

新規培養法によるヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞を用いた薬物のヒト小腸代謝回避率の評価

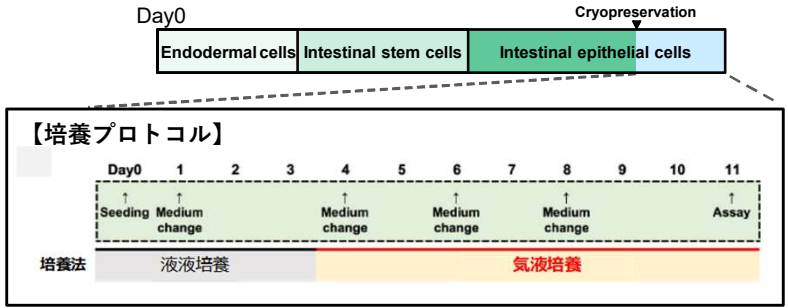
○諸橋 康史¹、今倉 悠貴¹、望月 清一¹、岩尾 岳洋²、松永 民秀²、中村 健太郎¹
(¹富士フイルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所、²名古屋市立大学 大学院薬学研究所 臨床薬学分野)

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¹⁾。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²⁾。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、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、既報³⁾を基にF-hiSIEC™の新規培養法 (改良法) のプロトコルを確立するため、種々の特性 (遺伝子発現、バリア機能、ミダゾラムのFg予測性) を評価した。

1. 方法

分化誘導プロトコルの概要

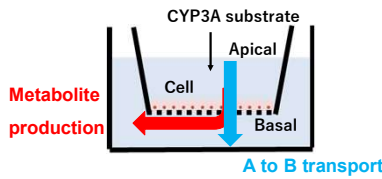


現行法と改良法の差異

	細胞	播種培地	培養培地	培養法
現行法	F-hiSIEC™ 凍結細胞	F-hiSIEC™ 播種培地	F-hiSIEC™ 培養培地	0-11日: 液液培養
改良法	F-hiSIEC™ 凍結細胞	F-hiSIEC™ 播種培地	F-hiSIEC™ 改良培地	0-4日: 液液培養 4-11日: 気液培養

In vitro Fgの算出式⁴⁾

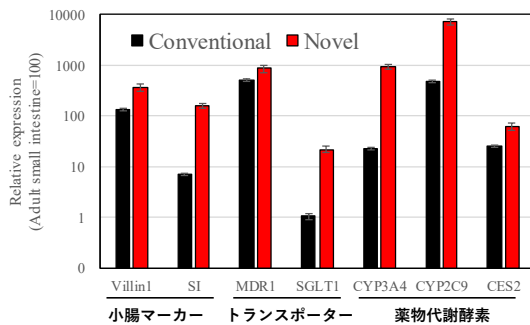
$$F_g = \frac{A \text{ to } B \text{ transport}}{(A \text{ to } B \text{ transport}) + (\text{Metabolite production})}$$



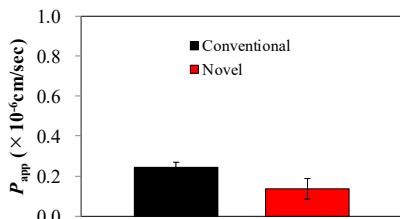
- Estimated Fg value of each compound were calculated by the equation described above.
- A to B transport represents the transcellular transport clearance in the apical-to-basolateral direction.
- Metabolic production was calculated by quantifying metabolite in apical, cell and basal compartment.

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)

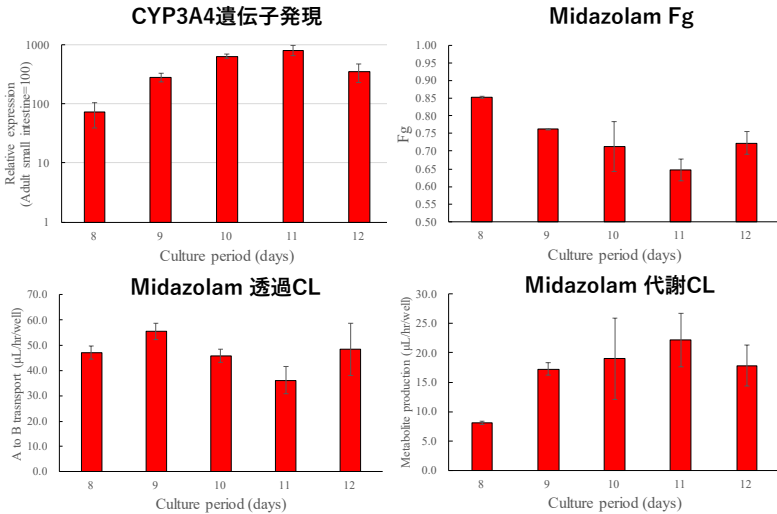


改良法により、小腸マーカーや薬物動態関連遺伝子の発現が上昇し、バリア機能も維持されていた。

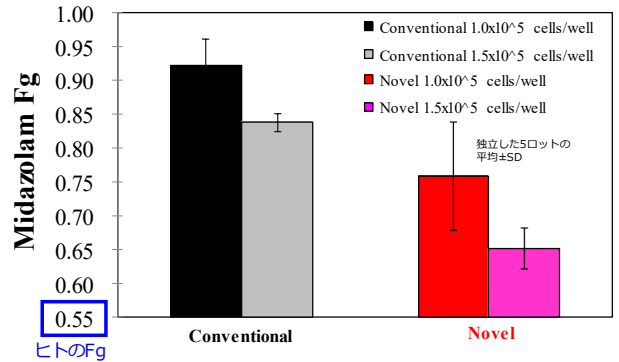
結論: 改良法によってF-hiSIEC™の代謝機能が向上し、CYP3A基質薬物のFg予測精度が改善された。本評価系は消化管吸収評価モデルとして有用であると考えられる。

3. *In vitro* Fg評価条件の最適化

培養日数

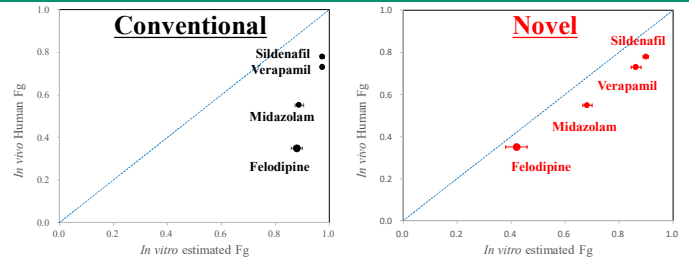


播種密度 (培養日数: 11日間)



✓ 培養11日間、かつ播種密度を1.5*10⁵cells/wellにすると、Midazolamの*in vitro* Fgはヒトの値(0.55)に近い値を示した。

4. CYP 3 A基質のFg予測



Substrate	Method	A to B transport (μL/hr/well)		Metabolite production (μL/hr/well)		Estimated Fg value		In vivo human Fg value
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Felodipine	Conventional	16.5	1.4	2.13	0.36	0.88	0.02	0.35
	Novel	7.22	1.3	10.1	1.70	0.42	0.04	
Midazolam	Conventional	60.6	8.7	7.43	0.54	0.89	0.02	0.55
	Novel	39.9	3.0	18.6	2.17	0.68	0.02	
Verapamil	Conventional	26.4	1.9	0.64	0.24	0.98	0.00	0.73
	Novel	30.0	7.6	4.71	0.62	0.86	0.02	
Sildenafil	Conventional	16.9	7.1	0.390	0.01	0.98	0.01	0.78
	Novel	17.7	0.4	1.97	0.20	0.90	0.01	

改良法により、予測されたFg値は実測値と良好な相関を示した。

5. 参考文献

- 1) Kabeya et al., *Drug Metab Pharmacokin* 35: 374-82 (2020)
- 2) Imakura et al., *Biochem Biophys Res Commun* 692: 149356 (2024)
- 3) Shirai et al., *Drug Metab Pharmacokin* 55: 100994 (2024)
- 4) Michiba et al., *Drug Metab Dispos* 50: 204-213 (2022)