

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ヒト iPS 分化細胞技術を活用した医薬品の次世代毒性・安全性評価試験系の開発と国際標準化に関する研究
2. 研究開発代表者： 関野 祐子（国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・薬理部）
3. 研究開発の成果

ヒトiPS細胞由来分化細胞を使った毒性・安全性評価法を世界に先駆けて開発して国際標準化し、医薬品開発における非臨床試験への導入を推進し、より安全な医薬品開発とヒト特異的有害反応による医薬品候補化合物のドロップアウトの低減を目指した研究開発を行う。ヒトiPS細胞由来分化細胞を利用した試験法開発には、まず安定した薬理応答を示す分化細胞が大量に供給されること、同一の実験標本やプロトコルにより国内外の多施設間検証実験を行い試験法の妥当性・頑健性を評価することが必須である。また、標準的分化細胞の品質管理をするためには、iPS細胞の製造から最終分化製品に至る各製造工程のトレーサビリティが重要である。本研究ではこれらの実現にむけて、研究代表者がまとめる研究開発分担者（10グループ）と他の研究開発分担者（10グループ）が協力して、1. 次世代評価法プロトコル開発（心臓）、1. 評価法の検証実験（心臓）、3. 評価法用標準細胞の開発（心臓）、4. 次世代評価法開発と多施設間検証（中枢神経系/肝臓）、5. 評価法用標準細胞の開発（中枢神経系/肝臓）、6. 公的試験法に向けた国内・国際協調、7. データベース等の構築、について課題設定した。

開発初年度（H27年度）は、1. 多点電極法で催不整脈リスク予測評価の指標を定め、施設間差を最小化する実験プロトコルを完成し公表した。国際検証試験で使用される他の分化心筋細胞、計測機器、計測方法、インシリコ細胞モデル、3D心臓モデルについて、実験プロトコルを作成した。2. 薬剤性心室頻拍の報告がある化合物を陽性対照物質として全60化合物データを取得、解析した。分化心筋細胞はヒト心臓の特徴を有しており、催不整脈リスク予測性が高かった。国際検証試験においては、予備試験を終了し、医薬品名をブラインドコード化するPhaseIIの準備を開始した。3. 国内アカデミア発の分化心筋細胞の利用実現のため、分化効率の向上、保存技術や心筋細胞の純化法を改良した。一部の分化誘導法をSOP化して企業への技術移転を実施した。分化心筋細胞の品質管理の規格化のためのトレーサビリティを確立する研究を開始した。IK1イオンチャネルの過剰発現により、分化心筋細胞の電気生理学的な成熟化に成功した。4. ヒトiPS細胞由来神経前駆細胞と分化神経細胞を使った毒性試験プロトコルを完成した。複数のiPS細胞由来神経細胞の分化ステージと機能的シナプス形成について、シナプス機能マーカーを統一化して多施設間で検証を行った。ヒトiPS細胞由来分化肝細胞では、CYP3A4の発現と酵素活性が低いながらも安定して観察できるようになった。5. 分化レベルとシナプス機能の成熟度がそろった標準的な分化神経細胞の開発のために、分化誘導法の標準化に着手した。肝臓分化プロトコルの簡便化・標準化に向けて、内胚葉分化培地、肝臓前駆細胞分化培地、肝臓成熟化培地、維持培地の改良を行った。6. 国内活動としては、製薬協コンソーシアムとのデータ共有などの協議、講習会による技術交流の推進、新しい市販分化心筋細胞の評価における共同研究などを行い、ユーザーである国内製薬企業との情報共有に努めた。PMDAから研究開発協力者を得て緊密な情報交換を行っている。国際活動としては、Good Cell Culture Practiceガイダンス改訂で分化心筋細胞の項目を担当した。本研究班代表者は、研究開発分担者、日本安全性薬理研究会幹事らとともにJapan iPS Cardiac Safety Assessment (JiCSA) を結成し、米国Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay (CiPA)と協力してICH-S7B改訂のための活動を行っている。この活動については、国内外の学会発表、シンポジウム講演、月に1-2回の米国との電話会議、JiCSA/CiPA会議の開催、HPにより国内外に発信している。さらに、7. 分化細胞の種類、計測機器の種類などに応じた参照データの公的な利用をめざしたデータ/評価系プラットフォームの構築のために、多点電極法による実験データの自動解析ツールのプロトタイプを作成した。