

29AB-pm005

ヒト iPS 細胞由来神経細胞標本の機能的 NMDA 受容体発現とグルタミン酸興奮毒性発現の株間比較

○高橋 華奈子¹, 最上 (重本) 由香里¹, 清水 英雄¹, 中條 かおり¹, 干川 和枝¹, 岡田 洋平², 岡野 栄之³, 関野 祐子¹, 佐藤 薫¹ (国立医薬品食品衛生研究所・薬理部, ²愛知医科大学・医学部・神経内科教室, ³慶応義塾大学・医学部・生理学教室)

ヒト人工多能性幹細胞 (hiPSC) 由来神経細胞標本の神経毒性評価への応用により、*in vitro* 非臨床試験においてヒトにおける有害反応の予測性向上が期待されている。神経細胞特異的細胞毒性として、過剰量のグルタミン酸 (L-glutamate: L-Glu) による神経細胞死、L-Glu 興奮毒性があり、その初期メカニズムとして NMDA 型 L-Glu 受容体を介する細胞内への過剰な Ca^{2+} イオン流入が知られている。そこで、3 種類の hiPSC 由来神経細胞、253G1 株由来神経細胞 (253G1-EB)、iCell® neurons、及び ReproNeuro™、について、機能的 NMDA 受容体発現と L-Glu 興奮毒性発現について調べた。機能的 NMDA 受容体発現の検討では、L-Glu (100 μ M, 2 分間) 適用により惹起される細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に対する NMDA 受容体特異的阻害薬 AP5 の作用強度を fura-2AM Ca^{2+} imaging 法を用いて検討した。L-Glu 興奮毒性発現の検討では、L-Glu (100 μ M) 処置 24 時間後に PI/Calcein 染色法、LDH/MTT 同時測定法による細胞障害の定量、MAP2 染色法を用いた樹状突起退縮の定量を行った。253G1-EB は、分化誘導初期から安定した L-Glu への Ca^{2+} 応答を示すが、分化 40 日目 (Div40) まで NMDA 受容体を介した応答は現れなかった。また L-Glu 興奮毒性は観察されなかった。iCell® neurons は、Div1 より L-Glu への Ca^{2+} 応答を示すが、NMDA 受容体を介した応答の出現が安定していなかった。これと一致して、L-Glu 興奮毒性の再現性も安定していなかった。ReproNeuro™ は、Div7 から L-Glu への Ca^{2+} 応答を示し、Div28 から NMDA 受容体を介した応答を安定的に示した。L-Glu 興奮毒性も誘導されたが毒性強度は弱く感受性のある細胞が少なかった。これらの結果により、hiPSC 由来神経細胞標本においては、L-Glu 興奮毒性の再現に課題が残されていることが明らかとなった。現在、その要因について検討を進めている。