OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒトiPS 細胞由来心筋細胞を用いた新規催不整脈作用評価系の開発と有用性の検証
Author(s)	野﨑, 裕美子
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/69245
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　　名　（　野崎　裕美子　）	
論文題名	ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた 新規催不整脈作用評価系の開発と有用性の検証

論文内容の要旨

薬剤誘発性不整脈（Torsade de Pointes：TdP）は、心室細動や心突然死を引き起こすことから新薬開発において最も重要視される心毒性であり、先行して認められるQT延長が催不整脈作用の指標として用いられてきた。2009年に国際的ガイドラインが制定され、非臨床試験はICH S7Bに、臨床試験はICH E14に基づき、候補化合物の安全性評価を実施するよう定められている。現在、非臨床試験では、*in vitro*のhERG アッセイとイヌおよびサルなどを用いた*in vivo*心電図実験およびフォローアップ試験の結果より、新規医薬品のQT延長および催不整脈作用を検出することが世界標準となっている。本ガイドラインの制定により、QT延長ポテンシャルを示す薬剤が臨床試験に移行してからドロップアウトする可能性は非常に低くなったものの、近年の課題は、QT延長ポテンシャルを有していても催不整脈作用を有するとは限らず、薬効に優れた新薬をドロップアウトさせてしまう可能性があることである。評価が必須とされるhERGアッセイはhERGチャネルのみに対する作用を評価する系であり、総合的な心筋イオンチャネルへの影響を考慮するべき評価系として十分ではない。また、動物実験におけるQT延長作用とヒトでのQT延長／催不整脈作用の間には必ずしも相関しないケースが存在し、その一要因として心筋イオンチャネル発現量の種差が指摘されている。

近年、新薬開発におけるこの新たな課題を打開しうる解決策として、「ヒトiPS/ES細胞由来心筋細胞(hiPS/ES-CMs)を用いた心毒性評価システム」が注目を浴びるようになった。ヒト由来の心筋細胞を用いて、薬剤の心筋イオンチャネルに対する影響を総合的に評価することで、創薬初期段階でヒトの心毒性ポテンシャルを予測することが可能となると考えられている。本研究では、hiPS-CMsを用いた新規心毒性評価システムを確立し、ヒトへの外挿性の観点から、催不整脈作用に対する当該評価系の有用性について検証することを目的とした。

新薬開発に必要とされる安全性評価系は、いずれの施設においても容易に評価が可能で同様の結果が取得できる安定した試験法であることが要求される。そこで、本評価系の施設間差および細胞のロット間差に対する影響を検証するため、製薬協主催「ヒトiPS細胞応用安全性評価コンソーシアム(CSAHi)」に参画する5施設において、心筋イオンチャネルに作用する陽性/陰性対照薬7剤のhiPS-CMsの細胞外電位に及ぼす影響を検討した。評価パラメータには、細胞外電位持続時間（Field potential duration; FPD)、拍動数（Beat rate; BR）および不整脈様波形発現率を用いた。本評価系を用いるにあたって、まず最適化した共通プロトコールを策定し、各施設 Multi channel systems(MCS)社製多電極アレイシステム（Multi electrode array system: MEAシステム）を用いて検討を実施した。また、測定に用いた細胞が各施設での培養および測定環境に影響を受けないことを確認するため、ランダムに選択した3施設より細胞起眠直後および細胞外電位測定直前の細胞を回収し、RNAを抽出して細胞性状解析を実施した。さらに、本評価系がどのような特徴を持つ薬剤の評価が可能かを見極めるため、心筋細胞に対しさまざまな薬理作用を有する31剤について上記評価パラメータに及ぼす影響について検討した。

検討の結果、hiPS-CMsを用いたMEAアッセイにおいて、評価パラメータに対する細胞密度による影響、施設間差および細胞の定性的なロット間差は認められず、測定使用時の細胞の各種遺伝子発現量においても施設間による差は認められなかった。これらのことより、本報告で確立したプロトコール条件は実験環境による影響を受けにくく、安定した評価結果が得られることを示した。また、計38種の陽性/陰性対照薬およびモデル化合物の評価パラメータへの影響を検討した結果、不整脈様波形の発現やFPDcの延長により、既存評価系では評価が困難であったマルチチャネル阻害薬を含むこれら薬剤の有する催不整脈作用およびQT延長作用を確度高く検出可能であることが示された。さらに、既存評価系との比較から、本研究で示したMEAアッセイにおける$FPDc_{10}$（10% FPDc 延長濃度）や$MC_{EAD/TA}$（EADもしくはTAを引き起こす最小濃度）は、*in vivo*テレメトリー試験におけるEC_{10}やhERGアッセイのIC_{50}、モルモット心筋細胞によるAPD（Action potential duration; 活動電位持続時間）アッセイにおけるEC_{10}に比較して高い感度と特異性を有する予測因子となることが示唆された。臨床におけるQT延長およびTdP発現時の血漿中濃度とも高い相関性を示し、ヒト心毒

性に対する予測性の高さが期待された。

上記の結果より、本評価系は現在のガイドラインに則った既存評価系による心毒性ポテンシャル評価の課題を解決できる可能性がある。すなわち、1）QT延長だけでなく、催不整脈作用そのものを評価可能、2）hERGチャネルのみならず、ヒト心筋イオンチャネルに対する作用を総合的に評価可能、そして、3）ヒトiPS細胞由来心筋細胞を使用することで、種差を回避することが可能と考えられる。また、既存評価系と比較した場合に本評価系が有するメリットは、安定供給可能な市販のhiPS-CMsを用いること、少量の細胞と薬剤量で催不整脈作用評価が可能であること、そして、いずれの施設においても精度高く評価できることである。本研究成果が、近年中に改訂が予定されている新ガイドラインの評価法の一つとしてMEAアッセイが適用される一助となることを期待する。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（野﨑　裕美子）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	藤尾　慈
	副 査	教授	辻川　和丈
	副 査	教授	水口　裕之

論文審査の結果の要旨

論文タイトル　ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた新規催不整脈作用評価系の開発と有用性の検証

薬剤の催不整脈性は、新規医薬品の開発中止や承認薬の市場撤退の重要な要因の一つであり、安全性薬理試験におけるコアバッテリー試験の課題の一つとなっている。しかしながら、従来のhERG試験やテレメトリー試験には限界があり、新たな評価系の確立が期待されている。このような背景のもと、申請者は、ヒトiPS由来心筋細胞を用いて、多電極アレイによる新規催不整脈作用評価系を確立し本論文に報告した。また、本論文は、本評価系の有用性を、モデル化合物を用いて検証し、本評価系は、既存評価系と比して臨床予測度が高いデータを供給しうることを示した。さらに、本評価系は、大きな施設間差なく使用可能であることが示されており、本論文の成果は、ICHガイドラインに取り入れられることが期待されている。

以上、本論文は、創薬科学、医薬品開発学に大きく貢献することが期待され、博士（薬学）の学位論文に値するものと認める。