

## Characteristics of FUJIFILM human iPS cell-derived Small Intestinal Epithelial like Cells (F-hiSIEC™).

ヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞 (F-hiSIEC™) の特徴

Shinji Mima  
美馬伸治

Bio Science & Engineering Laboratory, FUJIFILM  
Corporation

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

# CSY-1-3-1



## 36th JSSX Annual Meeting COI disclosure information

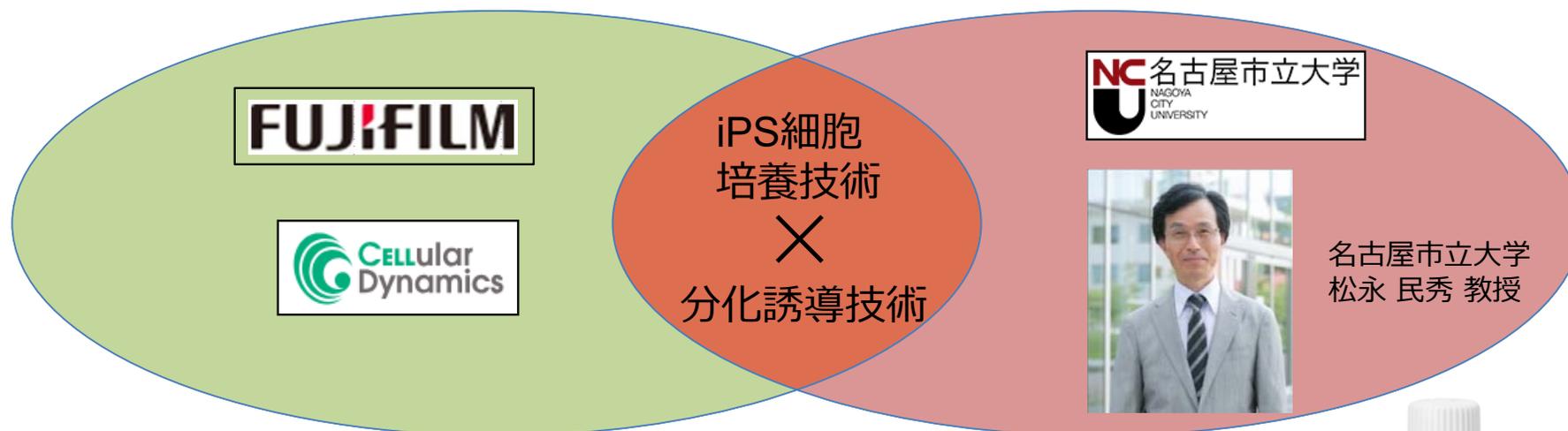
Author: Shinji Mima

**I have the following financial relationships to disclose for our presentation contents.**

- **Employees of FUJIFILM corporation: Shinji Mima**

# F-hiSIEC開発の経緯

- ・経口薬剤は全薬剤の64%を占める最も一般的な薬剤の形態である。
  - ・経口薬剤の吸収予測モデルとして、Caco-2などの培養細胞や動物実験が用いられているが、酵素活性の乖離や種差のためヒト生体小腸との相関が低い。
- 可能な限り生体小腸に近い細胞を作りたい



当社のiPS細胞培養・制御技術と名古屋市立大学松永先生が確立した分化誘導技術を組み合わせることでF-hiSIECを開発した。

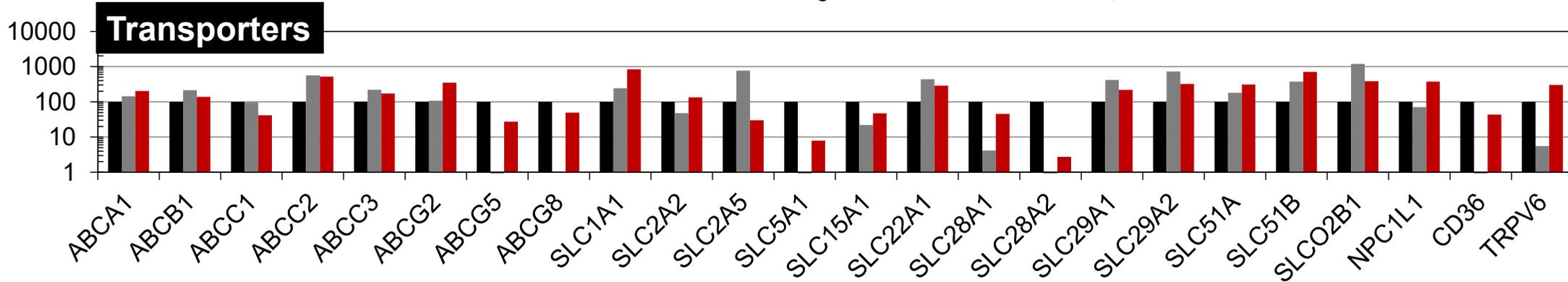
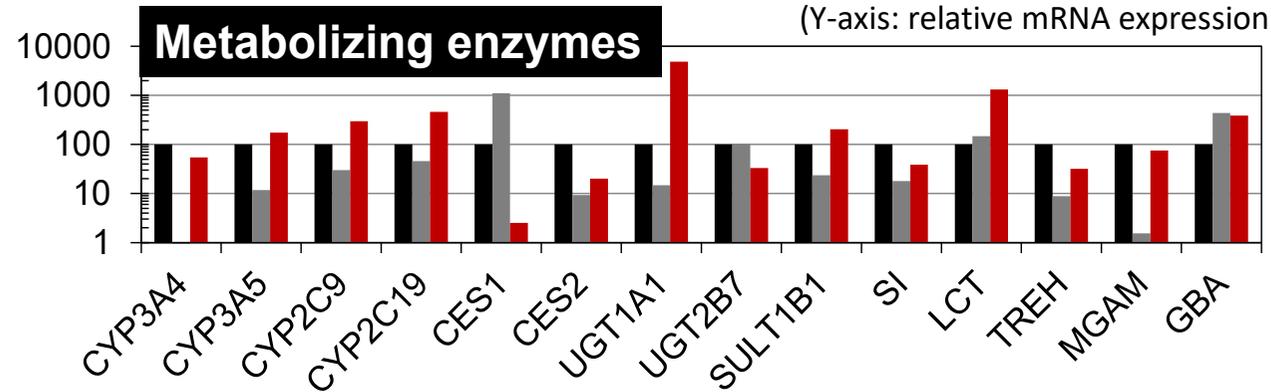
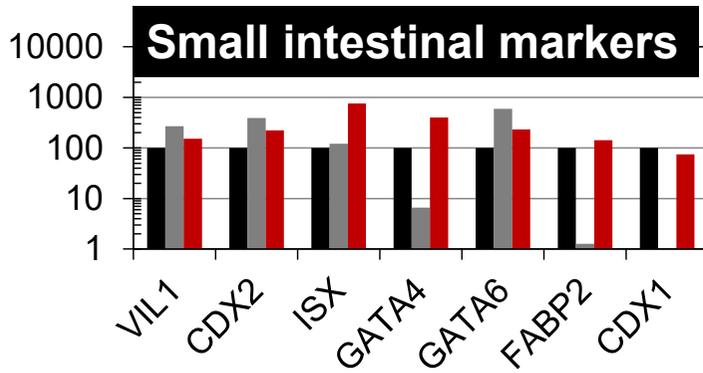


・F-hiSIECは生体小腸と類似の遺伝子発現を示す。

■ Adult small intestine ■ Caco-2 cells ■ F-hiSIEC™

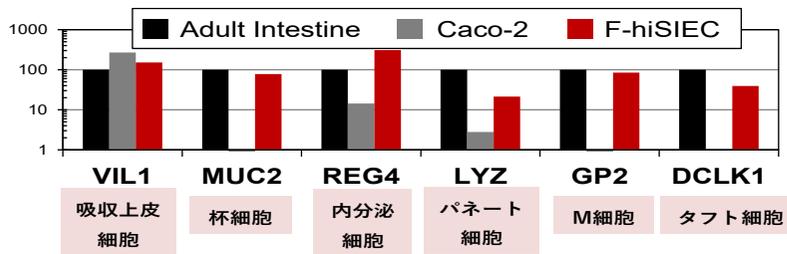
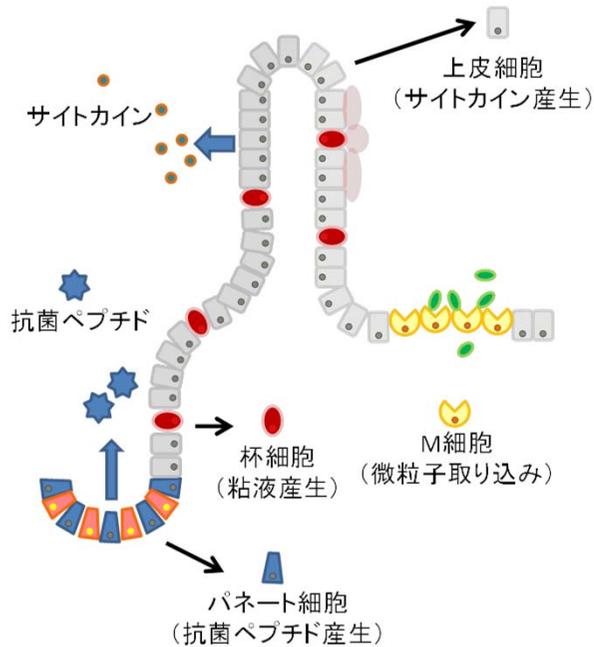
The expression levels of various genes in F-hiSIEC™ were measured by real-time PCR and compared to adult small intestine and Caco-2 cells.

(Y-axis: relative mRNA expression)



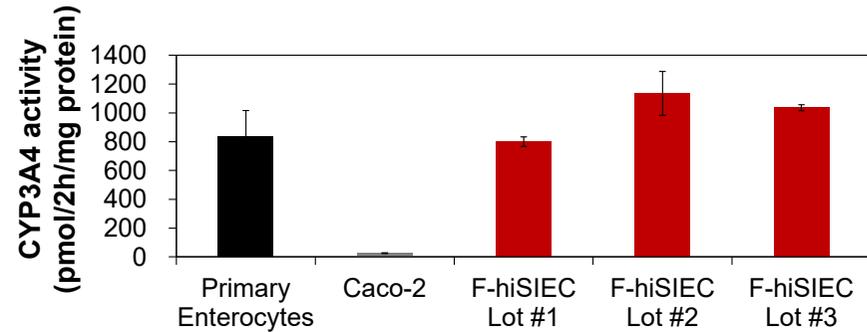
- 腸管に存在する種々の細胞を含む。

## 小腸上皮の種々の細胞種

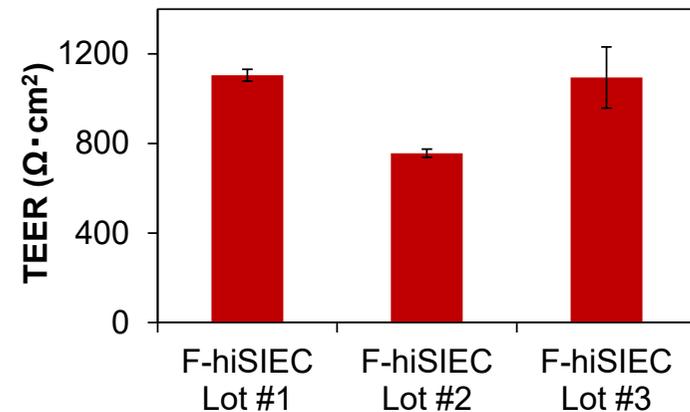


- iPS細胞株由来のためロット間差が小さい。

## F-hiSIEC複数ロットのCYP3A4活性



## F-hiSIEC複数ロットのバリア機能 (TEER)



# 本日のアジェンダ

1.F-hiSIECを用いた新しい動態予測モデル

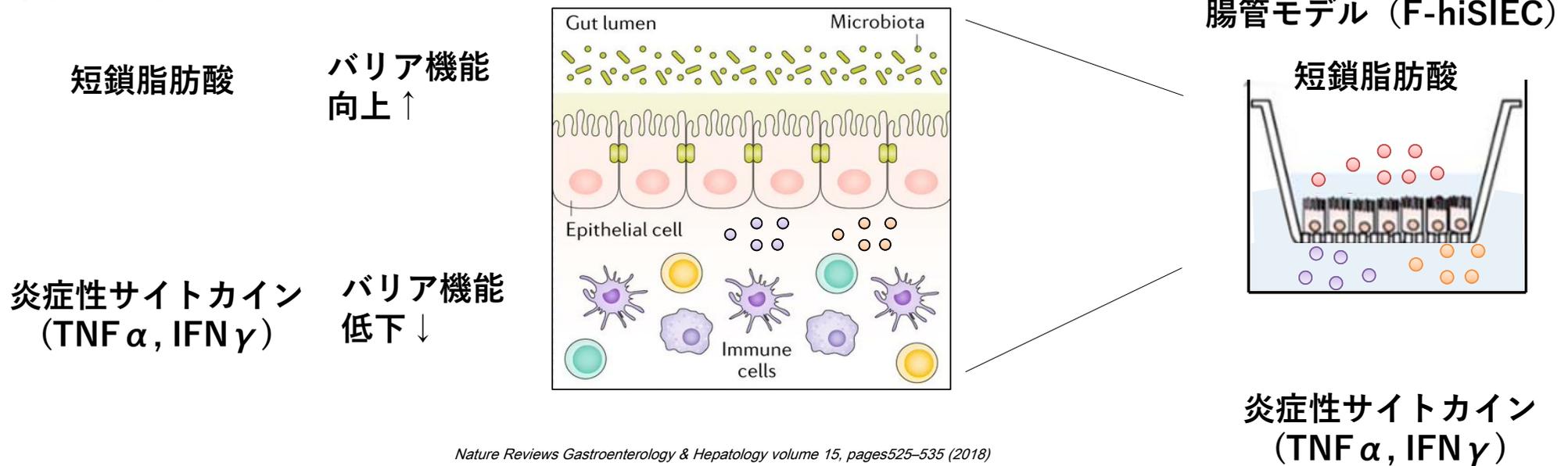
2.F-hiSIECを使用した研究のご紹介

今年発表された論文を中心に

◆ Tight junctionは主要なバリア機構で、薬剤吸収を調節している。

→ Tight junction機能を調節するモジュレーターの開発は、吸収改善に有効なアプローチ。

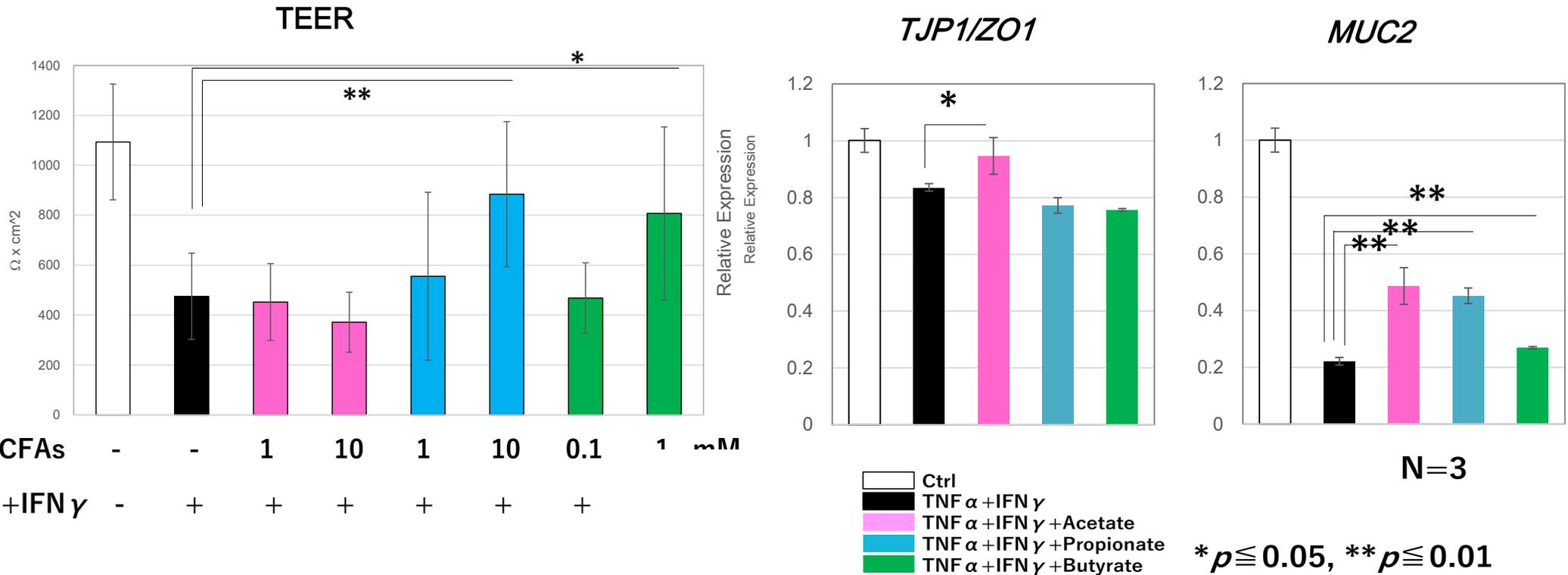
◆ ヒト生体小腸では炎症反応によってバリア機能が低下し、腸内細菌代謝物（短鎖脂肪酸）で向上する。



*Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology volume 15, pages525-535 (2018)*

F-hiSIECのTight junction機能が炎症性サイトカインや短鎖脂肪酸の影響を受けるか検討した。 6

## ◆炎症性サイトカインと短鎖脂肪酸のバリア機能への影響



• F-hiSIECを用いたモデルは、ヒト生体小腸と同様に、炎症と短鎖脂肪酸によるバリア機能の変化を再現した。

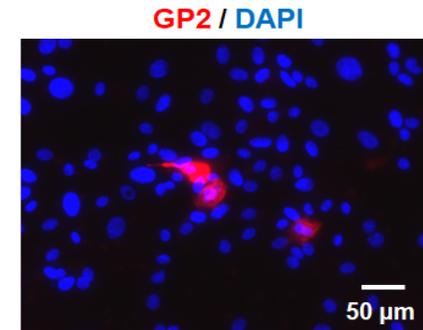
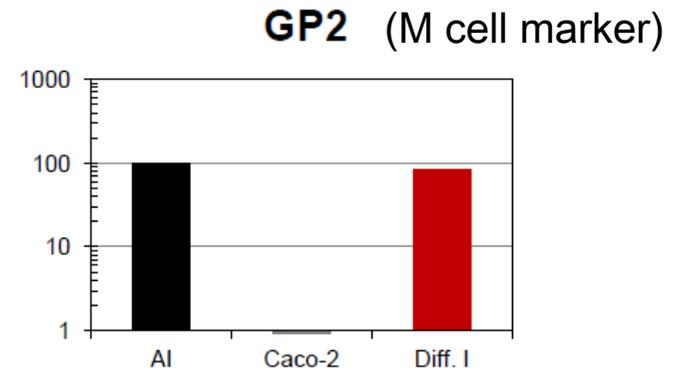
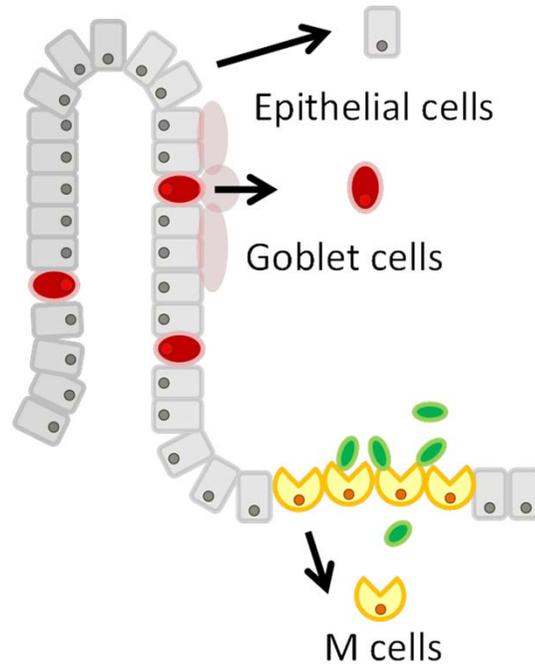
→F-hiSIECはバリア機能のモジュレーターの開発に有用であることが示唆された。

◆ F-hiSIECはM細胞のマーカを発現するが機能は不明

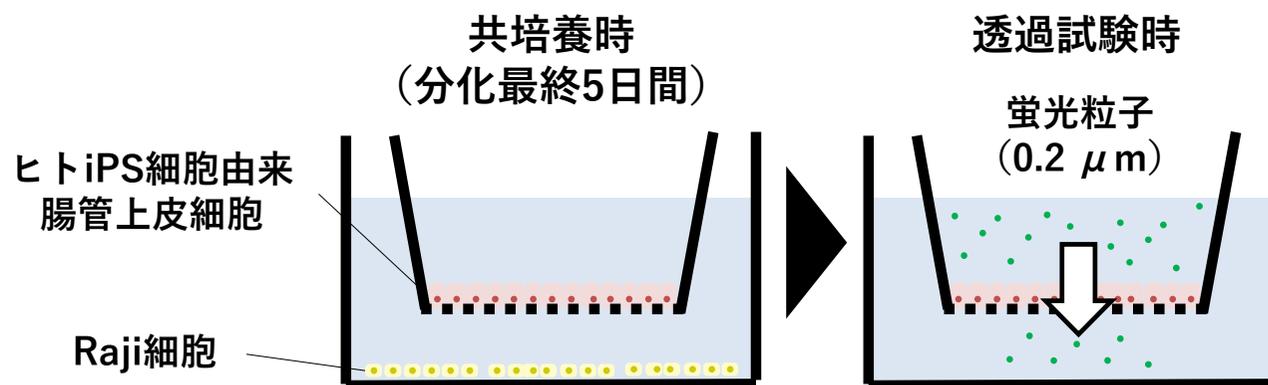
◆ M細胞は小腸のパイエル板に存在するユニークな細胞。

・ M細胞は細菌などの粒子を取り込む機能をもつ。

・ この特徴は粒子化した薬剤の吸収ターゲットとして注目されている。



F-hiSIECに含まれるM細胞は機能を持つか調べた

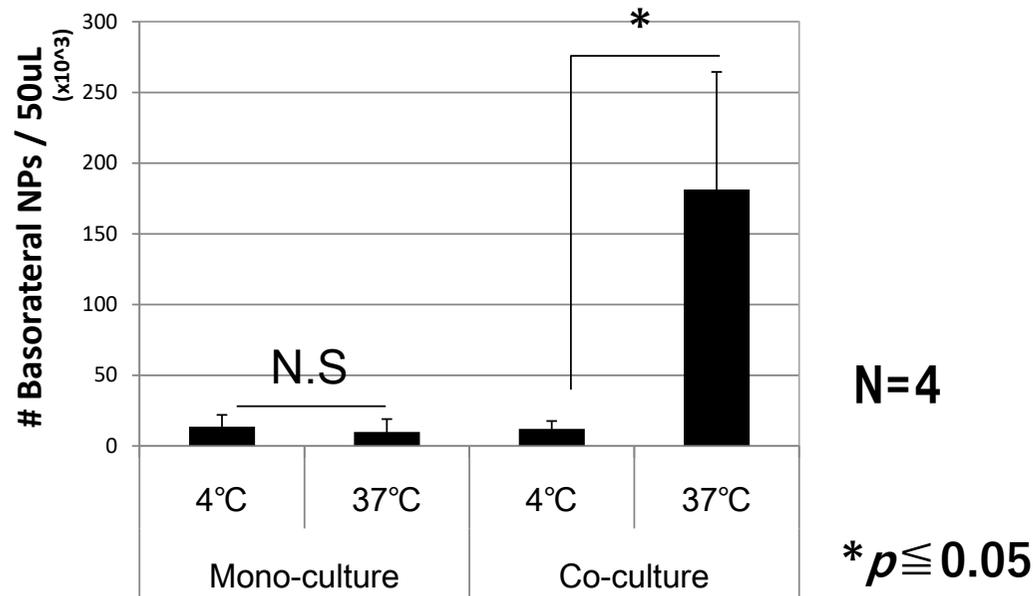


F-hiSIECをセルカルチャーインサートに播種、Raji細胞と共培養した。

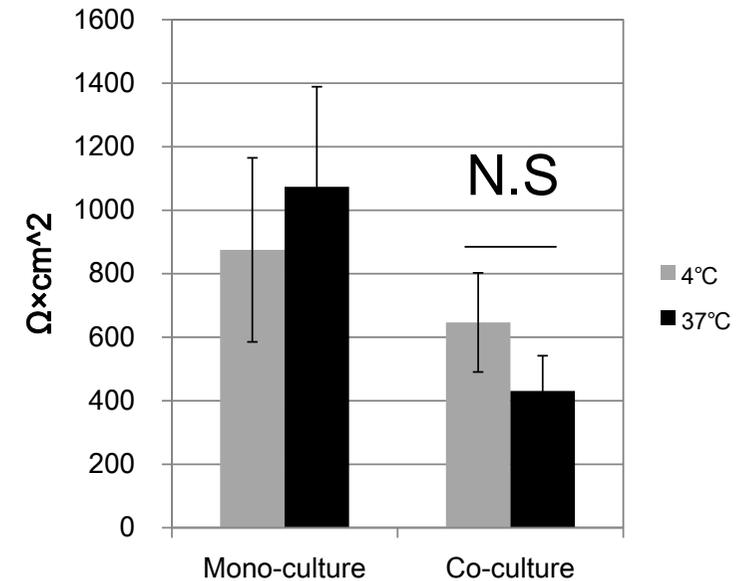
Apical側に0.2 $\mu\text{m}$ の蛍光粒子を添加し、Basal側に通過した粒子数をフローサイトメトリーで検出した。

## ◆ M細胞を介した蛍光粒子の吸収

Basal側に吸収された蛍光粒子数



TEER



•Raji細胞と共培養した群において粒子の吸収が観察されたが4°Cでは阻害された。

•F-hiSIECは粒子化した薬剤の吸収予測モデルとしても使用できることが示された。

- F-hiSIECはヒト生体小腸と類似した代謝酵素活性、トランスポーター活性を持つばかりでなく、ヒト生体と類似したバリア機能調節機構持ち、さらにM細胞を介した吸収も再現した。
- F-hiSIECを使用したモデルは、低分子だけでなく環状ペプチドなどの中分子、ナノビーズ化した薬剤やワクチンなど新しいモダリティの薬剤の吸収評価にも応用できる、強力なツールであることを示している。



# 本日のアジェンダ

1.F-hiSIECを用いた新しい動態予測モデル

2.F-hiSIECを使用した研究のご紹介

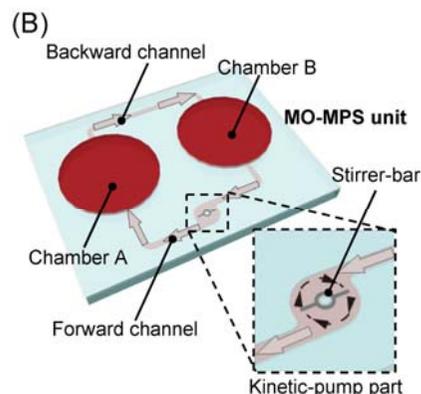
今年発表されたF-hiSIEC3つの論文を中心に

## 東海大学木村先生のご研究

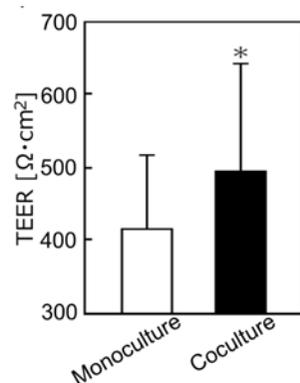
(Micromachines 2021, 12(9), 1007)

Microphysiological system (MPS) = 生体模倣システム  
AMEDT研究における予測モデルとして期待

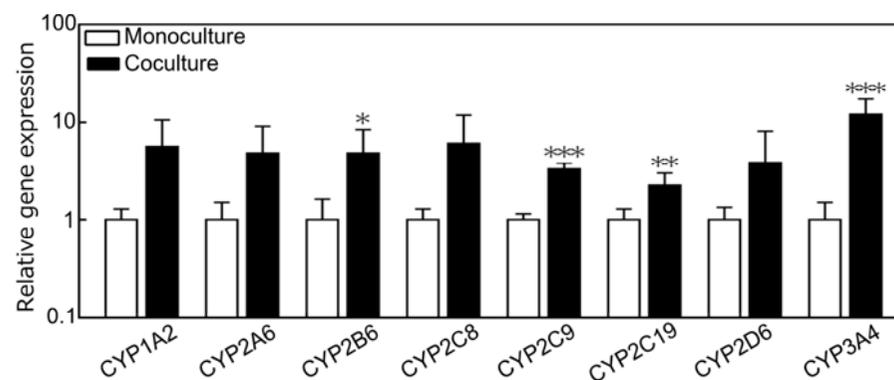
### KIM Plate



### F-hiSIECのバリア機能



### PXBの代謝酵素遺伝子発現



**KIM Plateで小腸（F-hiSIEC）と肝臓（PXB）を共培養すると、F-hiSIECのバリア機能が向上し、PXBの代謝酵素（CYP2B6、2C9、2C19および3A4）遺伝子の発現量が上昇した。**

・F-hiSIECは肝臓などの他臓器と臓器間相互作用するポテンシャルを持つことが初めて示された

・F-hiSIECはMPSにおける小腸細胞としての応用が期待される。

## 日清食品ホールディングス株式会社 北口様らのご研究

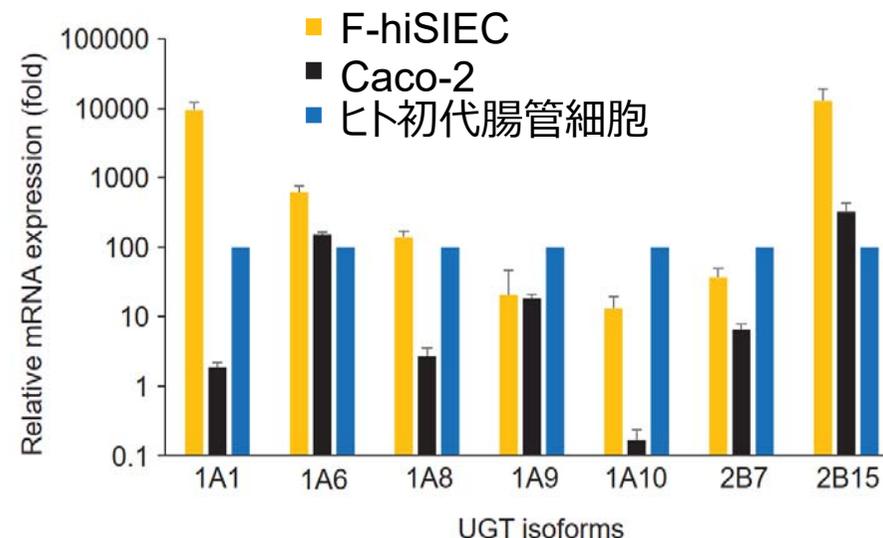
(Drug Metabolism and Disposition Vol. 49, Issue 11 Nov 2021)

### 食品由来成分の透過係数（一部抜粋）

| Compound                 | $P_{app}$ ( $10^{-6}$ cm/s) |              |        |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|--------|
|                          | hiPSC-SIECs                 | Caco-2 cells |        |
| Daidzein                 | 1.6                         | 36.8         | ± 1.6  |
| Genistein                | 2.7                         | 33.7         | ± 1.0  |
| Quercetin                | 0.46                        | 9.49         | ± 0.64 |
| Curcumin                 | 0.07                        | 3.50         | ± 0.81 |
| Epicatechin              | 0.13                        | 0.12         | ± 0.08 |
| Epigallocatechin         | 0.34                        | 0.29         | ± 0.06 |
| Epigallocatechin gallate | 0.16                        | 0.12         | ± 0.03 |
| Caffeic acid             | 1.03                        | 0.18         | ± 0.05 |

F-hiSIECでは透過係数がCaco-2よりも低かった。

### UGTアイソフォームの発現量



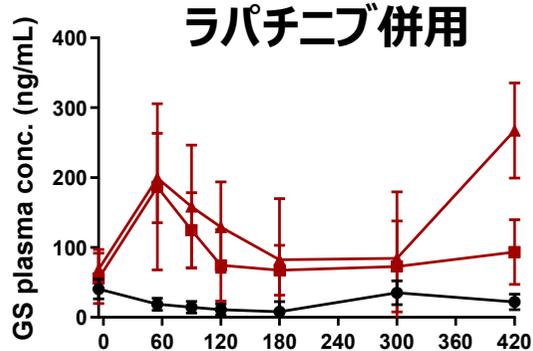
F-hiSIECのUGTアイソフォーム発現量はヒト初代腸管細胞と同等以上であった。

F-hiSIECは医薬品の吸収予測だけでなく食品成分についても展開が期待される

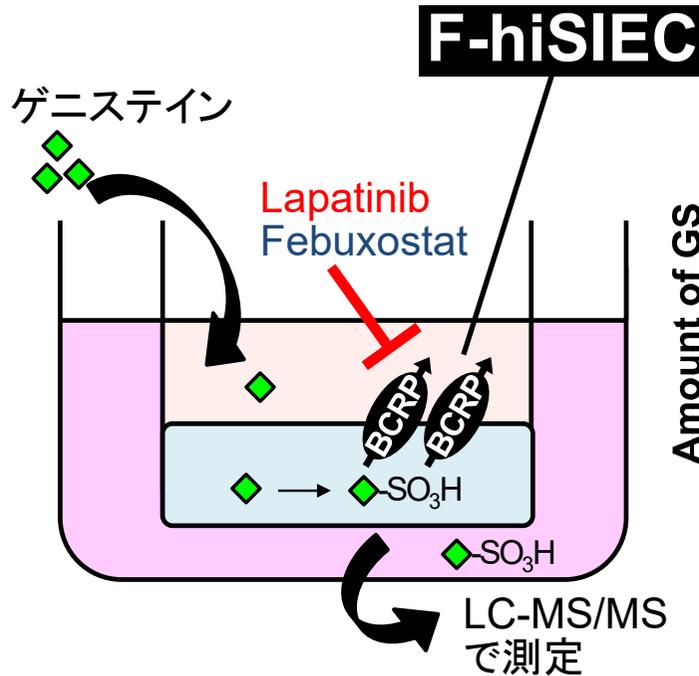
## 金沢大学増尾先生、加藤先生らのご研究

(Drug Metabolism and Disposition 2021, 49 (11) 972-984)

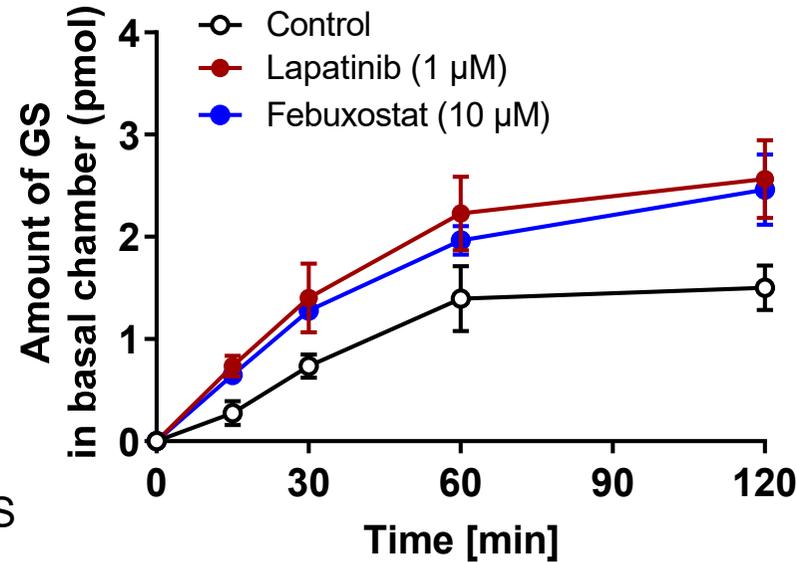
### ゲニステイン硫酸抱合体(GS)の 血中濃度推移 (マウス)



AUC<sub>0-7h</sub> (Lapatinib 30 mg/kg /vehicle) = ↑ 3.86\*\*  
 AUC<sub>0-7h</sub> (Lapatinib 90 mg/kg /vehicle) = ↑ 5.60\*



### GSのBasal側濃度 (F-hiSIEC)



BCRP阻害剤によってGSの血中濃度が上昇した

Basal側のGSの濃度はBCRP阻害剤添加によって上昇した

- F-hiSIECは動物実験の代替として使用可能であることを示唆。
- 代謝物の動態研究は、代謝酵素活性とトランスポーター活性を併せ持つF-hiSIECが適している。

・名古屋市立大学

松永民秀 先生

岩尾岳洋 先生

・日清食品ホールディングス株式会社

北口隆 様

・金沢大学

増尾友佑 先生

加藤将夫 先生

・東海大学

木村啓志 先生

・富士フイルム株式会社

-ライフサイエンス事業部

-バイオサイエンス&

エンジニアリング研究所

関係者各位にはこの場を借りてお礼申し上げます。  
ご清聴ありがとうございました。