

ヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞の代替モデルとしての有用性

○諸橋 康史¹、今倉 悠貴¹、望月 清一¹、岩尾 岳洋²、松永 民秀²、中村 健太郎¹
 (¹富士フイルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所、²名古屋市立大学 大学院薬学研究所 臨床薬学分野)

0. 背景・目的

小腸は、食品や医薬品の吸収・代謝を担う消化器官としての役割に加え、人体最大の免疫器官として、また各種ウイルス感染症の標的臓器としても知られている。我々は、ヒトiPS細胞から腸管上皮細胞を分化誘導し、ヒト小腸に近い性質を持つF-hiSIEC™を開発した。本細胞はヒト小腸代替*In vitro*モデルとして、有用なツールとなることが期待される。一方、CYP3A4/5等、小腸に存在する代謝酵素の基質となる薬物の消化管吸収/代謝予測という点では、F-hiSIEC™の代謝機能を向上させることで、小腸代謝回避率 (Fg) の*in vitro*予測値をよりヒト*in vivo*の実測値に近づけることが求められている。本研究では、培地組成の変更等、簡便な方法によって、代謝機能およびFgの予測精度が向上するか検討した。

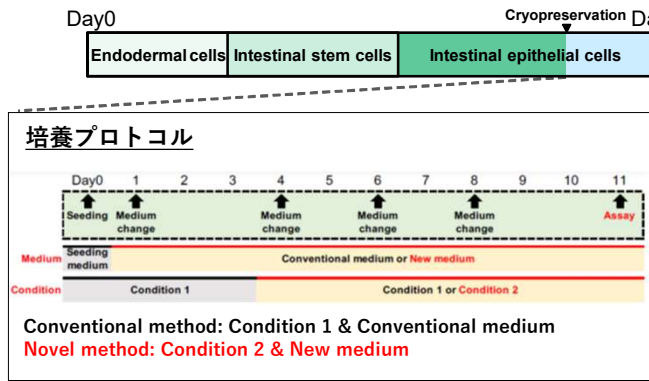


【アプリケーション例】

- ・食品/医薬品の吸収評価
- ・消化管毒性評価
- ・腸管免疫
- ・腸内細菌
- ・ウイルスの増殖・培養

1. 方法

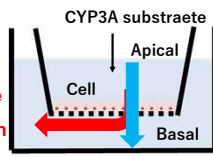
分化誘導プロトコルの概要



In vitro Fgの算出式

$$Fg = \frac{A \text{ to B transport}}{(A \text{ to B transport}) + (\text{Metabolite production})}$$

Metabolite production

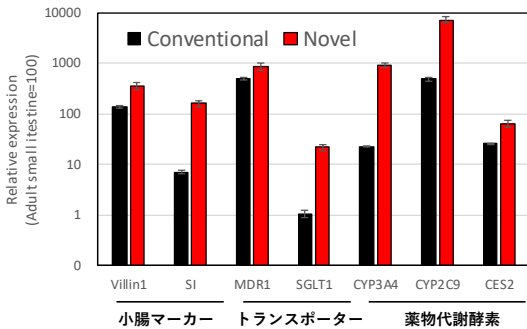


A to B transport

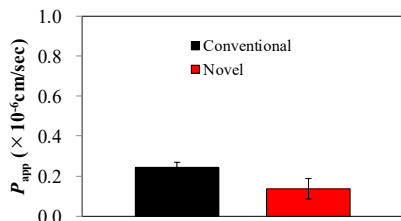
Estimated Fg value of each compound were calculated by the equation described in Michiba *et al.* 1) A to B transport represents the transcellular transport clearance in the apical-to-basolateral direction. Metabolic production was calculated by quantifying metabolite in apical, cell and basal compartment.

2. 遺伝子発現・バリア機能評価

遺伝子発現



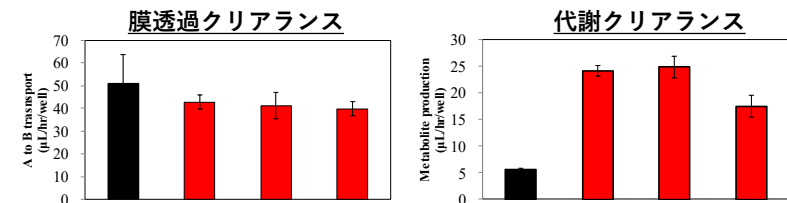
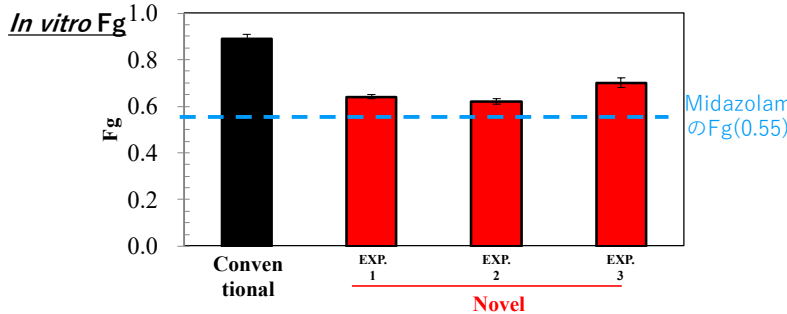
バリア機能評価 (Lucifer yellow膜透過性)



新規法により、腸管マーカーや薬物動態関連遺伝子の発現が上昇し、バリア機能も維持されていた。

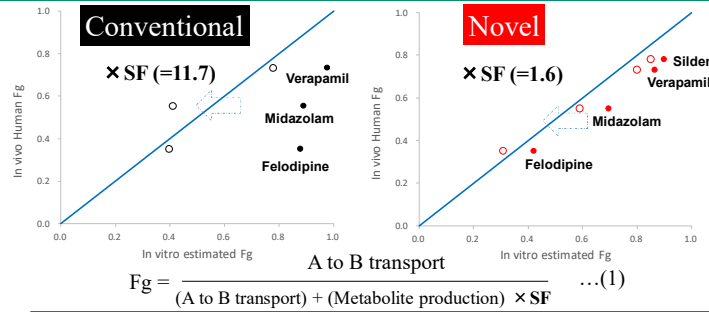
結論: 新規法によってF-hiSIEC™の代謝機能が向上し、CYP3A基質薬物のFg予測精度が改善された。本評価系は消化管吸収評価モデルとして有用であると考えられる。

3. In vitro Fgの試験間誤差の評価



Midazolamの新規法における*In vitro* Fgの試験間誤差を確認した。Fgの値は0.62~0.70とよりヒトFg値に近い値を示した。

4. CYP 3 A基質のFg予測



Substrate	In vivo human Fg value ²⁽³⁾	Estimated Fg value			
		Without SF (SF=1.0)		With SF	
		Conventional	Novel	Conventional (SF=11.7)	Novel (SF=1.6)
Felodipine	0.35	0.88 (+153%)	0.42 (+19%)	0.40 (+14%)	0.31 (-12%)
Midazolam	0.55	0.89 (+62%)	0.70 (+27%)	0.41 (-25%)	0.59 (+7%)
Verapamil	0.73	0.98 (+34%)	0.86 (+18%)	0.78 (+7%)	0.80 (+10%)
Sildenafil	0.78	Not tested	0.90 (+15%)	-	0.85 (+9%)
rmspe	-	-	-	0.17	0.09

Parentheses represent difference between estimated Fg value and *in vivo* human Fg value. These differences and root mean squared percentage error (rmspe) were calculated by the following equation (2) and (3), respectively.

$$\text{Difference (\%)} = \frac{(\text{Estimated Fg} - \text{In vivo human Fg})}{\text{In vivo human Fg}} \dots(2) \quad \text{rmspe} = \sqrt{\frac{\sum(\text{Difference})^2}{N}} \dots(3)$$

予測されたFg値は実測値と良好な相関を示した。また、絶対値予測のためのSFも新規法の方が小さく、補正後予測値の精度は高かった。

5. ディスカッション

新規法によって、CYP3A基質のヒトFgの予測精度の向上が認められた。今後は以下の評価等への適用も考えられる。

- CYP3A以外の小腸薬物代謝酵素⁴⁾・トランスポーターの評価
- 代謝物の消化管動態評価⁵⁾
- 小腸における代謝酵素-トランスポーターのインタープレイ評価

6. 参考文献

1) Michiba *et al.*, *Drug Metab Dispos* 50: 204-213 (2022), 2) Verma *et al.*, *J Med Chem* 53: 1098-1108 (2010)
 3) Gertz *et al.*, *Curr Drug Metab* 9: 785-795 (2011), 4) Kitaguchi *et al.*, *Drug Metab Dispos* 50: 17-23 (2022),
 5) Agustina *et al.*, *Drug Metab Dispos* 49: 972-984 (2021)