

Culture Medium AL を用いた F-hiSIEC™ の新規培養法によるアッセイ紹介



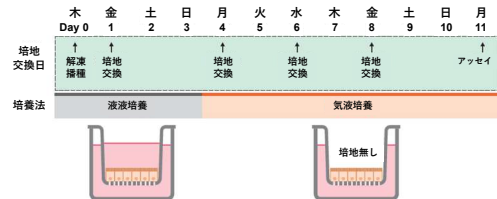
1. 概要

経口剤や健康食品の開発において腸管吸収を評価することは、化合物の有効性や毒性を予測する上で極めて重要です。富士フイルムはヒト 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™」を開発しました⁽¹⁾。さらに、名古屋市の松永教授との共同研究により、小腸アペイラビリティ (Fg) の予測精度向上が期待できる新規培養法 (新培地×気液培養) を開発し、本培養で用いる新培地を「F-hiSIEC™ Culture Medium AL」として、2025 年 2 月に販売を開始しております。本資料では、新規培養法で培養した F-hiSIEC™ の基本的性能に加え、薬物動態関連のアッセイを紹介いたします。



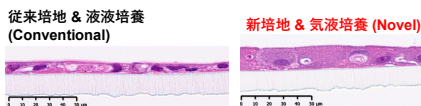
2. 形態・遺伝子発現

培養スケジュール

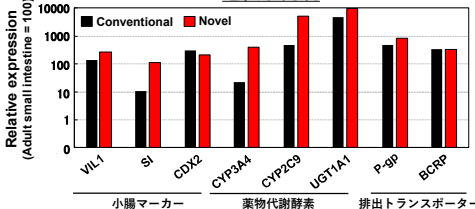


F-hiSIEC™ をトランスウェル上に播種後、培養 3 日目までは Culture Medium AL を使用した液液培養を行い、4 日目以降は Basolateral 側のみに Culture Medium AL を加えて気液培養を行った。

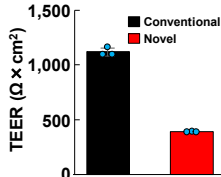
HE 染色



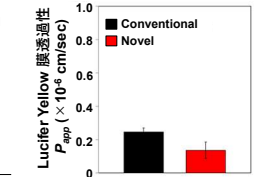
遺伝子発現



TEER

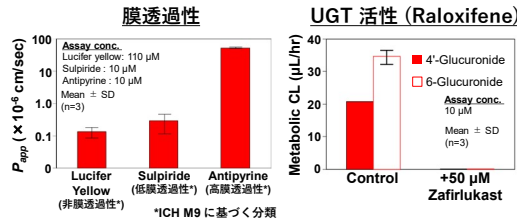


バリア機能

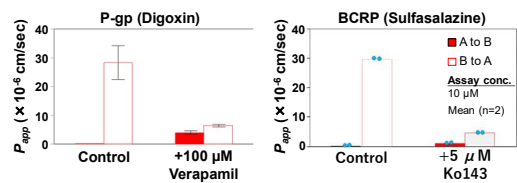


新規培養法により細胞の厚みが増し、小腸マーカーや薬物動態関連遺伝子の発現が上昇した。バリア機能は維持されていた。

3. 膜透過性・UGT 活性・排出トランスポーター活性



排出トランスポーター活性



1.0 x 10⁶ ~ 1.5 x 10⁶ (cells / well) で播種後、2. の培養スケジュールに従って気液培養を行い、培養 11 日から 13 日の期間にアッセイを行った。

化合物の性質に対応する膜透過性、UGT 活性および排出トランスポーター活性が確認された。

4. In vitro Fg 評価法

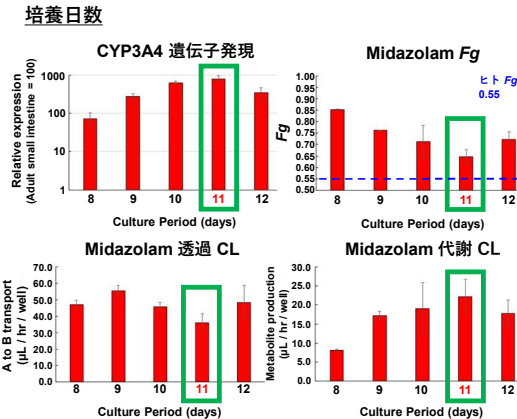
In vitro Fg 値の算出式⁽²⁾

$$Fg = \frac{\text{透過量}}{\text{透過量} + \text{代謝物量}}$$

【透過量および代謝物量について】

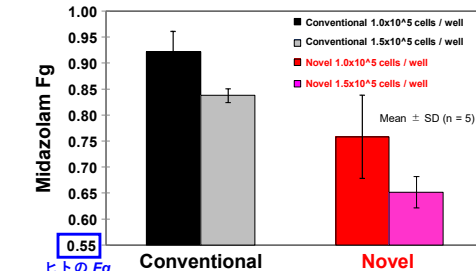
- 透過量は Apical 側から Basolateral (Basal) 側への被験物質の細胞間輸送量を評価する。
- 代謝物量は Apical 側、細胞内、および Basal 側全てにおける代謝物の量を評価する。

In vitro Fg 評価条件の最適化



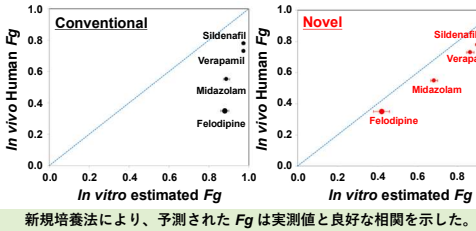
播種後 11 日に CYP3A4 遺伝子発現および Midazolam の代謝クリアランスが最も上昇し、Fg がヒトの値 (0.55) に近い値を示した。

播種密度 (培養日数: 11 日間)



培養 11 日、かつ播種密度を 1.5 x 10⁶ cells/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。

腸管吸収性予測性能の評価

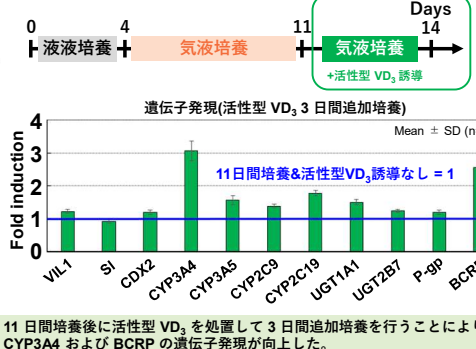


5. 代謝物測定を必要としない Fg 予測法の検討と培養プロトコルの改変

新規培養法を用いることによって、CYP3A 基質の良好な Fg 予測が成立したが、本手法では代謝物測定が必要である。通常、創薬の早期段階で代謝物の標品が利用できることは稀であるため、代謝物測定を必要としない Fg 予測法⁽²⁾ のための培養法を検討した。

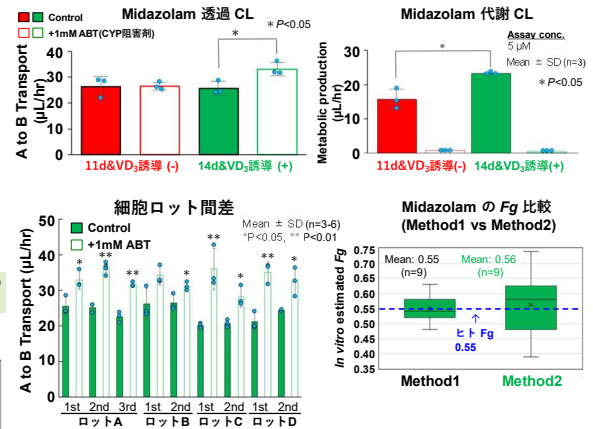
手法	Method 1	Method 2
Fg 算出式	$Fg = \frac{\text{透過量}}{\text{透過量} + \text{代謝物量}}$	$Fg = \frac{1}{2 \times \frac{\text{透過CL(阻害剤あり)}}{\text{透過CL(Control)}} - 1}$
模式図		

改変後の培養プロトコル

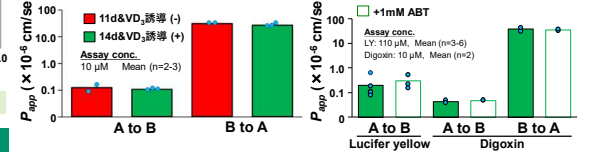


6. 代謝物測定を必要としない Fg 予測法の検討

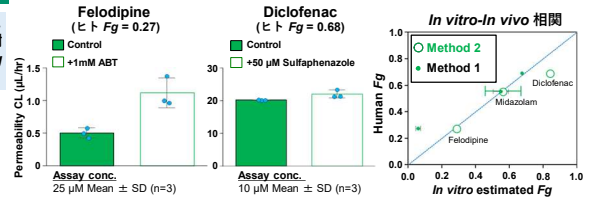
F-hiSIEC の CYP3A 活性向上効果の確認



1mM ABT の影響確認



Midazolam 以外のヒト Fg 予測



改変後の新規培養法 (Method 2) により、代謝物無しでも良好な Fg 予測性を示した。

7. まとめ

- 新規培養法の F-hiSIEC™ はバリア機能を維持しつつ代謝およびトランスポーター活性を示している。
- 新規培養法によって CYP3A 基質薬物の Fg 予測精度が改善された。
- 新規培養法に改変 (活性型 VD3 3 日間追加培養) を加え Fg の算出式を変更することで、代謝物を測定する必要なく良好な Fg 予測を行うことができる可能性がある。

8. 参考文献

- (1) Kabeya et al., Drug Metab Pharmacokinet 35: 374-82 (2020)
- (2) Michiba et al., Drug Metab Dispos 50: 204-213 (2022)

★ F-hiSIEC を皆様の研究にご活用いただくと幸いです ★
F-hiSIEC についてのご質問、お見積りはこちら! →
販売元: 富士フイルム和光純薬株式会社

★ 富士フイルム富山化学株式会社では、F-hiSIEC を用いた膜透過性評価試験受託サービスを行っております! ★
膜透過性評価試験受託サービス紹介ウェブページ →