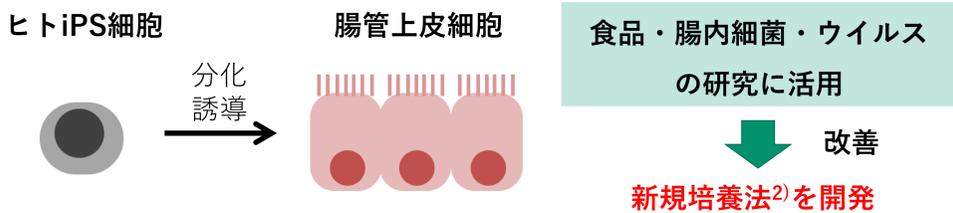


○望月 清一、諸橋 康史、今倉 悠貴、山崎 奈穂、中村 健太郎 (富士フィルム株式会社 バイオサイエンス&エンジニアリング研究所)
会員外共同研究者：岩尾 岳洋、松永 民秀 (名古屋市立大学 大学院薬学研究科 臨床薬学分野)

0. 背景・目的

我々は、腸管研究での動物実験代替、ヒト予測精度の向上を目指し、ヒトiPS細胞から腸管上皮細胞（以下、本細胞）を分化誘導し、*in vitro*モデルの構築を進めている。これまでに、本細胞を用いて免疫・炎症、動態、毒性等の評価モデルを構築し、その有用性を示してきた¹⁾。また、本細胞と腸内細菌との共培養により、腸内細菌の宿主細胞への影響を評価できることがわかった。一方、食品成分等の吸収に関わるトランスポーターや代謝酵素の発現・機能等に関しては、さらなる改善が求められている。そこで我々は、本細胞の培養条件を検討することでそれらを改善し、よりヒト腸管に近い評価を実現できるモデル構築を試みている。

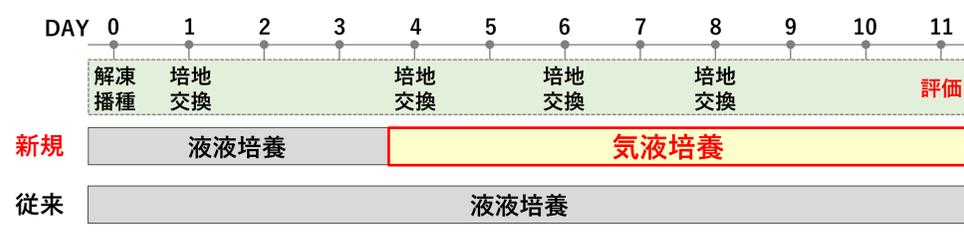


1. 方法

分化誘導方法の概要



培養プロトコル



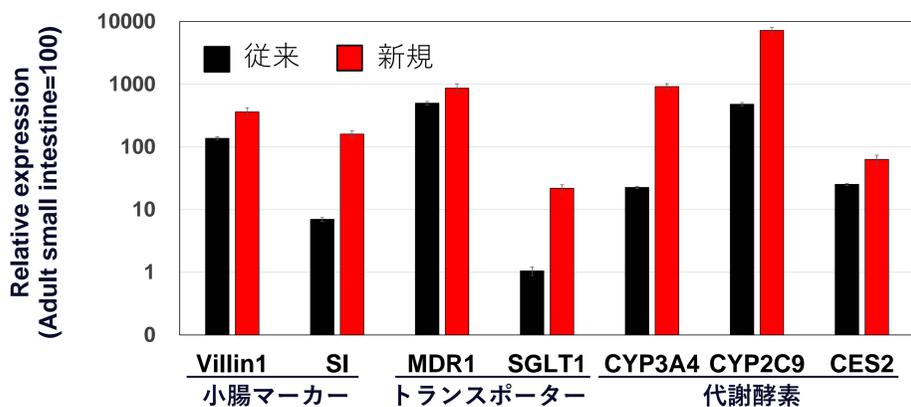
新規培養法と従来培養法の違い

培養法	使用細胞	培地		培養方法 (トランスウェル)
		播種培地	培養培地	
新規	ヒトiPS由来腸管上皮細胞	既存培地	改良培地	Day0-4: 液液培養 Day4-11: 気液培養
従来		既存培地	既存培地	液液培養

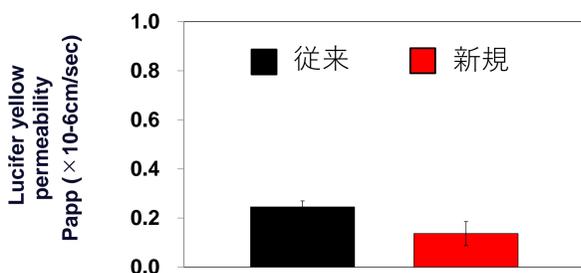
✓ 新規培養法として改良培地×気液培養を開発した

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)

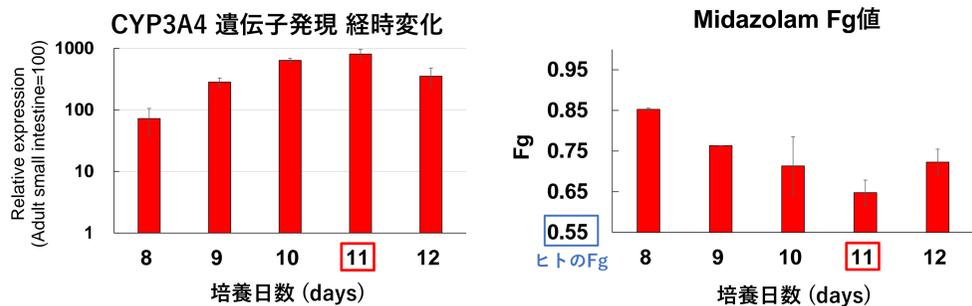


✓ 新規培養法では、小腸マーカー、トランスポーター、代謝酵素の遺伝子発現が上昇し、バリア機能を維持

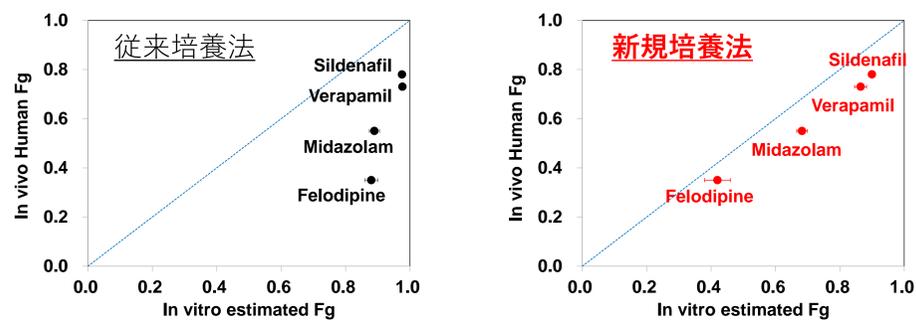
3. 新規培養法での小腸代謝の評価

新規培養法での小腸代謝について、代表的なCYP3A4基質であるMidazolamを用いて評価を実施した。代謝能の評価として、Fg(消化管代謝回避率)を算出した。Fgの算出は参考文献3)を参考に実施。

評価タイミングの検討



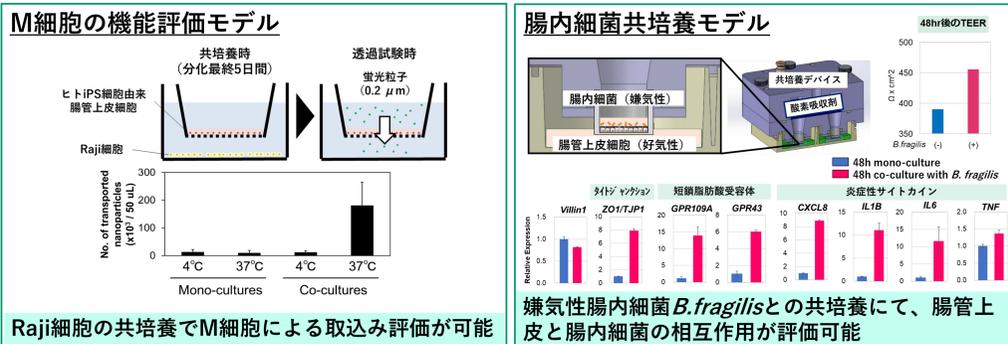
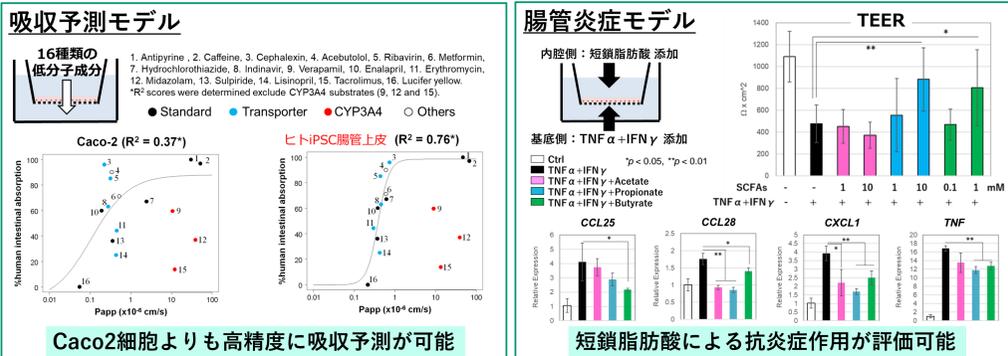
各種CYP3A4 基質のFg評価



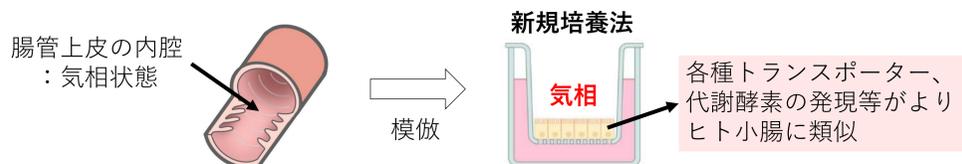
✓ 培養11日目がFg評価に最適なタイミングであり、CYP3A4基質のFgは実測値と良好な相関を示した

4. 既存評価モデルと食品免疫研究への応用

これまで、ヒトiPSC由来腸管上皮細胞の従来培養法にて「吸収予測」「腸管炎症」「M細胞の機能」「腸内細菌共培養」などの評価モデルを開発してきた。これらは、食品免疫研究において有用なツールであると考えられる。



新規培養法では腸管上皮の内腔側が気相となり、より生体に近い環境を模することが可能になった。また、脂質/コレステロール、糖類の取り込みに関するトランスポーターの遺伝子発現が向上し、ヒト小腸に近づくことも確認されている²⁾



新規培養法×既存評価モデルにて、以下の評価への展開が期待される

- ◆ 食品成分の腸管吸収・代謝を考慮した免疫・炎症評価
- ◆ 腸管バリア評価(タイトジャンクション形成、粘液産生の評価等)
- ◆ 各種腸内細菌の共培養による腸管上皮細胞との相互作用評価

5. 参考文献

- 1) Imakura et al., *Biochem Biophys Res Commun* 692: 149356 (2024)
- 2) Shirai et al., *Drug Metab Pharmacokinet* 55: 100994 (2024)
- 3) Michiba et al., *Drug Metab Dispos* 50: 204-213 (2022)

結論：新規培養法により、ヒトiPSC由来腸管上皮細胞の各種遺伝子発現、代謝機能が向上し、CYP3A4基質のFg予測精度が改善された。化合物の腸管代謝評価に有用と考えられる。今後、新規培養法×既存評価モデルにより、食品免疫研究への応用が期待される。