

27C-am01

高機能かつ高純度なヒト iPS 細胞由来肝細胞の作製と創薬応用

○高山 和雄^{1,2,3}, 水口 裕之^{1,3,4,5} (阪大院薬,²さきがけ,³医薬健康研,⁴阪大 MEI セ,⁵阪大院医)

【目的】ヒト iPS 細胞由来肝細胞は毒性スクリーニング等の創薬への応用が期待されている。ヒト iPS 細胞から肝細胞への分化誘導技術は改良が重ねられているものの、ヒト iPS 細胞由来肝細胞の機能と純度は、生体のヒト肝細胞に比べると劣るのが現状である。ヒト iPS 細胞由来肝細胞を用いた創薬試験の精度を向上させるためには、ヒト iPS 細胞由来肝細胞の機能と純度の向上が不可欠である。そこで、本研究では、成熟肝細胞マーカーの遺伝子座に薬剤耐性遺伝子を導入したトランスジェニックヒト iPS 細胞株を作製することによって、薬剤選択による成熟ヒト iPS 細胞由来肝細胞の濃縮を試みた。【方法】CRISPR/Cas9 システムを応用した独自開発の高効率ゲノム編集技術 (Nuc Acid Res, 2017) を用いて、薬物代謝酵素 cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) 遺伝子座に neomycin resistant (NeoR) 遺伝子を挿入したヒト iPS 細胞 (CYP3A4-NeoR iPS 細胞) を作製した。CYP3A4-NeoR iPS 細胞を肝細胞へと分化誘導したのち、neomycin を作用させることにより、成熟ヒト iPS 細胞由来肝細胞を濃縮した。【結果と考察】独自開発の高効率ゲノム編集技術を用いることにより、20%以上の効率で CYP3A4-NeoR iPS 細胞を取得できた。我々が過去に開発した肝細胞分化誘導技術を用いて、CYP3A4-NeoR iPS 細胞を肝細胞へと分化誘導したのち、neomycin を作用した。その結果、CYP3A4 陽性率は 21% から 80%にまで向上した。また、neomycin 作用により、CYP3A4 のみならず、肝臓に発現するあらゆる薬物代謝酵素や抱合酵素、トランスポーターの遺伝子発現量が向上した。さらに、neomycin 作用により、胆汁酸産生能や肝毒性試験の感度が向上することも確認した。本技術を用いることにより、従来よりも高機能かつ高純度なヒト iPS 細胞由来肝細胞の作製が可能になった。