

22P-am05S

SLC15A1/PEPT1 欠損ヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞の作製

○河合 夏苗¹, 根来 亮介², 山下 智起², 高山 和雄^{1,2,3,4}, 水口 裕之^{1,2,3,5} (¹阪大薬, ²阪大院薬, ³医薬健栄研, ⁴JST さきがけ, ⁵阪大 MEI セ)

【目的】SLC15A1/PEPT1 は小腸に発現し、ペプチド類似構造を有する医薬品の吸収に重要な役割を担う。そのため、医薬品候補化合物の消化管吸収率を予測する際に、候補化合物が PEPT1 の基質になりうるか評価する必要がある。最近、我々は、小腸での医薬品吸収や代謝を評価可能なヒト iPS 細胞由来 *in vitro* 小腸モデルを開発した (Sci Rep 2015, Stem Cell Rep 2018)。本研究では、ゲノム編集技術を用いて PEPT1 欠損ヒト iPS 細胞株 (PEPT1-KO iPS 細胞) を作製し、ヒト iPS 細胞由来小腸モデルを用いた PEPT1 の医薬品吸収評価系へ応用できるか検討した。

【方法】我々が独自開発した高効率なゲノム編集技術 (Nuc Acid Res 2017) を用いて PEPT1-KO iPS 細胞を作製し、未分化状態の評価を行った。さらに、PEPT1-KO iPS 細胞を小腸上皮細胞へ分化誘導し、PEPT1 の発現を定量的 RT-PCR 法を用いて確認した。また、villin 1 及び sucrase-isomaltase (SI) の遺伝子発現量及び陽性細胞率をそれぞれ定量的 RT-PCR 法、フローサイトメトリーを用いて解析した。

【結果・考察】ゲノム編集技術により PEPT1 遺伝子を欠失したヒト iPS 細胞を取得することに成功した。PEPT1-KO iPS 細胞における未分化マーカー (NANOG、OCT4、SOX2) の遺伝子発現量は野生型ヒト iPS 細胞と同程度であった。また、PEPT1-KO iPS 細胞由来小腸上皮細胞において、PEPT1 の遺伝子発現量がほぼ消失することを確認した。さらに villin 1、SI の遺伝子発現量は野生型ヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞と同程度であり、villin 1、SI 陽性細胞率は 90%以上であった。今後は、PEPT1-KO iPS 細胞由来小腸上皮細胞における PEPT1 の機能解析を行い、ペプチド類似構造を有する医薬品の吸収評価系の構築に取り組みたい。