

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ヒト iPS 細胞由来肝／小腸細胞による再現性のある薬物代謝酵素・トランスポーター等の薬物誘導性評価試験の開発
2. 研究開発代表者： 石田誠一（国立医薬品食品衛生研究所）
3. 研究開発の成果

H27 年度は、H26 年度の成果をもとに、肝細胞は CYP3A4 遺伝子の誘導性の改善が認められた化合物を培地に添加する際の至的濃度や他の化合物での代替に関し、薬物酵素誘導に至適化した培養条件の検討を年度初めの研究開発計画書より前倒し実施した。その結果、市販 iPS 細胞由来肝細胞で、リファンピシンによる CYP3A4 遺伝子の 3~4 倍の誘導が再現性を持って確認できた。化合物の添加条件の検討を加えることでほぼ実用に耐える CYP 遺伝子誘導能が期待できるまでになっている。市販 iPS 細胞由来肝細胞とともに、成育医療研究センターで分化誘導した iPS 細胞由来肝細胞を受け入れ、複数の誘導剤による薬物酵素誘導能を確認した。また、細胞の品質基準と薬物誘導性試験プロトコルの作成を進めた結果、iPS 細胞由来肝細胞では凍結肝細胞と比較して特徴的な CYP 誘導性が観察された。新たな品質基準として有効として考えられる。分化成熟指標の選別と薬物誘導能予測モデル開発のデータ収集として、マイクロアレイ ジェノパールにより薬物動態関連遺伝子 189 種の発現を網羅的に解析し、市販 iPS 細胞由来肝細胞と凍結肝細胞間で比較解析を行った。ECVAM PBTG 案に準じたプロトコルに基づき CYP1A2 と CYP3A4 の誘導剤各 2 種ずつで基礎データの収集を計画し、年度初めの研究開発計画書より前倒して初代培養肝細胞と市販 iPS 細胞由来肝細胞で実施している (H28 年度に継続)。得られた基礎データをもとに、凍結肝細胞を代替する iPS 細胞由来肝細胞等を用いた薬物による CYP 遺伝子誘導性の評価基準を提案し、「医薬品と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン (案)」へ反映するよう努める。

腸管上皮細胞は低分子化合物を用いた分化誘導法の改良による成熟化の検討を進めた。研究班に参加している研究開発分担者の各施設でヒト iPS 細胞から腸管上皮細胞への分化誘導の再現性は高く、複数のヒト iPS 細胞株で腸管上皮細胞を作製できることが確認された。開発した分化誘導プロトコルは汎用性が高いものと考えられる。また、分化誘導には低分子化合物を使用しているため、比較的 low コストで細胞を作製することが可能となった。条件検討の結果、従来の方法より分化誘導にかかる時間を通常の 30 日から 15 日程度と 1/2 に短縮させることができた。腸管上皮細胞モデルとして用いられている Caco-2 細胞では薬物代謝酵素の誘導性の評価ができないが、iPS 細胞由来腸管上皮細胞ではリファンピシンをはじめ複数の誘導剤による CYP3A4 遺伝子の発現誘導が認められた。mRNA 発現での評価に関しては目標にかなり近づいてきており、薬物代謝酵素の誘導性の評価を本来の腸管上皮細胞で行うことが可能になると考えられる。iPS 細胞由来腸管上皮細胞は培養器への接着性が高く比較的安定して培養できるため常温による生細胞の移送が可能と考え、輸送方法の検討を国立衛研と各機関で開始した (H28 に継続)。並行して、iPS 細胞から立体的組織としての腸管構造体の分化誘導開発を進めた。上皮様組織マーカーや薬剤トランスポーターを指標に腸管構造体を解析し、高い分化成熟度を示すことを明らかとした。

細胞実験の結果から薬物代謝酵素誘導の程度を肝臓と小腸で区別して予測するために、新しい局所薬物動態モデルを構築するとともに、臨床試験の結果から小腸と肝臓で誘導の程度を区別して評価する方法論を新たに構築した。CYP3A の誘導による薬物動態変化を報告している公表論文を系統的に調査し、肝臓と小腸の誘導の程度を分離評価した。その結果、多くの誘導剤で肝臓よりも小腸の代謝酵素の誘導の程度が強い傾向が確認され、小腸での薬物代謝能の誘導予測することの重要性が確認された。