変動が認められたものの、薬物動態上の課題が同様に示されている。薬物動態パラメーターの改善または局所投与に適した物理化学パラメーターの改善による次世代型STACsの開発が期待されるところである⁸⁾。

2. 血中老化促進因子/抑制因子への介入

1950年代後半から1960年代にかけて、2匹の齧歯類の腹部を切開し皮下レベルで手術的に縫合する事で、両個体の循環体液を混合して共有させるparabiosis（並体結合）という実験が盛んに行われた。例えばob/obマウス（肥満マウス）と正常マウスをparabiosisで繋げる事でob/obマウスの食欲がほぼ正常化された事を受け、「ob/obマウスは食欲を低下させる血中因子が欠けているのではないか」という事が示唆された。現在、その血中因子はレプチンとして知られている。老齢動物と若齢動物をparabiosisで結合する実験も1950年代に行われていたものの、20世紀の後半では一部の地域を除き研究が盛んに行われているとは言い難い状況であった。しかし、2005年にStanford大学のThomas A. Randoらが「老齢マウスにおける筋肉・肝臓の前駆細胞の活性は、若齢マウスとのparabiosisで改善する」と報告して以降⁹⁾、老化関連液性因子の同定を求めてparabiosisを用いた研究が活発化した。例えばTony Wyss-Corayらのグループは、CCL11やβ2-microglobulinが中枢神経の再生能低下に関わる血中老化促進因子である事を報告している^{10),11)}。Tony Wyss-Coray氏が共同設立したAlkahest社は、加齢に伴い血中で変動する因子をchronokinesと称し、それに関する臨床開発を実施している。2019年12月現在、加齢に伴い増加するEotaxinのreceptorであるCCR3の阻害剤を用いた滲出型加齢黄斑変性症治療や、加齢に伴い減少するchronokineを血漿の特定画分で補う認知症治療が、臨床試験中である。

3. 老化細胞への介入

正常なヒト線維芽細胞が、一定期間培養されると老化細胞になり増殖能を失う事は「ヘイフリックの成長限界」として世に広く知られている。長年、細胞老化と個体老化の関連は不透明であったが、老化細胞による炎症性サイトカインや細胞外マトリックス分解酵素などの分泌現象 (senescence-associated secretory phenotype : SASP) が高齢者の慢性炎症状態や老年疾患発症に関与している可能性などを受け、両者が関連していると考えられるようになってきた¹²⁾。この考えを決定付けたのが、Jan M. van Deursenらによる「老化細胞を選択的に除去する事でマウスの健康寿命が延びた」という報告である^{13),14)}。彼らは細胞老化マーカーであるp16INK4aプロモーターの下流にFK506-binding-protein-caspase 8 (FKBP-Casp8) を組み込んだマウスを作製した。このマウスにFKBPのリガンドである合成化合物AP20187を投与する事で、p16INK4a陽性の老化細胞でのみCasp8を二量化させ、細胞死を引き起こしている。初期に出た早老症マウスでの報告とその続報である野生型マウスでの報告は、共にScience誌におけるブレークスルー・オブ・ザ・イヤーのRunners Upに選ばれており、これら一連の研究がいかに画期的であるかを物語っている。こうした研究を受け、老化細胞を選択的に排除する薬剤 (Senolytics) の探索が近年盛んである。老化細胞が一般的にアポトーシス耐性である事からその耐性解除が期待できる化合物の探索が進められ、dasatinibとquercetinの発見に始まり、Bcl-2阻害剤などがSenolyticsとして挙げられた¹⁵⁾。Senolyticsを用いた臨床試験も行われ、例えばdasatinibとquercetinを糖尿病性腎症患者に投与した試験では、脂肪組織における老化細胞の除去やIL-6などのSASP減少が確認されている¹⁶⁾。さらにUnity Biotechnology社は変形性関節症患者に対してMDM2/p53のタンパク質間相互作用を抑制する Senolytics の臨床試験を実施中である。

老化研究における課題

寿命が2年程度のモデルマウスであれば、生存寿命や健康寿命をアウトプットとして老化への介入効果を検証する事も不可能ではないが、マウスに比べて数十倍長い寿命を持つヒトで同様の指標を採用する事は非現実的である。すなわち、老化に対するバイオマーカーの欠如が老化研究における大きな課題の1つであると考えられるが、近年こうした課題に向けていくつかの取り組みが進行中である。バイオマーカー探索に関する近年のトピックを以下に2つ紹介する。

1. Targeting Aging With Metformin (TAME) 試験

Geroscience仮説を検証するために、モデル動物で寿命延長効果が確認されヒトでも糖尿病薬として使用実績のあるメトホルミンを用いた介入試験 (TAME試験) が提唱されている。この試験では老齡疾患 (心筋梗塞/脳卒中/うっ血性心不全/認知症/癌) 発症または死亡までの期間を主要評価項目、広範な文献調査に基づき選抜されたバイオマーカー候補因子の測定を副次評価項目に置いている。バイオマーカー候補の選抜には、堅牢性、再現性、アッセイの簡便さ、老化現象を反映しているか、ヒトでの介入効果が確認されているか、などの指標が用いられており、こうした選抜過程は今後のバイオマーカー探索においても大いに参考になる¹⁷⁾。

2. Artificial Intelligence (AI)

Bioage社やInsilico Medicine社など、ゲノミクスや AI、ビッグデータ解析を統合して老化バイオマーカーを探索する企業が複数出つつある。Insilico Medicine社は既に血中パラメーター・人種・喫煙歴から個々人の生物学的年齢を予測するAging AIツールを作成し、公開している。同社が出した文献では、血液パラメーターに加えて画像データやトランスクリプトーム、プロテオーム、DNAメチロームなども統合的に踏まえて薬剤の介入効果を測定する将来像が描かれており、その実現へ向けて研究が進展していくと考えられる¹⁸⁾。

おわりに

老化現象そのものは疾患と見なされていないものの、老化研究に基づく様々な知見がヒトの疾患治療に活用されつつある。またTAME試験においては、試験成功時に複合的な老化関連疾患の予防に関して適応取得が認められるようFDAと協議が進められており、老化関連疾患の予防を目的とした新たなFDA適応への道が開ける可能性がある。将来的に研究が進み老齡疾患バイオマーカー (群) が同定され、それらを指標に、製薬企業が未病に対する“予防医療”に本腰を入れ、Productive Agingな社会の実現が期待される。

引用文献

- 1) Cell, 2014, 159, 709-13
- 2) Cell, 2013, 153, 1194-217
- 3) Nature, 2019, 571, 183-192
- 4) Nat Commun, 2017, 8, doi: 10.1038/ncomms14063.
- 5) EBioMedicine, 2017, 21, 3-4
- 6) Sci Transl Med, 2019, 11, doi: 10.1126/scitranslmed.aar4289.
- 7) Science, 2013, 8, 339, 1216-9
- 8) Pharmacol Ther, 2018, 188, 140-154
- 9) Nature, 2005, 433, 760-4
- 10) Nature, 2011, 477, 90-94
- 11) Nat Med, 2015, 21, 932-937
- 12) J Cell Biol, 2011, 192, 547-56
- 13) Nature, 2011, 479, 232-6
- 14) Nature, 2016, 530, 184-9
- 15) J Am Geriatr Soc, 2017, 65, 2297-2301
- 16) EBioMedicine, 2019, 47, 446-456.
- 17) Geroscience, 2018, 40, 419-436
- 18) Ageing Res Rev, 2019, 49, 49-66

Digital Therapeuticsを用いた 疾患治療介入における最近の潮流

新名 芳有（武田薬品工業株式会社）

✉ yoshiari.shimmyo@takeda.com

序論

最近Digital Therapeutics (DTx) と呼ばれる疾患治療手段が注目を浴びている¹⁾。これらはInternal Medicine (IM) 以外の治療介入方法の一つとして分類され、医療用機器の枠組みに包含されているがそれだけにとどまらない。米国では2年前の2017年にDigital Therapeutics Alliance (DTA) が組織され、業界横断的に知見を積み重ねている²⁾。一般的にデジタル医療介入としてイメージされるようなChat bot型(自動対話型)の服薬管理アプリなどとは一線を画し、DTxは「積極的な治療手段の提供」が目的である。当然そこには医師による処方と厳格な規制が存在し、医薬品と同様のビジネスモデルが存在する。本稿では 規制当局からの承認を経て市場導入することを目的としたDTx、即ちPrescription DTxの概観、具体例、応用例、適応範囲とビジネスモデル、そして従来型の医薬品との異同、そして今後の課題について総説したい。

背景

DTxの応用は広い疾患領域で試みられている³⁾。例として、高血圧症や糖尿病といった循環代謝領域⁴⁾、禁煙⁵⁾、喘息⁶⁾、大うつ病⁷⁾、脳梗塞⁸⁾や睡眠関連疾患を含む精神疾患領域など⁹⁾多岐に渡る。この内いわゆる中枢神経疾患に対する適応症としては物質依存症、大うつ病、統合失調症、注意欠陥多動性障害(ADHD)等の精神疾患群や多発性硬化症といった神経変性疾患などが挙げられる。これらの疾患はIMによる介入効果が限定的で、いわゆる副作用課題が大きいことが知られている。

一方、日米欧医薬品規制当局の承認要件(基準)は明確で、一次エンドポイントとして設定する各種臨床的スコアリングの統計学的有意な改善を確認できれば一義的に承認を獲得出来ると考えられ、DTx介入の承認要を得るための各種治験が実施されている³⁾。またDTxの研究開発企業群は製薬企業と同様、社内に基礎研究所や臨床開発部門等のR&D組織を有していることが多く、一般的なアプリ開発企業とは一線を画していることが多い。またこれらの企業の創業者や従業員の多数は製薬企業経験者であり、後述するグローバルメガファーマとの提携件数が多いことにも繋がっている。

以下、治験段階や研究段階、そして既に承認を取得した代表的なDTx群について概観し、その特徴とアプローチの新規性、課題について論じたい。

各適応症に対するDTx開発企業の代表例と製品(候補)群

市場導入された製品もしくは治験中のDTxにおける代表例を挙げる。このうち既存医薬品と比較した試験結果、または治験における“治療効果”が英文査読誌上に公開されているものについて、その詳細を紹介する。

1. 物質依存症

Pear Therapeutics社 : reSET®、reSET-O®

オピオイド及びアルコール等の物質依存症に対する行動変容治療である。User Interface (UI) はChat Bot型と日常生活習慣記録型の組み合わせであり、疾患の特徴である依存対象への日々の渴望を制御することに主眼を置いて設計されている^{10),11)}。このうちreSET®に関してはアルコールを含む物質依存症治療に適応とし、世界初のFDA承認を得たDTxとして注目を浴びた。続くreSET-O®に関してもオピオイド依存症に特化し、同じく承認を獲得している。治療セッション期間はreSET®で一律90日間、reSET-O®で84日間であり、その適応症の特徴から治療対象年齢は18歳以上との制限がかけられている。

当社に関しては2018年前半にNovartis Pharmaが提携を発表し、現在治験段階にあるその他のアセットに関しても開発及び販売提携権を有するパートナーリングを締結している。

2. 糖尿病

Virta Health社 : Virta®

II型糖尿病を適応としたDTxであり、空腹時血糖とHbA1cを減少させる効果を示した¹²⁾。また10週間の治療継続で7%、1年間の継続で12%の体重減少も認めている¹³⁾。また記録データを基に、全米の糖尿病治療拠点での問診対応を予約制で実施可能な点も興味深い。UIはChat Bot型であり月額課金制(約250\$) を特徴とする¹⁴⁾。

3. 喘息・COPD

Propeller Health社 : Propeller for Asthma & Propeller for COPD

DTx単体で治療する上記2種と異なり、吸入ステロイドとの組み合わせで使用する¹⁵⁾。

毎日の外気温、室内気温、湿度やベースの体調を自身で記録し、使用した吸入剤の用量と回数が自動的にデータ転送される吸入デバイスを接続して利用する¹⁶⁾。発作頻度が可視化され、特徴を患者自身が把握することによりステロイド吸入回数を減少させることを意図している。基本的にはかかりつけ医が処方し、蓄積データも医師が観察することで処方薬の増減を円滑に実施する製品であるため厳密にはDTxには分類されないがデジタル治療薬として一定のポジショニングを築いている。

4. 小児 ADHD

Akili Interactive社 : AKL-T01 Revo®

アドベンチャーゲーム様のUIをベースとする子供向けADHD治療用DTx。継続性を担保しつつ「楽しく治療する」フォーマットを有することが特徴である。一群170症例をエンロールした28日間、一日一回使用の治験において、他のゲーミングソフト(Active control)と比較し統計学的有意な臨床スコア(T.O.V.A)改善を認めた。Metadoxine錠といったADHD適応を狙う医薬品候補と比較した際、遜色ない改善効果を導いている(T.O.V.A スコア=Metadoxine 2.4pt改善、AKL-T01 3.1pt改善)^{17),18)}。また、他のDTx群とは異なりChat bot型でも服薬管理/記録型でもないタイプで、日本においては塩野義製薬との共同治験が実施されている。

5. 多発性硬化症

Akili Interactive社 : AKL-T01 Revo®

上記と同じDTxであるが神経変性疾患の一種である多発性硬化症を適応として臨床研究が進められている。治験時に汎用される臨床スコアであるBICAMSにおける、視覚性処理速度と作業記憶を想定するサブグループSDMTにおいて治療開始前(ベースライン)群と比較し統計学的有意な改善を認めた¹⁹⁾。一方、言語性処理能力では有意な差が確認されないなど、MOAとしては病態の本質を修飾するものではなく脳のある部位特異的な賦活作用が示唆されるものである。

6. 禁煙

CureApp社 : CureApp禁煙®

日本発のDTx研究開発企業であるCureApp社により市場導入が図られている製品。禁煙外来との協働が基本となり、体調やニコチン渴望を患者自身が記録する²⁰⁾。心理的依存の治療を目指し慶應義塾大学医学部呼吸器内科と共同開発中である。医療現場への浸透を図るとともに、一般企業の禁煙プロモーションに展開している。なおCureApp社は、誰でも使用できる一般用アプリの形態を有するascure®卒煙モバイルプログラムなどのラインナップを揃え、医療用DTxと一般市場普及型アプリの両面の製品群を有するという企業特徴がある。

開発プラットフォームの整備と標準化

Prescription-DTx開発において特筆は、既にFDAから一種のお墨付きを得た企業（開発ベンダー）が複数指定され、彼らが治験に導入する製品候補に関してはpre-certificateプログラム（Pre Cert）が適応されることにある。現在までに9社（Apple、Fitbit、Johnson & Johnson、Pear Therapeutics、Phosphorus、Roche、Samsung、Tidepool、Google傘下のVerily）がFDAから本認定を受けており、これらの開発企業群から生まれる新たなDTxは、その開発環境、製品の信頼性が既に規制当局から担保されているという大きなアドバンテージを有する。この認証基準は「quality and organizational excellence (CQOE) principles」として定義され、下記に示す一連の基準をクリアした研究開発体制を構築していることが必要とされる²¹⁾。それらは製品品質、患者安全性、治験責任、サイバーセキュリティ責任、積極的文化の5項目である。これらの観点をFDAが多方面から審査し、その承認を与えるフロアとなっている。2019年に本格化した本Pre-Certプログラムに準拠し、前述のPear Therapeuticsが不眠症及び大うつ病治療DTxの治験を開始した。基本的にはFDAの医療機器承認審査基準である510(k) product submissionのgeneral controlを基準として治験が進められるが、既に製品群を有し、Pre-Certを獲得している企業にとっては極めて迅速かつ高信頼度で開発を推し進めることが可能となっている。即ちこの Pre-Cert承認を得ることが、少なくとも米国開発を進める上では必須となるであろう。

認知行動療法を基盤としたセッション内容

いくつかのDTxの科学的及び医学的信頼性を担保するものとして、長らく医療現場にて実施されてきた豊富な実績を有する認知行動療法（CBT）を基盤としている点が挙げられる。特にChat Bot型製品群において、このCBTをアプリ上で実施することが特徴となっている。CBTの歴史は長く、生活習慣病や依存症、大うつ病等の精神神経疾患の分野においては、統一基準が作成され汎用されている治療手法である。一部のDTxはモバイルもしくはテレCBTとも言い替えられ、古典的に対人的セッションにて実施されてきた本治療方法を手軽にかつ継続的に、そして安価に実施できる手段として移行されたものだとも捉えられうる。今後の開発及び市場導入製品のうち、少なくとも品目数がこのCBTをベースとしたDTxとなりうる。一方この潮流はCBT普及率の高い地域（北米、欧州）でのDTx開発（UI実装）と密接に関係するため、医薬品と異なり製造処方程度はあれ「剤そのものが基本的にグローバル製品」であることとは異なる。即ちCBT 親和性の低い地域においては開発UIの選択が重要となるため、開発品目（DTx）を展開する地域及び国民性の観点を研究段階の初期から十分に認識する事が必須となるであろう。

本邦におけるDTxの潮流

日本におけるDTx開発環境の整備及び普及を目指し、2019年にDTAの日本版である「デジタルセラピューティク

ス推進研究会」が組成された⁷⁾。製薬企業、開発ベンダー、アライアンスコーディネーターなどが参画し、DTxの研究開発推進と振興を目指すとしている。科学的及び医学的なエビデンスを訴求し、他のデジタル製品群との差別化及びプレシジョン化を企図し、塩野義製薬、田辺三菱製薬、アステラス製薬、帝人ファーマ、デジタルガレージ、アイリス、サスメドからなる連合組織体として活動を実施している。米国と同様、DTxを研究開発するベンチャー企業が従来型製薬企業と提携を結び、治験費用の分担と市販後の製品浸透、安全性調査、製品アップデート及び新製品開発に資する患者使用データ群の収集と解析を共同で実施するスキームを煮詰めていく方向であろう。

課題

DTxの最大課題は製品の排他性及び独占性にある。そのUIの特徴から競合の参入が容易に想定され、いかに製品の特長と優位性を確保するかが重要である。基本的には「有するUI及び操作性、示す薬効」までを包含した特許によって権利保護しているが、場合によっては著作権による排他性確保も視野に入る。また地域特性、例えば国々によってバラエティに富む生活習慣やUIへの親和性、疾患の理解の観点から、薬物とは異なったregionalな製品展開、即ちUI変更や治療期間の変更が求められることも課題である。

また当局からの規制を受けない、いわゆる健康管理アプリや健康増進ウェブサイトとの区別化、患者及び消費者への浸透も課題である。現在では治験を経ない、もしくは治験にて効果を実証するとのスキーム自体を有さない製品群の方が多数派の状況である。スマートフォンやタブレット端末を利用し、一見同一に見えるUIアプリとの区別が十分でなければ、医療従事者はもとより使用者（患者）に混乱を惹起するであろう。一方、開発難易度及びビジネス展開の容易さは後者に軍配が上がり、承認を得たDTxとそれ以外との垣根は益々あやふやになり、規制当局側にとっても、また使用する患者にとっても悩ましい状況が続くと想定される。

将来

IM以外の治療介入手段としてのDTxは、根源的な安全性と従来型薬物と比肩する効果の両面から、医療現場及び患者にとり魅力的な手法である。標準化され信頼性の高い開発プラットフォームから生まれ、入念にデザインされた治験を経て規制当局の承認基準を満たし市場導入されたDTxは、今後の治療手法として一定のパイと存在感、そしてビジネス規模を組成するであろう。IMを含む現行の治療手段では難治に転帰し困難を抱える患者にとっては、一つでも多くの介入オプションが必要であることは論を待たない。今後のDTxの隆盛によりこれらの患者に多くのvalueがもたらされることが期待される。

参考文献

1) Nature. 2019 Sep;573(7775):S106-S109.
2) <https://dtxalliance.org/>
3) Clin Pharmacol Ther. 2018 Jul;104(1):72-80.
4) J Med Internet Res. 2019 Oct 9;21(10):e15814.
5) Health Psychol Rev. 2018 Dec;12(4):333-356.
6) Chronic Obstr Pulm Dis. 2019 Jul 24;6(3):210-220.
7) Int J Med Inform. 2019 Dec 23;135:104056.
8) J Stroke. 2019 Sep;21(3):242-258.
9) J Clin Sleep Med. 2019 Jan 15;15(1):11-13.
10) reSET Clinician directions for use. Pear Therapeutics, Inc; 2019.
11) reSET-O Clinician directions for use. Pear Therapeutics, Inc.; 2019.

12) Front Endocrinol (Lausanne). 2019 Jun 5;10:348.
13) Diabetes Ther. 2018 Apr;9(2):583-612.
14) JMIR Diabetes. 2017 Mar 7;2(1):e5.
15) Ann Allergy Asthma Immunol. 2017 Nov;119(5):415-421.e1. 15
16) J Allergy Clin Immunol Pract. 2019 Mar;7(3):1088-1090. 16
17) J Clin Psychiatry. 2012 Dec;73(12):1517-23.
18) PLoS One. 2018 Jan 11;13(1):e0189749.
19) Neurol Ther. 2019 Jun; 8(1): 135-145.
20) JMIR Mhealth Uhealth. 2019 Feb 19;7(2):e12694.
21) <https://www.fda.gov/media/119722/download>

核内TDP-43の消失は、LINEレトロトランスポゾンコードクロマチンの脱凝集と関連する

Liu et al., 2019, Cell Rep, 27, 1409-1421

キーワード

- 神経変性疾患
- 前頭側頭型認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症(FTD-ALS)
- TDP-43
- LINEレトロトランスポジション

要旨

核局在TDP-43を欠いた核を、前頭側頭型認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症患者の死後脳から回収。

核内TDP-43の消失は、広範囲にわたるトランスクリプトーム変化と関連した。

核内TDP-43の消失は、LINEをコードするクロマチン領域の脱凝縮と関連した。

核内TDP-43の消失は、in vitroにおけるLINEレトロトランスポジションを促進した。

背景

筋萎縮性側索硬化症(ALS)と前頭側頭型認知症(FTD)は、臨床的に、遺伝学的に、そして病理学的にオーバーラップしている。2つの疾患に共通した病理学的マイルストーンとして、RNA結合蛋白質TDP-43の核内からの消失と細胞質凝集が知られている。このTDP-43病理は神経変性と強く関連するにもかかわらず、動物モデルや細胞モデルでは十分に再現することができないため、臨床病理サンプルを用いた解析が疾患解析として重要である。そこで本研究では、FTDを伴うALS(FTD-ALS)患者死後脳を利用し、TDP-43病理を次世代シーケンス(NGS)解析した。

TDP-43病理を示す神経細胞核の単離とNGS解析

FTD-ALS患者死後脳の凍結新皮質から細胞核を抽出し、さらに抗NeuN(ニューロンマーカー蛋白質のRBF0X3)抗体、および抗TDP-43抗体を用いてTDP-43陽性神経細胞核と、TDP-43陰性核に分離した。これらの核からDNAおよびRNAを抽出し、RNA-seqおよびATAC-seqを実施し、2群間比較した。

核内TDP-43消失によりRNAスプライシング反応がグローバルに変化し、LINEをコードするゲノム領域の脱凝集が惹起されていた

RNA発現変動する遺伝子群をGO解析したところ、DNA damage and repair, proteostasis, RNA processing経路の有位な変化が認められた。また、すでに報告されているTDP-43 mRNA 3' UTRの選択的スプライシング変化など、グローバルなスプライシング変化が認められた。さらに、ATAC-seq解析の結果、TDP-43陰性核においてLINEをコードするゲノム領域のクロマチン脱凝集が認められた。

TDP-43消失によるLINEレトロトランスポジション活性化

実際、アクティブなLINEにコードされているORF2遺伝子のDNA量を定量すると、TDP-43陰性核における上昇が認められた(p=0.0262)ことから、TDP-43の核内消失によって、LINEレトロトランスポジションの促進が示唆された。そこで、in vitro細胞モデルを用いて、LINEレトロトランスポジション効率に対するTDP-43発現量の影響について解析した。HeLa細胞を用いた解析から、TDP-43発現を抑制することによりLINEレトロトランスポジションが増加し、Lamivudine(抗レトロトランスポジション抑制剤)によって抑制されることが示された。

シングル核RNAシーケンスから明らかとなった変異モザイクを持つレット症候群患者の脳組織の特徴

Renthal et al., 2019, Nat Neurosci, 21, 1670-1679

キーワード

- レット症候群患者
- Mecp2(methyl-CpG-binding protein2)ヘテロマウス
- シングルセル/核RNAseq解析
- DNAメチル化解析

要旨

Mecp2ヘテロマウス/レット症候群患者におけるシングルセル/シングル核RNAseq解析とDNAメチル化解析を実施した。

興奮性神経において、野生型に比して、変異型神経細胞で異常な制御変化を示す遺伝子数が増加した。

異常な制御変化を示す遺伝子の内、遺伝子発現量増加とDNA高メチル化状態の相関が認められた。

背景

レット症候群はX染色体連鎖性神経発達障害であり、その原因遺伝子はMecp2である。脳内は神経細胞種の多様性を有して複雑であるが、レット症候群では、X染色体不活性により、野生型/変異型細胞がランダムに混在して更に複雑であり、これまで詳細な細胞レベルでの特徴については不明だった。そこで、本研究では、「シングルセルRNAseq解析/シングル核RNAseq解析」と「SNPs解析」を組み合わせる事により、Mecp2ヘテロマウスとレット症候群患者死後脳における野生型/変異型神経細胞での発現変動遺伝子とその転写領域におけるDNAメチル化状態を解析した。

Mecp2ヘテロマウス/レット症候群患者でのシングルセル/シングル核RNAseq解析とDNAメチル化解析

Mecp2ヘテロマウス(exon 3、4欠損の大部分を欠損)脳/レット症候群患者(R255X変異:stopコドン)死後脳からシングルセルseq解析/シングル核seq解析とアレル特異的なSNPs解析を実施して興奮性神経における野生型/変異型神経細胞を分離し、変動遺伝子を解析した。更に、その転写領域におけるDNAメチル化状態との関連を解析した。

変異型神経細胞における異常な制御変化を示す遺伝子数の増加

Mecp2ヘテロマウスにおいて、野生型神経細胞に比して、変異型神経細胞ではMecp2遺伝子発現の減少が見られた。レット症候群患者死後脳(3検体)では、全て約50%が変異型であったことから、半数の変異型神経細胞ではMecp2の機能が失われている事が示唆された。こうした条件下において、Mecp2ヘテロマウス/レット症候群患者共に、野生型神経細胞に比して、変異型神経細胞で変動遺伝子数(=異常な制御変化を示す遺伝子数)が増加していた。

遺伝子発現量増加とDNA高メチル化状態の相関

Mecp2ヘテロマウス/レット症候群患者共に、異常な制御変化を示す遺伝子の内、遺伝子発現量増加とDNA高メチル化状態の相関が示された。同時に、Mecp2変異を持つ神経細胞種特異的なDNAメチル化状態から発現増加した遺伝子の程度を予測できる可能性も示唆された。

担当者 野上真宏 所属 武田薬品工業株式会社 専門 RNA生物学、核酸医薬、神経変性疾患

一言 関連する最新論文をサーチする際、PubMedを利用されることが多いかと思いますが、ホットな最新論文を探す方法としてはPubMedトップページに表示される「Trending Articles」の項を参照するのがおすすめです。この項には、以前のある期間と比較して最近2日間での閲覧が急増したトレンドな文献を見つけることができます。今回紹介した文献は、当時のトレンドであった910文献の中から、3つのキーワード「RNA」、「Neuron」、および「Disease」と関連した6文献のうちの1つでした。臨床サンプル解析の新しい方法論を提示する素晴らしい報告でした。

✉ masahiro.nogami@takeda.com

担当者 荒川佑一 所属 Axcelead Inc. 専門 in vivo 薬理、精神疾患、bioinformatics

一言 最近、中枢性疾患患者の死後脳組織におけるシングル核の transcriptome の解析結果がNature誌等に報告されています。シングル核解析の特徴は、シングルセル解析では不可能な凍結サンプルを用いた解析が可能な点等にあります。今後、本解析技術手法を用いて細胞種(神経、グリア等)毎により深い疾患理解がなされ、その結果を基に臨床応用される事が期待されます。今回は、その一例として、レット症候群患者の死後脳サンプルを用いたシングル核RNAseqの解析結果をご紹介します。神経細胞種と変異神経細胞を弁別して解析する方法を考案して、transcriptome解析とDNAメチル化解析が実施されました。

✉ yuuichi.arakawa@axcelead.com

高密度CMOS-MEAおよび多電極brain machine interface (BMI)の進捗とその応用

Hayder et al., 2017, Sci Rep, 7, 2460
<https://www.cnet.com/news/elon-musk-neuralink-works-monkeys-human-test-brain-computer-interface-in-2020/>

キーワード

- CMOS-MEA (Multielectrode Array)
- HD (High density)-MEA
- Alzheimer's disease
- Elon Musk
- Neuralink
- Brain machine interface (BMI)

要旨

CMOS-MEAにより20,000個以上の電極から培養神経の細胞外電位を記録することが可能となった。

空間分解能の飛躍的な改善は安定かつ詳細な神経活動の記録を可能にした。

一方、Neuralink社は数千電極からなるBMIデバイスプラットフォームを発表した。2020年に臨床試験を計画している。

高密度神経記録の技術的ブレイクスルーは神経科学に大きな進歩をもたらすだろう。

背景

In vitroにおけるハイスループット細胞外電位記録にはMED 64、Maestroといったconventional multielectrode array (MEA)が利用されているが、電極数は最大で64である。近年、CMOSを利用した高密度MEAが開発され、20,000個以上の電極から記録を行うことが可能になった。一方、動物やヒトの脳とコンピューターを接続するBMIには非侵襲式と侵襲式の2つの方式があり、すでに人工内耳などに応用されているが、神経活動記録における空間・時間分解能はいまだ限定的である。この分野において、TESLA、SPACE-X等のオーナーとして知られるイーロン・マスク氏が設立したNeuralink社が、近年、ブレイクスルーをもたらした。

CMOS-MEAによる空間分解能の飛躍的改善

MaxWell社のMaxONE/TWOを例にあげると、CMOSセンサー上で神経を培養することにより、26,400電極から細胞外電位を記録することができる。64→26,400電極への空間分解能の飛躍的な改善は、安定した神経記録のみならず、個々の神経のプロファイリング、詳細なネットワーク活動の記録、さらに活動電位の軸索伝播速度の算出をも可能にした。

高密度記録によって明らかにされたAβの神経障害様式

HayderらはCMOS-MEAを初代神経Aβ毒性の解析に応用した。Conventional MEA (～64電極)では神経集団全体の発火頻度しか捉えられないが、CMOS-MEAにより個々の神経の発火頻度を分類することが可能となり、神経ネットワーク内の高発火頻度神経からなるマイナーポピュレーションのみにAβ毒性が影響することが明らかとなった。

Neuralink社によるBMIデバイスプラットフォームの発表

2019年7月16日、Neuralink社が開発中のBMIデバイスプラットフォームの詳細が明らかにされた。彼らが開発したN1 implantと呼ばれるデバイスは、髪の毛より細いワイヤー上に1024の電極を有し、同時開発された手術ロボットを用いてヒト脳に埋め込むことにより最大10 implants、10,240電極から神経活動を記録することができる。データはbluetoothを介して耳の後ろに設置したN1 sensorに送られる。Neuralink社は、脊損四肢麻痺患者がこのデバイスを介しiPhoneを操作可能であることを示すfirst-in human clinical studyを、2020年に予定している。

高密度神経記録がもたらすブレイクスルー

技術の進歩がもたらす高密度神経記録の破壊的イノベーションは、創業の現場やBMIにおいて大きな進歩をもたらすと考えられる。

担当者 丸山 穰 所属 武田薬品工業株式会社 専門 神経科学、シナプスバイオロジー、GPCR創薬

一言 入社以来15年以上GPCR創薬(オーファンGPCR研究)に携わり、現在はiPS由来神経を用いた機能解析プラットフォーム開発・薬効評価を担当しています。サイエンスの理解、新たな発見を通じ、これまでに存在しない新たな価値を見出す、「ファーストペンギン」になりたいと思っています。好きな言葉:「Focus on out of focus」
 ✉ minoru.maruyama@takeda.com

iPS細胞を用いたヒトのニューロンの動態およびダウン症候群のin vivoモデルの確立

Real et al., 2018, Science, 362, eaau1810

キーワード

- 異種移植
- 二光子顕微鏡を用いたマウス生体蛍光イメージング
- スパインダイナミクス
- ダウン症

要旨

ヒトiPS細胞から興奮性の脳皮質ニューロンを誘導し、成体の免疫不全マウスの脳皮質に移植した。

二光子顕微鏡を用いたマウス生体蛍光イメージングにより、軸索の刈り込みと、樹状突起スパインのターンオーバーの観察に成功した。

移植したヒトiPS細胞由来脳皮質ニューロンの神経活動をカルシウムイメージングにより検出した。

自閉症患者由来脳皮質ニューロンでは、スパインの密度が増えている一方、神経活動は強く低下していることを明らかにした。

背景

これまでに開発されてきた、in vitroの分化誘導系で得られるほとんどのニューロンが妊娠初期から妊娠中期に相当することが示されており、新生児脳あるいは成人脳に相当する成熟したニューロンを得ることが非常に難しい状況である。そこで、本研究では、ヒトiPS細胞から誘導した脳皮質ニューロンの興奮性神経細胞を成体の免疫不全マウスの脳皮質に移植し、① 軸索の刈り込み、② シナプス形成、③ カルシウムイメージングによる神経ネットワークの検出を行った。また、ダウン症患者由来iPS細胞から脳皮質ニューロンを誘導し、異種移植によりどのような表現型が検出できるかも検討した。

ヒトiPS細胞由来脳皮質ニューロンの軸索の刈り込み

中枢神経の発生過程で、神経回路を正常な状態に維持するために、不要となった軸索を速やかに取り除き、修復する「刈り込み」という現象が必要である。健康人iPS細胞由来脳皮質ニューロンを異種移植し、二光子顕微鏡を用いたマウス脳のin vivoライブイメージングを行ったところ、移植後35日目で軸索の刈り込みが起きていることを確認した。

ヒトiPS細胞由来脳皮質ニューロンのスパインの形成および消失

樹状突起スパインは形成・消失のターンオーバーがあることが知られており、子供の脳では、スパインの消失が頻繁に見られる一方、成体脳ではスパインの消失が遅くなる。異種移植してから4か月後においてもスパインの形成・消失が見られることから、本モデルではシナプス形成や刈込みを長期に渡り観察できる事が示された。

ヒトiPS細胞由来脳皮質ニューロンのカルシウムイメージングによる神経活動の検出

異種移植してから3か月後に検出した神経活動のオシレーションパターンは、以前に報告された胎生期のヒト脳皮質の神経活動と類似していた。

自閉症患者から樹立したiPS細胞由来脳皮質ニューロンのスパインは可塑性が低く、神経活動は低下する

ダウン症患者から樹立したiPS細胞由来ニューロンを異種移植してから5か月後に見られたスパインは、健康人由来ニューロンと比較し、安定で刈り込みされにくいため可塑性が低く、スパインの密度が増えていることを発見した。一方、ニューロンの活動(神経発火と神経細胞集団全体の活動)は強く低下していることを明らかにした。

担当者 石井聖二 所属 株式会社ケイファーマ 専門 分子神経生物学、幹細胞生物学、再生医療

一言 これまで幹細胞研究に関わってきた私にとって、in vitroのニューロンの成熟度は、常に頭を悩ませる問題でありました。異種移植を用いた本研究は、世界で初めて二光子顕微鏡によるマウス生体蛍光イメージングを駆使し、画期的な疾患モデルを創出しています。但し、まだまだ改良の余地がある技術でもあります。今後、私は研究の場所を大学に移し、がん領域で使用されているpatient-derived xenograft(患者腫瘍組織移植; PDX)モデルのような画期的な創薬研究手法になり得るのではないかと考え、この異種移植が生み出す可能性を追求していきたいと考えています。In vitroでは表現型として検出することが難しい、神経回路形成異常が想定される精神神経疾患領域において、大きなブレイクスルーになるのではないかと期待されます。 ✉ seiji@a7.keio.jp

脳オルガノイドによるヒト大脳皮質と同一の細胞多様性の再現

Velasco et al., 2019, Nature, 570, 523-527

キーワード

- ヒトiPS細胞
- 脳オルガノイド

要旨

ヒト脳の発生過程は胚形成の以外のin vitroで再現できるのか？答えは“YES!”

背側前脳オルガノイドモデルにおいて、ヒトの大脳皮質と類似した多様性に富む細胞タイプが作出できることが示された。

複雑な中枢神経系の発生に、胚という状況は必須ではないことが実証された。

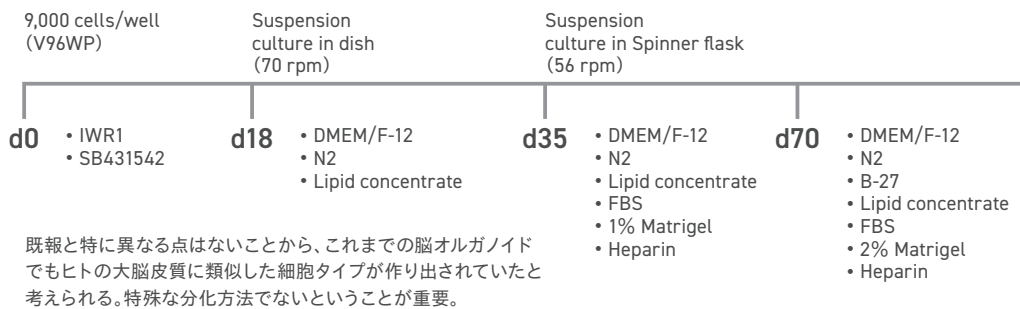
背景

3D脳オルガノイドとLarge-scale single cell profilingの技術の融合は、これまで成し得なかったヒトの脳の発生および疾患のメカニズムの解明の強力なツールとして注目されています。しかしながら、オルガノイド間でのバラツキが問題視されており、さらに発生過程を本当に再現しているかという点についても疑問が残っています。今回は、ひとつの答えとして、脳オルガノイドの第一人者であるHarvard University(Department of Stem Cell and Regenerative Biology)のDr. Paola Arlottaのグループの論文を紹介させていただきます。

“Human brain organoids hold unprecedented promise for basic understanding of its development and disease …”

背側前脳のオルガノイドモデル(分化プロトコールは下図参照)は、ヒトの大脳皮質に類似した多様性に富む細胞タイプを確実に作り出せることが示された。この分化プロトコールで作製された21個のオルガノイドから単離した16万6242個の細胞について単一細胞RNA塩基配列解読解析が行われた。その結果、95%のオルガノイドにおいて体内で発生した脳と実質上区別のつかない細胞タイプの一群が生じたことが判明した。これらの細胞タイプは体内の脳と同様の発生軌跡をたどり、オルガノイド間のばらつきの度合いは個々人の脳に認められるばらつきと同等であった。さらに、異なる幹細胞株に由来するオルガノイドにおいても、生み出された細胞タイプに一貫した再現性が認められた。今回のデータは、中枢神経系が持つ複雑な細胞多様性の再現性のある発生には、胚という状況は必要でないことを実証するとともに、最終的な細胞アイデンティティーの確立は、多様な幹細胞起源や増殖環境からも生じ得る高度に拘束された過程であることを示している。患者のEEGやfMRIに認められる異常をこの脳オルガノイドで再現できるかが次の課題であり、さらにより高次の『脳』の機能を再現することが期待される。

【この論文で用いられた脳オルガノイド分化方法の概略】



神経回路の非侵襲的制御のための音響標的化学遺伝学

Szabłowski et al., 2018, Nat Biomed Eng, 475-484

キーワード

- 神経変性疾患
- アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター
- 超音波照射
- コンビネーションセラピー

要旨

超音波照射によりAAVベクターの脳Deliveryの向上。

超音波照射におけるAAVベクターの脳内分布の向上と共にtarget cellへのDeliveryも向上。

AAVベクター+small molecularによるコンビネーションセラピーにより、脳の部位特異的な神経活動の制御を行った。

背景

神経障害および精神障害は、脳の特定の領域における機能不全の神経回路によって引き起こされる。薬物や埋め込み型脳刺激装置の使用を含む既存の治療戦略は、これらの回路の活動を調節することを目的としている。しかし、それらは細胞型特異的ではない事に加え、空間的ターゲティングを欠いている、または侵襲的な手順が必要であるという課題を有している。本研究では、特異性を有する神経回路の変調を可能にする超音波照射と化学遺伝学に基づく細胞型特異的かつ非侵襲的アプローチを報告する。本アプローチでは、超音波を使用して一時的に血液脳関門を開き、AAVベクターにコードされたGタンパク質共役受容体を用いて脳内の特定の場所のニューロンを変換する。その後、全身投与された薬物に応答して、その活動を活性化または阻害させる。In vivo試験では、個々の脳領域を選択的に制御して、海馬内の興奮性ニューロンをmodifyすることで、その後活性化または阻害させる。

超音波照射によるAAVベクターの脳Delivery効率

超音波照射によりBBBのtight-junctionを一時的に開放することが知られている。その効果を用いてBBB透過性が低いAAVベクターを脳内へ送達する事を試みた。AAVベクター単独と超音波群での透過性を比較し、超音波群でAAVベクターの脳Delivery効率が上昇している事を確認した。

AAVベクターの脳内分布の向上とtarget cellへの選択性向上

AAVベクターはtarget cellへの選択性が高いことが知られており、本研究ではその効果を用いて、CaMKIIa発現細胞への効率を比較した。比較には、mCherry蛍光たんぱく質をコードしたAAV9ベクターを用いて蛍光強度での比較検討を行った。併せて、脳内分布を確認し、CaMKIIa発現細胞が多く局在する部位に多くのAAVベクターが分布しているかを確認した。

薬効モデルを用いた薬物の薬効試験

AAVベクター導入神経細胞に対し、AAVで導入したdesigner receptorの活性を制御する低分子化合物を投与することで、薬効モデルマウスを用いた薬効試験の細胞型特異性向上試みた。その結果、本アプローチによって非侵襲的に海馬の興奮性ニューロンの活性を制御する事ができた。

担当者 村田直之 所属 武田薬品工業株式会社 専門 DDS、製剤設計

一言 DDS技術を用いた研究は長年、世界中の研究者が行ってきた。しかしながらBBB突破という大きな壁は越えることができていなかった。しかしながら、超音波やAAVといった技術を組み合わせることで面白いことが起き始めている。まだまだ、面白い取り組みをしている研究者は世界に入るはずで今後のDDSの発展は楽しみです。臨床上ではまだまだ、改善点を含めて、多くの壁が存在すると思うが、今後もこのような研究をwatchしていきたいと思うような面白い研究でした。

✉ naoyuki.murata@takeda.com

In vivoで分子認識能を有するDNAナノロボットによるドラッグキャリアとしての可能性

Liu et al., 2018, Nat. Biotechnol, 27, 1409-1421

キーワード

- 核酸アプタマー
- DNA origami
- 分子認識トリガー
- 抗腫瘍効果

要旨

筆者らは核酸アプタマーとDNA origamiを組み合わせた、分子応答性ドラッグキャリアを開発した。

本キャリアはがん細胞で高発現しているヌクレオリンを認識すると、“鍵”となっているアプタマーが解かれ、キャリア内に固定化されたトロンピンが露呈される。

DNA origamiはヌクレアーゼによる分解を受けず、がん集積性があることを示している。

担がんマウスに本キャリアを静脈投与すると、腫瘍組織周辺部のみでトロンピンによる血液凝固作用が起こり、結果として抗腫瘍効果が示されている。

背景

核酸アプタマーはその熱力学的安定性を工夫することで、リガンドとの結合により高次構造を変化させることが可能である。筆者らは“鍵”となるアプタマー鎖/相補鎖の熱力学的安定性を計算することで、“鍵”とDNA origamiを組み合わせた分子応答性ドラッグキャリアを開発している。これまでにpHや温度といった環境因子応答性のキャリアは数多く報告されているが、分子応答性にする事でさらなる選択的DDSが期待できる。現状ではコストがかかるという大きな欠点はあるが、“鍵”となるアプタマーを複数にすることで、高選択的なデリバリーやセンサーに応用できると私は期待している。是非本論文をご覧ください。是非本論文をご覧ください。是非本論文をご覧ください。

ヌクレオリン高発現環境下のみで展開されるDNAロボット

筆者らは標的をヌクレオリンとした、トロンピン内包DNAナノロボットを構築している。DNAナノロボットには平均4分子のトロンピンが固定されていることがAFM(原子間力顕微鏡)により明らかにされた。ヌクレオリンの発現を抑制したHUVEC細胞存在下では、本ロボットは“閉じた状態”のままであるが、ヌクレオリン高発現HUVEC細胞の場合では、ロボットが“開いた状態”に展開され、トロンピン露出に起因する血液凝固が生じることが認められた。また本ナノロボットは細胞膜に局在化することも明らかにした。

がん細胞移植マウスに対するトロンピン内包DNAナノロボットの抗腫瘍効果

ヒト乳がん細胞(MDA-MB-21)皮下移植マウスに本ロボットを3日間計6回(1.5U/mouse/time)投与すると、効率的に腫瘍周辺部位に集積することを示し、腫瘍組織周辺のみで血管内血液凝固作用による細胞壊死が生じ、腫瘍増殖が阻害されることを実証している。また血管新生能が弱く比較的EPR効果が小さいとされるヒト卵巣腺腫皮下移植マウスでも同様の結果が得られている。

DNAナノロボットの安全性について

本ナノロボットを投与すると、24時間以内に体内から排出・分解されることが示されている。また健康マウスにDNAナノロボットを上記と同量投与した場合、脳を含め微小血栓は確認されなかった。また炎症性サイトカイン(IL-6, TNF- α , IP-10)の上昇も認められなかった。これらの結果はDNAナノロボットが免疫学的に安全であることを示唆している。

担当者 森山 壘 所属 LTTバイオフーマ 専門 核酸化学、高分子化学、脂質修飾

一言 DNA origamiがNatureに発表された当時、学生の私はナノサイズで正確に構築された構造物を見た瞬間に心が躍ったことを今でも覚えています。時が経つに連れ、「DNA origamiは結局何の役に立つのだろうか?」という疑問を感じていましたが、最近になって1分子観測用のプラットフォーム、そして本論文ではドラッグキャリアとしての可能性が示されています。高分子材料を使ったDDS研究を行う傍らで、実用化には遠いけど“純粋に面白い論文を探しながら”、ぴかりと光るDDSキャリアを生涯かけて探求・開発していければと思っています。

✉ moriyama@ltd.co.jp

遺伝子に潜在的にコードされるmodifier geneで、筋ジスが根治される可能性

Kemaladewi et al., 2019, Nature, 7767, 125-130

キーワード

- 先天性筋ジストロフィー(MDC1A)
- 代償遺伝子(modifier gene)
- 切らないクリスパー(No-cut CRISPR method)

要旨

先天性筋ジストロフィーの原因遺伝子Lama2に類似の機能を有し、発現が低いLama1を代償的に増強させる事で、先天性筋ジストロフィーマウスモデルの運動機能が回復した。

Lama1はLama2のmodifier geneである。

Lama1遺伝子の発現増強に、AAVベクターを用いたNo-cut CRISPR methodが活用された。

背景

眠っている遺伝子を活性化する薬が登場している。例えば脊髄性筋萎縮症/SMAの治療薬SPINRAZA®は、原因遺伝子のSMN1ではなく、発現が低く、類似の機能を示す遺伝子のSMN2を活性化する治療薬であり、極めて良好な臨床成績を上げている(SMA患者の致死を完全に回避)。SMN2はSMN1のmodifier geneと言え、ヒトに潜在的に備わっている代償機能を薬で呼び起こす素晴らしい治療戦略である。SMAのみならず、modifier geneを活用する治療戦略は、X-ALD(X-linked adrenoleukodystrophy)やDMD(Duchenne muscular dystrophy)で始まっている。本論文から、先天性筋ジストロフィー(MDC1A)でもmodifier geneを呼び起こす治療戦略がモデルマウスを用いて妥当であることが示された。

Modifier geneを活用した既存薬

SMAの原因遺伝子はSMN1で、SMN2がmodifier gene。X-ALDの原因遺伝子はABCD1で、ABCD2がmodifier gene。DMDの原因遺伝子はDMDで、Utrophinがmodifier gene。それぞれのmodifier geneの活性化薬として、SPINRAZA®(承認)、VK0214(Phase1)、SMT C1100(Phase1)があり、代償的な治療戦略が臨床で始まっている。今回の報告で、MDC1Aの原因遺伝子はLama2で、Lama1がmodifier geneと分かった。

Modifier geneを呼び起こす理由、それは原因遺伝子が巨大な遺伝子であり、AAVに組み込めないから(原因遺伝子自体にDruggabilityが無いから)

Lama2 遺伝子のORFは9kbpと非常に大きいため、AAVベクターによるin vivo gene therapyが現時点では不可能である(AAVの限界が4.8kbp)。そこで、Lama2 遺伝子と類似の機能を有して、発現が低いLama1 遺伝子を増強させる戦略が、No-cut CRISPR methodで試された。具体的にはnuclease活性を破壊したCas9に転写促進ドメインとして機能するVP64(4 x VP16)を融合させた遺伝子(Cas9-VP64)と、Lama1の転写開始点にCas9-VP64をリクルートさせるgRNAをそれぞれAAVで補充した。その結果、眠っていたLama1 遺伝子発現が活性化し、Lama1タンパク質量が増加した。gRNAがLama1以外の転写開始点近傍にリクルートされず、非特異的な作用が生じない事もRNA sequencingで示されており、作用の特異性が示された。

発症後に治療を開始しても、運動機能が回復した

運動機能が低下した後に治療が介入されたマウスでも、運動機能が改善した。本疾患は筋疾患であり、神経変性疾患とは異なり、発症後でも筋が増加する事で改善すると示された。

担当者 鈴木俊也 所属 リボルナバイオサイエンス 専門 RNA バイオロジー、プロテノパチー

一言 約9年間武田薬品でアルツハイマー型認知症など神経変性疾患の創薬を担当し、現在SMAなどの神経変性疾患の治療薬を創出する会社に所属しております。ターゲット探索に興味があり、知恵を探しております。今回の論文から、ヒトには、潜在的に病気から治ろうとする、神秘的な能力が備わっていると感じました。その不思議な能力を発揮し創薬できるmodifier geneをどう見つけるかが、最も難しい課題と感じ、議論したいと思いました。また、modifier geneを活性化させる手段のAAV / No-cut CRISPR methodや翻訳促進ASO、表現型スクリーニングによる低分子などについても、議論できればと思います。

✉ shunya.suzuki@rebornabiosciences.com

小児注意欠陥・多動性障害又は成人多発性硬化症に対するデジタル治療介入の概念実証研究

Davis et al., 2018, PLoS One, 13, e0189749
Bove et al., 2019, Neurol Ther, 8, 135-145

キーワード

- Digital Therapeutics (DTx)
- 注意欠陥多・動性障害症 (ADHD)
- 多発性硬化症 (MS)
- Video game based treatment

要旨

小児のADHD患者又はMS患者群に対しvideogame appベースの治療介入を実施し治験時に用いられるスコアの推移を観察。

ADHD群と非ADHD群それぞれでAKL-T01 (Evo™)を1か月使用した際、ADHD群において有意なTOVAスコアの改善を認めた。

成人MS群において1か月間、同じくAKL-T01 (Evo™)を使用した場合、使用前ベースラインと比較してBICAMSバッテリー内のprocessing speed指標であるSDMTと精神運動機能指標であるDETが有意に改善した。

背景

小児の注意欠陥多動性障害 (Child ADHD) と多発性硬化症 (MS) は、それぞれ異なる器質的、機能的原因を有する疾患である。一つは精神疾患に分類されうる小児期の発達障害であり、もう一つは神経変性疾患である。相当に異なるこの2つの疾患に対し、同一の治療介入デバイススペースのアプリであるDigital Therapeutics (DTx) = videogaming app (AKL-T01)を用いて介入研究をそれぞれ実施した。評価指標は、治験時に用いられFDA承認に必須となるスコアを設定した。ADHDに関してはTOVAスコア、MSにおいてはBICAMSである。1日約30分、一週間に5日を4週実施した結果、各疾患におけるスコアは介入により有意に改善することが示された。

Child ADHDに対する効果

ADHDと診断されている小児群と非ADHD小児群の双方にAKL-T01を1か月間使用。非ADHD群は介入前後でADHD評価尺度であるTOVA (Test of Variables of Attention) スコアに変動は見られなかったがADHD群では3.1ptの改善を認めた。参考としてMetadoxineのPhase2における6週間後の経過は2.4ptの改善であり、遜色ない結果であった。

MSに対する効果

MSと診断された患者群に、同じくAKL-T01を1か月使用。MS評価尺度であるBICAMSで効果を判定。BICAMSにおける視覚性処理速度・作業記憶を評価するSDMTスコアと精神運動機能を評価するDETが有意に改善した。一方、他の運動機能や言語機能等を測定する尺度においては改善が見られなかった。

Videogaming Therapyの将来と課題

親しみやすいuser interfaceであるゲームの形式を取り、身近なiPadまたはiPhoneを提供媒体としたデジタル治療であるAKL-T01は、本試験結果を基にFDA承認を得るためのpivotal試験をAHDHで実施中である。MSに関しても全てのスコアを改善する訳ではないが、一定の効果が示唆され、既存薬との組み合わせ治療での相加効果を訴求することも可能であろう。特許性を確保するとともに著作権などを駆使し、排他的に事業を進めるスキームは従来の薬ビジネスと比較した際、示唆に富む。また既存治療薬と比較して遜色ない“薬効”を示していることは大きな注目に値する。一方、その治療継続性に関しては1セッションに時間がかかることや飽きが生まれるであろうことから、1日一回の服用で済む既存薬と比してどのような結果が得られるかについても興味を持たれる。

オフターゲット毒性は、臨床試験中の抗がん剤に共通した作用メカニズムである

Lin et al., 2019, Sci Transl Med, 509, eaaw8412

キーワード

- がん治療薬
- オフターゲット効果
- CRISPR/Cas9システム

要旨

特定のがん治療薬候補品の標的因子はがんの増殖に関わっていない。

オフターゲット効果によってがん治療薬候補品が薬効を示していた。

候補品OTS964はCDK11の阻害剤であり、細胞周期の停止を介して抗腫瘍効果を示していた。

背景

ガンの分子標的薬として開発されている薬剤の中に、その標的ではなく、他の分子をターゲットとして作用してしまうオフターゲットな薬効を示すものがあることを明らかにした論文です。これまで多くの報告で探索されてきた薬剤標的分子候補は、低分子やsiRNAスクリーニングによって見出されてきたが、その推定の標的分子がKOされていても抗腫瘍作用を示しました。この論文ではCRISPR/Cas システムを用いた正確な遺伝的評価を実施することで、臨床試験失敗の減少につながることを主張しています。

がん治療薬のターゲット分子は増殖に起因していない

著者らは開発段階にある10種のがん治療薬候補品の標的タンパク質をノックアウトした細胞株の増殖能を解析した。CRISPR/Cas9システムを用いて作製されたノックアウト株において増殖抑制が見られなかった。また軟寒天培地といった接着非依存な環境でもノックアウト株は増殖能の低下を示さなかった。

オフターゲット作用によって抗腫瘍効果が起こっていた

がん治療薬候補品の標的タンパク質が増殖に影響しないことが示唆されたことから、候補品の作用機序に着目した解析を実施した。上記で使用されたノックアウト株に候補品を処理したところ、標的タンパク質が欠損されているのにも関わらず抗腫瘍効果が示されたことから、オフターゲット作用による細胞の増殖抑制が主張された。

がん治療薬候補品OTS964の標的分子を同定した

最後に著者らはPBKタンパクの阻害により抗腫瘍効果を示すと言われていたOTS964の真の標的分子の特定に取り組んだ。高濃度のOTS964処理によって選択された耐性クローンのwhole-exome sequencingを行ったところ、全クローンにおいてCDK11b遺伝子にヘテロ変異が入っていることを確認した。この変異を導入した細胞株が高濃度のOTS964に抵抗性を示し、この薬剤の真のターゲットがCDK11であることが示唆された。

担当者 新名芳有 所属 武田薬品工業株式会社 専門 神経変性疾患、小児希少疾患、精神神経薬理

一言 DTxは中枢神経系疾患に対する有力な治療介入手段として注目を集めつつある。米国では物質依存症を適応疾患とした製品が既にFDA承認を受け、医師の処方のもとに使用が開始されている。一方、機能的疾患である発達障害や器質的障害である神経変性疾患に対してのDTx介入は未知の世界である。しかしながら本試験結果を見ると、対象疾患と対象患者群を合理的に設定し、優れたUIを有する手法によれば有用な介入となることが示唆され、今後この分野の飛躍が大きく期待され、UMNが高く有用な治療薬が存在しないアルツハイマー型認知症における周辺症状などへの応用にfocusしたDTxの登場などが待たれる。

✉ yoshiari.shimmyo@takeda.com

担当者 市島ホセ 所属 武田薬品工業株式会社 専門 RNA生物学、神経科学、iPS細胞

一言 非常にクリアな実験系でインパクトのある主張を支持している論文の紹介でした。がん治療薬候補の作用機序が考えられていたのではなく、オフターゲットによるものだったという創薬研究者にとっても関係のある話です。この論文でも言われているようにCRISPR/Cas9システムが薬の作用機序を特定するのに重要なツールの一つとして使われていくことが期待されます。今回の論文は様々な媒体にも取り上げられ、広く話題となりました。次回もライフサイエンス業界でホットなトピックスを紹介させていただきます。

✉ jose.ichishima@takeda.com

レーバー先天黒内障10型の視力喪失を改善するための*in vivo*ゲノム編集治療

Maeder et al., 2019, Nat Med, 25, 229-233

キーワード

- CRISPR/Cas9
- AAV
- LCA10
- Gene therapy

要旨

EDIT-101はAAV5ベクターにCRISPR-Cas9を搭載しており、網膜へ局所投与することで光受容体細胞の特定変異のKnock outを行う

レーバー先天黒内障10型(LCA10)のイントロン26の変異を*in vivo*でKnock outすることにより、正常CEP290タンパク質の生成を誘導

CRISPR-Cas9を用いた*in vivo*ゲノム編集治療薬であるEDIT-101の世界初の治験が開始。

背景

レーバー先天黒内障10型(LCA10)は希少眼科疾患であり、光受容体細胞で発現するCEP290遺伝子の変異により正常なタンパク質が翻訳されず、光受容体細胞の変性によって失明に至る病気である。最も一般的な原因はイントロン26内に位置するアデニンからグアニンへの点変異(IVS26)であり、新規のスプライスドナーを形成し、そのCryptic exonがStopコドンをつくり不活性なCEP290が産生される。治療仮説として変異IVS26の前後にgRNAを設計し、新規スプライスドナーの除去を試みた。CRISPR-Cas9システムを眼の網膜へ局所投与することで、網膜組織の光受容体細胞中のIVS26をノックアウトし、CEP290タンパク質の機能回復および光受容体の変性を改善することを目的としている。

AAV5-CRISPRを用いて網膜細胞のIVS26点変異をノックアウト

EDIT-101はアデノ随伴ウイルス(AAV5)にCEP290遺伝子の変異を持つ配列の両側を認識するガイドRNAと光受容体特異的に発現するロドプシン遺伝子のプロモーター下流にSaCas9遺伝子を搭載している。ヒトCEP290 IVS26変異ノックインマウスモデルの網膜組織にEDIT-101を1x10¹³vg/mL局所投与すると、2週目でCas9とgRNAが発現し、6週目までに21.2%の編集効率に達した。この遺伝子編集効率は9か月間維持された。特に送達によりCas9が発現している網膜組織では約80%の編集効率がみられた。またサルを用いてgRNAのサロゲートベクターを用いた試験では、マウスの場合と同様の生体内活性が確認できた。

AAV5-CRISPRによるゲノム編集治療薬EDIT-101の臨床試験がLCA10患者を対象として進行中

Allergan社と米Editas Medicine社は、2019年7月、LCA10患者にEDIT-101を投与するフェーズI/II用量漸増試験の患者登録を開始すると発表した。EDIT-101はLCA10患者のイントロン26のc.2991+1655A>G変異をノックアウトし、正常CEPタンパク質の機能を回復することを目的としており、視力の低下や回復が期待されている。なおLCA10のCryptic exon除去を目的とした核酸治療薬QR-110は既にPhasel/IIが実施されており、硝子体内注射を4回投与した患者において、重篤な有害事象がみられずFST試験において光覚の回復がみられている(Cideciyan et al., 2019, Nat Med, 25, 225-228)。

担当者 西垣竜一 所属 武田薬品工業T-CiRA Discovery 専門 遺伝子治療、DDS、Omics

一言 入社以来ProteomicsやMetabolomicsといった分析化学に取り組んできましたが、ここ数年は大きく専門を変え、希少疾患の遺伝子治療、特に新規モダリティ開発に取り組んでいます。この分野は非常に注目度が高く、新たな基盤技術の登場で状況が大きくひっくり返る世界です。紹介した論文ですが、CRISPR-Cas9という新たな技術の登場からわずか7年で臨床試験入りしようとしており、驚異的なスピードに驚いています。

✉ ryuuichi.nishigaki@takeda.com

ヒト脳皮質オルガノイドの機能を測定する

Trujillo et al., 2019, Cell Stem Cell, 25, 558-569
Sakaguchi et al., 2019, Stem Cell Reports, 13, 1-16

背景

ヒト脳は、他の組織や動物モデルと異なり、サンプリングが困難なため、ヒト脳の発生や機能の研究は非常に難しかった。しかしながら、近年ヒト多能性幹細胞から脳組織を作製する技術が発達し、その産物であるヒト脳皮質オルガノイド(CO)は、三次元の*in vitro*モデルとして、ヒト脳の発生初期を再現できるということがわかってきた。ただ、COの機能を測定することは、脳モデルとして非常に重要であるが、現時点では試行錯誤の段階である。今回紹介した論文のうち、一つ目はCOを三次元のまま電気生理学的な測定を、二つ目はCOを分散して二次元化した後にカルシウム応答の測定を試みた。

多能性幹細胞からの脳皮質オルガノイドの作製

ヒトES細胞やiPS細胞から、Embryonic Body(EB)を作製し、dual SMAD inhibitionによって、脳皮質への分化を誘導した。EB は分化誘導2ヶ月後には、極性のある神経上皮様構造を示し、その後は神経細胞の層構造の一部が免疫染色で認められるようになった。

COの経時的シングルセルRNAseqによる脳の発生モデルとしての検証

COを分散して、各細胞の遺伝子発現を網羅的、経時的に測定した。前駆細胞が経時的に減少し、それに伴って、興奮性神経とグリア細胞が増加し、最後に抑制性神経が生まれることが、*in vitro*系で再現された。

COの電気生理を3Dで測定

MEA(Microelectrode Arrays)の電極上にCOを接着させて電位を測定すると、Mean firing rateやSynchrony Index、Burst frequency等の様々な指標が、COの分化誘導に伴って増大することが確かめられた。Synchrony IndexはNMDAやAMPA受容体拮抗薬やGABA受容体アゴニストによって抑制されたことから、CO中で興奮性神経と抑制性神経が相互作用して機能していることがわかった。早産児の脳波(EEG)データを機械学習させて、そこにCOのLFP(Local Field Potential)データをあてはめると、25~38週齢の胎児に相当した。2次元培養神経ではこのような外挿性は認められなかったことから、生理的なモデルとして、オルガノイドの有用性を示すものと考えられる。

CO分散細胞で同期したカルシウム応答を測定

COを分散して、2次元培養して、細胞内カルシウム濃度を測定したところ、AMPA受容体拮抗薬で抑制される、同期したカルシウム変動が認められた。

キーワード

- 脳皮質オルガノイド(CO)
- シングルセルRNA-seq
- 振動性神経活性
(Oscillatory neural activity)
- 興奮性、抑制性神経ネットワーク

要旨

長期間のシングルセルRNA-seqで皮質オルガノイドの発生動態が明らかになった

MEA(Microelectrode Arrays)によって検出された脳皮質オルガノイド(CO)のNeural oscillationにおいて、興奮性神経と抑制性神経は異なる役割を果たした

COの神経ネットワークレベルはヒト早産児の脳波の特徴に似ていた。

COを分散させた細胞は、同期した、興奮性神経依存的なカルシウム応答を起こした。

担当者 松尾毅 所属 武田薬品工業株式会社 専門 細胞生物学、細胞内情報伝達、神経変性疾患

一言 ヒト脳の研究は、サンプリングや神経培養の難しさから大きな制約を受けてきました。幹細胞研究の発達をもたらした脳オルガノイド作製技術は、ヒト脳の*in vitro*モデルとして切り札的な存在です。脳を構成する多種多様な細胞の中には、未同定の細胞が多く含まれていると考えられ、2次元培養は元より、神経細胞やグリア細胞等の既知の細胞だけを組み合わせた3次元培養と比べても、脳オルガノイドは現時点では最も生理的な*in vitro*モデルと思われます。ただし均質性や成熟度の低さから、まだまだ製薬業界ではなかなか実用化されていません。脳オルガノイドの持つ大きな可能性に期待して、今後の研究の発展に注目です。

✉ tsuyoshi.matsuo@takeda.com

まばたきするヒトの眼表面モデルによって示されたドライアイ治療薬開発の可能性

Seo et al., 2019, Nat Med, 25, 1310-1318

キーワード

- 医療工学
- まばたき
- 眼表面モデル
- 蒸発亢進型ドライアイ
- 薬剤スクリーニングプラットフォーム

要旨

涙液層の調節に必要な、まばたきを行う人工の目を構築した。

まばたきという機械的な力が、角膜の分化を促進するという新規の生物学的現象を見出した。

人工の目のまばたきの回数を減らすことで、ヒトの蒸発亢進型ドライアイに近いモデルの作成に成功した。

Lubricinという薬剤をこのモデルを用いて評価した。また、LubricinがTLRの発現を抑制し、NF- κ Bの核移行を抑えるという新規の薬理作用も見出した。

背景

ドライアイは、様々な要因により涙が均等に行きわたらなくなる（涙液の不安定性）疾患であり、目の表面に傷を伴うこともある。眼表面は、黒目である角膜と白目である結膜からなり、その上には涙液層、さらにその上には涙液の蒸発を防ぐ油層が形成されている。世界で14%の人がドライアイであると言われているものの、ヒトの目の複雑な生理をモデル化するのは難しく、ドライアイの新しい治療薬の開発は困難なのが現状である。そこで、本研究では、涙液層の調節に非常に重要な、人間のまばたきを行う人工の目を構築し、さらに、ドライアイモデルの作成およびそのモデルを用いたドライアイ治療薬の評価を行った。

まばたきする人工の目の構築と、まばたきによる機械的な力がもたらす新規の生物学的現象の発見

3Dプリントの技術を用いて、培地や人工涙液を流すためのデバイスと、細胞を播種するドーム型の多孔質の足場を作成し、組み合わせた。足場の中心部分にヒト角膜細胞、その周りにヒト結膜細胞を播種し、人工の眼表面を作成した。さらに、ゲルで人工のまぶたを作成し、コンピュータの制御下で、人工の眼表面の上を動くようにし、まばたきを再現した。こうしてできた人工の目のまばたきの頻度が、ヒトのまばたきに近いこと、また、まばたきによって涙液層が形成されていることを確認した。さらに、まばたきによる機械的な力が、角膜の分化を促進するという新規の生物学的現象を見出した。

蒸発亢進型ドライアイモデルの作成

蒸発亢進型ドライアイの原因として、コンピュータやスマートフォンを見続けてしまい、まばたきの回数が減少することがあげられる。それにより、涙液の蒸発が亢進し、涙液浸透圧の上昇、眼表面の炎症や障害が起きることもある。本実験では、人工の目のまばたきの回数をコントロール群の半分に減らすことによって、蒸発亢進型ドライアイモデルを作成した。このモデルにおいて、涙液量の低下、涙液浸透圧の上昇、涙液の安定性の低下、眼表面の障害、炎症性マーカーの上昇を確認できた。

Lubricinの評価および新規薬理作用の発見

涙液を眼表面に保持するのを助け、また、眼表面を潤滑にするLubricinという薬剤をこのモデルを用いて評価した。Lubricinによって、涙液の安定性の低下の改善、眼表面の障害の改善、炎症性マーカーの減少が見られることを確認した。また、ドライアイで発現が亢進と言われているTLRの発現亢進をlubricinが抑制し、その下流にあるNF- κ Bの核移行を抑制するという新規の薬理作用も見出した。

老化に伴うミクログリアの貪食機能低下は、CD22の抑制で改善する

Pluvinage et al., 2019, Nature, 568, 187-192

キーワード

- 認知症
- ミクログリア
- CRISPR-Cas9
- 未病・加齢
- CD22

要旨

「CRISPR-Cas9を用いたフェノタイプスクリーニング」&「加齢に伴う遺伝子発現変動」により、CD22を老化によるミクログリア貪食機能低下に関わる候補因子として選別。

CD22は α 2,6結合シアル酸を介して貪食能を抑制する。

抗CD22抗体またはCD22のKOにより、myelin残渣・amyloid- β オリゴマー・ α -synuclein線維のクリアランスが向上した。

浸透圧ポンプを用いた抗CD22抗体のCNS長期暴露により、認知能の改善が認められた。

背景

ミクログリアは、タンパク質の凝集体や細胞の残渣を貪食することで中枢神経系のホメオスタシスを維持している。加齢や神経変性疾患が生じると、認知能低下と共にミクログリアの貪食能も低下する事が知られているが、ミクログリアの貪食能低下のメカニズムや、貪食能改善が認知能の改善につながるかという点はわかっていない。そこで本研究では「CRISPR-Cas9を用いたフェノタイプスクリーニング」と「加齢に伴う遺伝子発現変動」を組み合わせ、加齢に関連するミクログリア貪食能の制御因子を探索した。

CD22の貪食能抑制因子としての選別

Cas9を発現させたマウス由来ミクログリア細胞株BV-2に膜貫通タンパク/既知Drug target(約3000因子)を対象としたsgRNAを導入し、単一因子をKOしたプール細胞を取得した。このプール細胞に、低pHになると蛍光を発するビーズを取り込ませ、貪食能関連因子を選抜した(①)。また、RNA-Seqを用いて、加齢によりマウスミクログリアで発現変動する因子を選別した(②)。①②の指標により、CD22を「加齢に伴い発現上昇する貪食能抑制因子」として選抜した。

CD22は α 2,6結合シアル酸を介して貪食能を抑制する

CD22は主にB細胞に発現し、 α 2,6結合シアル酸をリガンドとしてB細胞受容体を抑制する事が知られている。シアル酸合成に重要なCMAS KO細胞と α 2,6結合シアル酸を持つ合成糖ポリマーを用いる事で、CD22の貪食能抑制にも α 2,6結合シアル酸が関与している事が示された。

CD22抑制による貪食能・認知能への影響

myelin残渣と共に抗CD22抗体を脳の半球に投与する事で、IgG投与側よりもmyelin残渣クリアランスの上昇及びex vivoミクログリア貪食能の向上が確認された。同様のクリアランス向上は、amyloid- β オリゴマーおよび α -synuclein線維においても確認された。また、浸透圧ポンプを用いて抗CD22抗体を老齢マウスの中枢神経系に1カ月間継続投与すると、「①加齢・アルツハイマーモデルで変動する遺伝子シグネチャーの部分的な正常化」、「②短期記憶・恐怖記憶の向上」、「③神経活動マーカー(c-FOS, CREBリン酸化)の上昇」が認められた。

担当者 野田友人 所属 株式会社LTTバイオフーマ 専門 ドラッグリポジショニング(DR)、ドライアイ

一言 コンピュータやスマートフォンなど、現代は便利な世の中で、ついつい夢中になって見てしまいがちですが、それらはドライアイの原因になっています。こんなにも身近な疾患なのに、様々な要因が絡み合う病態の複雑性から、ドライアイの新薬開発はなかなか困難なのが現状です。弊社では、既承認薬を集めた独自のライブラリーを用いて、化合物をスクリーニングする、DRの戦略を推進しています。既承認薬なので、ヒトでの安全性や体内動態などがよく分かっており、開発にかかる時間とコストを削減できるというのが特徴です。このDRの技術を駆使し、いち早くドライアイに困っている人々に新薬を届けることが私の使命であると思って、日々研究しています。

✉ y.noda@ltt.co.jp

担当者 小笠原彬 所属 田辺三菱製薬株式会社 専門 HTS、核酸医薬、遺伝子治療

一言 老化を疾患のリスクファクターとみなし、老化を標的とすることで加齢に伴う疾患発症の予防・遅延を目指す「Geroscience(老化科学)仮説」が提唱されています。もし仮に上記文献の知見がヒトでも成立するのであれば、ヒトの疾患治療に活かされる日が来るかもしれません。老化自体は疾患と見なされていませんが、Geroscience仮説をヒトで検証しようとするTAME試験の実施がFDAに認められたり、リアルワールドのデータをAIで解析し早期診断バイオマーカー探索を目指す企業が出現したりするなど、状況は目まぐるしく変わりつつあります。個人的にこうした分野の論文に興味があり、今後の発展に期待しております。

✉ ogasawara.akira@ma.mt-pharma.co.jp

血液脳関門透過性ナノ免疫複合体は神経膠腫治療のための局所的免疫応答を誘発する

Galstyan et al., 2019, Nat Commun, 10, 3850

キーワード

- グリオーマ、グリオブラストーマ
- 血液脳関門 (BBB)
- 免疫チェックポイント阻害抗体
- ドラッグデリバリーシステム (DDS)

要旨

天然のバイオポリマー分子を足場として、チェックポイント阻害抗体をBBB通過のためのリガンドとともに結合させた、ナノ免疫複合体 (nanoscale immunoconjugates, NICs) を作製した。

NIC投与により、頭蓋内GL261グリオブラストーマを有するマウスの脳腫瘍部位において、CD8+T細胞、NK細胞、マクロファージが増加する一方、制御性T細胞は減少した。

NIC投与により、GL261グリオブラストーマを有するマウスの生存期間が延長された。

背景

グリオブラストーマは、脳腫瘍の中でも成人において最も多く、悪性度の高いことが知られている。免疫治療は多くのがんで効果を示しており急速に進んでいるアプローチであるが、BBBのためにグリオブラストーマ治療への応用は限られている。筆者らは、天然のバイオポリマーであるpoly (β -L-malic acid) (PMLA) に免疫チェックポイント阻害抗体である抗CTLA-4抗体と抗PD-1抗体を結合させた nanoscale immunoconjugate (NIC) を作製した。また、BBB通過のためには、トランスフェリン受容体を介したトランスサイトーシスを用いた。

NICの作製

PMLAを足場として、以下の分子をコバレントに結合させた。
- Trileucine (LLL) : 40%。PMLAの加水分解、疎水化、およびエンドソーム溶解性ドラッグデリバリーに対する安定化のため。
- mPEG5000 : 2%。溶解度向上と安定化のため。
- 抗マウストランスフェリン受容体抗体 : 0.2%。BBB通過のため。
- 抗CTLA-4抗体もしくは抗PD-1抗体 : 0.2%。

NICは腫瘍においてT細胞とマクロファージの応答を刺激する

頭蓋内GL261グリオブラストーマを保有するマウスにNICをi.v.投与する際、アナフィラキシーショック様の影響を避けるため、まず抗ヒスタミン剤と血小板活性因子アゴニストを投与した。その上でマウスにNICを投与し、フローサイトメトリーおよび免疫染色により各種の免疫応答を解析した。その結果、腫瘍部位においてCD8+T細胞、NK細胞、マクロファージが増加した一方で、制御性T細胞の減少が見られた。NICがBBBを通過し、脳内で局所的免疫応答を活性化させることが示唆された。

NICはGL261グリオブラストーマを有するマウスの生存期間を延長させる

抗CTLA-4もしくは抗PD-1のNICを、GL261グリオブラストーマを有するマウスにi.v.投与したところ、フリーのチェックポイント阻害抗体よりも有意に生存の延長が見られた。更に、これら2種類のNICsの組み合わせを投与すると、単一のNICよりも更に長い生存延長が見られた。また、BBB通過のためにNICにAngiopep-2を結合させて腫瘍血管をターゲットした場合でも、トランスフェリン受容体をターゲットした際と同様の結果が観察された。

PCDH15およびRELNのコピー数変異を伴う患者由来の人工多能性幹細胞を使用した双極性障害および統合失調症の*in vitro*モデリング

Ishii et al., 2019, eNeuro, 0403-18

キーワード

- 双極性障害
- 統合失調症
- コピー数変異
- GABA作動性神経
- グルタミン酸作動性神経

要旨

双極性障害患者 (PCDH15の片側アレルが欠失) と統合失調症患者 (RELNの片側アレルが欠失) のiPS細胞を樹立した。

患者由来iPS細胞をNEUROG2あるいはASCL1/DLX2で高効率に分化誘導した神経細胞は樹状突起が短く、神経情報を伝達するシナプス数が減少した。

各患者変異を有するゲノム編集Isogenic iPS細胞を神経細胞へ分化誘導すると樹状突起の短縮やシナプス数の減少を部分的に示した。

各患者に共通する病態を*In vitro*で再現した。

背景

双極性障害 (BP) と統合失調症 (SCZ) は、主要な精神疾患であるが、病態の分子メカニズムは複雑でわかっていない。ただし2つの疾患は、臨床的にオーバーラップした症状を示すことが知られている。これまでに患者の死後脳や動物モデルで解析がされていたが、遺伝的異質性や種差が原因で解析に限界があるとされてきた。両疾患はExcitation/Inhibition (E/I) バランスの破綻が原因とされており、成熟したサブタイプ特異的な神経細胞が病態を再現するために重要とされる。そこで本論文では、それぞれの患者由来iPS細胞を樹立し、転写因子を用い、サブタイプ特異的な神経細胞として興奮性/抑制性神経細胞へと分化誘導することで、共通した分子病態を再現することに成功した。

双極性障害と統合失調症患者からのiPS細胞樹立。

細胞接着分子 (PCDH15 Exon1/9) あるいは細胞外マトリックスタンパク (RELN Exon52) の片側アレル欠失である患者由来のiPS細胞を樹立して、代表的な未分化能 (OCT4/NANOG/SSEA4/TRA1-60) と三胚葉 (β III TUBULIN/AFP/ α SMA) への分化能を確認した。

サブタイプ特異的な転写因子で興奮/抑制性神経へ分化誘導して樹状突起の異常を再現。

各患者由来iPS細胞にNEUROG2あるいはASCL1/DLX2を含むプラスミドを導入して、Tet発現誘導システムでDoxによる遺伝子発現誘導することにより、グルタミン酸作動性神経とGABA作動性神経へそれぞれ分化誘導した。MAP2と β III TUBULIN陽性率はコントロール株と同等であった。しかし発現変動遺伝子 (DEGs) をGOおよびパスウェイ解析すると、Cell adhesionとNeural functionがコントロール株と有意な差を示した。両患者株では樹状突起長 (MAP2) の短縮とPre-synapticマーカー (Synapsin I)、Post-synapticマーカー (Homer I、Gephyrin) が減少していた。

PCDH15/RELNの特定exonを欠損させたIsogenic iPS細胞由来神経も樹状突起に異常を示した。

PCDH15 Exon9あるいはRELN Exon52の両アレル欠失株をCRISPR/Cas9で作製した。各Isogenic iPS細胞を転写因子でグルタミン酸作動性神経とGABA作動性神経へそれぞれ分化誘導すると、樹状突起長やPre-synapticマーカー (Synapsin I) が部分的に減少傾向を示した。

担当者 長澤茉耶 所属 田辺三菱製薬株式会社 専門 タンパク工学、ナノ粒子、DDS、抗体

一言 体内の病変部位に優先的に薬剤を届けるTargeted Drug Delivery技術は、薬効を高めると同時に副作用を低減することができ、活発に研究・技術開発が行われています。中でも、薬剤を中枢神経系へ送達する試みは、神経疾患治療のために非常に重要である一方で、血液脳関門 (BBB) を通過させる必要があるためとてもチャレンジングなテーマの一つです。脂質、ポリマー、タンパク質、金属ベース等様々なマテリアルを活用した技術開発に加えて、投与経路の改良等あらゆるアプローチで研究が行われています。継続して最新動向を追っていきたいです。

✉ nagasawa.maya@ma.mt-pharma.co.jp

担当者 吉田俊介 所属 株式会社ケイファーマ 専門 細胞生物学、発生・分化、神経変性疾患

一言 ヒトiPS細胞の技術が活きる分野として創薬応用が挙げられます。患者サンプルからiPS細胞を樹立して病態を解析するアプローチが世界中で行われ、実際にALSのドラッグリポジショニングが臨床試験へと進んでいます。しかし、今回の精神疾患のように複雑な病態が再現できず、治療のための研究が技術的に進まない疾患もあります。今回の論文は双極性障害と統合失調症患者サンプルを用いていますが、未解明な部分が多く、技術的な課題がある印象です。精神疾患のように病態再現が難しい疾患に対して、患者由来iPS細胞を用いた創薬開発に興味があり、今後も研究が進むことを期待しています。

✉ shunsuke.yoshida@kpharma.co.jp

CRISPRiに基づくヒトiPSC由来ニューロンにおけるマルチモーダル遺伝的スクリーニング

Tian et al., 2019, Neuron, 104, 239-255

キーワード

- CRISPR Interference
- Pooled/Arrayed CRISPR screen
- CRISPR/Cas9
- iPSC derived neuron (iNeuron)
- High content screen

要旨

ヒトiPSC由来ニューロンにおけるCRISPRiプラットフォームを構築した。

神経細胞の生存に重要な遺伝子はiPSCやがん細胞とは異なる。

Single-cell RNA-seq (scRNA-seq) を用いることで、ユビキチン化に関わる遺伝子について細胞型で異なる機能が判明した。

アレイ型ハイコンテンツスクリーンにより神経細胞の形や生存に与える遺伝子群を見出した。

背景

CRISPRの開発により、遺伝疾患モデルの作製が簡便になっただけでなく、創薬などで遺伝子機能のスクリーニングも盛んに行われるようになった。ただしこれまでは、CRISPRを用いたスクリーニングは自己複製能のあるがん細胞や幹細胞で用いる研究が多く、神経細胞のような分化細胞でのCRISPR screenは少なかった。この論文ではヒトiPSC由来ニューロン (iNeuron) におけるCRISPRi プラットフォームを構築し、iNeuronにおいて、CRISPRiによるマルチモーダルなノックダウンスクリーニングを実現した。著者らはPooledとArrayed CRISPRi screen両方を用いて、ニューロンのサバイバル、トランスクリプトーム、及び形態変化などを解析し、それぞれに対してニューロンの必須遺伝子を示した。

細胞生存を指標とするプール型スクリーニング

キナーゼとドラッグブルなタンパク質をコードする2,325遺伝子を標的とする1遺伝子あたり少なくとも5種類のsgRNAsを含むsgRNAsのH1ライブラリーを利用し、500種類コントロールsgRNAsの結果を最大限解析に活かすMAGeCK-iNCで解析した。

iPSCsとiNeuronのスクリーニング結果を癌細胞株の遺伝的スクリーンで選定された必須遺伝子の標準セットと比較し、iPSCsとiNeuronそれぞれに特異的な必須遺伝子セットと、共通な必須遺伝子セットを同定した。ニューロンにおける必須遺伝子の発現レベルは、非必須遺伝子よりも有意に高いことを同定した。

scRNA-seqをリードアウトとするプール型スクリーン

H1ライブラリーによるスクリーンから同定したiPSCsとiNeuronの生存に影響を与える27遺伝子を選択し、1遺伝子あたり2sgRNAsでノックダウンし、ディープシーケンシングとCROP-seqに準じたscRNA-seq解析を加えた。iPSCsとニューロンの間で、ほとんどの遺伝子のノックダウンが、両者のトランスクリプトームに異なる作用を及ぼした。iPSCsとニューロンに共に必須である遺伝子の中にもそうした例 (UBA1ユビキチン活性化酵素E) が存在し、ハウスキープ遺伝子が細胞型を問わずに遍在するとしても、細胞型によって異なる機能を担っていることが示唆された。

アレイ型ハイコンテンツスクリーン

CROP-seq解析を加えた遺伝子の中から23遺伝子を選択し、そのノックダウンによるニューロンの生存性と形態の経時変化を観察したところ、必須遺伝子のノックダウンがニューロンの形態に対して異なる影響を与えることを同定した。

なぜ遺伝子操作モデル動物で期待した表現型が得られないのか？

El-Brolosy et al., 2019, Nature, 568, 193-197
Ma et al., 2019, Nature, 568, 259-263
Rosie et al., 2019, Lab Animal, 48, 282-284

キーワード

- Genetic compensation
- Transcriptional adaptation
- Adaptive gene
- Nonsense mediated mRNA decay (NMD)
- mRNA surveillance machinery

要旨

遺伝子にナンセンス変異が入ると類似遺伝子 (adaptive gene) および別alleleの転写量が増大し、変異による影響を補償する。

この遺伝子発現量の増加は変異mRNAの分解により惹起され、そのmRNAがコードするタンパク量によっては影響されない。

Transcriptional adaptationの惹起にはmRNA surveillance machinery関連遺伝子が必要である。

Adaptive geneの発現量の増加は転写開始点付近のヒストンH3K4のトリメチル化の亢進により起こる。

背景

生物はある遺伝子が機能しなくなった時でも、同じような機能を持つ遺伝子を発現させるgenetic compensationと呼ばれるメカニズムを持っている。このメカニズムを解明することは、疾患の研究を効率的に進める重要なヒントになるだけでなく、生体が恒常性を維持する精緻な仕組みの解明につながる。しかしながら、genetic compensationの分子メカニズムはこれまでほとんど明らかになっていなかった。今回紹介する論文では、「なぜノックアウト動物で期待する表現型が出ないのだろうか？」という疑問から、genetic compensationを引き起こすメカニズムの解明に迫った。

mRNAの分解がtranscriptional adaptationを引き起こす

ナンセンスコドン変異を持つマウス繊維芽細胞およびゼブラフィッシュにおいてその遺伝子のパラログ、ファミリー遺伝子mRNA発現が亢進していた (Transcriptional adaptation)。この現象はこれらの正常なmRNAの導入によってもキャンセルされなかった。さらに、より分解されやすいキャップ構造を持たないmRNAを導入しても、transcriptional adaptationは惹起された。一方で、CRISPRiによるmRNAの転写抑制ではtranscriptional adaptationは惹起されなかった。

NMDに関連するmRNA surveillance machineryがtranscriptional adaptationに必須である

このtranscriptional adaptationは、NMDに関与するNMD-activating complex *Upf1* 遺伝子、もしくはmRNA surveillance machineryに必須な*Upf3a*、*Xrn1* 遺伝子の発現抑制により、著しく減弱した。

Adaptive gene転写開始点ではepigenetic remodelingが起きている

Adaptive geneのTSS近傍では、ヒストンH3のメチル化に関与するCOMPASS complexの構成タンパクWDR5が集積し、ヒストンH3K4のトリメチル化が亢進していることが明らかとなった。これらの結果から、変異mRNA分解産物が核に移行し、adaptive geneの遺伝子座にヒストン修飾因子を動員してこれら遺伝子の転写を促進するモデルが提唱された。

担当者 李紅梅(リサ) 所属 武田薬品工業株式会社 専門 ゲノム編集、疾患モデル、遺伝子治療

一言 CRISPRが開発されて以来、様々な分野で非常に有用なツールとして使われている。特に今回の論文のようなスクリーニング系では、これまで見えていなかったものが、ゲノムワイドなスクリーニングにより、見出される可能性が高くなっている。ただし、ライブラリーの選択とリードアウトによる偽陽性なものには十分注意すべきである。

✉ lisahongmei.li@takeda.com

担当者 大儀和宏 所属 武田薬品工業株式会社 専門 核酸医薬、再生医療、遺伝子治療

一言 サイエンスの進歩はすさまじく、これまで知り得なかった新たな生体内現象が次々と見いだされ、そこに創薬ターゲットを見いだすという動きが大きな流れとなっています。その中で、私たちはヒトを含む生物というものについて、全貌を説明するにはほど遠い、まだわずかな知識しかもっていません。新たな生命現象から見つかった創薬ターゲットに対し、その異なる動きについても十分注意を払いながら進めていく必要があると感じている今日この頃です。Science caféでは単なる新規論文紹介にとどまらず、この様な内容を含めて、すぐに皆さんの研究に応用できるような研究およびその応用例の紹介をしていきたいと考えています。

✉ kazuhiko.ogi@takeda.com

Memo

編集後記 ■■■■

みなさんと共に編集作業を進めて参りましたが、湘南アイパークサイエンスカフェの大変素晴らしい小冊子、第1号がついに完成しました！みなさんの各回のご発表に加えまして、小笠原さん、新名さんの最新レビューも加わり、読みごたえも十二分にあります。現在、参加を検討されているみなさんにとりまして、私共のサイエンスカフェの活動が「見える化」することで、本小冊子が参加の後押しとなってくれるものと期待しております。サイエンスカフェは湘南アイパークのオープンスペース（以下、写真）で実施していますので、いつでもお気軽にお越しください。（野上）

本冊子の編集過程で皆様の原稿に一通り目を通させて頂きました。皆様お忙しい中、非常に完成度の高い原稿を御作成くださり、感謝致します。私はサイエンスカフェに途中から参加したため、前半の演題については十分内容を把握できておりませんでした。また、特に専門分野外の事だと、発表を伺っても頭がついて行けていないこともしばしばございました…。そうした点についても、この冊子の編集過程を通して理解を深めることができ、1枚ものとして形に残す事の意義を改めて強く実感している所です。また、本冊子に記載されている新名さんのレビューは非常に楽しく拝読させて頂きました。普段身近でない分野を知るきっかけの1つとして、こうしたレビュー記事は非常に有用だと感じております。iParkには、様々な専門性を有する一流の研究者の方々が多く在籍されているため、これから出てくるレビュー記事も楽しみにしています。末筆ではございますが、お忙しい中原稿を執筆してくださった皆様ならびに日比野さんをはじめとするiParkの皆様へ、この場で改めて御礼申し上げます。第2号以降も引き続きよろしくお願い致します。（小笠原）



湘南アイパークサイエンスカフェの様子



iPark Science Caféにて撮影

