

【目的】 小腸上皮細胞は、様々な薬物代謝酵素や薬物トランスポーターを発現しているため、経口投与された薬物の吸収・排泄や代謝において重要な役割を担う。創薬研究において、医薬品候補化合物の小腸での吸収を評価するための *in vitro* 評価系としては、ラット等の小動物由来小腸組織を用いた反転腸管法やヒト大腸癌細胞株である Caco-2 細胞を用いた系が汎用されているが、種差や“代謝”を評価できないという問題がある。ヒト iPS 細胞から分化誘導した小腸上皮細胞は、これらの問題点の解決が可能であり、薬物の“吸収・排泄と代謝”を同時に評価可能になると期待される。そこで本研究では、ヒト iPS 細胞から小腸上皮細胞へのより安定な高効率分化誘導法の開発を行った。まずは、ヒト iPS 細胞から小腸上皮細胞への分化過程の細胞に、適切な分化関連遺伝子を遺伝子導入能に優れたアデノウイルス (Ad) ベクターを用いて一過性に導入することで、小腸上皮細胞への分化効率を飛躍的に高めることを試みた。また、安定製造に重点を置きながら、化合物をスクリーニングすることで分化誘導法の改良にも取り組んだ。一方、我々が開発済みの高効率ゲノム編集技術を駆使して、消化管吸収・代謝に重要な薬物代謝酵素 (*CYP3A4*) 遺伝子をノックアウトしたヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞を作製し、当該分子の薬物代謝・毒性への影響を分子レベルで検討した。

【方法】 ヒト iPS 細胞から分化誘導した中内胚葉系細胞に *FOXA2* 発現 Ad ベクターを、腸管前駆細胞に計 6 種類の候補転写因子を発現する Ad ベクターを作用させた。ヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞の機能を向上できる化合物の探索においては、計 10 種類の候補化合物を分化誘導の day17 から 10 日間作用させて小腸上皮細胞へと分化誘導を行った。*CYP3A4* 遺伝子のノックアウトはバルブプロ酸と RAD51 を用いた独自開発のゲノム編集法 (Crispr-Cas9 系を利用) を用いて行った。

【結果】 ヒト iPS 細胞内胚葉細胞に *FOXA2* 遺伝子を、ヒト iPS 細胞腸管前駆細胞に *CDX2* 遺伝子を導入することで、小腸上皮細胞分化が飛躍的に向上し、*villin* や薬物代謝酵素活性をはじめとする各種小腸上皮細胞機能が向上することが明らかになった。また、化合物 X を分化誘導後期に作用させることで、ヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞における薬物代謝活性が向上することを見いだした。*CYP3A4* ノックアウト (*CYP3A4*-KO) iPS 細胞由来小腸上皮細胞では、*CYP3A4* を介した医薬品の毒性を評価できることを実証した。以上、ヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞の分化誘導技術の更なる改良に成功し、*in vitro* 評価系としての有用性を実証した。

小腸上皮細胞機能を有した *in vitro* 吸収・排泄・代謝評価系

