

MPS 実用化推進協議会

第1回 学術シンポジウム

日時：2024年1月31日（水） 13:30 ～ 17:30（開場 12:00）

会場：Shimadzu Tokyo Innovation Plaza

https://www.shimadzu.co.jp/research_and_development/tokyo-innovation-plaza/

もくじ

プログラム	1
講演要旨	2
ポスター発表番号	3
企業展示番号	4
4階フロアマップ	5
ポスター発表要旨	6
企業展示要旨	19

プログラム

司会：山崎 大樹（国立医薬品食品衛生研究所）

13:30-13:35 開会の挨拶

石田誠一（崇城大学／国立医薬品食品衛生研究所）

13:35-14:05 RS 事業の進捗（仮）

石田誠一（崇城大学／国立医薬品食品衛生研究所）

14:05-14:50 講演

座長 渡邊 健悟（第一三共株式会社）

演題

「Utilization of Human Based Microphysiological Systems and Complex in vitro Models in Drug Discovery and Development: Perspectives from Pharmaceutical Industry」

演者 ヴェロニカ・ロゼナル Veronika Rozehnal
（第一三共株式会社 研究開発本部 薬物動態研究所 主席）

14:50-15:00 休憩

15:00-15:30 ポスター発表フラッシュトーク（1～2 分／人）

ポスター演者

15:30-16:00 企業展示フラッシュトーク（1～2 分／社）

ポスター発表申込企業

16:00-17:00 ポスター発表／企業展示

17:00-17:15 キックオフシンポ後のアンケート結果報告と協議会の今後の活動について

山崎大樹（国立医薬品食品衛生研究所）

17:15-17:20 閉会の挨拶

酒井康行（東京大学）

17:30-19:30 懇親会 ※希望者のみ（要 申し込み）

* ポスター演題登録者および企業展示の方は、各自のポスターボード番号を確認して下さい。

* 各自の発表番号と同じ番号が書かれたポスターボードにポスターの貼り付け、企業展示準備を 13:30 までにお願
致します。

* 画鋲は各ボードに準備してありますが、もし足りなければスタッフにお問い合わせください。

* 企業展示については、一部イス等を貸し出すことも可能です。必要の場合にはスタッフにお尋ねください。

講演要旨

Utilization of Human Based Microphysiological Systems and Complex In Vitro Models in

Drug Discovery and Development: Perspectives from Pharmaceutical Industry

Veronika Rozehnal^{1,2}

Tissue and Cell Research Center, Daiichi Sankyo Europe GmbH¹

Drug Metabolism and Pharmacokinetics Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.²

Microphysiological systems (MPS) and Complex In Vitro Models (CIVM) are advanced technologies that emulate human physiology and show great potential for revolutionizing various fields of pharmaceutical research. With the recent U.S. Food and Drug Administration (FDA) Modernization Act 2.0, which allows alternatives to animal testing for drug applications, the necessity to integrate more human-centered models into nonclinical workflows became even more prominent. Daiichi Sankyo's Tissue and Cell Research Center Munich (TCRM) in Germany has a long-standing experience in developing and refining translational models using clinical samples, most recently with focus on MPS and CIVM.

The presentation will highlight advancements made at TCRM in utilizing human-based models across diverse pharmaceutical research domains such as Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME), Mechanism of Action (MoA) or Mechanism of Toxicity (MoT). Additionally, it will touch upon the decision-making processes involved and current challenges such as obtaining adequate human tissues for these models and ensuring reproducibility.

Finally, the presentation will spotlight potential future directions and industrial needs regarding the integration of MPS/CIVM in drug discovery and development. This aims to enhance the precision of predicted human Pharmacokinetics/Pharmacodynamics and align with the principles of the 3Rs (Replacement, Reduction, and Refinement) in animal testing.

ポスター

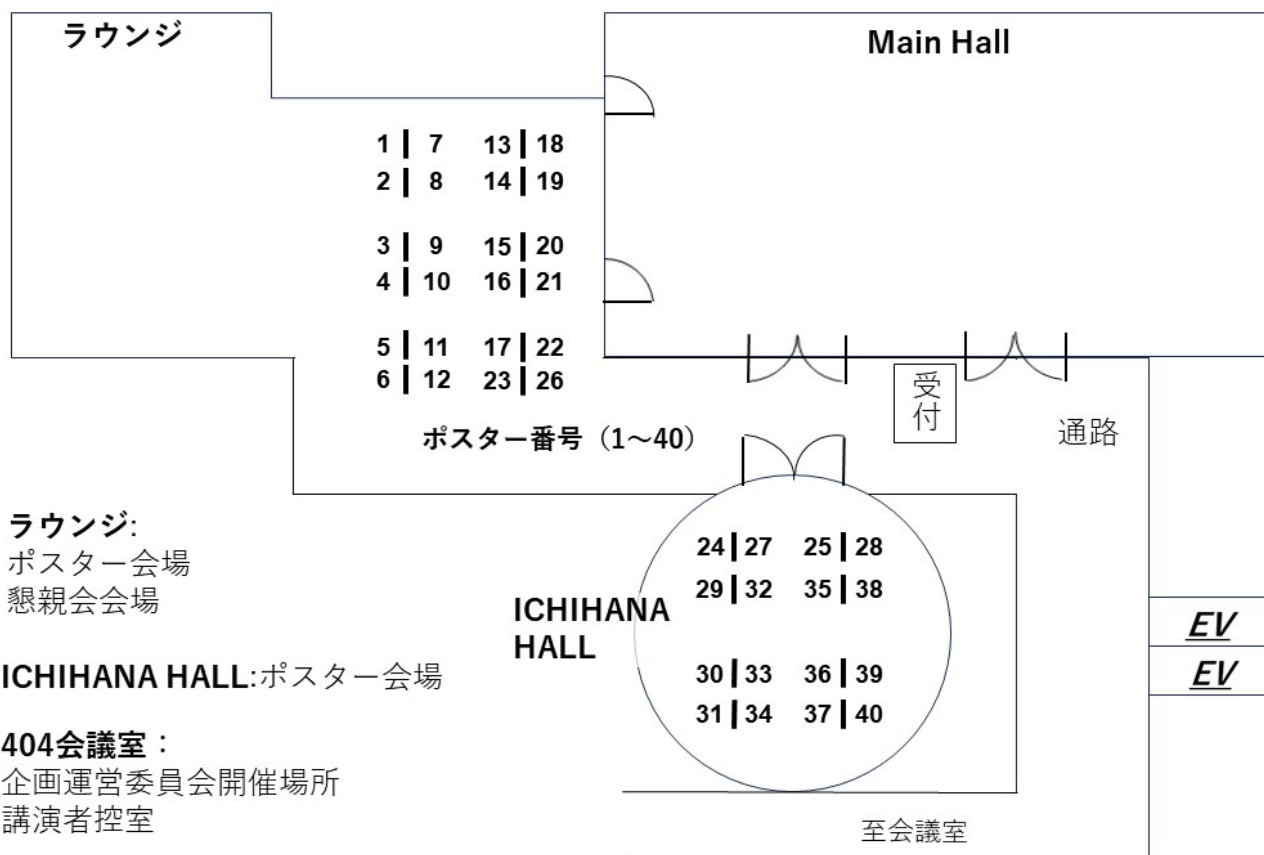
1	アルツハイマー病脳病態を再現する脳オルガノイドの作製 高田和幸（京都薬科大学）
2	ヒト iPS 細胞から誘導した中脳型アストロサイトを活用した脳病態模倣システムの確立に向けて 西村周泰（同志社大学）
3	3次元血液脳関門ネットワーク生体模倣システム（BBB-NET）の品質評価指標探索 -生後発達期ラットにおける BBB 成熟段階の分類- 最上(重本)由香里（国立医薬品食品衛生研究所）
4	マイクロ肝臓モデルの過冷却冷蔵保存法の開発 引地真彩（群馬大学）
5	階層スフェロイド型ヒト血液脳関門モデルを用いた脳移行性環状ペプチドの BBB 透過特性解析 大木聖矢（東京薬科大学）
6	屈折率トモ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（浜松ホトニクス株式会社）
7	薬物代謝酵素欠損のヒト肝臓オルガノイドを用いた毒性評価系の構築 植山(鳥羽) 由希子（大阪大学）
8	三次元マイクロ尿管モデル開発に向けた細胞培養法の検討 山崎実優（群馬大学）
9	development of a novel method to quantify the microvessels of 3D blood brain barrier model ZHANG HUITING（AIST-阪大 OIL）
10	血管床との直接接触を可能とする三次元組織培養法の開発 亀田良一（京都大学）
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（東京薬科大学）
12	圧力駆動型生体模倣システムを用いた血管内皮細胞のせん断応力負荷培養システムの開発 杉浦慎治（産業技術研究所）
13	自然免疫を介した薬物性肝障害の予測のための in vitro 評価系の開発 李相昊（東京大学）
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（大阪大学）
15	医薬品の胆汁排泄を評価可能な肝臓チップの開発 石田誠一（崇城大学）
16	3次元血液脳関門ネットワーク生体模倣システム（BBB-NET）の血管形成・血液脳関門成熟における足場基材の重要性に関する研究 北村(中山)貴美子（国立医薬品食品衛生研究所）

17	線維芽細胞の共培養と培地最適化による肝スフェロイドの血管化 松本倫実（京都大学）
18	ポンプを用いたスフェロイドへの培地流入 石丸創一（横浜市立大学）
19	シールスフェロイドの開発 久光和希（横浜市立大学）
20	MPSと直接酸素供給による薬剤反復投与時の肝毒性予測系 胡珂（東京大学）
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（株式会社島津製作所）
22	Microphysiological systems による 3D 心筋組織と肝細胞の共培養に向けた培地検討 堀内新一郎（国立医薬品食品衛生研究所）
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（株式会社フェニックスバイオ）
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（日本毛織株式会社）
25	マルチオーガニック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（フィジオマキナ株式会社）

企業展示

26	松見 達也	株式会社フェニックスバイオ
27	宮本 健司	日本毛織株式会社
28	田辺 諒	フィジオマキナ株式会社
29	相原 大知	住友ベークライト株式会社
30	山中 誠	ウシオ電機株式会社
31	澤邊 恵子	株式会社ケー・エー・シー
32	高橋 越史	日機装株式会社
33	遠藤 利朗	横河電機株式会社
34	津山 陽一	株式会社マトリクソーム
35	前川 敏彦	株式会社サイフューズ
36	次田 友暁	株式会社 ASICON
37	高橋 大祐	株式会社マイオリッジ
38	吉岡 孝広	東京応化工業株式会社
39	岩木 義英	富士フイルム株式会社
40	松野 潔高	ヤマハ発動機株式会社

4階フロアマップ



ポスター発表要旨

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¹、西村周泰²

¹京都薬科大学・シナジーラボ、²同志社大・院脳科学・脳回路機能創出

アルツハイマー病 (AD) 脳ではアミロイドβ (Aβ) が蓄積し、神経細胞死が誘導される。脳免疫細胞のミクログリアは胎児期の卵黄嚢で発生する原始マクロファージ由来であり、AD 脳では Aβ 蓄積部位に集積する。また、AD 脳では疾患関連ミクログリア (DAM) というミクログリア亜集団が出現する。AD 病態形成機序の解明には DAM を含むミクログリアの関与を正確に把握する必要があり、ミクログリアを含む AD 脳の病的微小環境を簡便に再現できるヒト細胞培養系が必要である。本研究では、ヒト人工多能性幹細胞由来の大脳皮質神経細胞やオルガノイドと原始マクロファージ (hiMacs) との共培養を試みた。Aβ ストレスとして、強い神経毒性を示す O-アシルイソペプチド Aβ1-42 (isoAβ) を用いた。isoAβ 処置により神経細胞死が引き起こされたが、hiMacs との共培養により神経細胞死は抑制された。hiMacs は Aβ を貪食し、DAM 様の表現型を示した。さらに、大脳皮質オルガノイドに isoAβ を処置すると、Aβ 斑表面にホットスポット様の鋸刃状構造が形成されたが、hiMacs の近傍は滑らかな表面であった。以上より、脳皮質神経細胞やオルガノイドと hiMacs との共培養モデルは、AD 脳の病態形成機序ならびにミクログリアの病態生理学的機能を解明するための有用なヒト大脳皮質モデルとなりうることを示唆された。

参考論文： *Tissue and Cell*, **81**, 102023 (2023).

ヒト iPS 細胞から誘導した中脳アストロサイトを活用した脳病態模倣システムの確立に向けて

○西村周泰¹、尾崎弘展¹、正水芳人¹

¹同志社大学大学院脳科学研究科脳回路機能創出部門

パーキンソン病 (PD) は、中脳ドパミン神経が選択的に脱落する神経変性疾患である。PD の病態形成過程において、アストロサイトが惹起する炎症性変化の影響が指摘されている。加齢に伴い顕在化する脳の器質的な変化と、それに応答して活性化するアストロサイトの変容は PD 病理の特徴の一つであり、その制御法の開発は PD 治療法の新たな標的となる可能性があると考えられる。従来これらの病態解明に関する研究は、齧歯類を用いた研究が先行して実施されてきたが、齧歯類のアストロサイトはヒトのアストロサイトと比較し、形態や機能面で異なる性質を示すことから、PD 病態の理解を深めるためにはヒト細胞を活用した脳病態模倣システムの開発が求められる。

本研究では、ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) から誘導した中脳神経前駆細胞を用いてアストロサイトを分化誘導するプロトコールを作製し、誘導したアストロサイトの特性について遺伝子発現解析、組織学的解析および生理機能の解析を行った。

BBB の段階的形成過程に対応した 3 次元血液脳関門ネットワーク生体模倣システム (BBB-NET) の品質評価指標探索

○最上(重本) 由香里¹, 北村(中山) 貴美子¹, 松崎 典弥², 山崎 大樹¹, 石田 誠一^{1,3}, 佐藤 薫¹
(¹国衛研薬理、²阪大院工、³崇城大院工学)

脳の血管は血液脳関門 (BBB) とよばれるバリア機能を有しており、末梢血液と脳組織液の物質交換を制限している。BBB は、血管を構成する血管内皮細胞の Tight Junction (TJ) 蛋白質による密着結合とトランスポーターによる薬剤配向性、さらに血管周辺の脳側細胞により複雑に制御されており、これらを複合的に Neurovascular Unit と呼ぶ。新薬開発における候補薬物の脳内送達、脳内動態のヒト予測性を向上するため、ヒト由来 BBB 構成細胞からなり、BBB の構造と機能を再現した生体模倣システム (MPS) の開発が進められている。当研究室では、産官学連携の AMED-MPS プロジェクトに参加し、BBB-MPS 開発研究および標準化に向けた社会実装を進めている。これまでに、ヒト不死化脳血管内皮細胞、ペリサイト、アストロサイトで構成した 3 次元 (3D) 血管ネットワーク型 BBB-MPS を大阪大学と共同開発している。このような 3D-BBB MPS の BBB 性能を向上させるためには、“BBB の成熟段階を判断出来る指標”が必要である。しかしながら生体内における BBB 成熟メカニズムは未解明であり、成熟段階指標も確立していない。そこで本研究では、生後ラット大脳皮質領域毛細血管の BBB 発達過程に注目し、3D-BBB MPS の成熟段階評価指標の候補を探索した。脳血管の色素漏出、周辺グリア細胞の立体配置の解析を行い、BBB 形成過程を形成期、成熟期、完成期の 3 段階に分類した。さらに、これらの成熟段階を反映して発現変動する、血管マーカー蛋白質、TJ 蛋白質を明らかにした。これらの BBB 関連タンパク質の発現・局在を指標とすることで、BBB-MPS の成熟段階の同定および精度の高い品質管理が可能になると考えられる。

マイクロ肝臓モデルの過冷却冷蔵保存法の開発

○引地真彩¹、角田勝²、佐藤記一¹

¹群馬大学大学院理工学府、²サンデンリテールシステム

近年、動物実験の代替となる培養細胞を用いた実験が広く行われており、これを産業化していくためには、単に培養容器内で細胞を培養する技術の開発だけでなく、細胞の生産現場から実験施設までの長時間輸送や、実験に使用しない間の保管も実現する必要がある。従来、細胞を保存する場合には主に超低温で冷凍保存されるが、近年 $-20^{\circ}\text{C}\sim 0^{\circ}\text{C}$ での保存が注目されつつある。そこで、我々はマイクロチップなどの培養容器内に肝細胞株を培養したマイクロ肝臓モデルを構築し、そのまま -4°C で過冷却冷蔵保存するための条件について検討した。過冷却状態での細胞の冷蔵保存が可能になれば凍害による細胞への影響を小さくすることができ、また凍結保護剤による細胞毒性を防ぐこともできる。

最初に本研究では接着細胞の過冷却保存について、肝細胞株を 96 ウェルプレートで培養したものについて、最適な冷却速度及び復温速度の検討と細胞毒性の少ない保存液の検討を行い、最適な冷蔵保存条件を見出した。さらに、マイクロチップ中に三次元培養した細胞の保存法の開発に向けて、ハイドロゲル中で三次元的に培養した細胞について、ウェルプレートで決定した冷蔵保存条件を用いて過冷却状態で冷蔵保存し、復温後の生育活性の評価を試みた。

階層スフェロイド型ヒト血液脳関門モデルを用いた脳移行性環状ペプチドの血液脳関門透過特性の特徴解析

○大木聖矢¹、磯貝隆斗¹、坂井温斗¹、森尾花恵¹、伊藤慎悟²、大槻純男²、降幡知巳¹

¹東京薬科大学・薬学部、²熊本大学・大学院生命科学研究部

【背景】薬を脳に到達させるためには、その障壁となる血液脳関門 (Blood-brain barrier, BBB) を突破できる脳移行性 DDS キャリアが必要である。これに対してこれまでに当研究室では、階層スフェロイド型ヒト BBB モデルを開発し、脳移行性環状ペプチド (SLS ペプチド) の BBB 透過性を評価できることを明らかとしてきた。そこで本研究では、脳移行性 DDS キャリアとしての SLS ペプチドの有用性をさらに検証するため、階層スフェロイド型ヒト BBB モデルを用いて、本ペプチドと、これを結合させた抗 HER2 抗体 (HER2ab-SLS) の BBB 透過特性の特徴を明らかとすることを目的とした。

【方法】蛍光標識した SLS ペプチドまたは HER2ab-SLS の BBB 透過性は、スフェロイド内部に移行したこれら由来の蛍光強度を指標として評価した。それぞれのモダリティの BBB 透過特性を明らかとするために、上記の方法で時間・濃度依存性について解析を行った。

【結果/考察】SLS ペプチドの BBB 透過には、時間と濃度に対する依存性が認められたが、濃度については飽和性が認められなかった。これにより、SLS ペプチドの BBB 透過には、低親和性の能動輸送経路が関与していると考えられた。また、HER2ab-SLS では、HER2ab 単体と比べて優位に高い BBB 透過性が認められ、SLS ペプチドにより抗 HER2 抗体の BBB 透過性が向上したと考えられた。

【結論】以上より、SLS ペプチドは抗体に脳移行性を付与する DDS キャリアとして有用であることが明らかとなった。今後、様々なモダリティの脳移行性改善への応用も期待される。

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¹、安彦修¹

¹浜松ホトニクス株式会社・中央研究所

我々は、細胞のありのままの姿を捉えるため、ラベルフリーで、サンプルを無傷のままイメージングする技術を追求してきた。屈折率トモグラフィは、分子密度を反映する屈折率の細胞内分布を、三次元的に、高精度に取得できる技術であり、サンプルに優しく、かつ定量的なイメージングと言える。我々は最近、独自開発した in-silico clearing 法によって、屈折率トモグラフィの深達度を大きく向上させ、直径約 150~200 μm のスフェロイド全体を、細胞内小器官レベルの分解能でイメージングできることを実証した (Yasuhiko & Takeuchi, 2023, Light Sci Appl)。本発表では、この方法によって世界で初めて実現可能になった、スフェロイド内部の形態学的、生物物理学的指標に基づいた評価事例を 4 つ紹介する。(1)HepG2、A549、F9、A172 を含む様々な種類のスフェロイドの形態学的特徴、(2)スフェロイド内部の細胞死の定量的解析、(3)HepG2 スフェロイド内部の脂肪滴の定量的解析、(4)HepG2 スフェロイド内部の毛細胆管微細構造の定量的解析。スフェロイドやオルガノイドのような三次元培養モデルは、広義の MPS と捉えることが可能であり、MPS 社会実装の際にも活用されると考えられる。本発表の内容に基づき、in-silico clearing 法の MPS や創薬分野への応用性に関して議論したい。

薬物代謝酵素欠損のヒト肝臓オルガノイドを用いた毒性評価系の構築

○植山（鳥羽）由希子^{1,2,3,4}、今村千春²、渡邊陽²、水口裕之^{1,2,3,4,5,6}

¹大阪大学大学院薬学研究科 ²大阪大学薬学部 ³国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

⁴大阪大学先導的学際研究機構 ⁵大阪大学国際医工情報センター ⁶大阪大学感染症総合教育研究拠点

【目的】医薬品開発過程において、肝臓における薬物の動態特性や毒性を正確に評価可能な試験系が必要とされている。我々は、ヒト肝臓オルガノイドの成熟化技術の開発に成功し、医薬品開発研究への応用が十分に可能な水準であることを示してきた。本研究では、薬物動態や毒性発現に重要な代謝酵素をそれぞれ欠損（knock out: KO）したヒト肝臓オルガノイドを樹立し、肝毒性評価系の構築を試みた。

【方法】ヒト肝臓オルガノイドに対し、各代謝酵素（CYP1A2、CYP2E1、UGT1A1）を標的としたゲノム編集を行った。野生型（wild type: WT）及び KO ヒト肝臓オルガノイドを、独自開発した方法で成熟化させ、各代謝酵素の発現や活性を評価した。【結果・考察】まず、独自開発の条件で成熟化した各ヒト肝臓オルガノイドについて、肝細胞マーカー遺伝子発現量と薬物代謝酵素活性を評価した。その結果、いずれの KO 株においても、標的とした分子の遺伝子発現と活性が消失もしくは低下していた。さらに、肝毒性を予測できるか評価するため、肝障害が報告されている薬物を用いて毒性試験を行った。例えば、UGT1A1 が解毒に関与する SN-38 やビリルビンを用いた検討では、UGT1A1-KO 株において細胞生存率が有意に低く、臨床での報告を再現していた。以上より、作製した各薬物代謝酵素 KO ヒト肝臓オルガノイドは、薬物代謝酵素特異的な *in vitro* 薬物動態予測・評価系として応用できる可能性が示された。

三次元マイクロ尿管モデル開発に向けた細胞培養法の検討

○山崎実優、佐藤記一

群馬大学大学院理工学府

【背景・目的】我々はヒトの腎排泄過程の模倣や、腎毒性試験に用いることをめざし、生体内の尿管構造を模倣した三次元尿管モデルの開発を試みている。これを実現するため、ハイドロゲル中で尿管細胞と血管内皮細胞を共培養し、さらにゲル下部に沈んでしまう内皮細胞を上側に誘引するために線維芽細胞をゲルの上面で共培養する方法について検討した。

【方法】ハイドロゲル中にヒト近位尿管細胞およびヒト糸球体内皮細胞を懸濁し、PDMS を用いて自作したマイクロチップの流路に導入した。ゲル化後、この流路に隣接する 2 つの流路に培地を導入した。さらに、ゲルの上に配置した流路に線維芽細胞を導入し、CO₂ インキュベーター内で培養を行った。

【結果・考察】ハイドロゲル中での尿管細胞の培養、および血管内皮細胞と線維芽細胞の共培養により、それぞれ細胞ネットワークの構築に成功した。さらに、ハイドロゲル中で尿管細胞と血管内皮細胞を、ゲル上面で線維芽細胞を培養することで、ハイドロゲル中での尿管と血管のネットワークを構築した。また、3 種共培養における細胞ネットワークの衰退を防ぐために、間葉系幹細胞の共培養を試みた。

A novel and non-invasive method to quantify the micro vessels of 3D in vitro blood-brain barrier model

○Huiting Zhang 1,2 , Dong-Hee Kang 2 , Marie Piantino 2 , Daisuke Tominaga 3 , Takashi Fujimura 4 , Noriyuki Nakatani 4 , James Nicholas Taylor 1 , Tomomi Furihata 5 , Michiya Matsusaki 1,2 , Satoshi Fujita 1,2*

1. AIST-Osaka University Advanced Photonics and Biosensing Open Innovation Laboratory, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology(AIST), 2. Graduate School of Engineering, Osaka University, 3. Cellular and Molecular Biotechnology Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 4. SCREEN Holdings Co., Ltd., 5. School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences,

Blood-brain barrier (BBB) is a selective barrier maintaining brain homeostasis to protect central nervous system (CNS). In vitro models can be useful to understand the transport mechanisms of BBB and assess the effects of drug delivery. Recently, we reported a 3D transwell model in which human brain endothelial cells (HBECs), pericytes, and astrocytes self-organized in fibrin gel to form three-dimensional vascular structures fused to the endothelial monolayer, generating a 3D vascular network with capillary opening ends that is easily used for the tested molecules to perfuse from the open end inside the lumen[1]. For the permeability evaluation using the model and quality control of commercial use, visualization and quantification of the 3D vascular architecture is absolutely crucial. However, the conventional fluorescence-based imaging on such a large volume sample is extremely time consuming. Thus, we developed a novel and non-invasive optical coherence tomography (OCT)-based approach to characterize the microvessel network of the 3D in vitro BBB model. Briefly, the 3D OCT images of the BBB model were obtained and further processed using three strategies: morphological imaging processing (MIP), random forest machine learning using the Trainable Weka Segmentation plugin (RF-TWS), and deep learning using pix2pix cGAN. By comparing the output images of each strategy with manually selected ground truth images, the outstanding performance of deep learning was confirmed. Then we used the identified images by deep learning to quantify the total vessel counts and surface areas of microvessels, the computation results were close to the ground truth results. This study not only facilitates the permeability evaluation of the BBB model but also offers a rapid, non-invasive observational and quantitative approach for the increasing number of other 3D in vitro models[2].

[1] M. Piantino et al. (2022). Materials Today Bio 15, 100324. doi:10.1016/j.mtbio.2022.100324

[2] H. Zhang et al. (2023). Biosensors 13(8), 818. doi: 10.3390/bios13080818

血管床との直接接触を可能とする三次元組織培養法の開発

○亀田良一^{1,2}, 藤本和也¹, 横川隆司¹

¹京都大学大学院・工学研究科、²株式会社アイカムス・ラボ

【緒言】 ディッシュ上で培養された三次元組織は、血管、血流が欠如しているため、生体内の生理学的環境を十分に模倣できていない。そこで、マイクロ流体デバイスを用い、自己組織的に構築した血管床と組織を共培養する例が報告されている。しかし、従来法では血管床と組織との間に隔壁が存在し、相互作用を阻害していた。そこで、本研究では、血管床に直接接触した状態で組織培養を可能にするデバイスを開発した。

【実験】 デバイスはピラーで仕切られた5つのチャンネルを有する。中央チャンネルは接続穴を介して、組織培養用のウェルと接続されている。細胞導入時、接続穴からの漏出を防ぐため、ポリエステル膜で蓋をした。中央チャンネルに血管床を構築した後、ポリエステル膜を除去し、露出した血管床上に腫瘍スフェロイドを導入した。

【結果】 共培養後、血管床と腫瘍スフェロイドが接続した。血管床を介し、スフェロイド内部に送液が可能であることを、蛍光色素を用いて可視化した。また、スフェロイドから血管床側に遊走する腫瘍細胞は隔壁が存在する場合よりも有意に多く、直接接触により血管床と腫瘍との相互作用を促進することが示された。現在、本デバイスを応用し、上皮-血管のウイルス感染モデルの構築、iPS細胞由来オルガノイドの血管化等を実施している。

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、國友ふらの、皆里明日香、森尾花恵、降幡知巳

(東京薬科大学 薬学部 個別化薬物医療学教室)

背景・目的：血液脳関門(Blood-brain barrier, BBB)は、通常、免疫細胞を含む様々な物質の血中から脳への移行を制限しているが、脳疾患時には、BBB における炎症反応に起因する免疫細胞浸潤がその病態形成に関与する。そのため BBB における免疫細胞の接着・浸潤の制御は脳疾患における創薬標的であり、この研究推進において BBB-免疫細胞相互作用を再現できる *in vitro* モデルが必要である。当研究室では、これまでにヒト不死化脳毛細血管内皮細胞 HBMEC/ci18 を樹立し、これを用いた階層スフェロイド型ヒト不死化 BBB モデル(以降 BBB モデル)を構築してきた。そこで本研究では、本モデルの BBB－免疫細胞相互作用研究への有用性を明らかとすることを目的とした。

方法：BBB モデルに TNF- α と IFN- γ を曝露し、そこに誘導される炎症性細胞接着分子の発現を qPCR と免疫細胞染色により、また免疫細胞の BBB へのリクルートを、ヒト免疫細胞モデルである THP-1 細胞と Jurkat 細胞を用いた接着アッセイにより解析した。

結果・考察：TNF- α と INF- γ 共曝露時の BBB モデルでは、非曝露時と比較して炎症性細胞接着分子の mRNA 発現量、タンパク質発現量が上昇した。また、これらの機能を解析するために THP-1 細胞と Jurkat 細胞による接着アッセイを行った結果、炎症性条件下では BBB モデルへのこれら細胞の接着数が約 2.8 倍に増加した。以上より、BBB モデルは炎症性刺激に応答して細胞接着分子の発現増加や免疫細胞の接着促進を示すことが明らかとなった。したがって本モデルは、BBB－免疫細胞相互作用研究に応用できると期待される。

圧力駆動型生体模倣システムを用いた血管内皮細胞のせん断応力負荷培養システムの開発

○杉浦 慎治¹、富田 辰之介¹、栗原 一真¹、三宅 力²、大久保 智樹²、藤山 陽一²、叶井 正樹²

¹産業技術総合研究所、²(株)島津製作所 基盤技術研究所

生体模倣システム (Microphysiological system, MPS) は生体の微小環境を模倣することで組織や臓器レベルの機能を発現する培養プラットフォームとして着目されている。なかでも培養液の流れを伴う MPS は、細胞への流れ刺激や、栄養成分の供給、臓器間相互因子の伝達などを可能とし、高次の生体機能を発現させる培養システムとして期待されている。近年、我々は簡便な操作でマルチスループットの循環培養が可能な圧力駆動型生体模倣システム (Pressure-Driven Microphysiological Systems, PD-MPS) を開発してきた。また、AMED の再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業(H29～R3)にて、カルチャーインサートの膜面の下部に培養液を流すことのできる PD-MPS 膜下フローデバイスを開発してきた。

本研究では、PD-MPS 膜下フローデバイスのデザインを変更し、血管内皮細胞細胞を流れ刺激下で培養するために、3～10 dyn/cm² のせん断応力を付加して培養する PD-MPS 膜下フローデバイスを設計した。製品化プロトタイプデバイスとして、ポリスチレンおよびシクロオレフィンポリマーの射出成型品より構成されるデバイスを加工・組み立て、培養液の加圧循環を行った。PD-MPS 膜下フローデバイスを用いて、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を培養したところ、2 日間の灌流培養にて細胞が配向する様子を確認した。

自然免疫を介した薬物性肝障害の予測のための in vitro 評価系の開発

○李相昊¹、勝田毅¹、江刺家勝弘²、高橋淳²、西川昌輝¹、酒井康行¹

¹東京大学大学院工学系研究科、化学システム工学専攻 ²三井化学株式会社、合成化学品研究所

肝細胞とマクロファージで構成された in vitro 培養系は免疫を介する薬剤性肝障害の評価系として重要であり、より生理学的な応答を再現するためには高酸素要求性の肝細胞培養の制御と、各細胞間の接触状態による炎症メカニズムの違いの評価が必要である。本研究では、ヒトキメラマウス由来肝細胞 PXB-cells[®]の酸素透過性 polymethylpentene (PMP) プレート上での培養による薬剤代謝能の増加及び毒性薬剤を含む肝細胞の上清を THP-1 由来マクロファージ側に処理する分離培養での炎症反応の変化を評価し、その分離培養とインサート使用共培養での炎症反応の比較を行った。その結果、既往の細胞培養プレート上での通常培養条件に比べ、PMP 上での培養条件で PXB-cells の CYP3A4 の発現の増加と、分離培養で毒性薬剤 amiodarone 及び nevirapine の処理による炎症性サイトカイン IL-1 β の増加が見られた。分離培養と共培養における炎症反応の比較においても同じく分離培養のみ IL-1 β の増加が見られた。今後は肝細胞の薬剤代謝によるダメージシグナルの放出と免疫細胞上のそれらのレセプターの発現変化を検証し、スクリーニング系の構築においてそのメカニズムの再現性と炎症反応の応答性を考慮し最終的な予測系の構築に必要な培養条件を提案することを目標とする。

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¹、乾達也^{2,3}、横田純平^{2,3}、山下智起²、河合夏苗²、植山(鳥羽)由希子^{1,2,3}、水口裕之^{1,2,3,4,5,6}

¹大阪大学薬学部、²大阪大学大学院薬学研究科、³医薬基盤・健康・栄養研究所、⁴大阪大学先導的学際研究機構、⁵大阪大学国際医工情報センター、⁶大阪大学感染症総合教育研究拠点

腸管はヒトの生命活動において非常に重要な器官であり、経口医薬品の体内動態にも大きく関与している。創薬研究における in vitro 腸管モデルとしては実験動物由来の小腸組織や Caco-2 細胞を用いた評価系が汎用されているが、それぞれヒトとの種差や薬物代謝酵素の発現量が生体と比べて低い等の問題を有している。これらに代わる新規培養系としてヒト iPS 細胞由来小腸上皮細胞 (hiPS-ELCs) の研究が進められている。この培養系はヒト iPS 細胞を小腸へと分化誘導することで作製されるため、既存系の課題を克服する in vitro 腸管モデルとして非常に有用である。一方で、分化誘導機関が長期にわたる上、分化誘導後の継代・維持培養も不可能であるため安定的な供給は難しいことが課題であった。

今回我々は、ヒト iPS 細胞を分化誘導して作製された高機能な hiPS-ELCs から腸管オルガノイドを樹立した。樹立したオルガノイドは継代培養により 1 年以上培養できた。本オルガノイドを単細胞に分離し再度播種すると、播種後 3 日で強固な単層膜を形成した。この単層膜における主要な薬物代謝酵素や薬物トランスポーターの遺伝子発現はヒト生体小腸と同程度であり、それらの活性も十分高いことが確認された。以上の結果から、オルガノイド培養技術を用いて高機能な腸管上皮細胞を安定的に作製することに成功した。

医薬品の胆汁排泄を評価可能な肝臓チップの開発

○石田誠一¹、鈴木健生¹、竹林星香¹、久保拓海²、山中誠²、広瀬賢一²、畠山健治²、古水 雄志¹、
松下 琢¹

¹ 崇城大学大学院・工学研究科・応用生命科学専攻、² ウシオ電機株式会社

医薬品候補化合物の肝細胞への取り込みと胆汁中排泄を予測することは、薬物動態評価の観点から重要である。また、肝毒性評価では連続的な胆汁回収が出来る invitro 評価系が求められている。そこで本研究では、ヒト人体を模倣した胆汁中排泄を再現するため、毛細胆管から連続的に胆汁回収が可能な新規肝臓チップの開発を行った。底面に胆汁回収抽出流路を設けたマイクロ流路チップ（肝臓チップ）にヒト肝キメラマウス由来肝細胞 HepaSH cells を播種した。蛍光基質を用いた毛細胆管像の観察および MRP2 (Multi-drug resistance protein 2) 免疫染色を行うと、蛍光基質の毛細胆管様構造への蓄積と MRP2 の発現が確認できた。また、胆汁回収方法の基礎検討として、ad-MED ビトリゲル[®]（関東化学）を用いた蛍光基質の排泄試験を行った結果、蛍光基質がインサート内部および外部へ排泄されることが確認された。以上の結果より、底面に胆汁回収抽出流路を設けた肝臓チップにおいて、毛細胆管が形成されることが示された一方で、胆汁回収方法については、今後さらなる条件検討が必要であると考えられた。連続的な胆汁回収が可能な評価手法として ADME 試験や胆汁うっ滞性肝障害評価などへの応用が期待される。

3次元血液脳関門ネットワーク生体模倣システム（BBB-NET）の 足場基材品質管理の重要性

○北村（中山）貴美子¹、最上（重本）由香里¹、Marie Piantino²、降幡 知巳³、松崎 典弥²、山崎 大樹¹、石田 誠一^{1,4}、佐藤 薫¹

（¹ 国衛研、² 阪大院工、³ 東京薬大薬、⁴ 崇城大院工）

脳の血管は、血液脳関門（BBB）により血液と脳実質間の物質交換を制限し、低分子化合物の98%以上の脳内移行を遮断するため、新薬開発における中枢神経系の安全性および薬物動態予測は困難である。これらの問題を解決するため、ヒト由来 BBB 細胞を活用した microphysiological system (MPS) が開発されている。当研究室は、大阪大学松崎研究室と共同で3次元 BBB ネットワーク MPS (BBB-NET) の開発・実用化を進めている。これは、ヒト BBB 由来脳毛細血管内皮細胞・ペリサイト・アストロサイトが、ゲル中で自律的に管腔構造を形成するモデルで、トランスフェリン受容体を介したトランスサイトーシス (RMT) の再現性が高いことを特徴としている。我々は、BBB-NET の性能を保証するための品質管理項目として、ゲル中の細胞足場基材の必要要件、根拠となるメカニズム検討を行っている。今回、ゲル構成成分として collagen microfiber (CMF) を付加することが、血管構造形成を促進し、BBB 成熟指標となるタンパク質発現を上昇させることを明らかとした。また、CMF の効果にはアストロサイトが関連していた。以上の結果は、BBB-NET のようにゲルを用いた3次元型 MPS において、足場基材品質管理の重要性を示すものである。

線維芽細胞の共培養と培地最適化による肝スフェロイドの血管化

○松本倫実¹, 王文龍¹, 萩庭歩美¹, Anna K. Kopec², Julie Harney², Lindsay Tomlinson²,
Nashir Khan², 藤本和也¹, 横川隆司¹

¹京都大学大学院工学研究科, ²Drug Safety Research & Development, Pfizer, Inc.

血管は栄養、細胞、薬物などの全身への輸送を担う。そのため、生体機能の正確な再現に向けて、臓器 MPS における血管網の実装が進められている。肝スフェロイドは薬物代謝の再現モデルとして注目されているが、その内部や周囲に血管網を構築できないため、長期培養が難しい。これは、肝細胞が上皮細胞であるためにスフェロイド形成時の肝細胞同士の接着が強固になることに加え、血管新生因子を分泌しないためスフェロイド方向への血管新生や内部での血管腔の形成が困難であることに起因すると考えられる。本研究では、ヒト臍帯静脈内皮細胞および線維芽細胞を導入した肝スフェロイドとマイクロ流体デバイスを用いて、培養条件を最適化することで、肝小葉同等の規模の肝スフェロイド内部からの血管新生と周囲における血管網の形成に成功した。スフェロイド方向への血管新生の促進には、スフェロイド周囲における細胞外マトリクスへの線維芽細胞の添加が必要だと明らかになった。スフェロイド培養時に血管内皮細胞用の培養液を多く含んだ共培養用培地を使用することに加え、スフェロイドにコラーゲンを添加することで、スフェロイド内の脈管形成を促進させ、スフェロイド内部を貫通する血管の形成と経血管的な蛍光標識アルブミンの灌流に成功した。

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・生命ナノシステム科学研究科・生命環境システム科学専攻

²横浜国立大学大学院・工学研究院・システムの創生部門

【背景と目的】直径 1 mm を超えるスフェロイドの課題は、栄養と酸素不足によって生じる内部の壊死である。本研究では、拍動するハイドロゲルの充填によるスフェロイド内部壊死の抑制効果について調査した。

【方法】メチルセルロース培地を用いて、ヒト肝がん細胞株 Hep G2 (500,000 cells) と温度応答性ゲル: [N-Isopropylacrylamide(NIPPA)を含む共重合体(熱駆動ポンプ)] からなるスフェロイドを作製した。熱駆動ポンプの体積変化は、顕微鏡の画像より計測した。ポンプの拍動には、Thermal Cycler を用いた。細胞壊死率は DNA 量測定により求めた。

【結果と考察】熱駆動ポンプは 37 °C と 30 °C の温度変化で体積が 20.6% 変化した。温度変化を繰り返しながら 24 時間拍動した後も同様の変化能を示した。各条件のスフェロイドを 24 時間培養した後 DNA 量を測定した結果、ポンプを充填していないスフェロイドの細胞壊死率は 41.3% であった。ポンプを充填したスフェロイドでは 33.9%、ポンプを拍動させたスフェロイドでは 14.8% であった。結果より、熱駆動ポンプの拍動がスフェロイドの細胞壊死を抑制する可能性が示された。今後、細胞の生存率を向上させる条件を検討し、1 mm を超えるスフェロイドの安定的な培養方法の確立を目指す。

シースルースフェロイドの開発

○久光和希, 小島伸彦

横浜市立大学 生命ナノシステム科学研究科 生命環境システム科学専攻

【背景・目的】MPS を用いた実験では、培地のサンプリング量に制限がある。したがって、細胞の光学的観察・評価の必要性が高いが、多細胞スフェロイドは光が通らないため、観察が困難である。本研究では、スフェロイドにハイドロゲルビーズを混ぜ込むことで、光の透過率の高いシースルースフェロイドを作製することを目的とした。

【材料・手法】HuH-7 細胞を使用した。直径約 20 μm のビーズは、アルギン酸ナトリウム水溶液から作製した。ビーズなしスフェロイドは 5000 個の細胞のみを、ビーズ入りスフェロイドは 5000 個の細胞および同量のビーズを、それぞれ少量の培地とともにメチルセルロース培地に吐出して作製した。24 時間培養したスフェロイドを 96-well U 底プレートに移し、撮影した画像を元に 8 bit の輝度値ヒストグラムを作成した。

【結果】条件によって特徴が異なるヒストグラムが得られた。ビーズなしスフェロイドは中央値 64.738、最大値 155、最小値 11、最頻値 39 であった。ビーズ入りスフェロイドは中央値 98.916、最大値 254、最小値 30、最頻値 73 であった。これらの結果は、ビーズの混入によって、スフェロイド内部の光透過率が改善したことを示している。

【結論】多細胞スフェロイドにハイドロゲルビーズを混ぜ込むことで、顕微鏡観察に適した光学特性をもつシースルースフェロイドを作製することができた。

MPS と直接酸素供給による薬剤反復投与時の肝毒性予測系

○胡珂¹, 江刺家勝弘², 高橋純², 船岡創平³, 佐倉武司³, 荒川大⁴, 加藤将夫⁴, 増尾裕介⁴, 徳永詢⁵, 王甜宇⁵, 榛葉健汰⁶, 木村啓志⁶, 勝田毅¹, 西川昌輝¹, 酒井康行¹.

¹東京大学、²三井化学株式会社、³住友ベークライト、⁴金沢大学、⁵旭化成ファーマ株式会社、⁶東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター

薬物開発研究において、薬剤誘発性肝障害の *in vitro* 評価系の開発が求められているが、信頼できるモデルの構築には至っていない。その主な理由として、培養時の酸素供給不足と培養系における「流れ」の欠如が考えられる。酸素透過性のある PDMS は従来使用されているが、PDMS 膜は薬物の吸着性が高いという問題があり、薬物評価実験に用いるのは困難であった。

本研究では、酸素透過性ポリメチルペンテン (PMP) 膜を使用したマイクロスタラー搭載のオンチップ灌流 MPS (KIM-Plate) を組み合わせ、より信頼性の高い薬物代謝系の構築を目指した。PMP は PDMS と比較して薬物吸着がより少ない新しい MPS 用の材料である。我々はキメラマウスから得られたヒト肝細胞 (PXB 細胞) を 2 週間培養し、アセトアミノフェンの反復投与に対する様々な機能と応答を評価した。

一般的な酸素非透過性プレート (TCPS) で培養した群に比べ、直接酸素供給を用いた KIM プレートに播種した PXB 肝細胞では顕著なアルブミン分泌能の亢進が認められた。これにより、アセトアミノフェンの反復投与における感度が向上した。また、アセトアミノフェンの代謝プロファイル、CYP 活性、培地中の ALT 量、グルタチオンおよびその酸化生成物のレベルを測定した。その結果、TCPS 系に比べこの系で、より生体に近い形で、APAP 濃度依存的な肝毒性が認められた。

以上のことから、オンチップ簡易灌流および PMP 膜による直接酸素供給を統合した MPS が、生理学的に関連する肝細胞培養を通じて、薬物開発研究における肝毒性の新たな予測系となり得る可能性が示唆された。

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

我々は簡便な操作でマルチスループットの循環培養が可能な圧力駆動型生体模倣システム (PD-MPS) の制御システムを開発してきた [1]。本発表では、細胞アッセイの高スループット化を目指して開発した、PD-MPS デバイスを最大 8 個同時運用可能な自動培養システムについて紹介する。自動培養システムのデモンストレーションのため、腸管上皮細胞を播種した PD-MPS デバイスによる 12 日間の還流培養と透過試験を実施した。iPS 細胞由来の小腸上皮細胞 (F-hiSIEC, FUJIFILM) を播種したセルカルチャーインサートを PD-MPS デバイスに設置後、培地循環、温湿度・CO₂ 濃度等の環境維持、培地交換、透過アッセイのためピペット操作を自動で実施した。コントロールとして、ウェルプレートによる静置培養と的手法によるデバイスの還流培養を行った。細胞のバリア機能の評価のために TEER 測定を行い、培養期間中維持することを確認した。透過性試験では、サンプリングしたバッファ溶液中の試験化合物濃度を LC-MS/MS で定量し、透過係数を計算した。本実験の結果では PD-MPS を用いた評価と静置での評価に有意な差は見られず、他機関による既報 [2] と同等な傾向を示した。透過性試験後、DAPI 染色による蛍光イメージを観察し、透過アッセイ後も細胞シートが維持されていたことを確認した。

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

参考文献

[1] T. Satoh, et al., Lab Chip, Vol.26(1), 2339-2348(2016)

[2] K. Michiba, et al., Drug Metab. Dispos. Vol.50(3), 204-213.(2022).

Microphysiological systems による 3D 心筋組織と肝細胞の共培養に向けた培地検討

○堀内新一郎¹, 池田祐衣², 幸田奈々重¹, 増尾友佑², 加藤将夫², 山崎大樹¹

¹国立医薬品食品衛生研究所・薬理部、²金沢大学 医薬保健研究域 薬学系

心毒性は医薬品の市場撤退原因であり、その一部は肝代謝を介して引き起こされる。しかし、肝代謝を介した心毒性は心筋細胞のみを用いた評価では検出できない。我々は、スターラー式 microphysiological system (MPS) を用いてヒト肝細胞と engineered heart tissue (EHT) を共培養し、肝代謝を介した心毒性評価系の構築を目指している。スターラー式 MPS は、ウェル間の微小流路に極小のスターラーが設置されており、培地の灌流が可能である。本研究では、スターラー式 MPS 上でヒト凍結保存肝細胞 (cryoheps) とヒト iPS 心筋細胞由来の EHT (hiPSC-EHT) を共培養することを想定し、共培養培地の検討を行った。hiPSC-EHT における収縮特性と cryoheps における CYPs 発現に基づいて、各細胞が十分に機能する培地を検討した結果、dexamethasone を抜いた肝細胞用培地が共培養のための最も有力な培地であることが示唆された。この培地を用いて典型的な誘導剤に対する cryoheps の CYP 誘導能を調べたところ、各誘導剤に対応した CYP が誘導された。dexamethasone を抜いた肝細胞用培地を用いることで薬物相互作用を介した心毒性についても評価できる可能性が示唆された。

キメラマウス由来新鮮ヒト肝細胞”PXB-cells”について

○石田雄二¹、山崎ちひろ¹、山尾美香留¹、高橋真生²、稲松睦²、菅原豪¹、立野知世^{1,2}

¹株式会社フェニックスバイオ 研究開発部、²株式会社フェニックスバイオ 生産部

創薬研究等で注目を集める MPS であるが、その実用化に向けた課題の一つに MPS 作製に利用する細胞の確保が挙げられる。特に肝臓 MPS に関しては、肝機能の種差の問題から利用する肝細胞はヒト由来のものに限定されるが、一般に入手可能なヒト初代肝細胞には、同一ドナーあたりの供給量が限られる事や、ドナー間で肝機能や接着性が大きく異なる事などの問題がある。

我々は免疫不全肝障害マウス(cDNA-uPA/SCID)に市販のヒト肝細胞を移植することで、70%以上がヒト肝細胞によって置換された肝臓を有するヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス) の大量生産に世界で初めて成功している (年 4000 匹以上)。このモデルはヒト肝細胞を in vivo で増殖させる系としても有用であり、移植細胞数に対して 500-1000 倍ものヒト肝細胞を非凍結新鮮細胞として回収可能である。回収された新鮮ヒト肝細胞 (PXB-cells) は培養プレートに対する接着性が高く、一般的な平面静置培養下でも 3 週間以上にわたってアルブミン分泌能、薬物代謝酵素活性、B 型肝炎ウイルスへの感染性などを維持していることが示されている。更にこの PXB-cells は、スフェロイド培養、オルガノイド培養、MPS 等に利用可能であることが我々を含む様々な施設で既に検証されており、今後は肝臓 MPS の開発や研究において有用な細胞になると期待している。今回の発表では PXB-cells の特徴と、その応用例について紹介する。

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

○早乙女俊樹¹、遠山由貴¹、安田好美¹、綿引優花¹、田川絵里¹、島田直樹¹、澤田光平^{1,2}

¹日本毛織株式会社・研究開発センター、²一般社団法人日本薬理評価機構 (PEIJ)

我々はヒト iPS 細胞由来分化細胞をゼラチン繊維基材を用いて 2 次元/3 次元的に組織化させ、より成体の細胞に近い生理学的・構造的特性を有する評価系の構築を進めている。

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞(hiPSC-CM)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

hiPSC-CM を用いた心毒性リスク予測が期待されている。ゼラチン繊維上で hiPSC-CM を培養すると、ゼラチン繊維に沿ってアクチンフィラメントが発達し、心筋細胞の収縮によりゼラチン繊維が変形するため、心筋の構造と収縮挙動の変化を容易に評価でき、更に長期の観察も可能である。本発表では抗がん剤におけるアクチンフィラメントの崩壊と心収縮力障害の相関性について紹介する。

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

ヒト iPS 神経細胞を中枢神経系の薬物評価に用いるには安定した神経ネットワーク構築と自発発火パターン検出が重要である。ゼラチン繊維を設置した培養皿にヒト iPS 神経細胞を播種すると、ゼラチン繊維基材内部に凝集体が形成され、神経突起が伸長し、凝集体間を接続したネットワークが形成され、ネットワーク全体での同期発火が検出可能となった。さらに個々の凝集体間での発火の時間差から伝達挙動も評価可能である。本発表では薬物ごとの神経ネットワーク機能の変化を紹介する。

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¹, Ilka Wagner², Alexandra Lorenz², Reyk Horland², Uwe Marx²

¹PHYSIO MCKINA 株式会社, ²TissUse GmbH

薬物の投与経路による吸収や代謝物へ影響の評価は、治療薬候補物質の有効性と安全性を決定する重要な要素である。そのため、動物実験に頼らず薬物の全身反応を再現することができ、さらに”ヒト”における薬剤の全身反応を *in vitro* で再現する試験系として、マルチオーガン(複数臓器型)チップを採用した MPS への関心が高まっている。本発表では、マルチオーガン型 MPS(HUMIMIC)を用い、ヒト肝臓オルガノイドと分化した初代ヒト小腸上皮組織の共培養を行った例を紹介する。HUMIMIC の特徴は、使用できる細胞の豊富さ、複数の培養物(臓器)間の代謝物の輸送が可能であること、細胞へ生理学的せん断応力が与えられることである。今回紹介する小腸モデルでは、生体内ヒト小腸と同様の円柱上皮細胞形態を示し、密着結合および特異的薬物トランスポーターの発現を示した。試験化学物質として、ヒトにおける肝毒性が報告されているトログリタゾン¹を共培養システムに 11 日間毎日投与した。薬物を小腸上へ投与した場合(経口投与を模したモデル)の吸収と代謝の影響を、全身投与を模したモデルと比較し、吸収および代謝の影響を分析した。

企業展示要旨

フェニックスバイオが提供する

次世代細胞培養デバイス向け高機能ヒト肝細胞の紹介

○松見 達也¹、新谷 哲也¹、平田 弥久¹、石田 雄二²、山崎 ちひろ²、稲松 睦³、高橋 真生³、前田 光平³、加川 修⁴、立野 知世^{2,3}

¹株式会社フェニックスバイオ ビジネスディベロップメント部、²研究開発部、³生産部

⁴経営企画室

当日は新製品として「次世代細胞培養デバイス向け高機能ヒト肝細胞」の発表を予定しています。本細胞は、生体模倣システム（MPS）、共培養（サンドイッチ培養・オルガノイド）、スフェロイド、3D プリンターなどの新しい時代の細胞培養装置に最適な新鮮ヒト肝細胞です。製品名および実例データについての詳細は、当日にポスターでご紹介をさせていただく予定です。

MPS 実用化に向けたゼラチン繊維基材(Genocel®)のご紹介

○宮本健司¹

¹日本毛織株式会社 研究開発センター

Genocel®は生体適合性に優れるゼラチンハイドロゲルを繊維状に加工した細胞培養用基材です。用途に合わせて形状の異なる製品ラインナップをご用意しております。Genocel®を用いた細胞の3次元化や高機能化を通じ、MPS 実用化の推進にむけて、意見交換をさせていただきます。

◆ **Genocel Block, Sheet, Advance** : 不織布形状のゼラチン繊維基材で、湿潤状態でもハンドリング性に優れ、凝集体内部での細胞生存性や機能向上が特徴。3次元細胞培養や細胞シートキャリアなど、細胞の3次元化にご活用いただけます。（活用案：MPS 流路に合わせた任意の形状の足場材複合）

◆ **Genocel Powder** : 断片化されたゼラチン繊維で、通常のスフェロイド形成時に添加することで、かさ高く、サイズの大きいスフェロイドを形成できます。ゼラチン繊維を含むことでATP 活性向上やスフェロイドの強度向上が期待できます。（活用案：MPS への細胞スフェロイドの配置）

◆ **心筋評価用プレート（開発品）、神経評価用プレート（開発品）** : ヒト iPS 細胞より分化させた心筋や中枢神経細胞を用いた安全性、毒性評価に適した Genocel をプレート上に配置しております。

【心筋評価用プレート】収縮力、催不整脈評価、構造の評価などの複数パラメーターを評価可能

【神経評価用プレート】安定的な神経ネットワーク構築、ネットワーク機能を評価可能

（活用案：MPS への心筋や神経の毒性評価の複合）

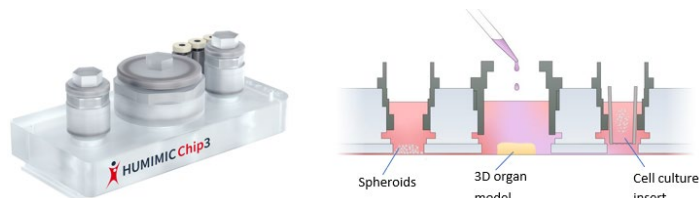
マルチオーガン型 MPS “HUMIMIC” を用いた生体環境の再現

○田辺 諒

PHYSIO MCKINA 株式会社

「MPS を用いた In vitro 試験で、生体内での環境を再現したい」という研究者様と話をすると、その内容は実に様々です。評価したい項目(毒性、ADME、有効性…)、共培養を行う臓器の組み合わせ(皮膚、小腸、脳、肝臓、肺…)使用したい細胞(スフェロイド、3D 臓器モデル、培養膜…)。

TissUse 社(ドイツ)が製造し、日本では PHYSIO MCKINA 株式会社が販売するマルチオーガン型 MPS “HUMIMIC”は、96/24-well に対応した大きな培養面積、共培養する臓器数(2~5)に対応した Chip、生理環境を再現したせん断応力を発生させるマイクロポンプ機構を備えた共培養システムです。名刺サイズの微小環境に任意の臓器の組み合わせを実現し、全身反応を再現します。培養後の細胞や培地の取り出しも容易で、任意の分析を実行可能です。当日は Chip の実物を持参しますので、ぜひお立ち寄りください。



HUMIMIC(Chip3)を用いた共培養のイメージ

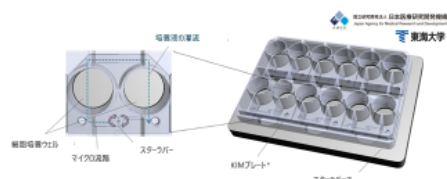
住友ベークライト(株)が開発中の MPS デバイスのご紹介

○相原 大知¹

¹住友ベークライト株式会社・S-バイオ事業部マーケティング・営業部

オンチップポンプ型多臓器MPS

生体模倣システムの社会実装を通じて
皆が自分らしく健康に生きる社会を実現



* Kinetic plate + Kinetic pump Integrated Microfluidic Plate

- 開発内容**
- 新薬の開発において動物実験のみでヒトにおける薬剤への反応を評価することは限界がある。
 - 動物実験代替法の一つとしてMPSの関心が高まっており、創薬研究現場での活用が進んでいる。
 - より簡便に安定して運用できるMPSが求められている。
 - 薬剤への応答や特定疾患には複数の臓器の相互作用が関わっていることから臓器間相互作用の解明に関心が高まっている。

- 特徴**
- セルカルチャーインサート等汎用培養材との組み合わせで最大4臓器の連結が可能
 - 臓器ブロック型プラットフォーム
 - 内蔵スター型ポンプにより簡便かつ安定な連続培養を実現
 - ユーザビリティの高い臓器系MPSデバイス
 - 低分子吸着抑制を実現
 - ウェル底面仕様変更が可能(例: 酸素透過性材料)

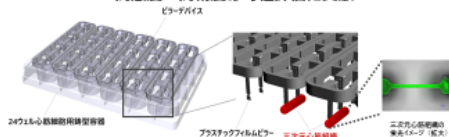
- 用途例**
- ヒトiPS細胞由来臓器上皮細胞を用いた薬物毒性試験
 - 臓器間相互作用メカニズムの解明

本開発品にご関心がございましたらお気軽にお問い合わせ下さい

住友ベークライト株式会社
 ■ S-バイオ事業部 マーケティング・営業部
 ■ 〒146-0002 東京都品川区東品川2-9-8 天王橋パークサイドビル
 ■ Tel: 03-5462-4831 ■ E-mail: s-bio_inquiry@sumitomo.co.jp
 ■ Fax: 03-5462-4835 ■ URL: http://www.sumitomo.co.jp

ヒト心筋収縮力測定デバイス

ヒト心筋組織に対する医薬品候補物質の
高感度・高精度の毒性評価に貢献



- 開発内容**
- 従来の動物実験では正確にヒトでの心毒性を予測することが難しい
 - ヒトiPS細胞からの心筋組織の構築技術が発達し、創薬への応用が進んでいる
 - 心筋の細胞外マトリックスの評価による毒性評価に加え心筋収縮力評価が注目されている
 - 透明PDMS製(シリコーン)のピラーが用いられるが薬剤の吸着により正しい評価が出来ない

- 特徴**
- プラスチック製ピラーにより低分子医薬品の吸着を抑制し、精度の高い評価が可能
 - フィルムピラー形状のため心筋組織による吸着に対して高感度評価が可能
 - 細胞低級処理を施した専用録型容器により三次元心筋組織のための作業時間を短縮

項目	当社品	既存品
低分子医薬品吸着抑制	高い	低い
三次元心筋組織構築に付いた作業時間	短縮可能	短縮不可

- 用途例**
- ヒトiPS細胞由来三次元心筋組織による薬剤心毒性の評価
 - 患部iPS細胞由来疾患モデルによる薬剤スクリーニング

本開発品にご関心がございましたらお気軽にお問い合わせ下さい

住友ベークライト株式会社
 ■ S-バイオ事業部 マーケティング・営業部
 ■ 〒146-0002 東京都品川区東品川2-9-8 天王橋パークサイドビル
 ■ Tel: 03-5462-4831 ■ E-mail: s-bio_inquiry@sumitomo.co.jp
 ■ Fax: 03-5462-4835 ■ URL: http://www.sumitomo.co.jp

MPS 製品・サービスのご紹介

○山中 誠¹

¹ウシオ電機株式会社・Organs On Chip プロジェクト

1. 神経 MPS プレート / AI 神経毒性解析

神経突起を形成するための流路プレートと AI 画像解析の組み合わせで、
簡便でハイスループットな末梢神経毒性評価を実現いたします。

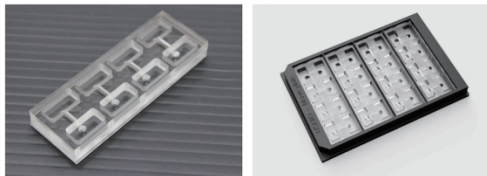
2. チップ工房 (オープンイノベーションプラットフォーム)

MPS/OoC を開発したいけれど、どうすればよいかお困りではありませんか？

対話とフィードバックを通じ、試作から本格導入の量産までワンストップでサポートします。また、
弊社光接合技術によりクリーンで高品質なチップを提供します。

神経 MPS プレート / AI 毒性判定

in vitro 神経毒性評価を簡便、正確に



東北工業大学 × USHIO

オープンイノベーションプラットフォーム

チップ工房

お客様独自の OoC / MPS の実現を
対話を通じたものづくりで支援します。

- 運用されたい培養試験についてヒアリングと協議を行い、チップ形状のアイデア提案と試作品提供いたします。
- 設計、図面作成、製作検討から量産化まで、ものづくりの難しいことは弊社におまかせください。

試作テスト

スケールアップ

量産供給

きわめて安定した再現性と良好な特性発現を示す 新しいヒト肝細胞「HepaSH™」のご紹介

○菊本葵¹

¹株式会社ケー・エー・シー 試薬事業部

初代肝細胞や肝がん細胞株に替わる、いつでも、どこでも、だれでも、うつくしく培養できる新しいヒト肝細胞をご紹介します。

HepaSH™ 細胞は、(公財) 実験動物中央研究所の末水洋志先生が開発した、ヒト肝キメラマウス (Humanized-liver TK-NOG) から単離調製した、きわめて高品質なヒト実験肝細胞です。第 1 相、第 2 相の薬物代謝・抱合酵素活性、酵素誘導能、各種トランスポーター発現、各種肝炎ウイルスへの感染性など、ヒト肝細胞が有する様々な機能特性を良好に示します。HepaSH™ 細胞は、フランスの Biopredic international ブランド製品として、2023 年秋より世界中のお客様への提供が開始されております。本邦では (株) ケー・エー・シーが、当該細胞製品および専用培地等のお客様への提供窓口を務めております。

弊社の企業展示ポスターにて、HepaSH™ 細胞の特性や製品規格、ご提供方法などをご紹介します。是非お立ち寄りください。

創薬研究用ヒト腎細胞 3D-RPTEC[®]の紹介

○高橋 越史¹、前田 駿太¹、森村 馨¹、荒木 綾乃¹、神保 陽一¹

¹日機装株式会社・インダストリアル事業本部 精密機器技術センター 開発部

ヒトの初代腎細胞や腎臓由来株化細胞は薬剤トランスポーターなどの腎機能に関わる遺伝子発現を維持しておらず、いまだ創薬で実用化されている腎細胞は少ない。そのため、創薬スクリーニングや機序解明に利用できるヒト腎細胞の製品化が切に望まれている。近年では iPS 細胞由来腎オルガノイドの構築や Micro Physiological System への応用など、高機能な腎細胞の開発が進められている。その中で我々はヒト初代腎近位尿管上皮細胞 (Renal Proximal Tubule Epithelial Cells, RPTEC) を三次元培養することにより mRNA およびタンパク質発現において、腎機能の向上を確認した 3D-RPTEC[®]を開発した。当該細胞は 2023 年 7 月より正式販売を開始し、2024 年 1 月より代理店販売を開始した。

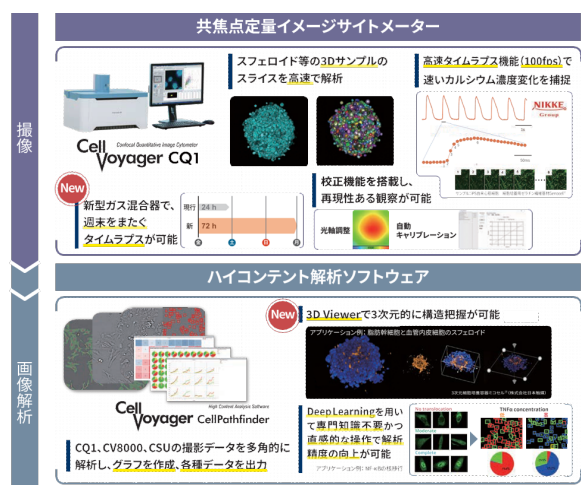
今回、我々は 3D-RPTEC を創薬研究の現場で利用すべく、当該細胞を用いて腎毒性試験 (20 種以上の既知の腎毒性薬物による ATP 測定) や画像解析技術を用いたハイコンテンツアナリシス (HCA) などを検討した。その結果、当該細胞は薬物誘発性腎毒性を十分に検出できる可能性が示唆された。以上、新たなヒト腎細胞製品である 3D-RPTEC の品質プロフィールや創薬への応用例について紹介したい。

ハイコンテンツ イメージング システム CellVoyager シリーズのご紹介

○遠藤利朗¹、太田亜紀¹

¹横河電機株式会社 ライフ事業本部

横河電機の CellVoyager シリーズは、固定された標本はもちろん、生細胞や三次元的な厚みのあるサンプルのイメージングに特に強みを発揮する自動共焦点顕微鏡・画像解析システムです。独自開発したマイクロレンズ付きスピニングディスク共焦点光学系により、サンプルに対するダメージは最小限に、高精細な画像を高速で取得し、解析することが出来ます。長時間のタイムラプス解析も可能です。本システムを用いることで、多様なサンプルから多くの特徴量を測定するマルチプレックス解析をハイスループットで行うことが可能になります。本発表では、システムの特長と、様々なアプリケーション事例をご紹介します。



共焦点定量イメージサイトメーター

CellVoyager CQ1

スフェロイド等の3Dサンプルのスライスを高速で解析

高速タイムラプス機能(100fps)で速いカルシウム濃度変化を捕捉

校正機能を搭載し、再現性ある観察が可能

新型ガス混合器で、週末をまたぐタイムラプスが可能

72 h

自動キャプレーション

ハイコンテンツ解析ソフトウェア

CellVoyager CellPathfinder

3D Viewerで3次元的に構造把握が可能

Deep Learningを用いて専門知識不要かつ直感的な操作で解析精度の向上が可能

CQ1, CV8000, CSUの撮影データを多角的に解析し、グラフを作成、各種データを出力

細胞培養基質 iMatrix-Palette の紹介


○津山 陽一¹、山本 卓司¹

¹株式会社マトリクソーム

新製品 iMatrix-Palette の紹介（細胞培養で細胞の生体内環境を再現する製品）

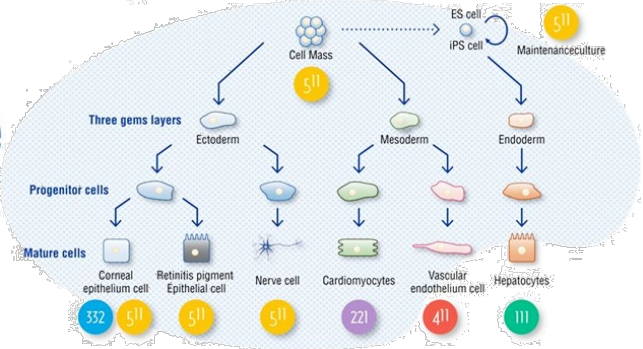
発売中

iMatrix-Palette



Package consists

- iMatrix-111 [175μg×1pc.]
- iMatrix-221 [175μg×1pc.]
- iMatrix-332 [175μg×1pc.]
- iMatrix-411 [175μg×1pc.]



iMatrix-Serise がこの 1 箱でそろそろ注目の新製品

使用例

- 細胞培養で細胞の生体内環境を再現したい。
- 多能性幹細胞から目的の細胞に分化するための足場を探索したい。
- 初代培養で細胞の足場を探索したい。
- 生体模倣システム(MPS)で細胞ごとに適切な足場を用意したい。
- 細胞の足場をオリジナルでデザインしたい。

(株) サイフューズにおける機能性細胞デバイスの取組

○相馬勤，井上愛優，前川敏彦

(株) サイフューズ

これまで、新規医薬品の開発における肝毒性および代謝評価は、動物を用いた試験やヒト初代培養肝細胞の平面培養系を中心に行われてきた。しかし、動物実験は種差、ヒト初代培養肝細胞の平面培養系は長期機能維持の観点に課題がある。そこでサイフューズは、当社独自の「バイオ 3D プリンティング技術」を活用して、ヒト肝細胞から成る 3D ミニ肝臓構造体を開発、昨年からの販売を開始した。本ミニ肝臓は高い生存率を約 1 ヶ月に渡り持続できることから、長期間の評価が安定に実施できる。また、サイズの小さいスフェロイドに比べて、本ミニ肝臓は CYP3A4 酵素の代謝容量が非常に高く、高感度な代謝試験を行える。さらに、培地交換が週 1 回の低頻度で問題ないことから、簡便・高感度な低クリアランス化合物の評価に対応する。これらの特長を活かし、低分子医薬品に加えて核酸医薬など新しいモダリティの長期毒性評価への応用が期待される。引き続きサイフューズは、バイオロジーとエンジニアリングという異なる領域の知見と技術を巧みに融合して生み出した「バイオ 3D プリンティング技術」、このオンリーワンの基盤技術で再生医療・細胞治療の飛躍的な進歩に貢献するだけでなく、ミニ肝臓に次ぐ機能性細胞デバイス (Functional Cellular Device ; FCD) を開発することで、創薬、化粧品や食品など、広くライフサイエンス分野において独自の役割を果たして行きたい。

自動 Organ-on-a-chip 培養装置 OMI

○ 次田 友暁¹

¹ 株式会社 ASICON 代表取締役

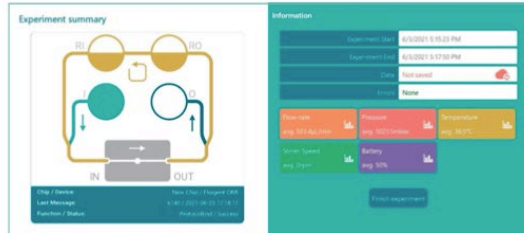


OMI はこれまでに例のない、小型で汎用性の高い灌流細胞培養装置です。ユーザが設定する灌流、再循環、サンプル回収等の送液プロトコルに沿った自動制御が可能で、インキュベータ内での灌流細胞培養を、理想的なシアストレス下で長時間実施することができます。



OMI

インキュベータ内での灌流細胞培養を、理想的なシアストレス下で実施することができる。どのようなデザインの Organ-on-a-chip / MPS でも使用可能。



柔軟なパラメータ設定が可能

洗浄、注入、抽出、循環等の各ステップのプロトコルを自由に組み合わせることができ、また送液量、時間、流量、送液パターン(一定、波形、スロープ等)の設定ができる。

輸入販売代理店:



株式会社 ASICON

www.asicon-tokyo.com

asicon-tokyo@asicon-tokyo.com

培地最適化の紹介

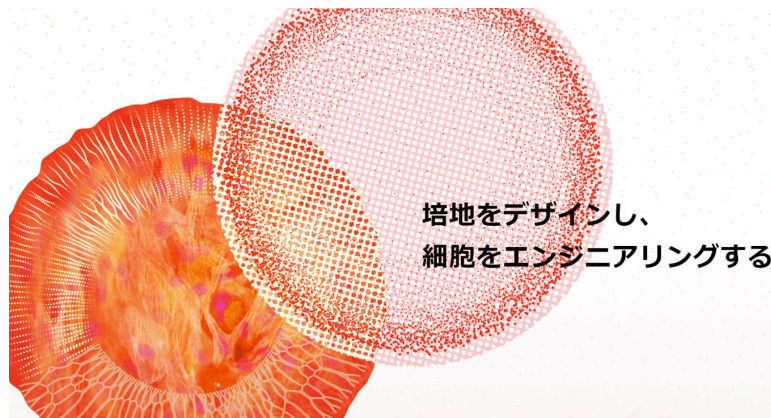
○高橋 大祐¹

¹株式会社マイオリッジ・営業推進部

『細胞をデザインする』手法は、ゲノム編集による改変を思い浮かべる方が多いと思われます。当社は培地によって細胞のフェノタイプを改変する方法を開発してきました。例えば、代謝を制御して細胞運命を制御することで、iPS 細胞由来心筋細胞の薬剤応答性を高めることや、T 細胞の未分化性を維持しながら増殖性を高めつつ培地組成の違いでキラーT 細胞、ヘルパーT 細胞の割合を変化させます。

再生医療では、細胞加工のプロセスにおける特定のタイミングで加える培地成分・濃度によって、品質・増殖性等の性質が大きく異なってきます。

私たちは、培地の最適化によって、細胞をデザインし、様々な疾患を治療可能な細胞製品が次々に創出される世の中の実現に貢献します。



MPS チップ「Fluid3D-X®」の製品紹介

○吉岡孝広¹
¹東京応化工業株式会社

2017-2022年のAMED MPS PJで開発されたMPSチップ「Fluid3D-X®」と送液システムに関する製品紹介をさせていただきます。

Fujifilm グループの CRO 事業のご紹介

○岩木 義英¹

¹富士フイルム株式会社、CRO 事業推進室

当社プレスリリースより

バイオ関連技術の研究開発を行うバイオサイエンス&エンジニアリング研究所、高度な製造インフラおよび創薬の知見を有する富士フイルム富山化学株式会社、試薬ビジネスなどで培った強固な国内販売網を持つ富士フイルム和光純薬株式会社といった当社リソースを結集させ、まずは国内において創薬支援 CRO ビジネスを展開してまいります。

具体的には、iPS 細胞のリーディングカンパニーである FUJIFILM Cellular Dynamics, Inc が開発・製造するヒト iPS 細胞由来分化細胞と、幅広い製品開発で蓄積してきた AI（人工知能）技術を組み合わせ、医薬品候補物質の有効性・安全性評価および作用機序解析のサービスを提供。ヒト生体への作用を再現し高精度に評価・解析できるという特長を生かし、マウスなどを used 動物実験を削減したいという顧客ニーズに応じていきます。また、遺伝子治療薬などのサンプル作製や、同治療薬の分子構造の解析を受託。さらに、がんや感染症の分野を中心に培ってきた、医薬品の研究開発の知見を生かし、創薬コンサルティングも行ってまいります。

弊社は現在、低分子医薬品およびバイオ医薬品の開発・製造受託(CDMO)サービスを提供しております。創薬支援 CRO サービスの提供により、創薬研究から生産プロセス開発、治験薬製造、商業生産までカバーするトータルサポート体制を確立し、医薬品産業のさらなる発展に貢献してまいります。

下記は、代表的サービスメニューになりますが、詳細な内容はポスター発表にてご説明させていただきます。

代表的サービスメニュー

CROサービス	
分類	内容
薬効薬理/ADMET評価サービス	ヒトiPSC由来心筋細胞 不整脈リスク評価
	ヒトiPSC由来腸管上皮細胞 ノロウイルス評価 など
	皮膚刺激性/腐食性評価 眼刺激性評価 皮膚感作性評価
	F-PDO®を用いた抗がん剤等の薬効評価解析
	drug2drugs：低分子・ペプチドの骨格改変サービス
	感染症関連評価
サンプル作製/解析サービス	DNA免疫法による抗体作製
	新規小型抗体フォーマット「Fv-clasp」作製
	昆虫細胞・バキュロウイルス発現系、大腸菌発現系、哺乳細胞発現系によるタンパク発現
	エクソソーム単離/解析

富士フイルム和光純薬ウェブサイト https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/custom_service/index.html