

ヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞  
**F-hiSIEC™**  
アプリケーションのご紹介



1. 薬物動態評価

2. 毒性評価

3. 腸管免疫評価

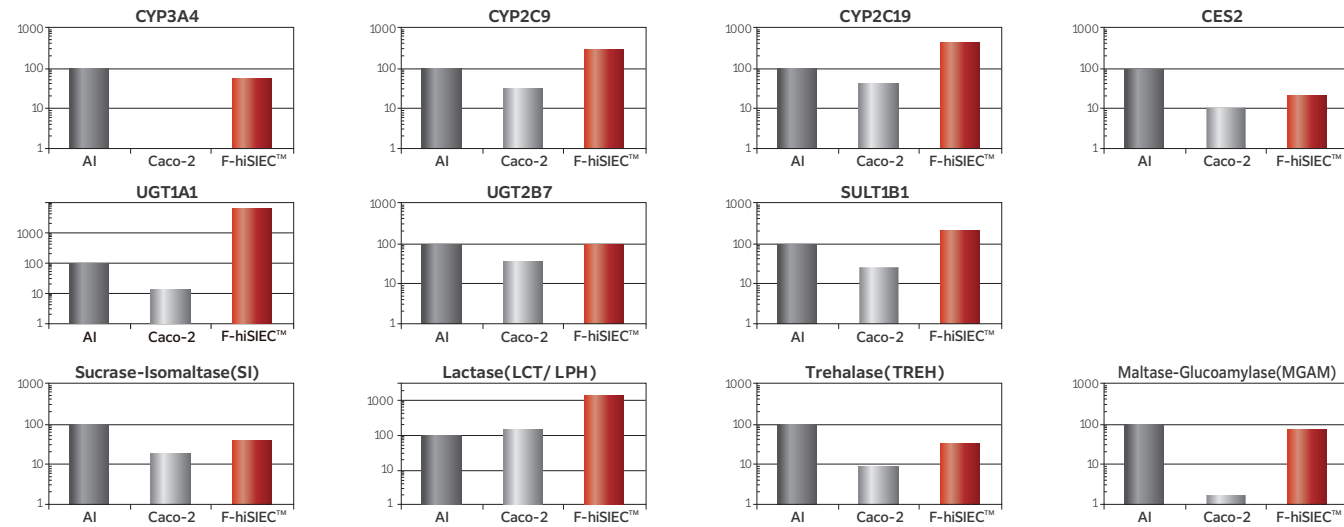
1. 薬物動態評価

1-1 代謝酵素・トランスポーターの遺伝子発現及び活性

● F-hiSIEC™ は、薬物透過性評価、トランスポーターの取込/排出量評価、代謝量評価、トランスポーターと代謝酵素の両方に影響を受ける薬物の動態評価に利用できます。

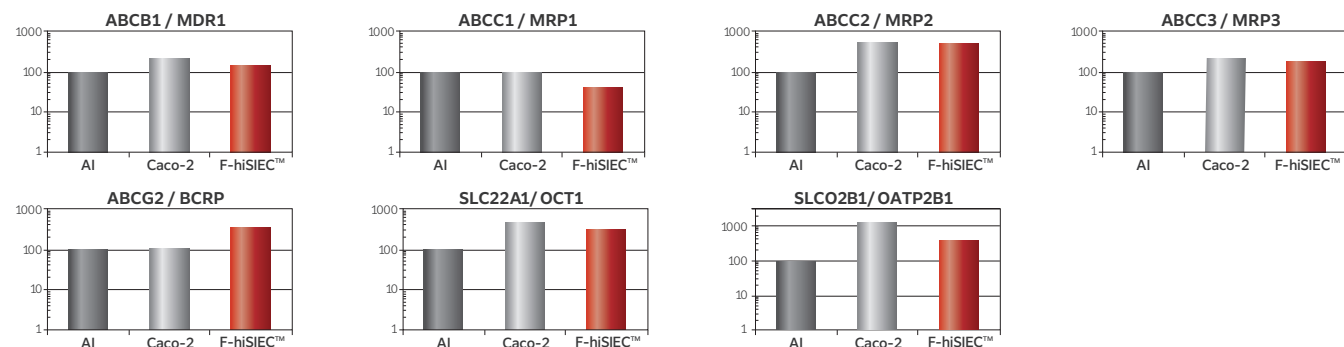
代謝酵素の遺伝子発現

● 第1相の薬物代謝酵素 (CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CES2)、第2相の薬物代謝酵素 (UGT1A1, UGT2B7, SULT1B1)、二糖加水分解酵素 (Sucrase-Isomaltase, Lactase, Trehalase, Maltase-Glucoamylase) について、生体小腸同等の遺伝子発現を示しています。  
● 生体小腸 (AI) を100とした場合のCaco-2細胞、F-hiSIEC™ の遺伝子発現量を示しています。

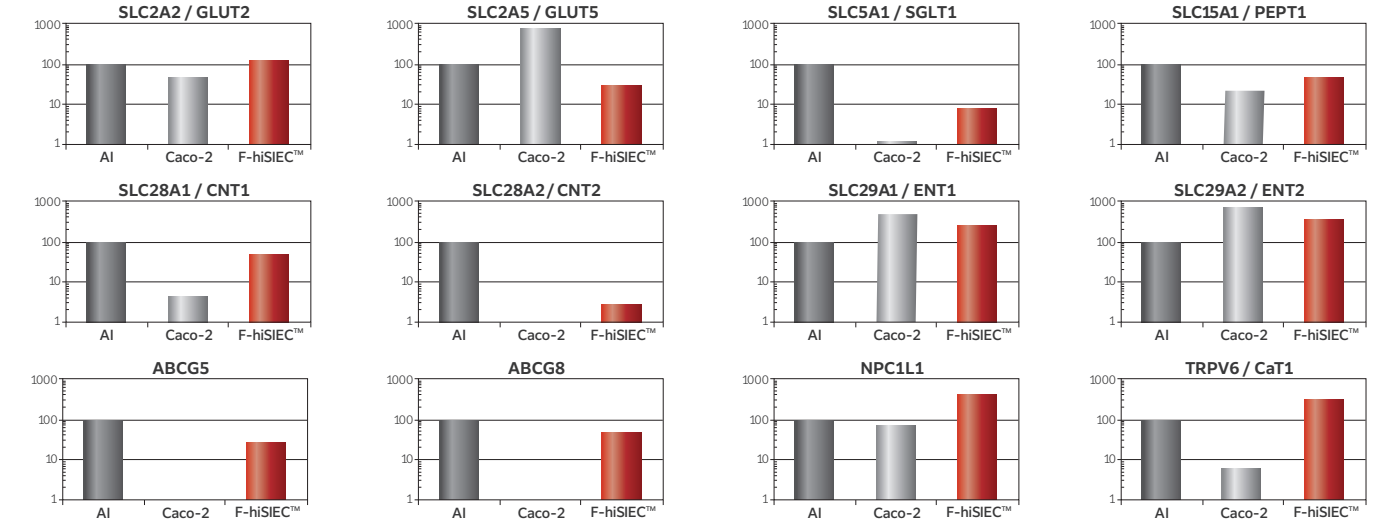


トランスポーターの遺伝子発現

● 薬物トランスポーター (MDR1, MRP1, MRP2, MRP3, BCRP, OCT1, OATP2B1)、グルコーストランスポーター (GLUT2, GLUT5, SGLT1)、ペプチドトランスポーター (PEPT1)、核酸トランスポーター (CNT1, CNT2, ENT1, ENT2)、コレステロールトランスポーター (ABCG5, ABCG8, NPC1L1)、カルシウムトランスポーター (CaT1) について、生体小腸同等の遺伝子発現を示しています。

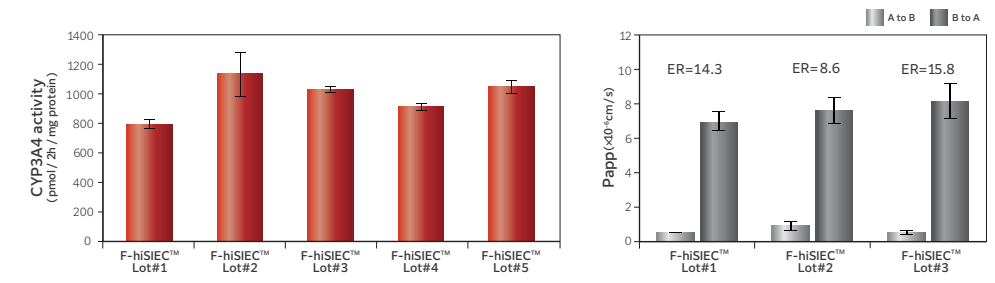


トランスポーターの遺伝子発現



安定した性能 (ロット間差)

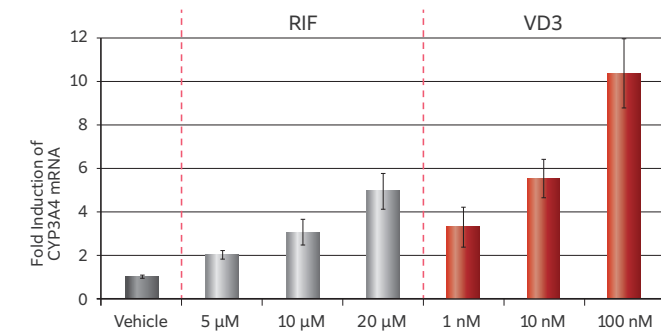
● CYP3A4 酵素活性及び MDR1 (P-gp) トランスポーター活性は、各ロット間で安定した数値を示しています。



1-2 薬物間相互作用 (酵素誘導) 評価

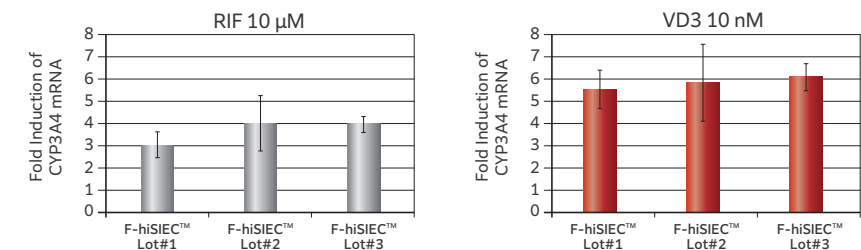
酵素誘導の評価

● CYP3A4 を誘導するとされる rifampicin、VD3 により、CYP3A4 mRNA 発現量の上昇が濃度依存的に見られました。



安定したロット間差

● rifampicin と VD3 による酵素誘導は、ロット間で安定していました。



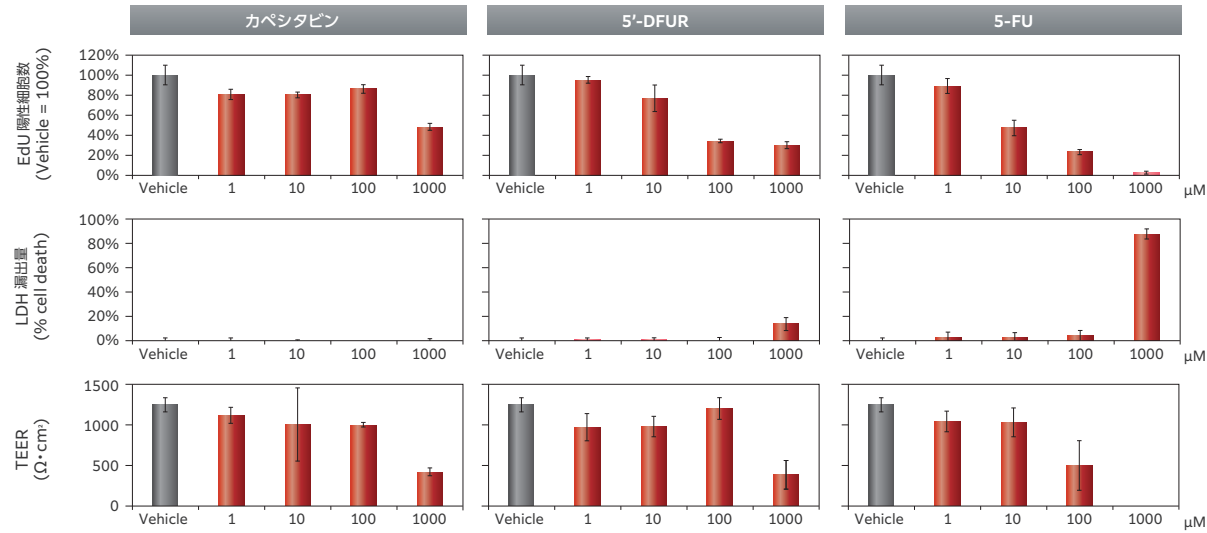
## 2. 毒性評価

### 2-1 細胞障害性の薬物に関する毒性評価

#### 5-FUとそのプロドラッグ



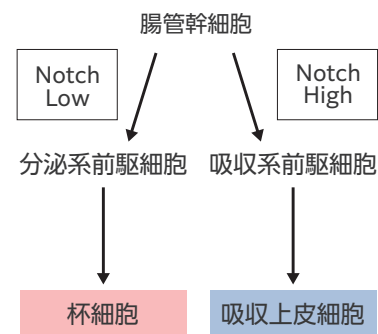
- F-hiSIEC™に抗がん剤(5-FU)、そのプロドラッグ(5'-DFUR、カペシタビン)を1~1000 μMで処理し、薬剤処理の72時間後に、EdU陽性細胞(増殖細胞)の割合、LDH漏出量、及びバリア機能(TEER)を測定しました。
- バリア機能やEdU陽性細胞数等を指標に、消化管毒性の程度を評価することができました。



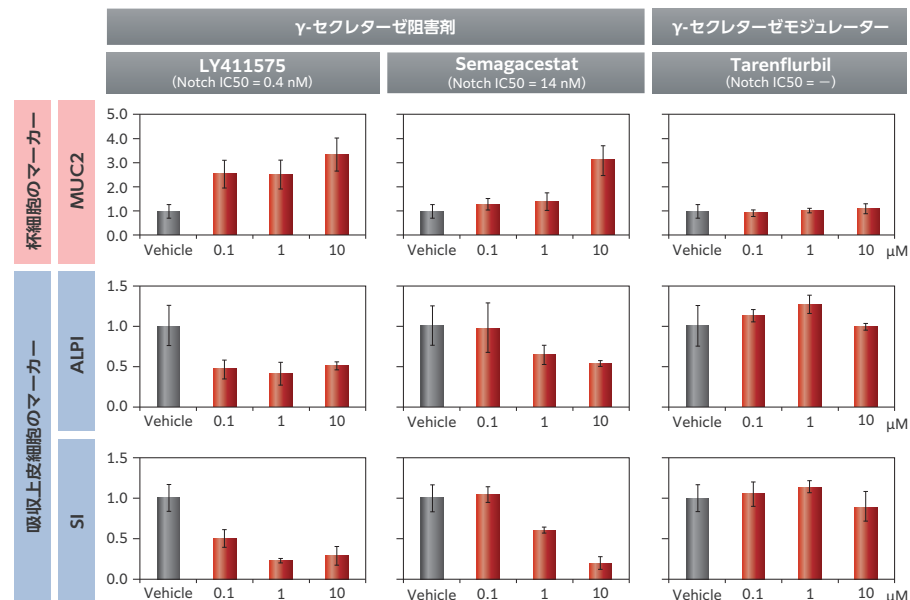
### 2-2 消化管の分化異常を引き起こす薬物の評価

- 消化管の分化過程に異常を引き起こすとされる薬物を評価するため、F-hiSIEC™の分化途中に薬物を作用させました。
- γ-セクレターゼ阻害剤(Notchシグナル阻害)を加えると、濃度依存的にMUC2(杯細胞のマーカー)が上昇し、ALPIとSI(吸収上皮細胞のマーカー)が減少しました。
- γ-セクレターゼモジュレーターの場合は、上記の変動がありませんでした。
- 以上から、分化途中に薬物を作用させることで、消化管の分化異常を引き起こす薬物を評価できる可能性が示唆されました。

#### Notchシグナルによる腸管細胞分化



F-hiSIEC™をNotch阻害活性を持つγ-セクレターゼ阻害剤(LY411575, Semagacestat)及びNotch阻害活性を持たないγ-セクレターゼモジュレーター(Tarenflurbil)で0.1~10 μMの濃度で処理しました。処理8日後に、MUC2(杯細胞のマーカー)、ALPI、SI(吸収上皮細胞のマーカー)の発現レベルをreal-time PCRで測定しました。



## 3. 腸管免疫評価

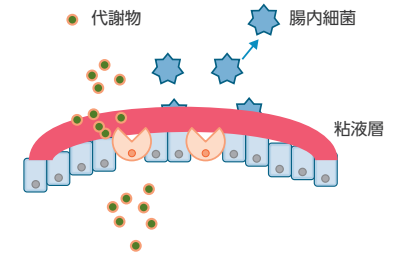
### 腸管免疫と腸内細菌との関連性

- 小腸には体中の免疫細胞の約7割が集まっており、生体の免疫システムを制御しています。
- 同時に腸内細菌が存在することで腸管免疫に重要な役割を果たしています。

### 3-1 腸内細菌と生体小腸が相互作用する経路

経路① 腸内細菌が直接上皮細胞に接触する

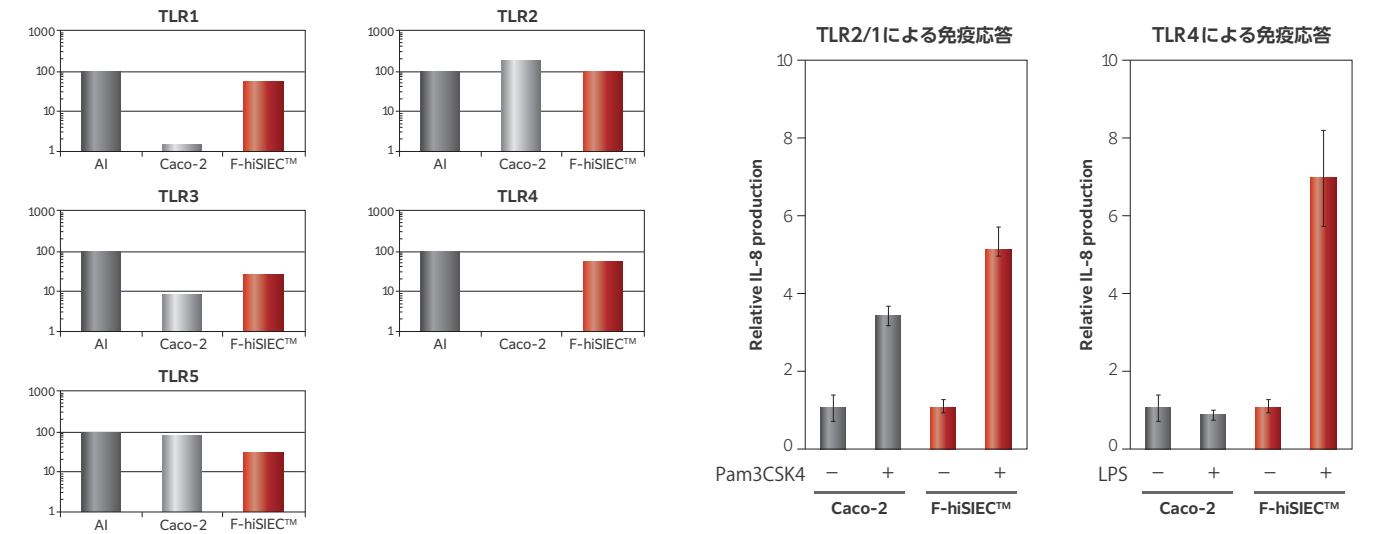
経路② 腸内細菌が産生する代謝物(短鎖脂肪酸)が上皮細胞に作用する



経路① 腸内細菌が直接上皮細胞に接触する

#### 主要なパターン認識受容体(TLRs)の遺伝子発現

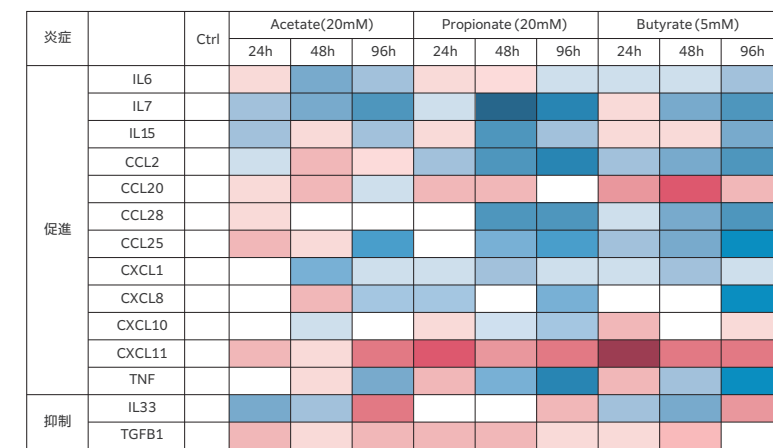
- ヒト小腸上皮の主要なToll-like receptor(TLR)について、F-hiSIEC™は生体小腸同等の遺伝子発現を示しています。
- TLR2/1、TLR4を介した免疫応答を評価可能です。



経路② 腸内細菌が産生する代謝物(短鎖脂肪酸)が上皮細胞に作用する

#### 短鎖脂肪酸添加後の14遺伝子の発現変動

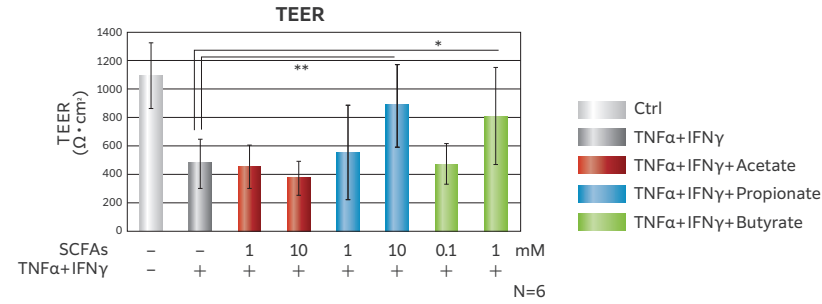
- 代表的な短鎖脂肪酸(Acetate, Propionate, Butyrate)をF-hiSIEC™に添加し、経時的なサイトカイン・ケモカイン14遺伝子の発現をqPCRにて測定しました。
- 腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸を添加すると、経時的に炎症促進系の遺伝子発現が低下し、抑制系の発現が上昇しました。



### 3-2 消化管炎症モデル

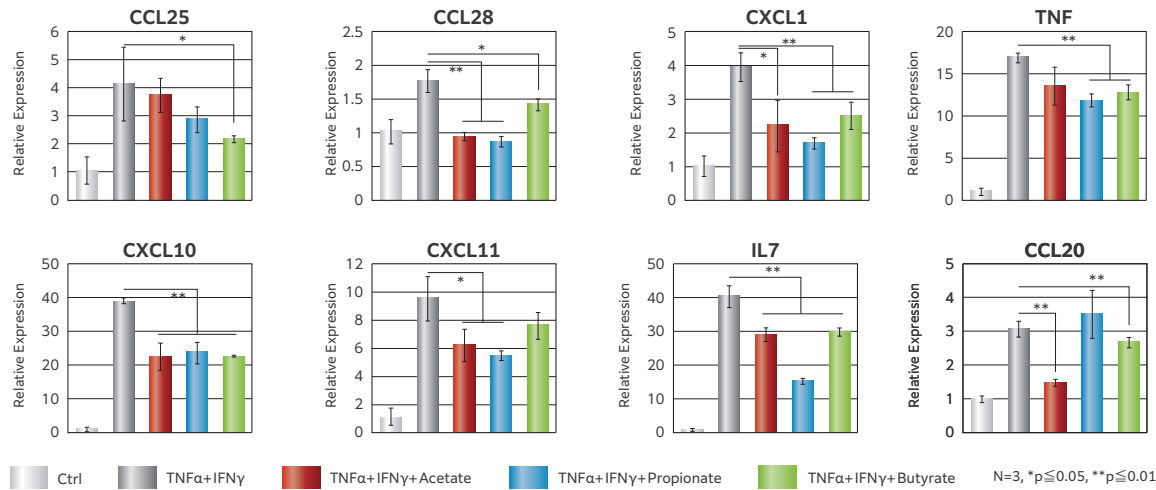
#### 炎症を起こした腸における、短鎖脂肪酸(腸内細菌代謝物)の影響評価

- セルカルチャーインサートを挟んでBasal側にTNF $\alpha$ +IFN $\gamma$ を添加することにより、バリア機能(TEER)が低下し、炎症性腸疾患の病態を再現することができます。
- Basal側にTNF $\alpha$ +IFN $\gamma$ 、Apical側に短鎖脂肪酸を添加した場合の、TEERを示しています。
- TNF $\alpha$ +IFN $\gamma$ 添加によりTEERは低下しましたが、同時にプロピオン酸や酪酸を添加するとTEER低下が抑制されました。



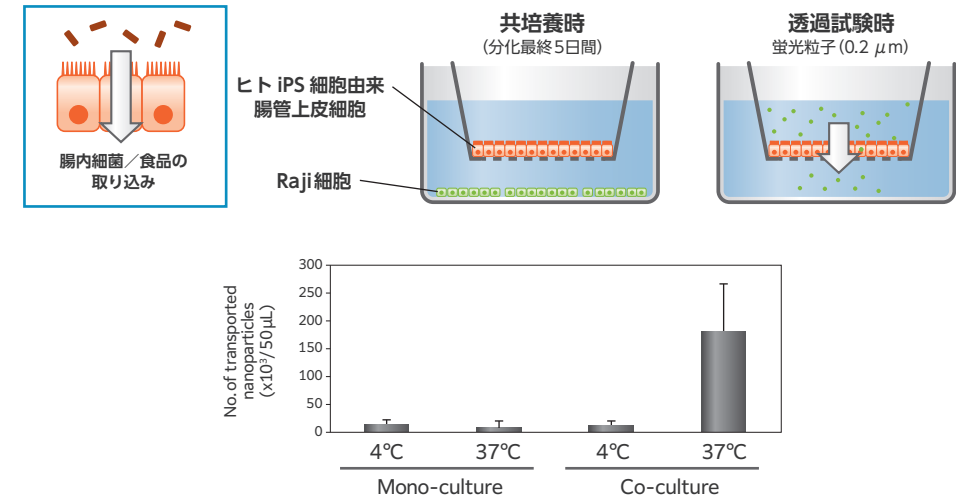
#### 炎症性サイトカインの遺伝子発現

- TNF $\alpha$ +IFN $\gamma$ 添加により炎症性サイトカインの遺伝子発現が上昇しますが、同時に短鎖脂肪酸(Acetate, Propionate, Butyrate)を添加すると遺伝子発現の上昇が抑制されました。
- 以上から、腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸は腸の炎症を抑え、バリア機能を保護する働きがあることがわかります。



#### 蛍光粒子透過能とバリア機能評価

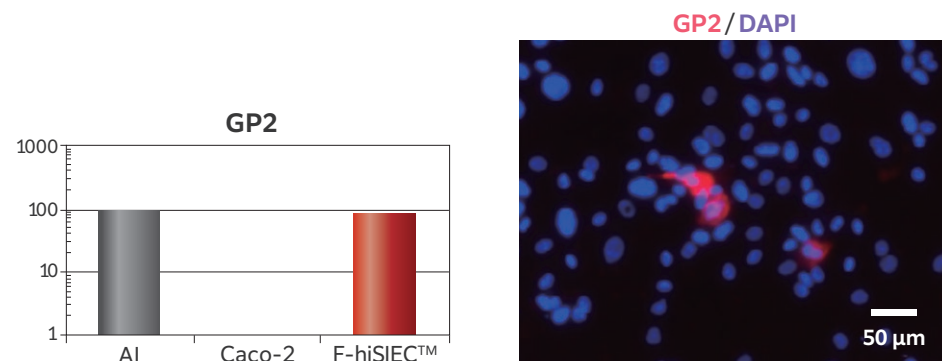
- 共培養なし(Mono-culture)の場合、分子の大きい粒子の透過は見られませんが、Raji細胞との共培養(Co-culture)、かつ37°Cの条件下でのみ、粒子の透過が認められました。
- 4°Cは透過阻害条件、37°Cは透過促進条件を示します。



### 3-3 M細胞による蛍光粒子の透過能評価

#### M細胞の存在

- M細胞のマーカーであるGP2の発現が生体小腸並びであり、免疫染色でもその存在が確認されました。



**FUJIFILM**

【製造元】  
富士フイルム株式会社

ライフサイエンス事業部 〒107-0052 東京都港区赤坂 9-7-3  
TEL: 03-6271-3030  
https://www.fujifilm.com/jp/ja/business/materials/rm/f-hisiec

【発売元】  
富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)

●九州営業所 ●中国営業所 ●東海営業所 ●横浜営業所  
●筑波営業所 ●東北営業所 ●北海道営業所

0120-052-099  
試案 URL: https://labchem-wako.fujifilm.com



製品ホームページは  
こちら

■当カタログに掲載される個々のデータ、文章、図形、デザイン、画像、商標・ロゴマーク・商品名称などに関する著作権その他権利は、富士フイルムまたは原著者その他の権利者が有しています。  
■本製品はIPSアカデミアジャパン株式会社よりIPS細胞技術に関する特許の非独占的実施権の許諾を受け販売しております。