

29P1-am002

ヒト iPS 由来神経細胞標本の薬効・毒性評価への応用可能性 — 最適 iPS 株探索と標準プロトコルの作成 —

○高橋 華奈子¹, 最上(重本) 由香里¹, 岡田 洋平², 大津 香苗¹, 福角 勇人³, 正札 智子⁴, 金村 米博³, 岡野 栄之², 関野 祐子¹, 佐藤 薫¹(¹国衛研・薬理, ²慶応大医・生理, ³大阪医療セ・臨床研究セ・再生医療研究室, ⁴大阪医療セ・臨床研究セ・幹細胞医療研究室)

ヒト人工多能性幹細胞(iPS)由来神経細胞標本の薬効および毒性評価への応用により動物種差の問題が克服される可能性が期待されているが、薬理実験に求められる再現性の高い神経細胞標本の作成に適したヒト iPS 株の情報はあまり集積されておらず、標本作成のための標準的プロトコル作成も未だ着手されていない。我々は、ヒト iPS から神経細胞分化の中間産物である神経幹細胞塊(neurosphere)が、増殖、凍結、融解が可能である点に着目し、neurosphere をスタートラインとして最適ヒト iPS 株の探索および神経細胞標本作成プロトコルの作成に着手している。ヒト iPS 由来neurosphere(大阪医療センター樹立 fibroblast 由来 osaka 株、京都大学山中研樹立 fibroblast 由来 201B7 株、253G1 株)の供与をうけ、single cell にて播種し、分化誘導培地(B27 含有)にて長期的に培養し、細胞分化マーカー・シナプス機能成熟マーカー発現、ならびに細胞内 Ca^{2+} 変動測定法を用いて神経回路形成について比較検討を行った。分化誘導 20 日目において、すべての株において Tuj1(神経細胞マーカー)の発現が観察され、神経細胞分化誘導が確認された。L-Glutamate ならびに NMDA への反応は、253G1 株では、分化誘導 10 日目から osaka 株及び 201B7 株では 30 日目以降であった。以上の結果はヒト iPS 細胞から分化させたグルタミン酸神経標本を用いた薬効・毒性評価が可能であることを示している。さらに、iPS 株間の神経分化誘導能の違いが確認されたことから、さらなる最適 neurosphere の探索およびプロトコル標準化が必要であることも示された。