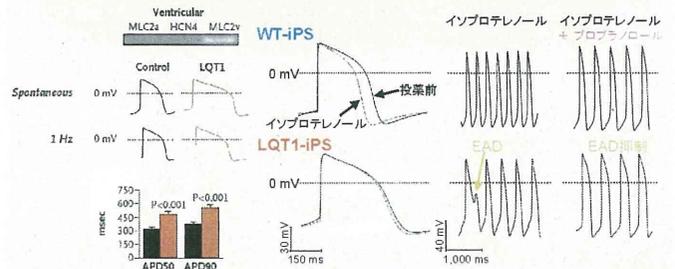


なぜ 心臓安全性薬理評価に *in silico* が求められるのか？

- 催不整脈性を評価
- 薬物毒性を評価
- 創薬コストの削減
- 動物実験の削減
- マルチチャネル相互作用
- iPSC細胞由来心筋細胞 (iPSC-CM) と「リアルワールド」のギャップを埋める

LQT1 患者の iPSC 細胞由来心筋細胞 → wet な薬効評価シミュレーション



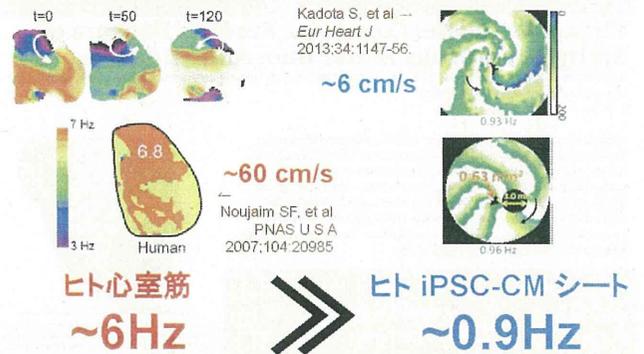
LQT1 患者由来の iPSC-CM では、WT (健常者) 由来よりも APD が長かった。その iPSC-CM は、β遮断薬による早期後脱分極 (EAD) 抑制効果を再現できた。

Moretti A, et al. *N Engl J Med* 2010;363:1397-1409

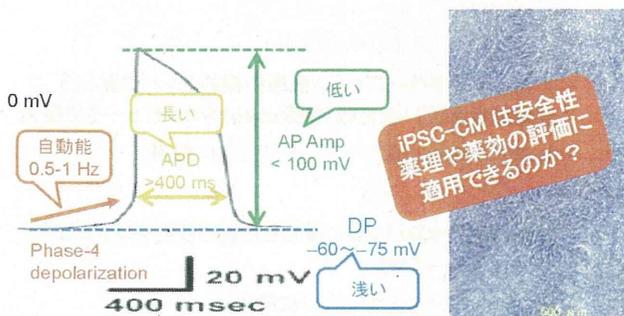
はじめに

- 最近、ヒト iPSC 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CM) による心筋シートを、催不整脈性や薬効の評価を含む心臓安全性評価に用いようとする試みが広がっている。
- しかし、hiPSC-CM を用いた評価系が、オリジナルのヒト心臓と同じかどうかについては、まだ十分な評価がなされているとは言えない。

ヒト iPSC-CM シートでの スパイラルリントリーは極端に遅い



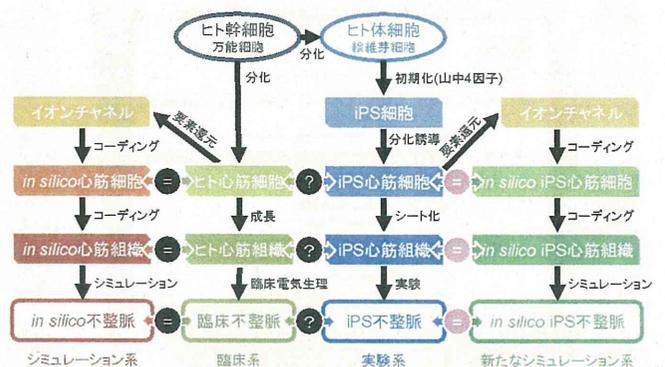
iPSC-CM 活動電位の特徴 オリジナル心室筋細胞との比較において



Ma J, et al. *AJPHCP* 2011;301:H2006-H2017

Kadota S, et al. *Eur Heart J* 2012.

ヒト iPSC 細胞由来心筋細胞シート vs ヒト *in silico* 心筋モデルの意義

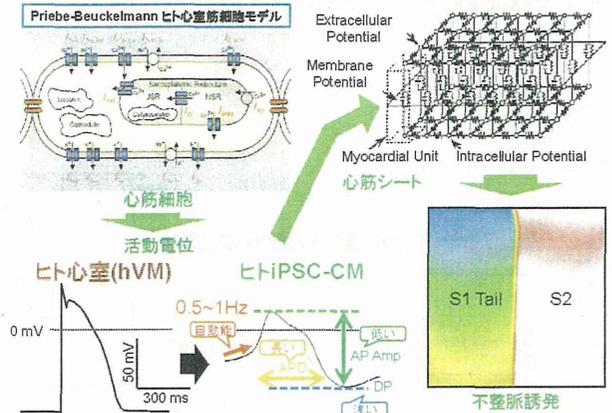


ヒトiPS細胞由来心筋細胞シート vs ヒト*in silico*心筋モデルの意義

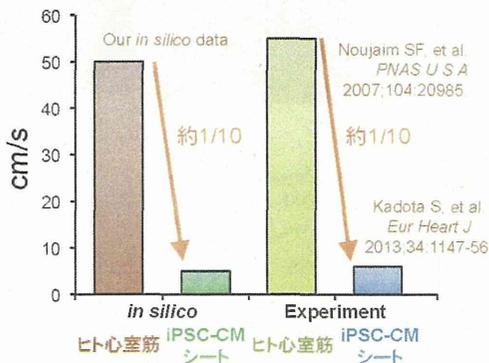
in silico モデル同士を比較
 → 臨床不整脈とhiPSC 由来心筋細胞シートにおける実験的不整脈の違いを明らかにできる可能性.



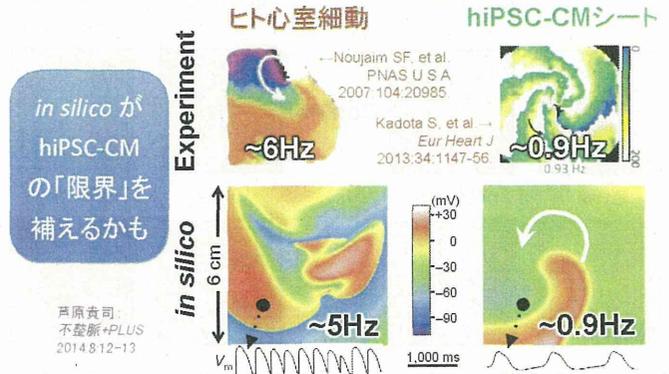
ヒト iPSC-CM シートの構築



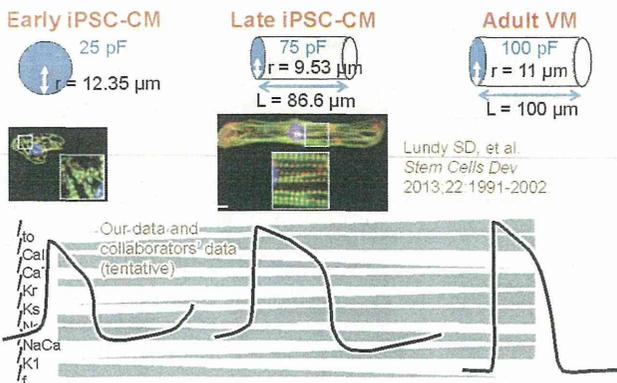
ヒト心室筋とヒト iPSC-CM シートにおける興奮伝播速度の違い



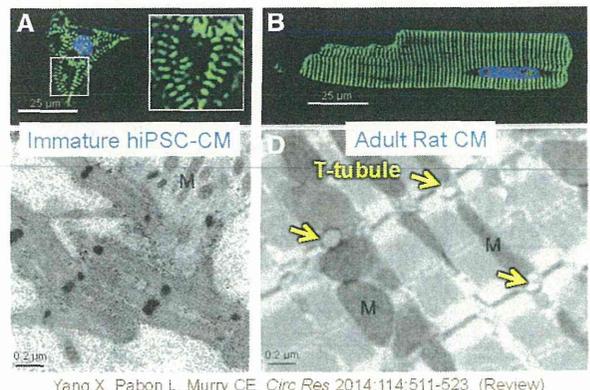
ヒト心室筋とヒト iPSC-CM シートにおける SW 動態の違い



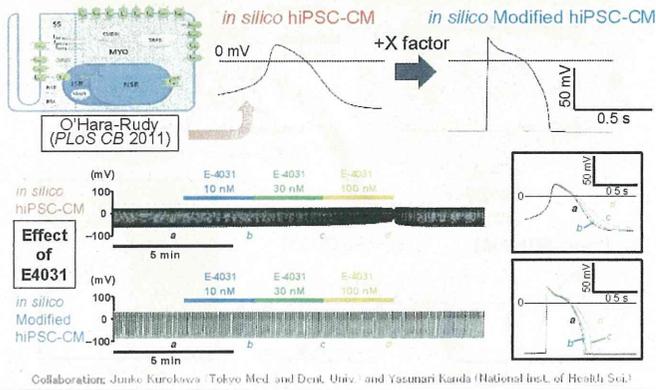
ヒト心室細胞とヒト iPSC-CM における構造的&電気生理学的な違い



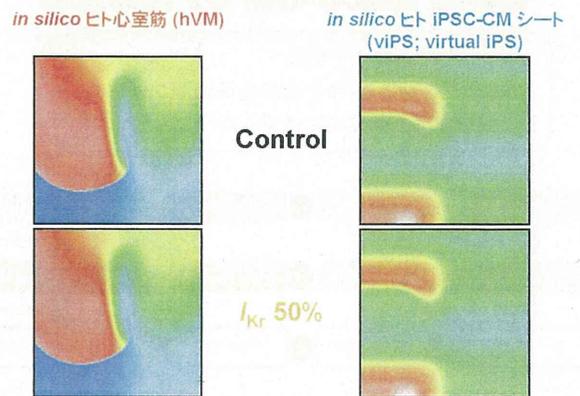
iPSC-CMにはT管がない



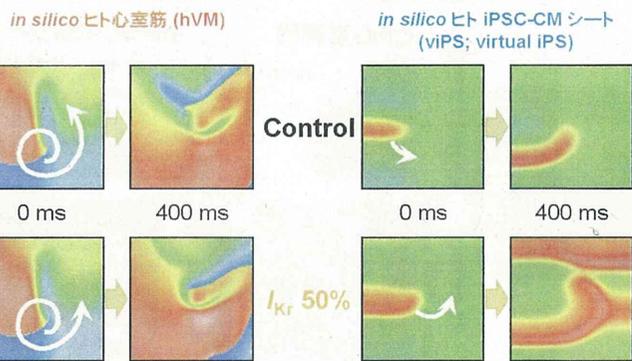
安全性薬理試験における *in silico* ヒト iPS 細胞由来心筋細胞



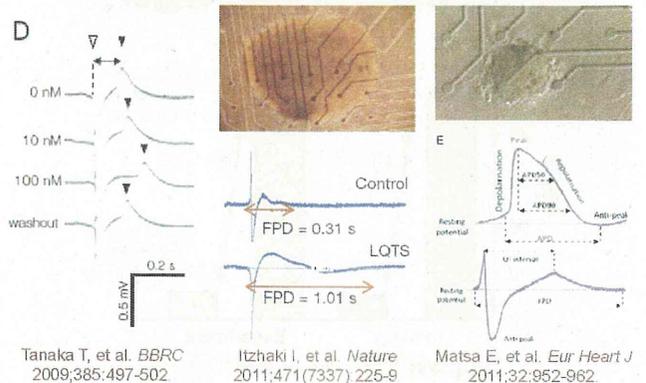
in silico ヒト心室筋と *in silico* ヒト iPSC-CM のシートにおける抗不整脈薬の効果の違い



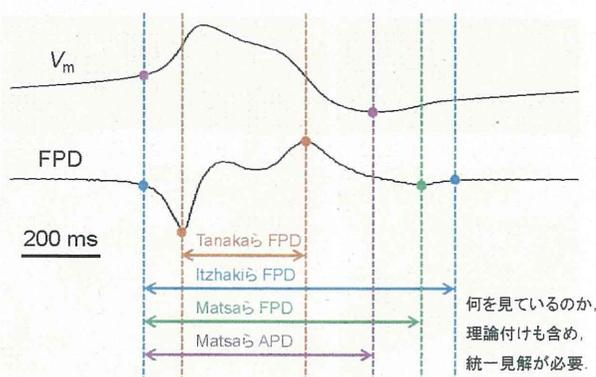
in silico ヒト心室筋と *in silico* ヒト iPSC-CM のシートにおける抗不整脈薬の効果の違い



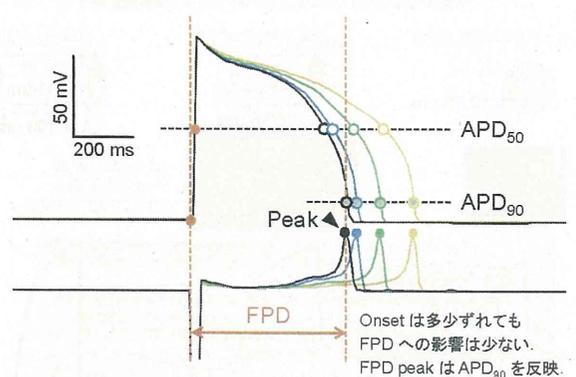
MEAによる細胞外電位持続時間 Field Potential Duration (FPD)



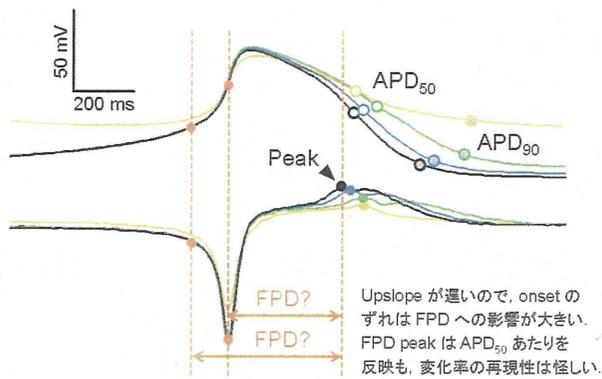
シミュレーション結果： Field Potential Duration (FPD)



修正hiPSC-CMの活動電位とFPD



hiPSC-CMの活動電位とFPD



まとめ

- 今, *in silico* による心臓安全性薬理評価が, 経費削減, 動物愛護, トランスレーショナル研究, さらにはヒト iPSC-CM と実心臓との橋渡しなどの観点から求められている。
- iPSC-CM の *in silico* モデルにより, ヒト心室筋とヒト iPSC-CM シートにおける不整脈動態と薬効の違いを明らかにし, そのギャップを埋めることは, 今後の wet の iPSC-CM 研究の方向性を見定めるためにも, 重要と考えられる。

謝 辞

- 霧島会議メンバー
- 滋賀医科大学 呼吸循環器内科
 - 不整脈センタースタッフ
 - 堀江 稔先生
- 東京医科歯科大学
 - 黒川 洵子先生
 - 古川 哲史先生
- 京都大学循環器内科
 - 牧山 武先生
- 大日本住友製薬 研究本部 前臨床研究所
 - 久保多恵子 研究員



日本安全性薬理研究会
Japanese Safety Pharmacology Society

第6回学術年会 プログラム・要旨集



会 期：2015年2月20日（金）・21日（土）

会 場：東京大学弥生講堂

一条ホール / アネックスセイホクギャラリー

年会長：田保 充康（中外製薬株式会社）

<プログラム>

教育講演

「幹細胞由来心筋細胞を用いた心臓薬理学研究の基礎から応用まで」

黒川 洵子（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 生体情報薬理学分野）

シンポジウム 1（循環器系）

「QT 延長評価から催不整脈評価へ」

1. ヒト iPS/ES 細胞技術を用いた心毒性評価系の実用性検証（CSAHi HEART：活動報告）
高砂 浄（第一三共株式会社 安全性研究所）
2. コンピュータの中の心臓（UT-Heart）を用いて不整脈リスクを評価する
杉浦 清了（東京大学大学院 新領域創成科学研究科）
3. 非臨床不整脈リスク評価と臨床薬理におけるモデリングアプローチ
中村 己貴子（中外製薬株式会社 臨床開発本部 臨床企画推進部）

シンポジウム 2（中枢神経系）

「中枢神経系の最前線」

1. 光遺伝学を組み合わせた多角的解析による本能行動調節機構の解明
山中 章弘（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 2）
2. 需長類モデルを用いた脊髄損傷からの機能回復メカニズムに関する多元的研究
伊佐 正（自然科学研究機構生理学研究所 発達生理学研究室 認知行動発達機構研究部門）
3. パーキンソン病に対する iPS 細胞治療
高橋 淳（京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門）

ワークショップ

「これからの QT 延長・催不整脈リスク研究を現場レベルで考える」

1. *In silico* 心毒性予測ツールを実際の創薬研究でどのように使うのか？
久保 多恵子（大日本住友製薬株式会社 研究本部 前臨床研究所）
2. *In vivo* 評価をどのように位置づけて創薬を進めるのか？
本多 正樹（中外製薬株式会社 研究本部）
3. パネルディスカッション

Pharmacological research using stem cell-derived cardiac myocytes;
From basic background to pharmaceutical applications

黒川 洵子

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 生体情報薬理学分野

Junko KUROKAWA

Dept. Bio-inform., Medical Research Institute, Tokyo Med. Dent. Univ.

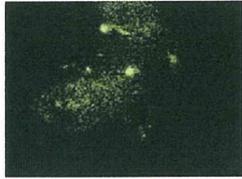
Special attention has been given to stem cell-derived differentiated cells for screening assays after the report of human induced pluripotent stem cells from Prof. Yamanaka's group. Human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) are a promising renewable source of human cardiomyocytes (CMs) for cardiac safety test as a human *in vitro* model. Although prolongation of the QT interval is a manifestation of delayed repolarization of ventricular action potential, pre-clinical prediction of drug-induced pro-arrhythmic risks is still challenging. Application of iPS cell technology is expected to improve *in vitro* toxicity prediction regarding drug-induced cardiac ventricular arrhythmia, by using human cardiomyocytes.

Currently, stem cell-derived cardiomyocytes have been shown to exhibit immature gene expression patterns and contain several subtypes (nodal, atrial and ventricular cells). Thus, it is becoming more common to use multicellular preparations for evaluation of effects of QT prolonging drugs, because they allow investigating macroscopic function from various cell-types. Actually, regardless of the single-cell or multicellular preparation, it has been shown that stem cell-derived cardiomyocytes exhibit spontaneous contraction, reflecting an immature state of cardiac differentiation.

In this talk, I would like to summarize basic cardiac electrophysiology and what we know for iPS cell-derived cardiomyocyte, then to discuss on what we need for the future cardiac toxicology.

第6回日本安全性薬理研究会 平成27年2月20日 教育講座

幹細胞由来心筋細胞を用いた 心臓薬理学研究の基礎から応用まで



東京医科歯科大学 難治疾患研究所 生体情報薬理学分野
Tokyo Medical & Dental Univ., MRI

黒川 洵子
Junko Kurokawa

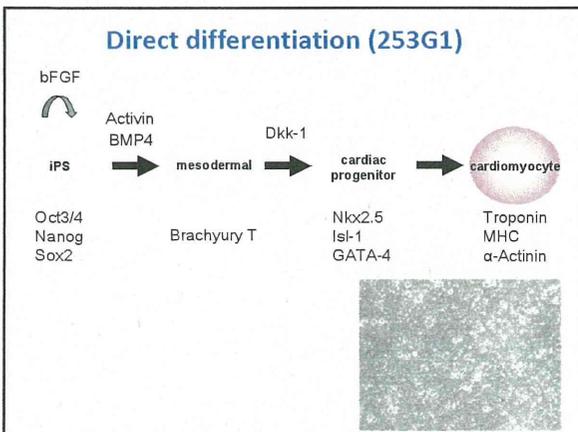
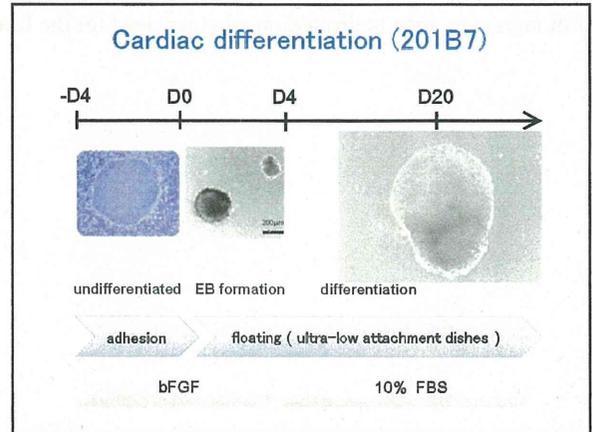
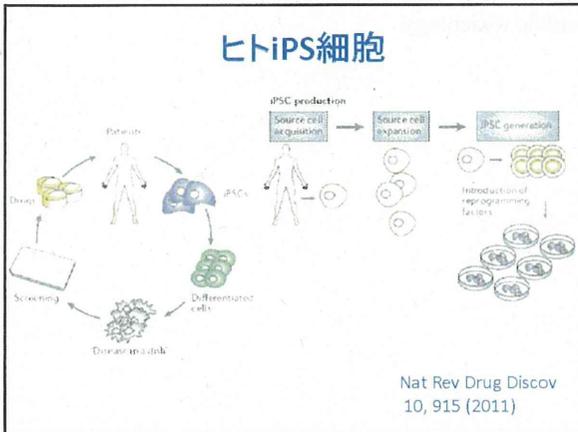
幹細胞 stem cell とは

- 多分化能
- 自己複製能

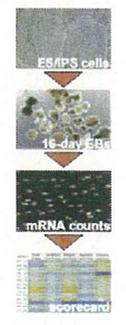
} の特徴を併せ持った未分化な細胞

幹細胞

- 多能性幹細胞
 - 胚性幹細胞 (ES細胞)
 - 人工多能性幹細胞 (iPS細胞)
 - 2006年 マウス
 - 2007年 ヒト
 - 山中因子導入により作成 (i)プログラミング細胞
- 組織 (成体) 幹細胞



ヒトiPS細胞の株間比較



Cell line	Neural Image	Hematopoietic Image	Ectoderm germ layer	Mesoderm germ layer	Endoderm germ layer
hPS 11a	-0.09	0.18	-0.17	-0.21	0.83
hPS 11b	1.17	0.23	0.96	-1.03	0.47
hPS 11c	-0.22	0.40	-0.08	-0.19	0.37
hPS 15a	-0.48	-0.78	-0.43	-1.11	-2.48
hPS 17a	0.39	0.05	0.33	0.00	1.36
hPS 17b	0.07	0.48	0.02	0.83	0.26
hPS 18a	0.26	-0.52	0.31	-0.67	0.20
hPS 18b	0.00	-0.72	1.05	-0.42	0.15
hPS 18c	0.93	0.65	-1.05	-0.42	0.10
hPS 20a	-0.97	-0.47	-0.10	-1.16	0.56
hPS 27a	0.52	0.50	0.68	-0.72	-0.43
hPS 27b	1.84	-1.04	1.47	-2.42	0.74
hPS 29a	-0.25	-0.04	0.00	-0.11	0.83
hPS 29b	-0.99	-0.60	1.15	-1.14	-1.03

Differentiation propensity: high (yellow), medium (green), low (blue)

高効率で再現性よく分化細胞を得るためにはヒトiPS細胞株の特性や分化誘導法を整備する必要性 (Cell 144: 439, 2011)

心筋分化は心臓発生を参考に

脊椎動物(ヒト)の胚発生
E16-19dpc心臓原基 (cardiac crescent)

初期胚中胚葉からの心筋分化

心臓発生と分化制御遺伝子

Applications of human stem cell-derived CMs including cardiotoxicity testing

Electrophysiological properties of hiPS-cardiomyocytes

Variations in APD recorded from single hiPS-cardiomyocytes (Reverse rate-dependency)

APD₅₀ (ms)

Beating rates (Hz)

(CDI社 iCell grant and NEDO 健康安心プログラム「ヒトiPS細胞等幹細胞を用いた創薬スクリーニングシステムの開発」)

ヒトiPS細胞由来分化細胞の特性変化

201B7由来EB Day30 Day60

ペースメーカーの割合

血小板相りの割合

If

Ik1

IcaL

iPS細胞の分化は発生をin vitroで模倣しているため、常に変化している!

