

MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

ポスター発表 フラッシュトーク



▶ 2024年1月31日

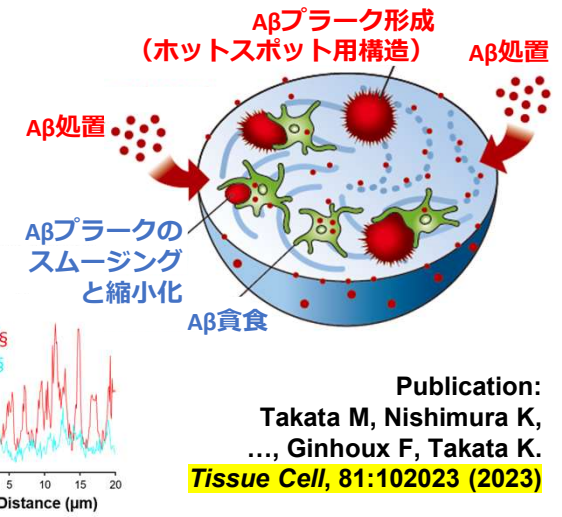
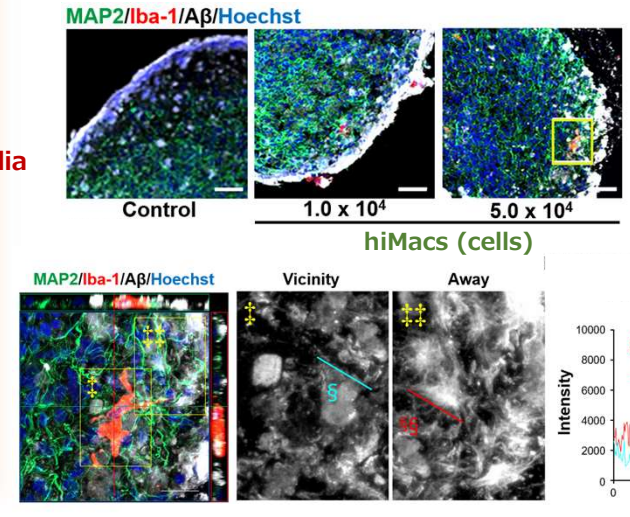
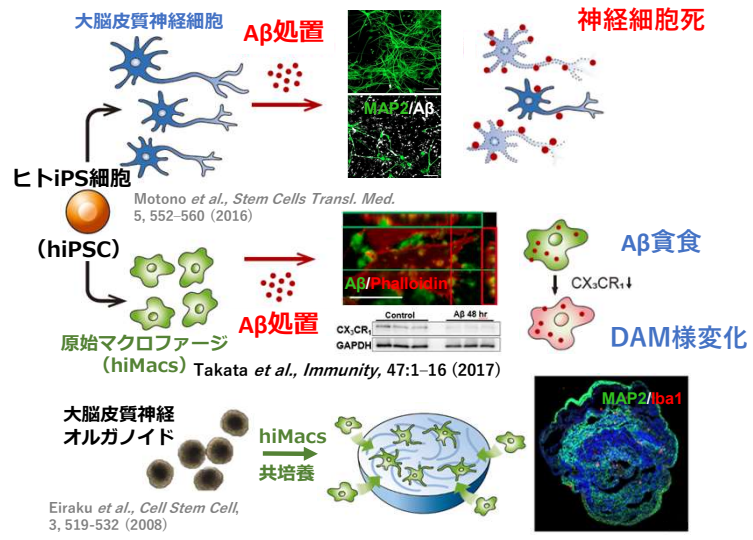
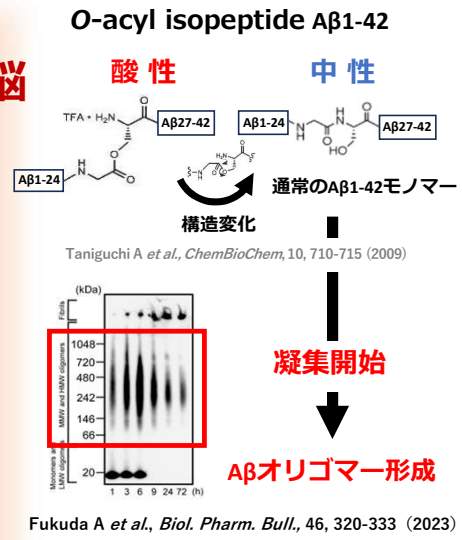
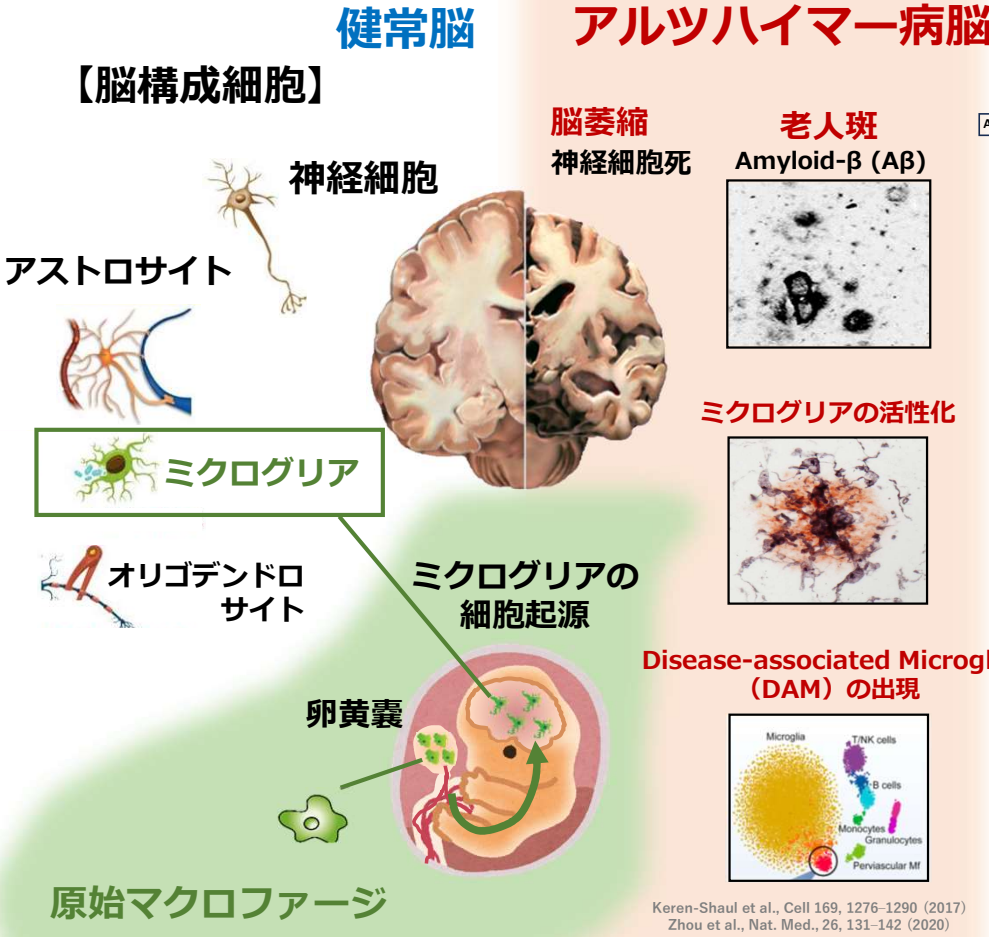
MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

1
アルツハイマー病の脳病態を再現する
大脳皮質オルガノイド作製の試み

高田 和幸

アルツハイマー病の脳病態を再現する大脳皮質オルガノイド作製の試み

○高田和幸 (京都薬科大学・シナジーラボ)、西村周泰 (同志社大・院脳科学・脳回路機能創出)



MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

6
屈折率トモグラフィによる三次元培養モデル
のラベルフリーライブイメージング

竹内 康造

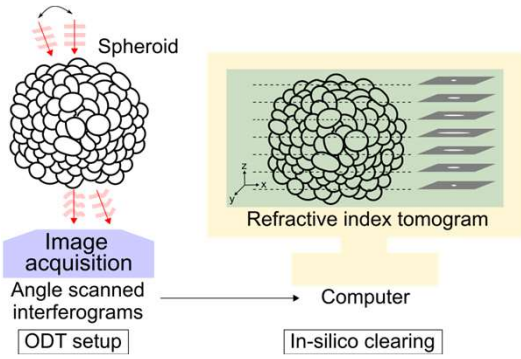
屈折率トモグラフィによる三次元培養モデルのラベルフリーライブイメージング

浜松ホトニクス(株) 中央研究所 ○竹内康造、安彦修

E-mail: kozo.takeuchi@crl.hpj.co.jp (竹内)



Technology: In-silico clearing refractive index tomography

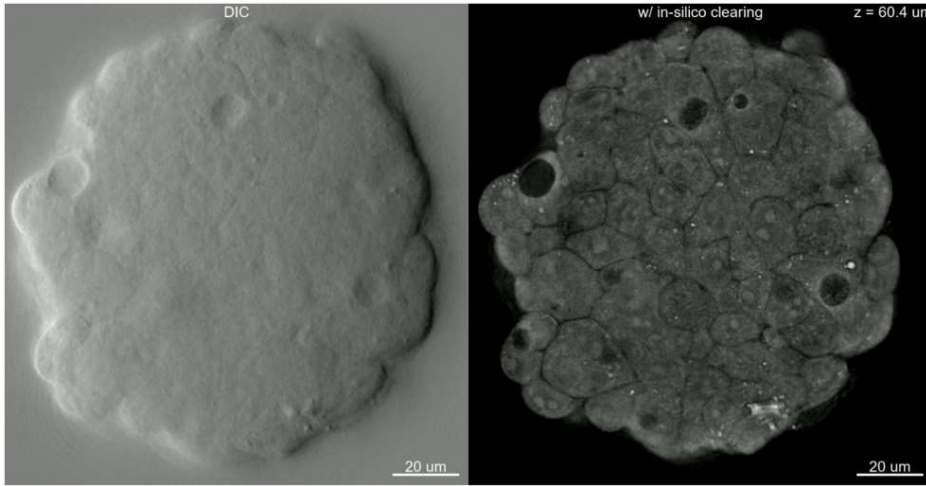


光学系

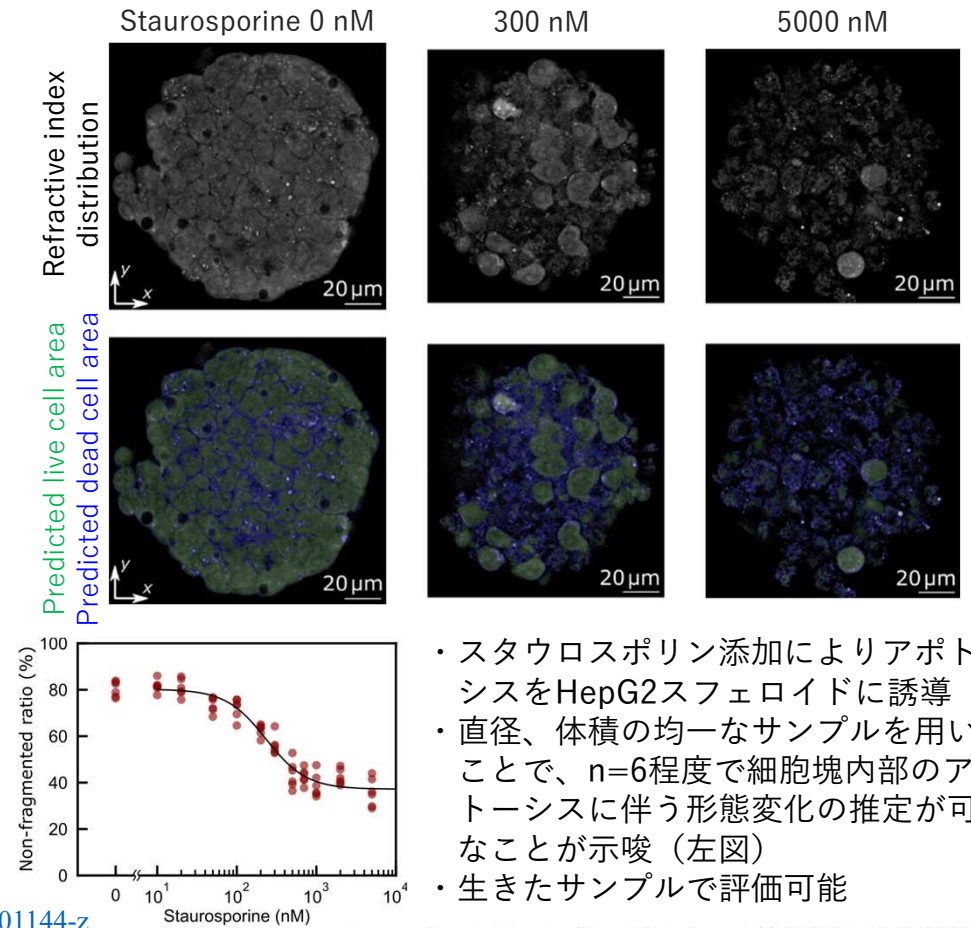
- ・サンプルに様々な角度の光を照射
- ・干渉測定により複素振幅画像取得
- ・画像再構成
- ・計算機中での補正的な光伝搬を用いて光散乱を抑制 = in-silico clearing
- ・屈折率トモグラフィの高深達化(約150 μm)を達成

従来技術(微分干渉顕微鏡)

開発した技術



Representative application: Semi-quantitative assessment of apoptotic morphological changes in HepG2 spheroids



- ・スタウロスポリン添加によりアポトーシスをHepG2スフェロイドに誘導
- ・直径、体積の均一なサンプルを用いることで、n=6程度で細胞塊内部のアポトーシスに伴う形態変化の推定が可能なのが示唆(左図)
- ・生きたサンプルで評価可能

MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

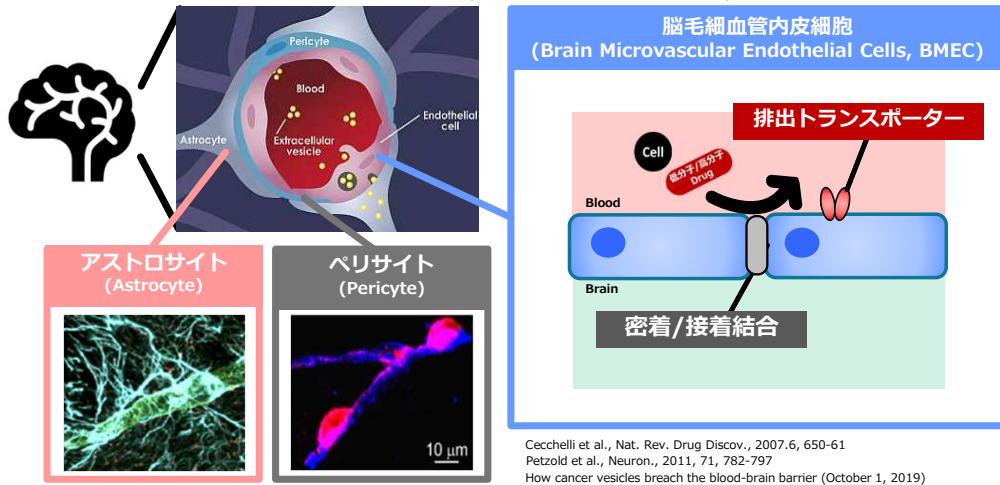
11

血液脳関門－免疫細胞相互作用研究における 階層スフェロイド型ヒト不死化血液脳関門モ デルの有用性の検証

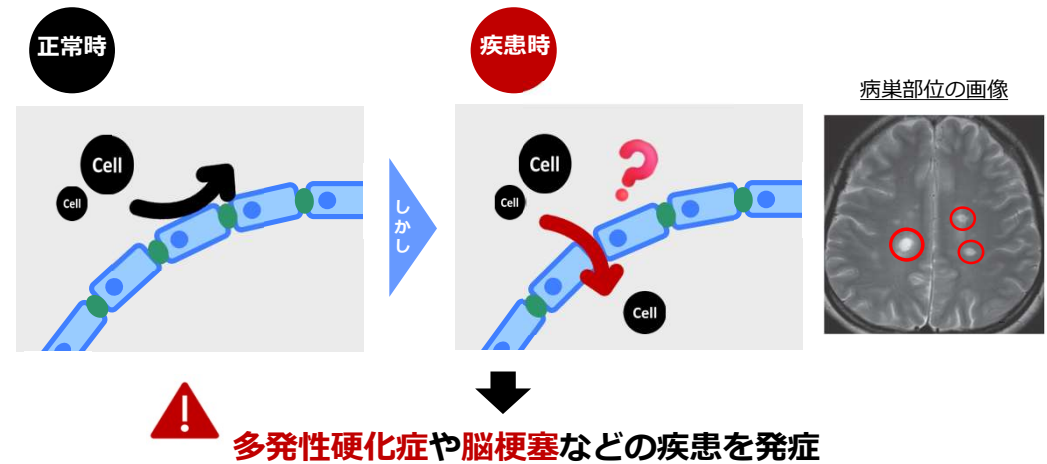
海老澤 歩果

血液脳関門-免疫細胞相互作用研究における階層スフェロイド型ヒト不死化血液脳関門モデルの有用性の検証

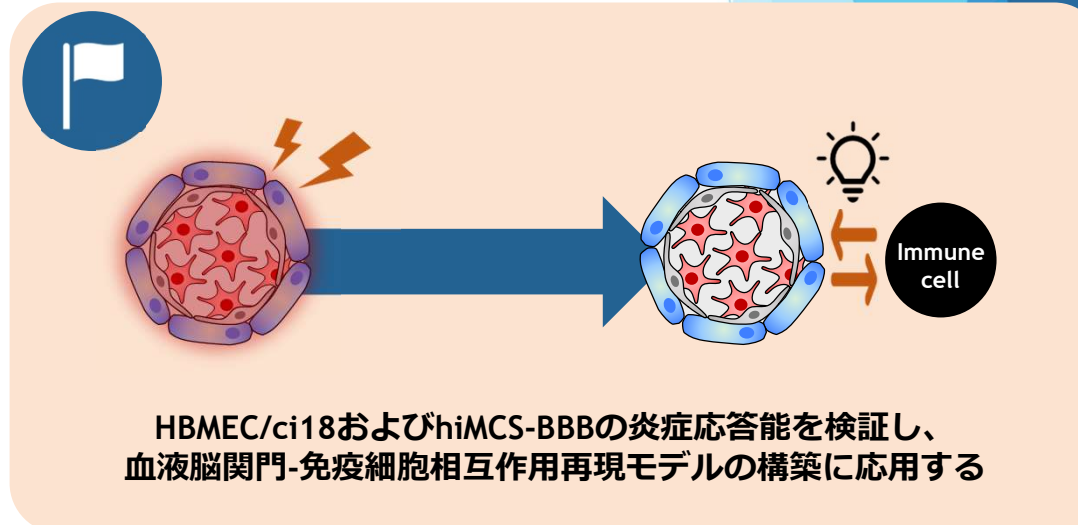
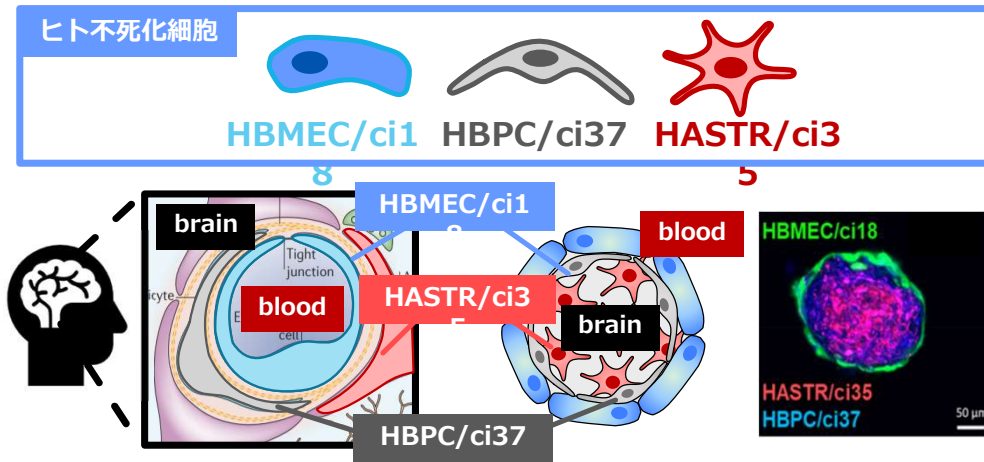
血液脳関門(blood-brain barrier)



疾患時におけるBBB

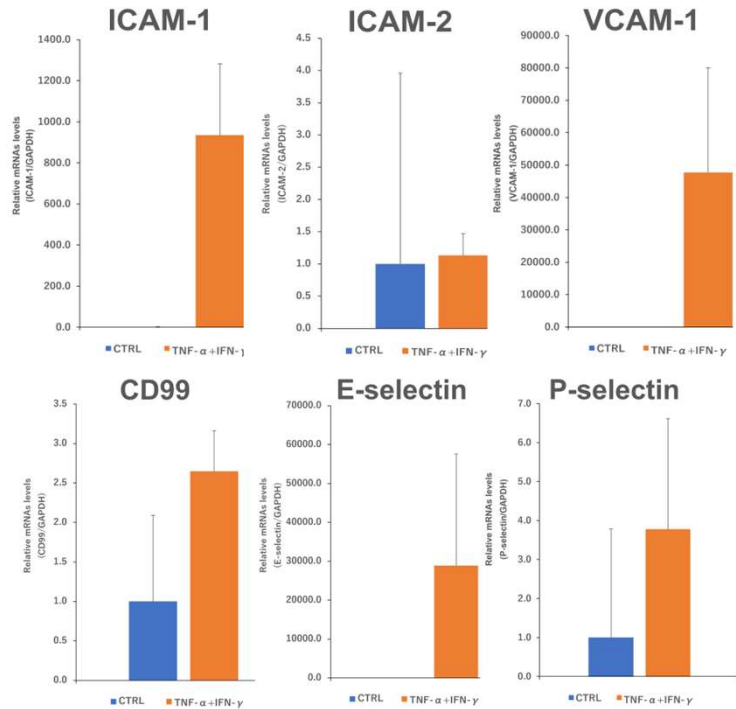


階層スフェロイド型ヒト不死化血液脳関門モデル(hiMCS-BBB)

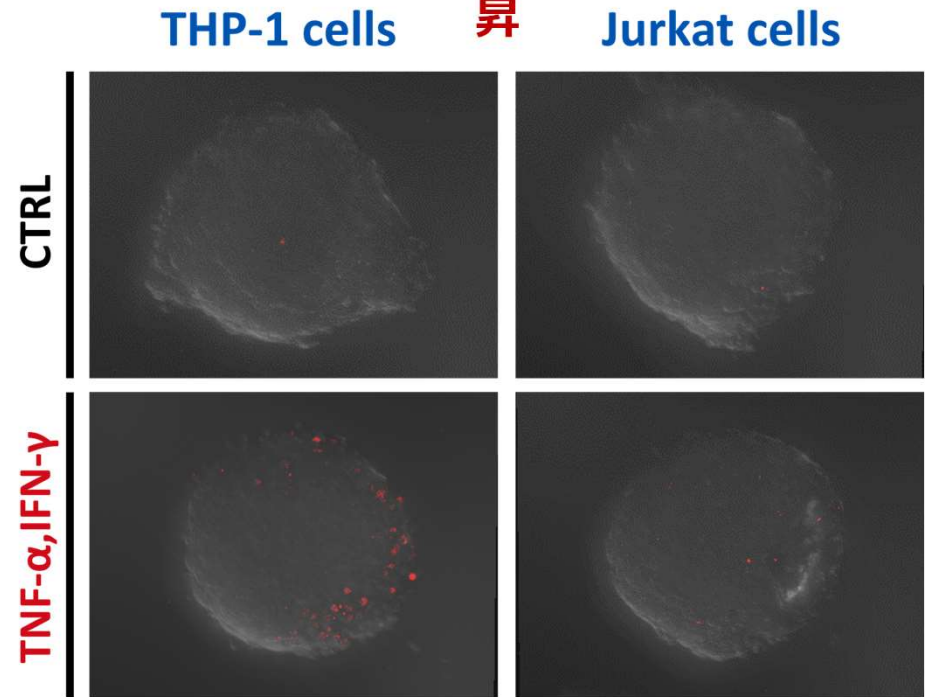


血液脳関門-免疫細胞相互作用研究における 階層スフェロイド型ヒト不死亡血液脳関門モデルの有用性の検証

HBMEC/ci18における細胞接着分子の発現量が上昇



hiMCS-BBBにおける免疫細胞の接着数が上昇



HBMEC/ci18、さらにはhiMCS-BBBモデルは炎症反応による免疫細胞との相互作用再現において有用であり、血液脳関門-免疫細胞相互作用再現モデル構築に応用できる可能性がある。

MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

14

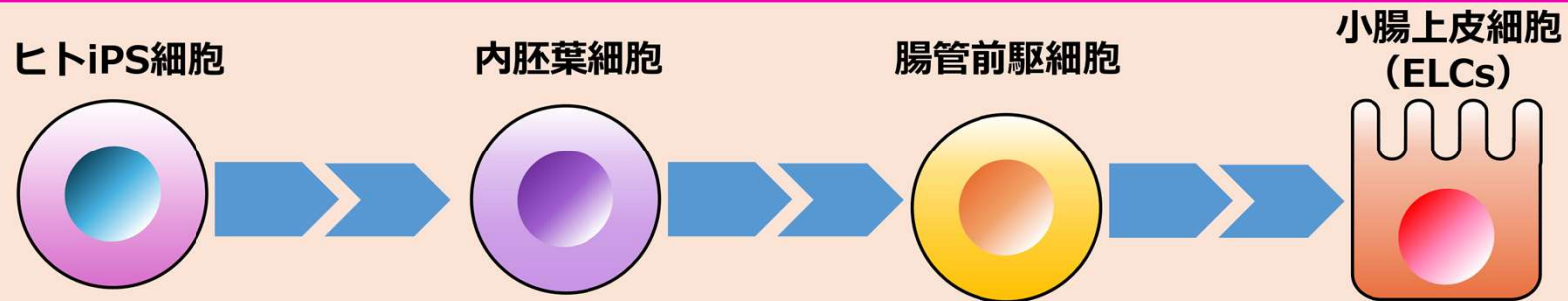
オルガノイド培養技術を応用した高機能なヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞の作製

浦谷 悠生

オルガノイド培養技術を応用した高機能なヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞の作製

大阪大学薬学部 浦谷悠生、乾達也、横田純平、山下智起、河合夏苗、植山（鳥羽）由希子、水口裕之

ヒトiPS細胞由来小腸上皮細胞（enterocyte-like cells : ELCs）の作製



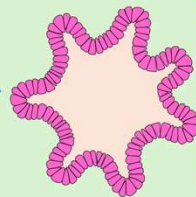
腸管オルガノイドの樹立と継代・維持培養

小腸上皮細胞 (ELCs)



オルガノイド化

腸管オルガノイド (ELC-org)



継代
維持培養

単層膜化

高機能な小腸上皮細胞の作製

高機能な小腸上皮細胞を安定かつ迅速に供給できる

本研究の背景と成果

従来のin vitro腸管モデル

- ラットなどを用いた反転腸管法
- 人工脂質膜を用いた試験
- 細胞株（Caco-2など）を用いた試験

課題点

- ヒトとの種差
- 腸管に存在するトランスポーターや代謝酵素の発現量が低い（無い）
- 癌細胞株における遺伝的変異の蓄積

本研究で作製された培養系は・・・

- ヒトiPS細胞由来で種差がなく生体に近い遺伝子発現パターン
- 長期間の培養および凍結保存が可能

MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

18 ポンプを用いたスフェロイドへの培地流入

石丸 創一

拍動するハイドロゲルを内部に充填したスフェロイドの開発

○石丸創一*1、中村英聖*1、向井理*2、丸尾昭二*2、小島伸彦*1

*1横浜市立大学大学院 *2横浜国立大学大学院

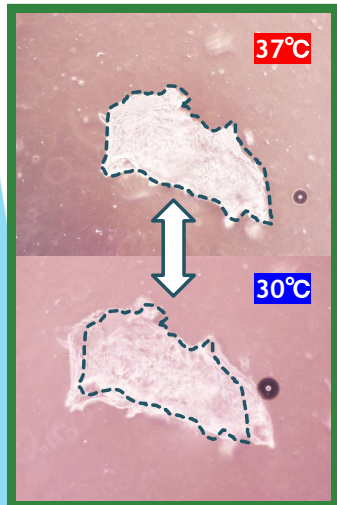
【目的】

スフェロイドに“ハイドロゲル”を埋め込み拍動させる
⇒拍動によって細胞壊死の改善ができる？

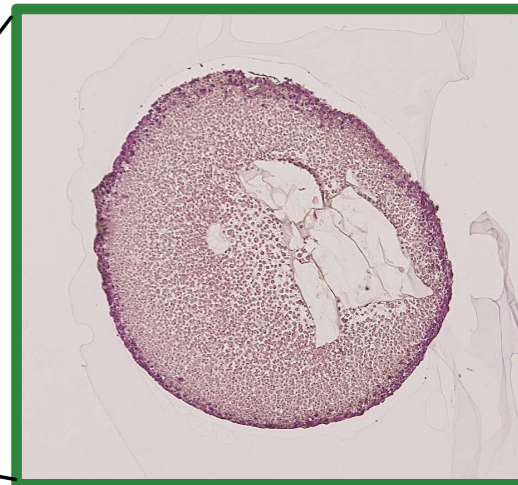
サーマルサイクラーを使用



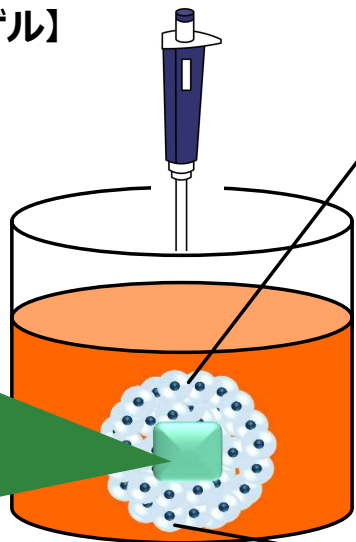
【温度応答性ハイドロゲル】



【ハイドロゲル充填スフェロイド】

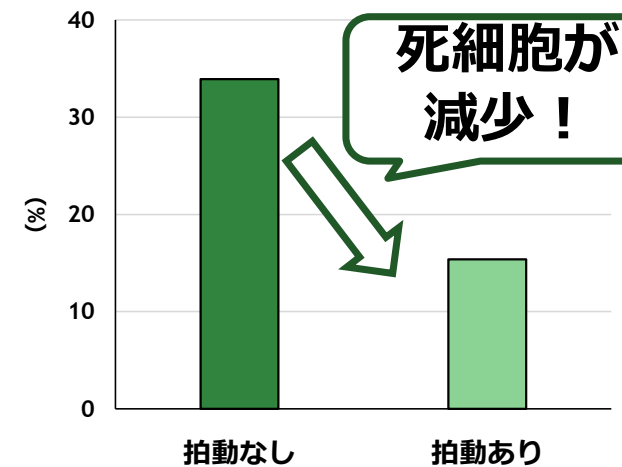


【メチルセルロース培地】



拍動

【細胞壊死率】



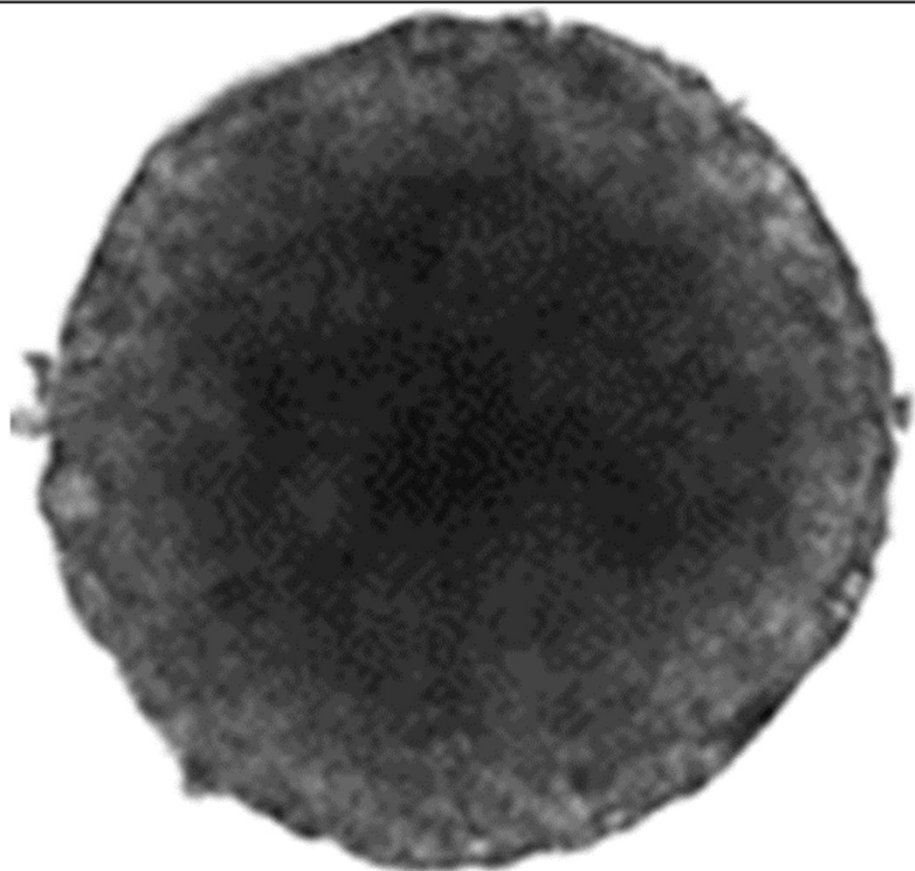
MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

19 シースルースフェロイドの開発

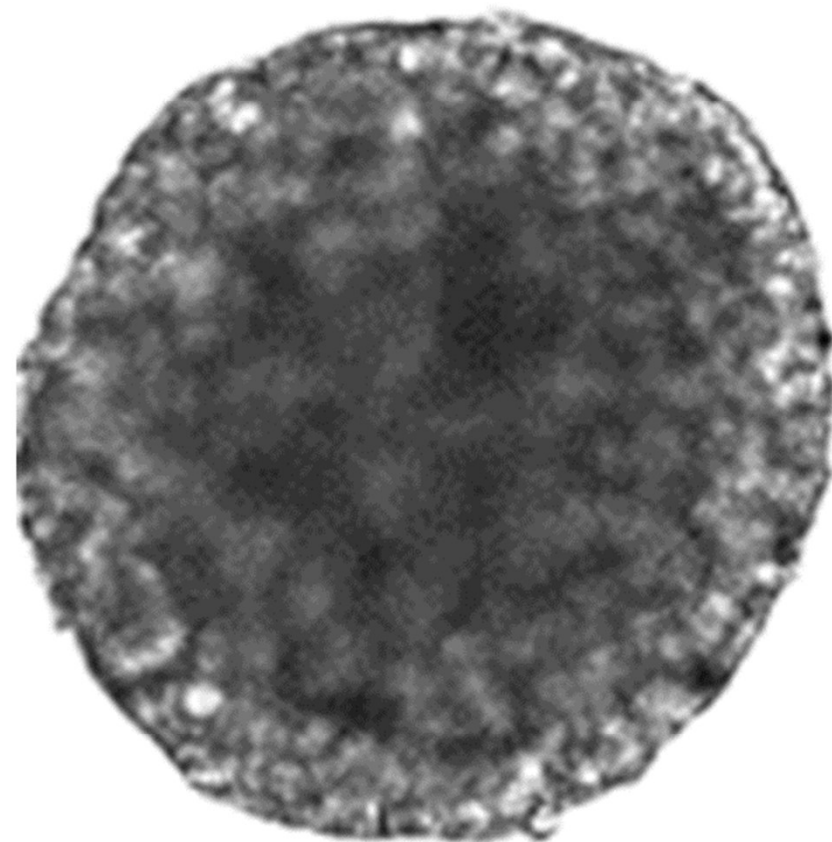
久光 和希

シースルースフェロイドの開発

発表者:久光和希 小島伸彦
所属:横浜市立大学



通常スフェロイド



シースルースフェロイド

MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

21

圧力駆動型生体模倣システム(PD-MPS)専用自動培養システムの開発

三宅 力

圧力駆動型生体模倣システム(PD-MPS)専用自動培養システムの開発 (1/2)

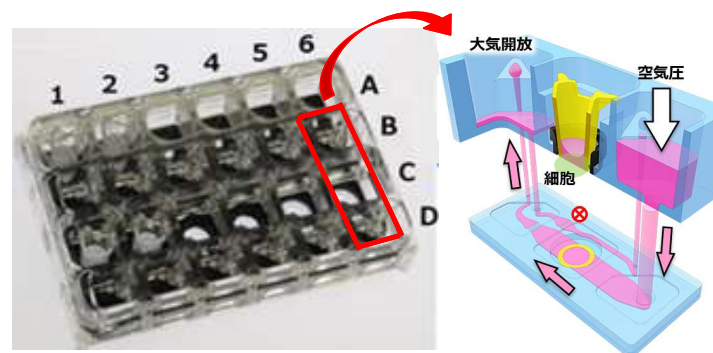
○三宅 力¹，大久保 智樹¹，藤山 陽一¹，叶井 正樹¹，杉浦 慎治²，中谷 徳幸³，藤岡 僚太³
1.(株)島津製作所, 2. 産業技術総合研究所, 3.(株)SCREENホールディングス

本研究は, AMEDの課題番号23be1004202h0002の支援を受けた

圧力駆動型生体模倣システム: PD-MPS

同一のプラットフォーム内で様々なタイプの薬剤の試験を実施可能なMPSを開発中

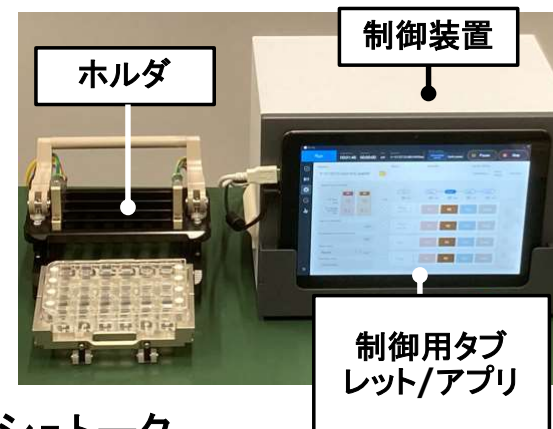
- 圧縮空気により培地を循環させる仕組みにより安定してコンタミのリスクが少ない培養が可能
- ユーザが使い慣れたWellプレートと同じSBS規格に準拠し, 同等の使用感で操作可能



用手法培養システム

小規模な検討用に, 用手法システムを開発した

- 専用アプリによる送液フローの制御・実験ログの記録
- 培地交換・試薬添加・サンプリングはユーザが従来法と同等の操作で実施

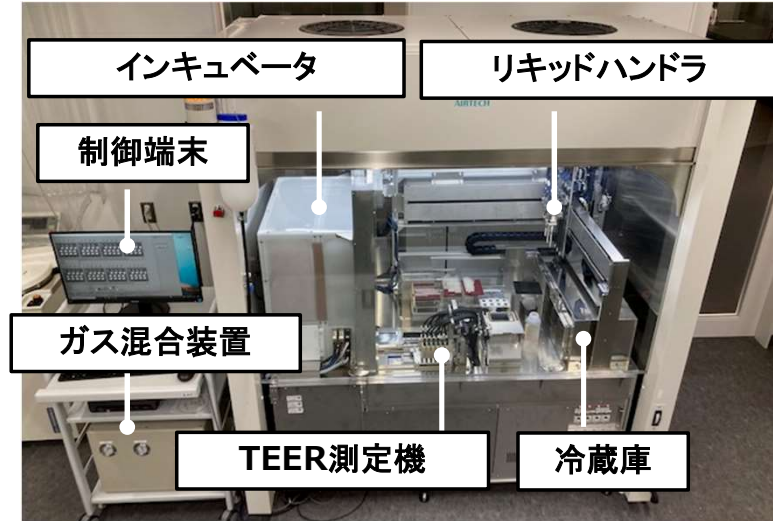


圧力駆動型生体模倣システム(PD-MPS)専用自動培養システムの開発 (2/2)

自動培養システム

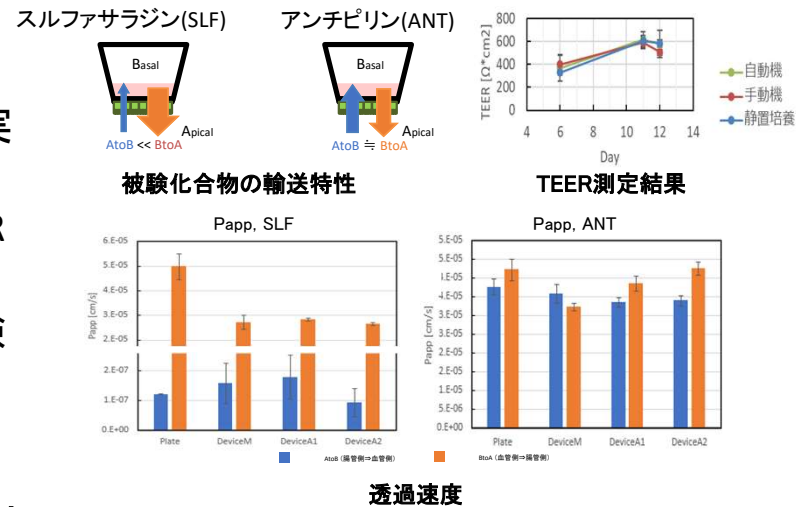
8デバイスを同時運用可能なシステムを開発

- 細胞維持機能(CO₂濃度・温湿度)
- リキッドハンドラーによる培地交換, 薬液投与・サンプリング
- TEER(細胞膜電気抵抗)測定機能
- 試薬・培地・サンプルの4℃保管・37℃温調機能



細胞維持機能の評価

- 腸管上皮細胞を播種したPD-MPSデバイスによる12日間の還流培養後, 透過試験を実施した
- 細胞状態の評価指標として, 経時的にTEER(経上皮電気抵抗)を測定
- 従来法と同等の細胞維持能力を有し, 被験化合物の腸管膜を介した透過量を正しく評価できることを示した



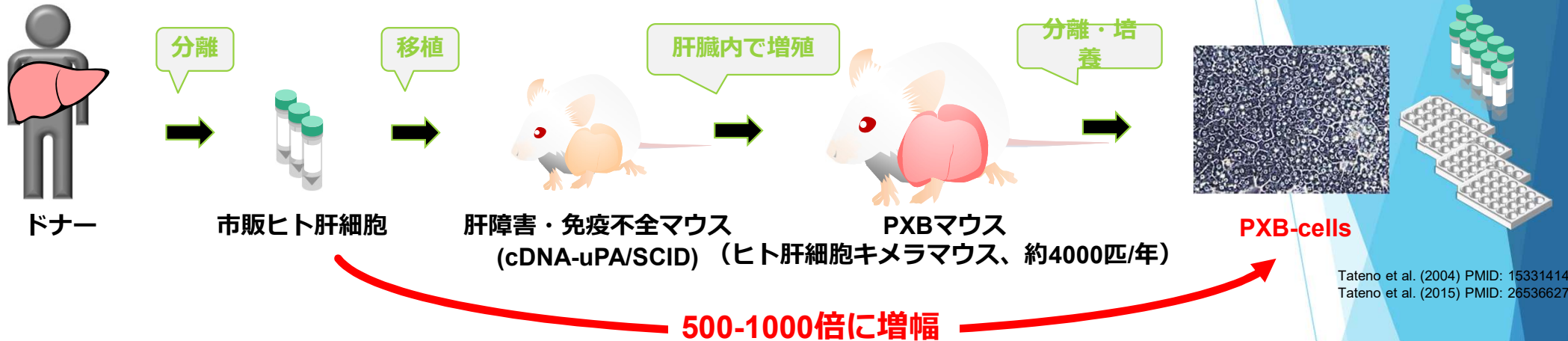
MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

23

キメラマウス由来新鮮ヒト肝細胞
“PXB-cells”について

石田 雄二

ヒト肝細胞キメラマウス由来新鮮ヒト肝細胞 “PXB-cells®”



PXB-cellsの特徴①

同一ロットの新鮮ヒト肝細胞を大量に供給可能

PXB-cellsの特徴②

多くの論文でヒト初代肝細胞と同等以上の機能を有する事が検証済み

<供給実績>

	期間	提供細胞数	Vial換算*
Lot.1	約6年	5.3×10^{10} cells	10,600本
Lot.2	6年目(継続中)**	6.5×10^{10} cells	13,000本

*1 vial あたり 5×10^6 cellsとして換算

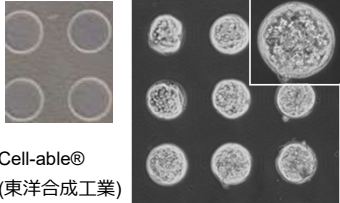
**今夏にLot.3に変更予定

<論文発表：100報以上>

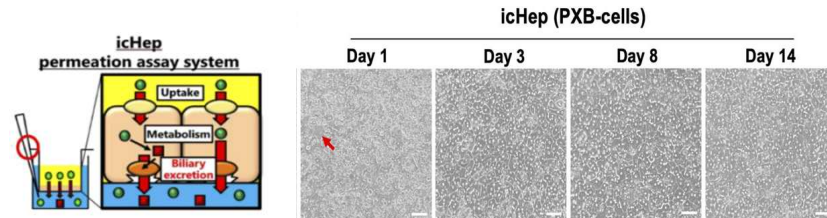
- 薬物代謝酵素活性
- CYP誘導能
- トランスポーター活性
- 肝炎ウイルス感染能
- 長期培養など

PXB-cellsの利用例

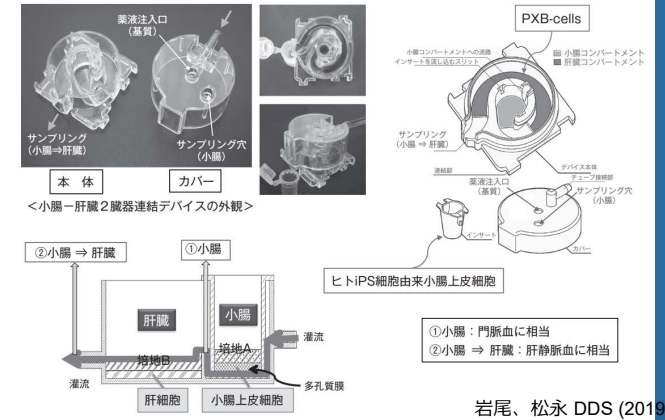
スフェロイド培養



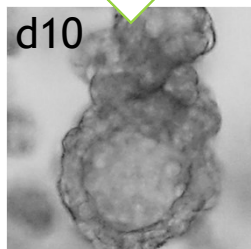
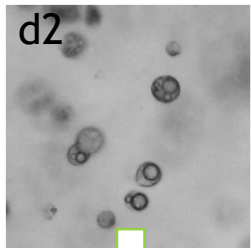
Claudin-coatedトランスウェル上での培養



小腸-肝臓連結MPSでの培養①

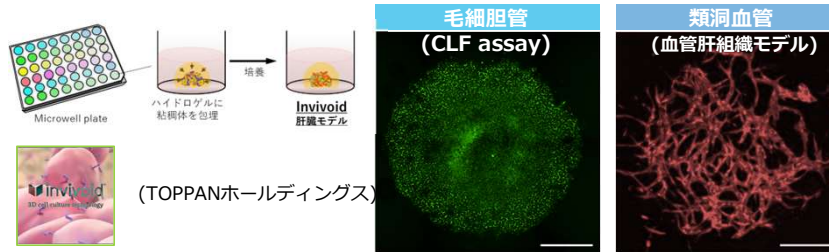


オルガノイド培養

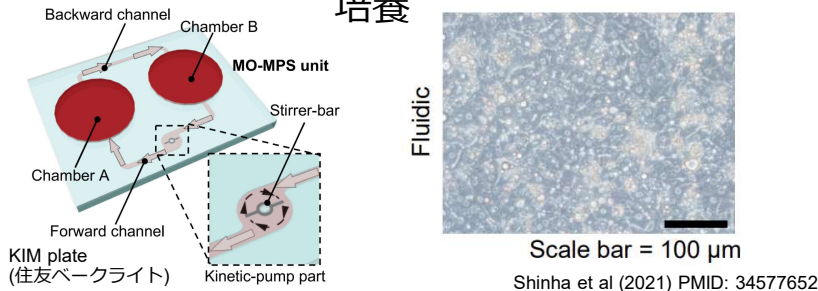


山崎ら 肝細胞研究会(2023)

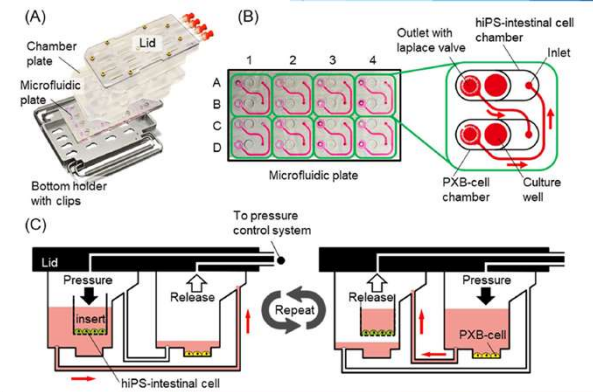
Invivo systemでの培養



スターラー式オンチップポンプ型MPSでの培養



小腸-肝臓連結MPSでの培養②



MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

24

ゼラチン繊維基材を用いたヒトiPS由来細胞の新規評価系

早乙女 俊樹

ゼラチン繊維基材を用いたヒトiPS細胞由来分化細胞の新規評価系
日本毛織株式会社 早乙女俊樹 (問合せ先:nrdc@nikke.co.jp)

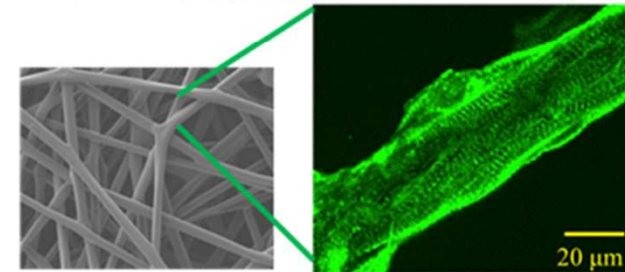
ヒトiPS細胞由来のアクチンフィラメント崩壊に基づく抗がん剤の心毒性評価

心筋細胞におけるアクチンフィラメント (F-アクチン) の役割

サルコメア部 : 心筋収縮力の発生

非サルコメア部 : 細胞骨格として、収縮の伝達に加え、
細胞小器官 (チャンネル、介在板、核) を支えている。

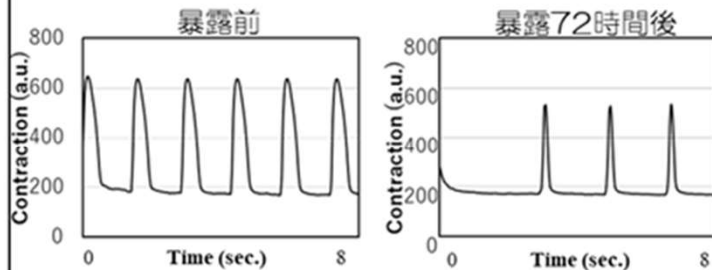
ゼラチン繊維上で配向した
ヒトiPS心筋細胞のサルコメア構造



目的 : F-アクチン崩壊が心毒性に影響すると仮定し、
ゼラチン繊維基材上で培養したヒトiPS心筋を用い、
抗がん剤によるF-アクチン崩壊と収縮性の相関を評価

収縮力の低下

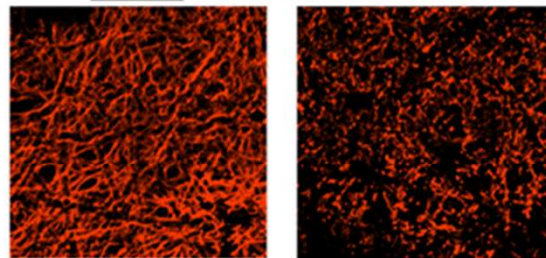
Panobinostat 30 nM



F-アクチンの崩壊

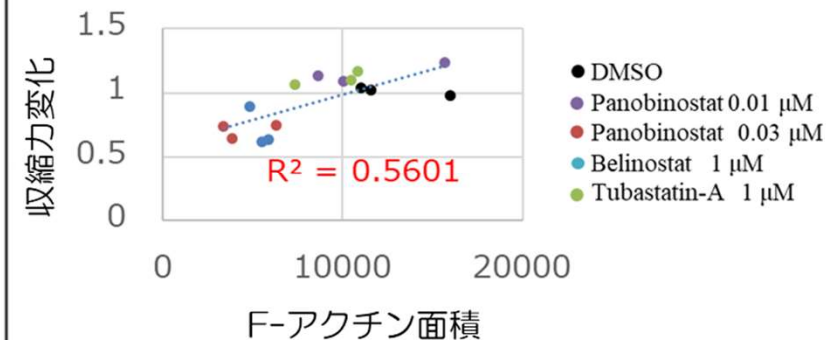
DMSO

Panobinostat 30 nM



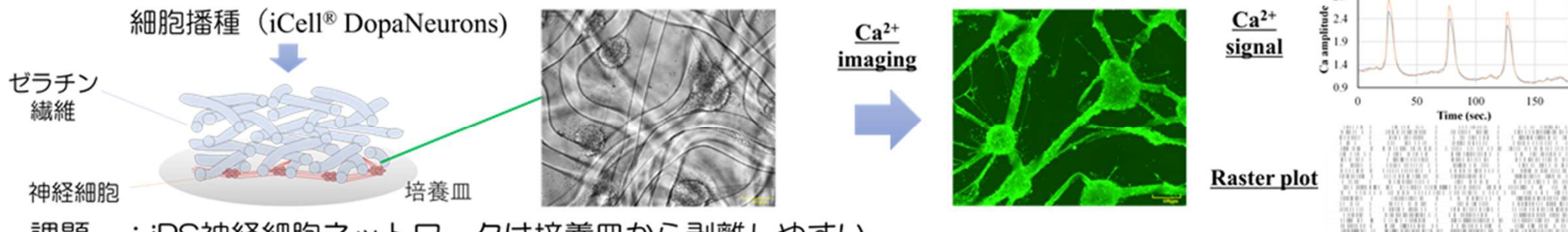
⇒ F-アクチン断片化 (面積↓)

F-アクチン面積と収縮力低下の関係



F-アクチンの崩壊は抗がん剤による心毒性評価のパラメーターとして利用できる

ヒトiPS細胞由来神経細胞を用いたネットワーク機能評価

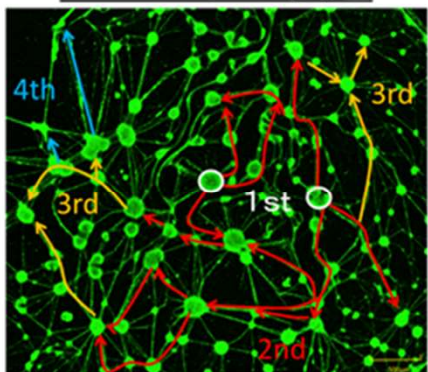


課題 : iPS神経細胞ネットワークは培養皿から剥離しやすい

解決策 : ゼラチン繊維を配置した培養皿を使用。神経細胞がゼラチン繊維に捕捉されてクラスター形成。
ゼラチン繊維に神経ネットワークが固定され、安定した神経ネットワークを広範囲に形成

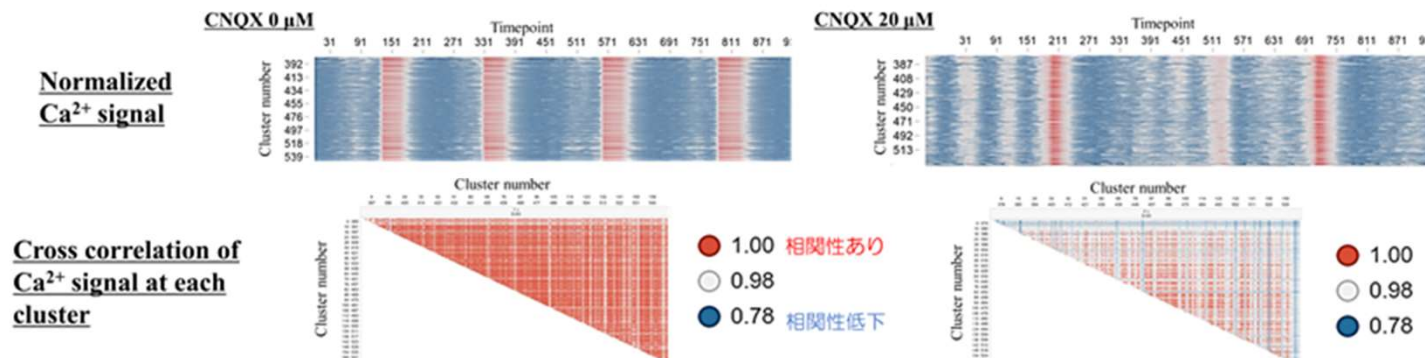
クラスター間の接続が評価可能

バーストの伝達



同期バースト伝達順を評価可能

クラスター間の波形の相関性評価



相関性低下からネットワーク内の発火伝達の乱れ、箇所を評価可能

MPS実用化推進協議会 第1回学術シンポジウム

25

マルチオーガンチップを用いたヒト小腸および肝臓細胞の共培養物への薬物投与

武田 日出夫

マルチオーガンチップを用いた ヒト小腸および肝臓細胞の 共培養物への薬物投与

フィジオマキナ株式会社

旧社名：日本バリデーション・テクノロジーズ株式会社(～2023/12/31)

技術統括部 武田日出夫



HUMIMIC (TissUse GmbH)

- ・複数臓器型MPS
- ・96/24-wellに対応した広い培養面積
- ・iPSCs、Cell Line、Primary cells、2D/3D培養臓器
- ・培養臓器の組み合わせ(2~5臓器)に応じたChip



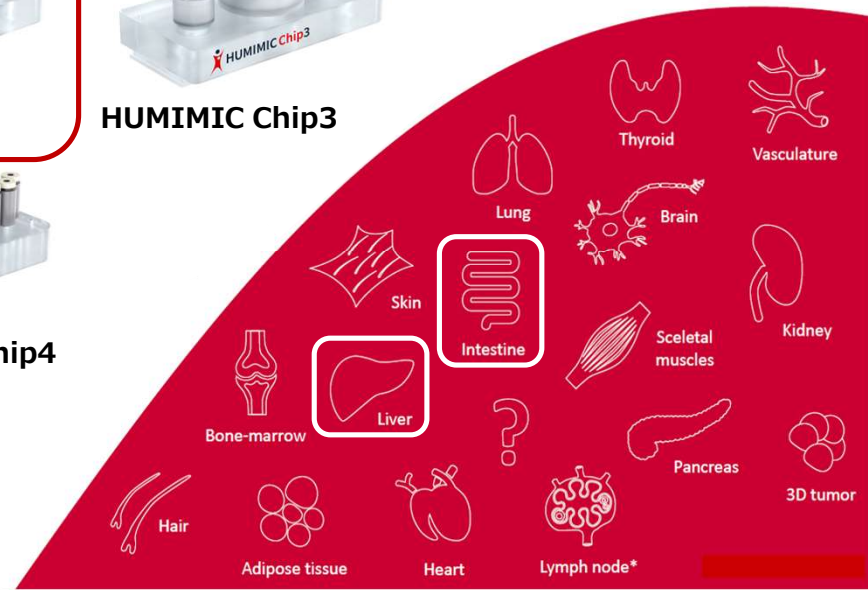
HUMIMIC Chip2



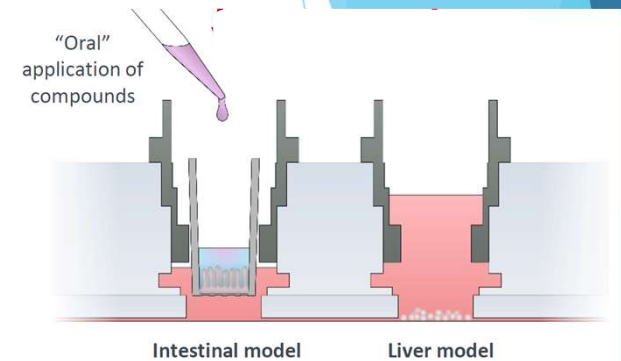
HUMIMIC Chip3



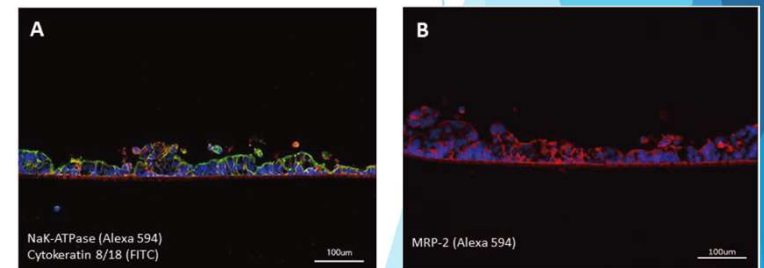
HUMIMIC Chip4



©PHYSIO MCKINA Co., Ltd.



HUMIMIC Chip2を用いたin vitroでの経口投与の再現イメージ



Troglitazoneを11日間反復投与した後に染色を行った小腸組織の観察結果。
 A: NaKATPase (red) 及び Ctk 8/18 (green)
 B: 小腸組織の MRP-2