

ヒトiPS細胞を用いた長時間のシグナルかく乱検出による発生毒性評価

*¹横浜国立大学大学院理工学府, *²横浜国立大学理工学部, *³国立医薬品食品衛生研究所毒性部,

*⁴横浜国立大学先端高等研究院 (IAS), *⁵産業技術総合研究所健康医工学研究部門

溝田 華柊*^{1,3}, 大久保 佑亮*^{2,3}, 大原 凜太郎*^{2,3}, 中島 芳浩*⁵, 福田 淳二*^{1,2,4}

Kashu MIZOTA, Yusuke OKUBO, Rintaro OHARA, Yoshihiro NAKAJIMA, Junji FUKUDA

1. 目的

ヒトの母体と接する可能性のある医薬品や人工材料などは、あらかじめ発生毒性試験を行い、安全性を確保することが望ましい。しかし、現行の発生毒性評価法は実験動物に限られており、試験の複雑さや精密性の点から課題がある。そこで本研究では、発生毒性は胎児の発生過程を制御するシグナル伝達経路がかく乱されること（以下、シグナルかく乱）によって引き起こされるとの仮説を立て、ヒト induced pluripotent stem (iPS) 細胞を用いたシグナルレポーターアッセイ法の構築に取り組んだ¹⁾。

2. 方法

形態形成に重要な fibroblast growth factor シグナル伝達経路に反応して発光するヒト iPS レポーター細胞を用いて、化学物質添加時の発光強度を測定することでシグナルかく乱を経時的に計測した。そして、溶媒対照群との発光強度の曲線間面積 (ABC) をシグナルかく乱の大きさを表す指標と定義し、その和を SUM of ABC として算出した^{1),2)} (図1)。この手法は既存の試験法と比較して高い正確度を有していた (80%以下→90%)。しかし、発光測定が手動のため、詳細な時間変化の測定が困難であり、また、作業者は夜間まで計測する必要があった。そこで、発光測定を自動化し、詳細かつ長時間の発光測定が可能な手法を確立した。

3. 結果

従来の手動による計測では、測定点が少ないため発光強度のピークは1つしか観察されなかったが、自動計測では2つのピークがあることが明らかになった。また、バルブ

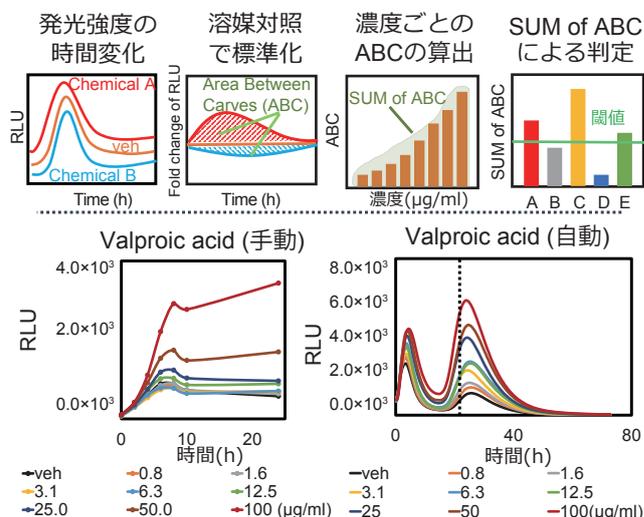


図1 SUM of ABC算出法と自動化前後の発光強度の比較

口酸のような24時間以降にかく乱が拡大する発生毒性物質のより正確な検出も可能になった。

4. まとめ・独創性

ヒト iPS 細胞を用いたシグナルレポーターアッセイ法に関して、発光測定を自動化することで、より正確にシグナルかく乱を追跡できる可能性が示された。今後は、測定条件を最適化し、試験物質数を増やすことで、この手法の有用性を明らかにしていきたい。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文献

- 1) Kanno S, Okubo Y, Kageyama T, et al: Establishment of a developmental toxicity assay based on human iPSC reporter to detect FGF signal disruption. *iScience* **25**: 103770, 2022
- 2) Kanno S, Mizota K, Okubo Y, et al: Luciferase assay system to monitor fibroblast growth factor signal disruption in human iPSCs. *STAR Protoc* **3**: 101439, 2022

■ 著者連絡先

横浜国立大学大学院理工学府化学・生命系理工学専攻
(〒240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5)
E-mail. mizota-kashu-bn@ynu.jp