

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： iPS 細胞の品質変動と実用化を目指した培養技術の標準化に関する研究
2. 研究開発代表者：古江 美保（国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所）
3. 研究開発の成果

本研究は、創薬研究において医薬品等の薬効や安全性（毒性）の評価ツールとしてヒト iPS (hiPS) 細胞を安定した品質で応用するために、hiPS 細胞の品質変動の要因を明確にすることにより、その重要性を啓蒙し、創薬研究推進を図ることを目的とする。

国内では hiPS 細胞の再生医療への応用が注目されているが、国際的には創薬研究への利用が期待されている。次々と画期的な分化誘導法が発表されている一方、同じ hiPS 細胞株を用いても同じ結果を再現できないことも多い。その原因の 1 つに、実験者や研究施設が変わることによる未分化な hiPS 細胞の品質変動が考えられる。その品質変動を誘導する要因に培養技術が挙げられる。ピペッティング等単純な作業の誤りにより、hiPS 細胞のアポトーシスが誘導されることは経験上知られているが、分化誘導の再現性にどのような影響を及ぼすか等、具体的に検証された研究はない。そこで、創薬研究のために、恒常的に hiPS 細胞を高い品質で維持し、再現性高い分化誘導法を利用できるよう、培養技術を科学的に検証し、技術不足が hiPS 細胞に及ぼす悪影響を証明する。また、hiPS 細胞の品質変動要因を明確にし、基本技術を標準化することにより、その重要性を啓蒙し、国内の hiPS 細胞を用いた創薬研究の推進を図る。

### ① 未分化維持における品質変動とその要因の検証

未分化な hiPS 細胞の品質変動を引き起こす要因の 1 つとして、培養技術が挙げられる。そこで、熟練者と初心者の培養技術を模倣する培養作業を行い、細胞形態、遺伝子発現プロファイル、ゲノム安定性、自己分化能、細胞内エネルギー代謝等を測定することにより品質を評価し、品質変動の要因を検証中である。まず、樹立法の違いによる影響を検討するため、従来法により京大・CiRA にて樹立され JCRB 細胞バンクに寄託されている hiPS 細胞と同じドナー細胞 (JCRB 細胞バンク保有細胞) からセンダイウイルスにより hiPS 細胞を作製し、ストックを作製し、これらの hiPS 細胞の比較解析を進行中である。また、熟練者と初心者の培養技術を模倣するピペッティング回数や継代時の操作時間等の影響を検証する方法を策定するとともに、hiPS 細胞株の自発分化能を測定する方法を策定した。さらに、hiPS 細胞の品質の指標の一つとして細胞内エネルギー代謝の測定が有効であることが解明され、細胞内エネルギー代謝の可視化に成功した。

### ② 分化プロトコールの標準化と分化誘導再現性の検証

hiPS 細胞を用いた創薬研究を目指す研究者らがコントロールとして使用できる再現性の高い分化プロトコール（主に神経、血管、肝細胞）を策定するとともに、上記で検証した個々の品質変動が分化の再現性に及ぼす影響を検証中である。現在までに、国内外で報告されている外胚葉（神経細胞等）、中胚葉（血管内皮、血球系細胞等）、内胚葉（肝細胞等）への分化誘導プロトコールを収集し、国内で使用可能なプロトコールを選択し、検証中である。なお、研究開発担当者ならびに分担者らは hiPS 細胞のバンキング、神経、血球、肝細胞への分化誘導の研究にそれぞれ従事しているとともに、ヒト初代肝細胞に約 170 種の化合物を曝露した際の遺伝子発現データをトキシコゲノミクスデータベースに構築する作業を既に完了しており、未分化・分化細胞の品質検証に必要な測定エンドポイントを探索する環境も整備している。