



# iPS細胞由来近位尿細管を用いた、 OAT1/3やOCT2を介した薬物輸送評価と毒性評価

薬剤は尿細管に発現しているトランスポータを介して排泄される。この腎排泄を正確に評価することは、体内の薬物動態や潜在的な薬物相互作用の予測に重要である。しかし、現在の *in vitro* モデルでは特に有機アニオントランスポーター (OAT1/3)、有機カチオントランスポーター2 (OCT2) などの発現が不十分である。そこで、本研究ではヒトiPS細胞由来腎臓組織から取得した近位尿細管上皮細胞 (iPS-RPTEC) を用いて腎臓MPSを開発した。不死化細胞を用いた場合と比較して、iPS-RPTECはOAT1/3とOCT2をより高く発現しており、OAT1/3やOCT2を介した薬剤排泄と腎毒性を評価できることを実証した。

## 実験概要

弊社顧問である高里実氏 (理化学研究所チームディレクター) が確立したプロトコルにのっとり、ヒトiPS細胞から腎臓組織を作製した。その後、MACSによりiPS-RPTECを分取し、MPSチップに播種した。iPS-RPTECは不死化細胞に比べ、OAT1/3やOCT2の発現が高いことを免疫染色で確かめている (図1)。

MPSチップはPDMS製であり、幅1 mm、高さ1 mmの流路が二本上下に存在する。それらの流路はPET製の多孔質膜 (ポアサイズ 3  $\mu\text{m}$ ) によって仕切られている。多孔質膜の上側に尿細管細胞を播種し、上側流路を尿側、下側流路を血液側とみなした。

尿細管の上皮層を形成した後、基質輸送評価、腎毒性評価をおこなった。基質輸送評価では、基質を下側流路 (血液側) に導入し、尿細管細胞によって上側流路 (尿側) へ輸送された基質を経時的にサンプリングした。回収したサンプルに含まれる薬剤濃度をLC/MSによって測定した。腎毒性評価では、腎毒性を誘発する化合物を下側流路に導入し、24時間培養した。その後、細胞から培地上清に放出されたLDH量を測定し、細胞障害を評価した。

(詳細なプロトコル: [C. Ma et al., STAR Protoc., 6, 2, 103777, 2025.](#))

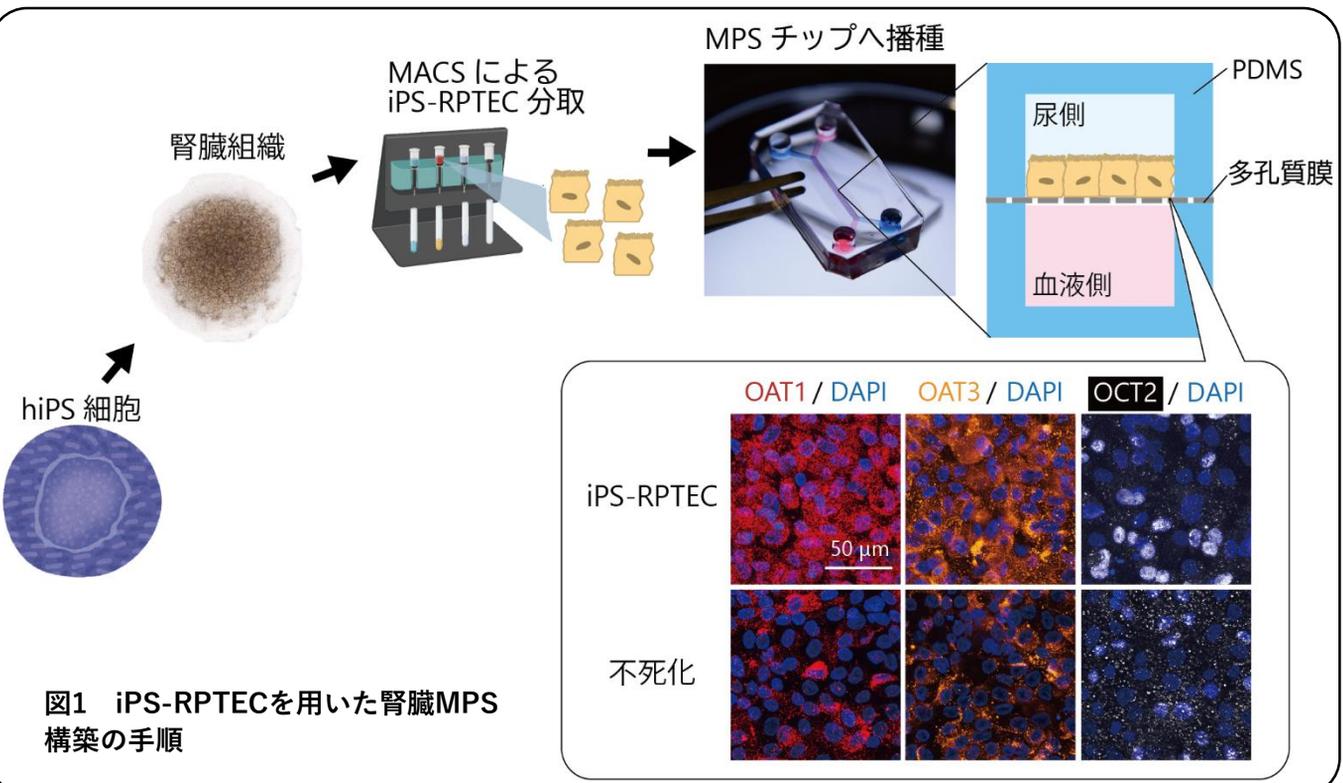


図1 iPS-RPTECを用いた腎臓MPS構築の手順

## OAT1/3やOCT2を介した基質輸送評価

不死化細胞またはiPS-RPTECを搭載したMPSを用いて、OAT1の基質であるAdefovir、OAT3の基質であるRosuvastatin、OCT2の基質であるMetforminの輸送を評価した。これらの基質は血液側から尿側への輸送が主である(図2a)。その輸送の方向性を確かめるため、下側流路から上側流路への輸送(B to A)と、上側から下側への輸送(A to B)の両方を評価した。不死化細胞では、Adefovir、Rosuvastatin、Metforminともに、B to AとA to Bの輸送量は同じで、輸送の方向性は確認できなかった。一方、iPS-RPTECでは3つの基質すべてでB to Aの輸送量がA to Bよりも多く、トランスポーターによってこれら3つの基質が輸送されていることが示唆された(図2b)。

Adefovir、Rosuvastatinについて、OAT1/3による輸送であることを確かめるため、OAT1/3の阻害剤Probenecidを導入し、輸送が阻害されるかを確認した。その結果、Probenecidを500  $\mu\text{M}$ 導入した場合、AdefovirやRosuvastatinがほとんど輸送されておらず、Probenecidによる阻害効果を実証した(図3)。以上より、iPS-RPTECを用いたMPSではOAT1/3やOCT2を介した薬物輸送が評価できる。

## 腎毒性評価

iPS-RPTEC搭載MPSを用いて、Cisplatinやアリストロキア酸による腎毒性を評価した。CisplatinはOCT2、アリストロキア酸はOAT1/3によって細胞内に取り込まれ、腎毒性を誘発する。Cisplatinまたはアリストロキア酸を暴露してから24時間後、腎毒性が表れ、培地中のLDH量が増加した。Cisplatinと一緒にOCT2阻害剤であるCimetidineを導入した条件では、Cisplatin毒性が低下することを実証した(図4)。以上の結果より、iPS-RPTEC搭載MPSを用いることによって、腎毒性や阻害剤の効果を評価することができる。

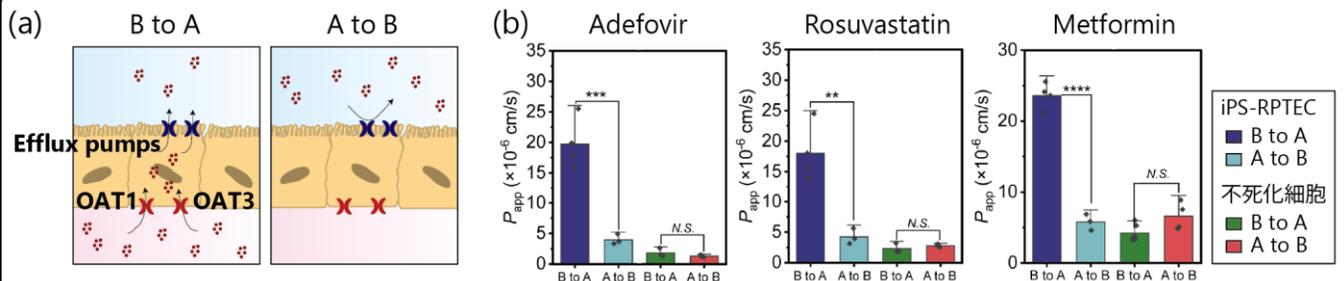


図2 腎臓MPSを用いた基質輸送評価

- 基質の輸送方向のイラスト図。基底膜側に発現しているOAT1/3、OCT2によって基質が細胞内に取り込まれ、尿側へと排出される。尿側に基質を導入した場合、細胞内に能動的には取り込まれない。
- Adefovir、Rosuvastatin、Metforminの輸送の結果。縦軸は単位面積あたりの基質の輸送速度  $P_{app}$  を示す。

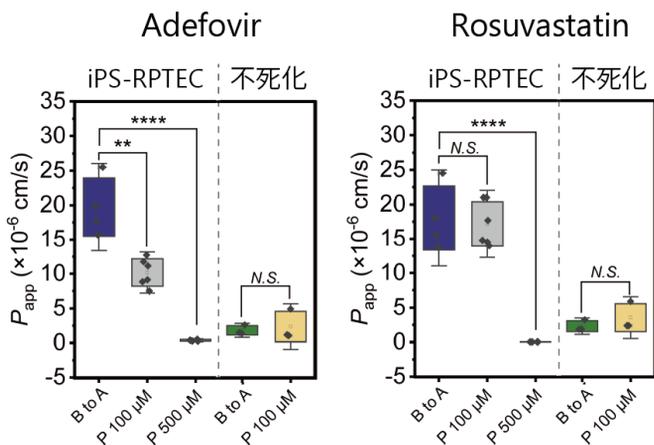


図3 Probenecidによる基質輸送の阻害実験

iPS-RPTECではProbenecidの濃度が高くなるにつれて、基質の輸送速度が減少していることがわかる。

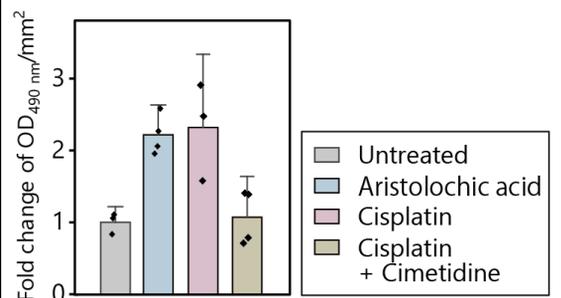


図4 iPS-RPTEC搭載MPSを用いた腎毒性評価

24時間暴露後、培地上清に放出されたLDH量を測定キットによる蛍光強度を測定した。縦軸はその蛍光強度を示す。