

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	医薬品のヒト経口吸収性評価への活用を目指したヒトiPS細胞由来小腸細胞作製に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	吉田晋平
Author(English)	Shinpei Yoshida
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12107号, 授与年月日:2021年9月24日, 学位の種別:課程博士, 審査員:糸 昭苑,白木 伸明,山口 雄輝,田川 陽一,加藤 明
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12107号, Conferred date:2021/9/24, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	吉田 晋平		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	糸 昭苑	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

本論文は「医薬品のヒト経口吸収性評価への活用を目指したヒト iPS 細胞由来小腸細胞作製に関する研究」と題し、四章より構成した。

第一章「研究背景」では、本論文の研究背景について、まず経口医薬品が薬効を発揮するためには小腸から効率良く吸収される必要があると指摘し、創薬で主に使用されている *in vitro* 吸収モデルは、医薬品の吸収に関与している薬物代謝酵素や薬物トランスポーターが発現していない、あるいはそれらの発現量がヒト小腸と異なるといった課題があり、よりヒトの小腸に類似した *in vitro* 吸収モデルの開発が望まれることを述べた。そこで本研究では、ヒト iPS 細胞から小腸細胞への分化誘導法、並びに作製した小腸細胞を用いた *in vitro* 吸収モデル作製法の確立を目指し、検討を行った。

第二章「3次元培養法を用いたヒト iPS 細胞由来小腸細胞の作製」では、ヒト iPS 細胞 TkDA3-4 株を用いて、Activin A を添加し内胚葉へ分化させ、次に、内胚葉の後方を促すと報告されている Wnt3a 及び FGF4 を添加し小腸前駆細胞へと分化させ、続いて、小腸前駆細胞から小腸細胞への成熟化を促すと報告されている R-spondin1, NOGGIN, EGF を加えた培地を用い、Matrigel で包埋した 3次元培養により 28 日以上培養することで、吸収細胞、杯細胞、パネート細胞、吸収内分泌細胞など、各種小腸細胞を含む小腸オルガノイドを得た。次に、上皮細胞特異的な表面抗原 EpCAM を指標とした磁気細胞分離法により、小腸オルガノイドから純化した小腸細胞において、小腸の主な薬物代謝酵素チトクロム P450 (CYP) 3A 及び CYP2J2 の活性を確認できた。また、タイトジャンクションによるバリア機能を確認できた。

第三章「2次元培養法を用いたヒト iPS 細胞由来小腸細胞の作製」では、まず、高密度コラーゲンで形成され、結合組織に類似したコラーゲンビトリゲル膜上にヒト iPS 細胞 RPChiPS771 株由来内胚葉を播種し、小腸前駆細胞並びに小腸細胞への分化を促す BIO と DAPT を加えた培地を用いて、小腸細胞への成熟化を行った。その結果、小腸マーカー、薬物代謝酵素、薬物トランスポーターの遺伝子発現量がヒト成人小腸に類似した iPS 細胞由来小腸細胞が得られ、また、別のヒト iPS 細胞株の ChiPS18 株でも同様の結果が得られたことから、本誘導法は他のヒト iPS 細胞株にも応用できると考えられた。さらに、作製した小腸細胞について、小腸の主な排泄型トランスポーターである P-gp 及び BCRP による基質薬物の輸送活性を評価した結果、両トランスポーターによる排泄方向輸送を確認できた。続いて、小腸への成熟化因子を解析した結果、活性型ビタミン D3 (VD3) は成熟化の指標である CYP3A4 の遺伝子発現を誘導し、Dimethyl sulfoxide (DMSO) 及び Dexamethasone (Dex) は成熟化の指標である P-gp の活性を向上させたことから、これら因子は成熟化に有用と考えられた。また、RPChiPS771 株由来小腸前駆細胞をコラーゲンビトリゲル膜上に播種し、VD3, DMSO, Dex を添加した培地を用いて作製した小腸細胞は、高い膜抵抗値並びに CYP3A 酵素活性を示した。さらに、15 個のモデル薬物を用いて、本誘導法により作製した小腸細胞単層膜の膜透過性とヒト小腸吸収率の相関性を評価した結果、高い相関性が認められた。

第四章「総括」では、第二章及び第三章より得られた結果から、以下のように論じた。  
本研究によって得られた知見により、3次元培養によって作製したヒト iPS 細胞由来小腸オルガノイド、2次元培養によって作製したヒト iPS 細胞由来小腸細胞、それぞれが *in vitro* 吸収モデルとして有用であり、医薬品のヒト経口吸収性予測への活用が期待される。さらに *in vitro* 小腸毒性評価への活用も期待される。

以上を要するに、本論文は、2次元及び3次元培養によるヒト iPS 細胞から小腸細胞への分化誘導法、並びに当該細胞を用いて医薬品のヒト経口吸収性を評価するための新規 *in vitro* 吸収モデルを作製したものであり、工学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分な価値があるものと考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	吉田 晋平		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	桑 昭苑	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words )

### Introduction

Human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) are expected to derive cells that could be used as a platform for pharmacokinetics studies and safety evaluations in drug discovery. For instance, the small intestine plays an essential role in the oral absorption of drugs. Functional human small intestine derived from hiPSCs could be used as an *in vitro* model to predict intestinal absorption of drugs in humans. In this study, I aimed to establish an *in vitro* differentiation procedure to generate matured functional small intestinal cells mimicking human small intestine from hiPSCs and an *in vitro* model using those cells to predict the intestinal absorption of drugs.

### Experimental methods

hiPSCs were treated with medium containing specific growth factors in two-dimensional or three-dimensional conditions and differentiated into functional enterocytes-like cells (ELCs).

### Results and Discussion

The generation of ELCs from hiPSCs confirmed first in a matrigel-embedded three-dimensional culturing system with medium containing R-spondin1, Noggin, EGF. Then, using a two-dimensional culturing system on a collagen vitrigel membrane with medium containing BIO, dimethyl-sulfoxide, dexamethasone, activated vitamin D3, the generation of hiPSC-derived ELCs was confirmed. Functional tests demonstrated that these hiPSC-derived ELCs exhibit cytochrome P450 (CYP) 3A-mediated metabolism, rigid cell monolayer due to the tight junction, and P-gp- and BCRP-mediated efflux transport. I concluded that an *in vitro* differentiation procedure of hiPSC-derived ELCs capable of predicting intestinal absorption of drugs in humans is established.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).