

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ヒト iPS 細胞由来心筋細胞株を成人心筋に橋渡しするためのインシリコツールの開発

2. 研究開発代表者： 黒川 洵子（東京医科歯科大学難治疾患研究所）

3. 研究開発の成果

本研究では、医薬品安全性の心毒性評価に関して、ヒトiPS細胞由来心筋の細胞特性のばらつきをインシリコ技術により補正する技術を開発し、臨床における催不整脈作用の予測につなげることを研究目標とする。平成27年度は「マイルストーン5：iPS細胞モデルデモ版の作成」を達成するために、班会議2回を開催して班内で打ち合わせを行い、全体で連携しながら以下の成果をあげた。

(1) 株間差の比較定量解析：（黒川・古谷・木村・永森・諫田）

ヒト iPS 細胞から分化した複数の心筋細胞株における心筋マーカー遺伝子発現のばらつきを定量リアルタイム PCR で調べた。追加交付により細胞を新たに購入して不足分を補充したので年度内に比較解析を開始した。電気生理学的実験による解析を行う分子を 8 種類決定した（ $I_{NCX}$ 、 $I_{Na}$ 、 $I_{Ca-L}$ 、 $I_{Ca-T}$ 、 $I_{Ks}$ 、 $I_{Kr}$ 、 $I_{K1}$ 、 $I_f$ ）。電気生理学的実験による解析を行う心筋マーカーとして 1 分子以上を選定するという当該年度のこのマイルストーンは達成された。

前年度に取得した網羅的膜タンパク質プロテオミクスから得られた心筋マーカーの情報を基に、主要な心筋マーカーに対して定量型質量分析計 Thermo Q-Exactive の PRM モードもしくは SIM モードを用いてヒト iPS 心筋細胞株間の詳細な比較定量解析を行った。ヒト iPS 心筋細胞株に対して心筋マーカーの比較定量解析を行うという当該年度のこのマイルストーンは達成された。

(2) インシリコモデル開発（黒川・古谷・永森・諫田・江那・江花・中谷）：

ヒト心室筋細胞のインシリコモデルである O'Hara-Rudy dynamic (ORd) モデルを本研究における起点（ベースモデル）として、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞のウェット実験から得られた定量的データを基に各種パラメータを改変した。

まだ改良中ではあるが、現時点までに開発したヒト iPS 細胞由来心筋細胞とオリジナルの心室筋細胞のインシリコモデルを用いて、それぞれを多数、電氣的に連結した心筋細胞シートのインシリコモデルを構築し、hERG チャネルのコンダクタンスを減らしたときの細胞外電位記録の変化を調べた。その結果、細胞外電位記録の波形変化が、通常的心室筋細胞の  $APD_{90}$  変化をよく反映したのに対して、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞では  $APD_{90}$  よりも  $APD_{50}$  を反映しやすいことが分かった。

さらに、実際にウェット実験で開発され用いられているヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートには、さまざまな細胞の形状や密度、配列、電氣的結合の強さ、線維芽細胞の増生などに違いを認めることが判り、それらをインシリコモデルに反映させるための計算コードを作成した。ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の株間差は、一部このような違いからもたらされている可能性もあるため、この部分はとても重要と思われる。従って、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞活動電位モデルの妥当性を評価する方法を策定するという当該年度のこのマイルストーンは完全に達成された。

(3) 薬効評価の調査（黒川・諫田・芦原）：

株間差の補正を目指して心筋シートにおける検証を行うとともに、JiCSA (Japan iPS Cardiac Safety Assessment)、製薬協 CSAHi、米国 FDA/HESI の CiPA によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞による催不整脈作用予測性の検証試験の情報を調査した。国際ブラインド試験に使用される細胞株は iCell (CDI 社・富士フィルム) および Cor4U (Axiogenesis 社) であり、両細胞株から作成した心筋シートにおける薬効評価を解析した結果を調査した。従って、当該年度のマイルストーンは達成された。