

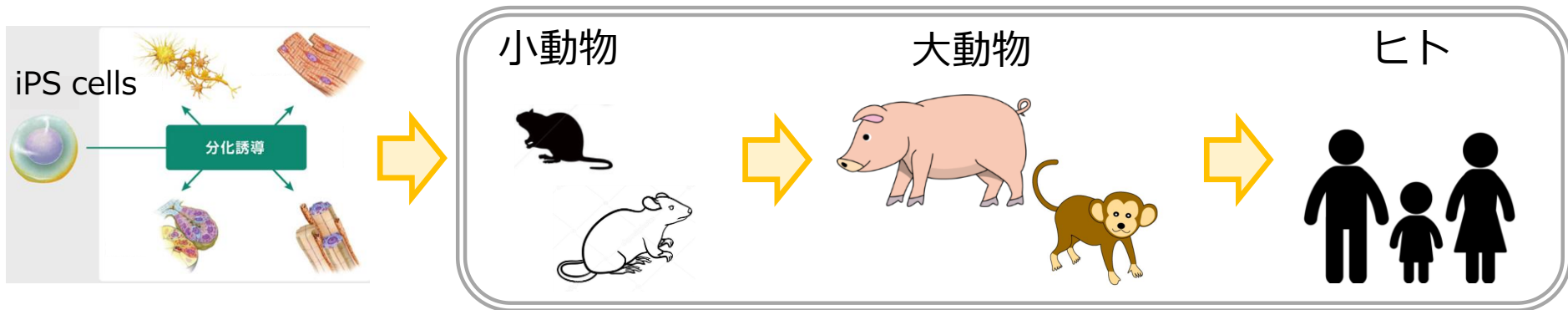
「免疫抑制大動物モデルにおける 免疫抑制剤の投与量のコントロール」

-Control of immunosuppressive agents via PK measurement in
immunosuppressed large animal-

2019.12.10
日本薬物動態学会 第34回年会 Luncheon seminar

Axcelead Drug Discovery Partners株式会社
統合生物 循環器・代謝疾患領域
金子 まなみ

再生医療等製品の大動物での薬効/安全性評価の必要性



- 小動物を用いた前臨床試験のみでは臨床試験の結果を予測することは困難
- 大動物を用いた前臨床試験で有効な移植細胞数からヒトへの移植細胞数を予測可能



アクセリード (AXL) 社はヒト由来の細胞/臓器を受け入れ可能な免疫抑制大動物モデルを確立

AXL社における大動物を用いた薬理試験

使用動物

- マイクロミニピッグ (MMP)
 - ゲッチングンミニブタ (GMP)
 - カニクイザル
- 解剖学的/生理学的に循環系の組織がヒトと類似
- 膝の関節の構造がヒトと類似
- 体や臓器のサイズが小動物と比較してヒトに近い
- ヒトに近い高次の脳機能

動物施設

- AAALAC認証
- 毎日清掃
- 手術室完備
- 同施設内に細胞培養室、P2/臨床検体取扱室有



ブタ飼育ケージ

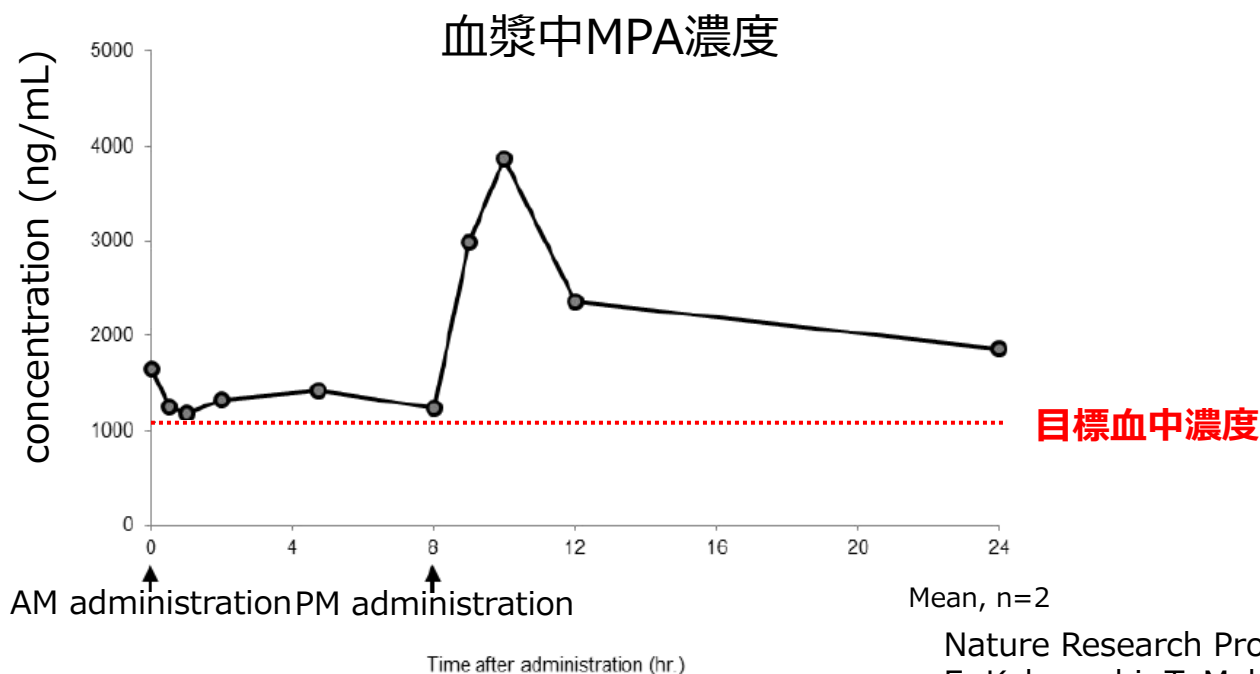
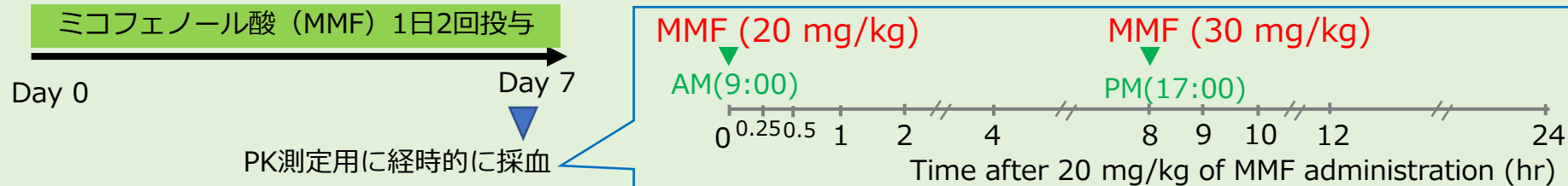


手術室



P2/臨床検体取扱室

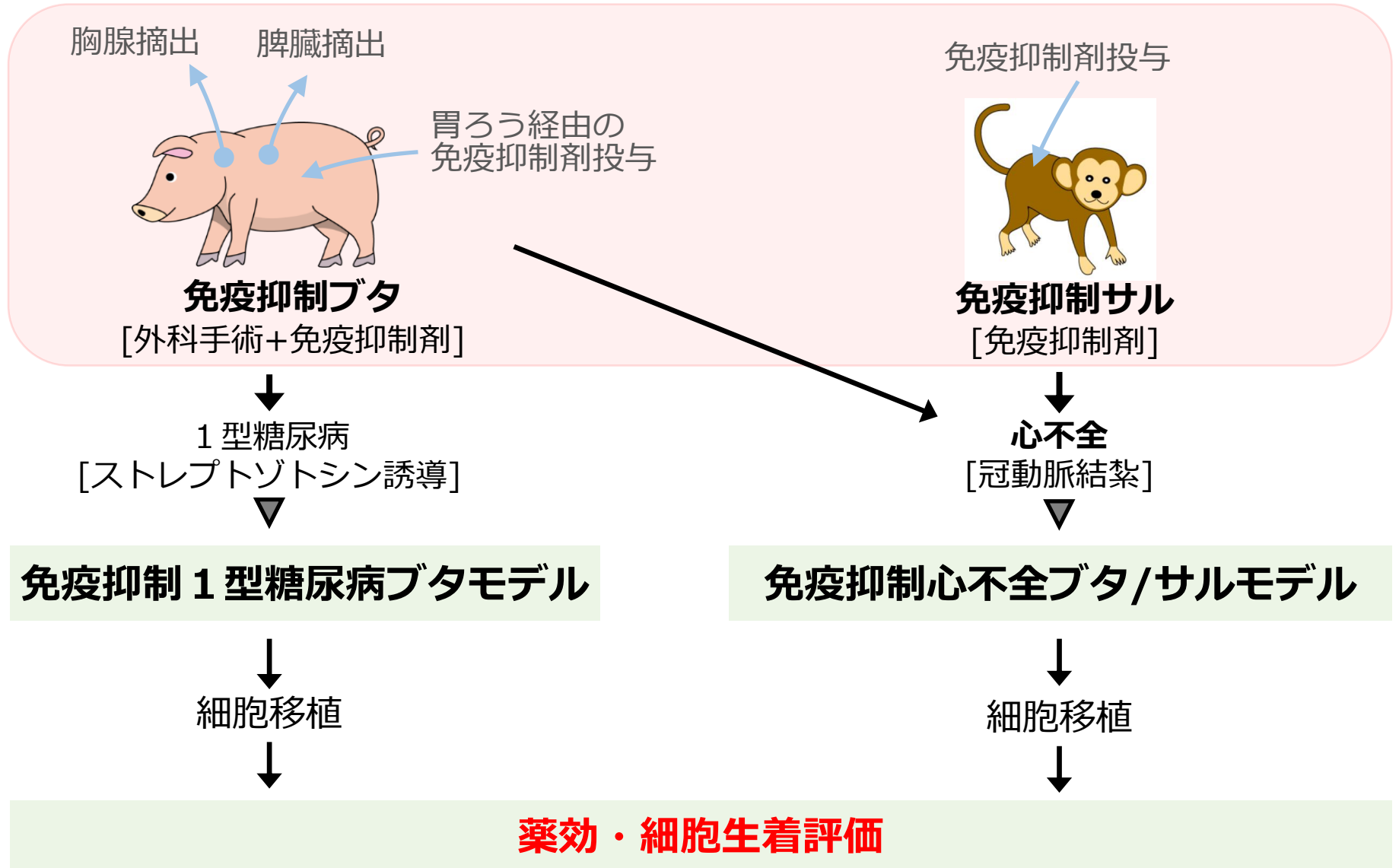
2. 免疫抑制剤による免疫抑制 =ブタにおける目標血中濃度達成の確認=



Nature Research Protocol Exchange
E. Kobayashi, T. Maki et.al., 2019

血漿中ミコフェノール酸濃度は1日を通して目標値以上であった

AXL社における免疫抑制動物モデルを用いた薬効・細胞生着評価試験



免疫抑制ブタ/サルモデルの作製手法

ブタ

Nature Research Protocol Exchange
E. Kobayashi, T. Maki et.al., 2019

サル

1. 外科的
手術

- 胸腺摘出
- 脾臓摘出
- 胃ろう形成

+

2. 免疫
抑制剤

免疫抑制剤の目標濃度の設定

- In vitro PBMC増殖試験
- In vitro及びin vivoにおいて蛋白結合率を使用して算出

PBMC:末梢血単核細胞

免疫抑制剤の投与用量決定

- 免疫抑制剤の血中濃度測定

免疫抑制動物

テーラーメイド免疫抑制ブタ/サルモデルの構築

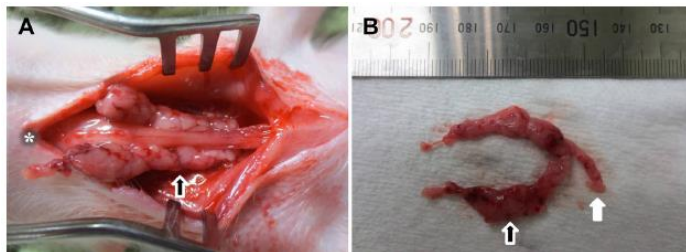
免疫系臓器の摘出

■胸腺摘出

- 富士マイクラ社から胸腺摘出MMPを購入
- AXL社にてGMPの胸腺摘出手術

Enhancing Survival of Human Hepatocytes by Neonatal Thymectomy and Partial Hepatectomy in Micro-miniature Pigs

H.C. Hsu^{a,b}, S. Enosawa^{a,b}, T. Yamazaki^{b,c}, S. Tohyama^d, J. Fujita^d, K. Fukuda^d, and E. Kobayashi^{a,*}



Transplantation Proceedings,49,153-(2017)

■脾臓摘出

- 短胃動脈、脾動脈、大網動脈を結紮し、脾臓を摘出



その他

■胃ろう形成

用途

- ✓ 免疫抑制剤投与ルート
- ✓ 試験中に摂餌量が低下した際の栄養補充ルート

■中心静脈カテーテル挿入

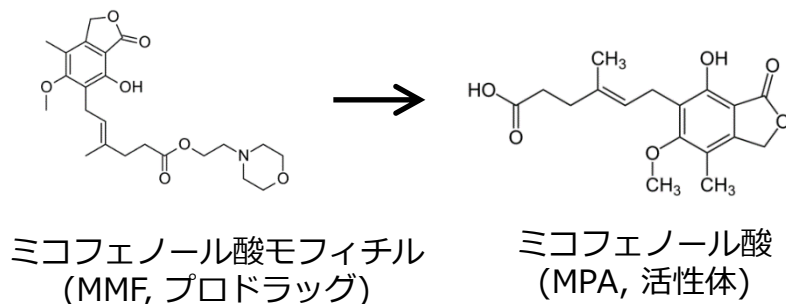
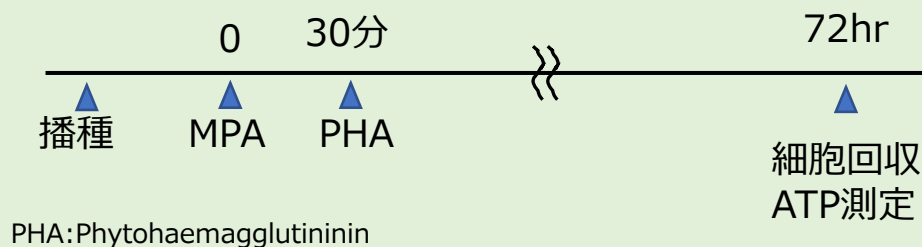
用途

- ✓ 経時的な採血ライン (PK用等)
- ✓ 体調不良の際の点滴ライン

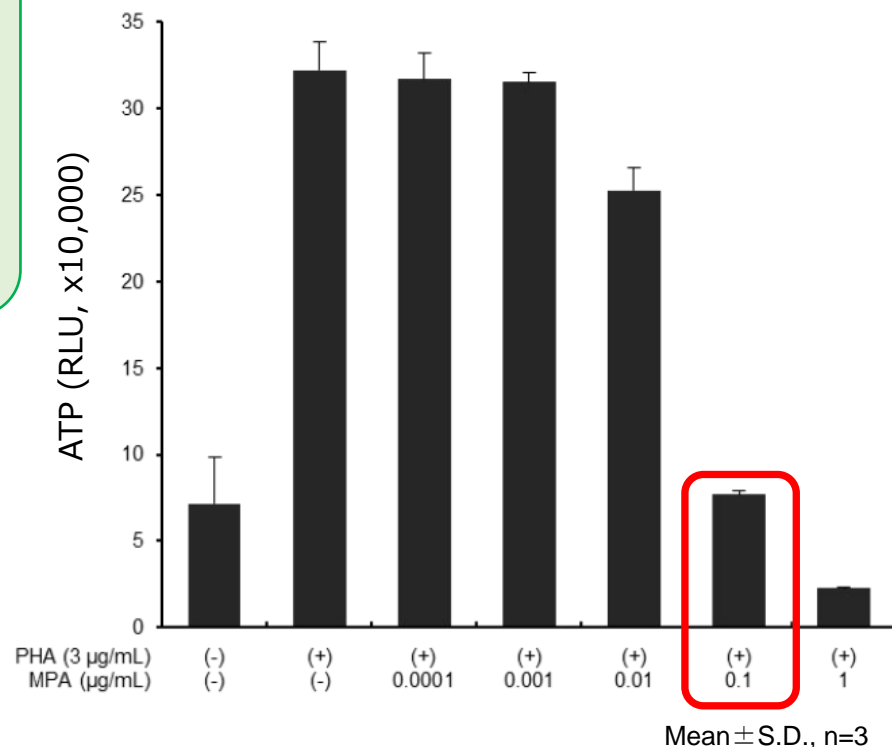
2. 免疫抑制剤による免疫抑制

=in vitro PBMC 増殖試験=

- ブタ/サル血漿からPBMCを採取
- PBMCを播種(5×10^4 cells/well)



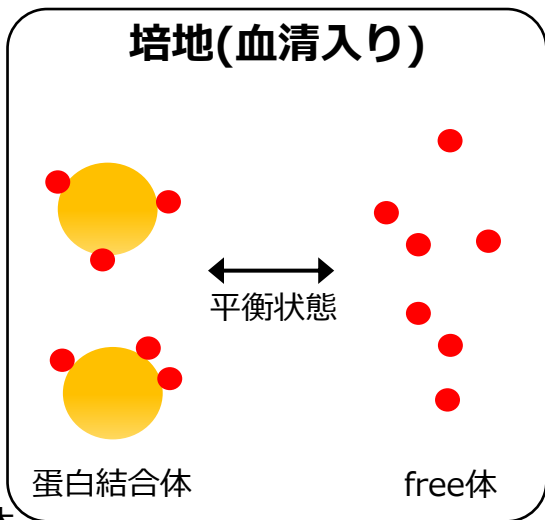
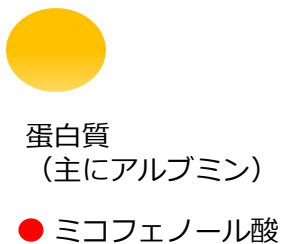
PHAによるPBMC増殖に対する ミコフェノール酸(MPA)の作用



PHAによるPBMC増殖に対してMPAは0.1 $\mu\text{g/mL}$ で完全に抑制した

2. 免疫抑制剤による免疫抑制 = 目標血漿中ミコフェノール酸濃度の決定 =

PBMC増殖試験での有効濃度算出

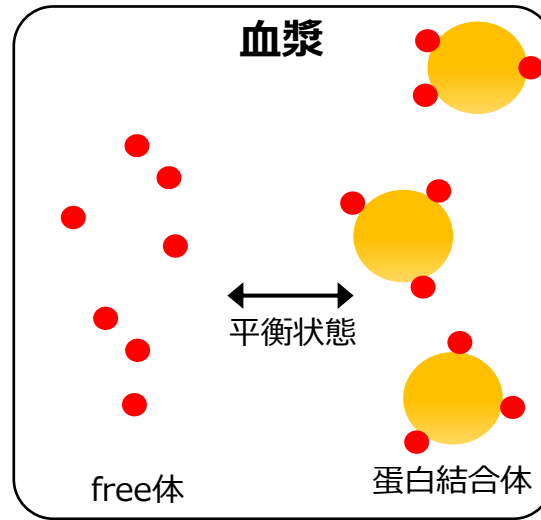


Total = 蛋白結合体 + free体

培地中濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
Total	free体
0.1	0.059

$fu:0.59$
(fu:非結合型分率)

ブタの目標血中濃度



血漿中濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	
free体	Total
0.059	1.18

$fu:0.05$

血漿中ミコフェノール酸目標値を $1.18 \mu\text{g}/\text{mL}$ と決定

1 型糖尿病ブタモデルの確立

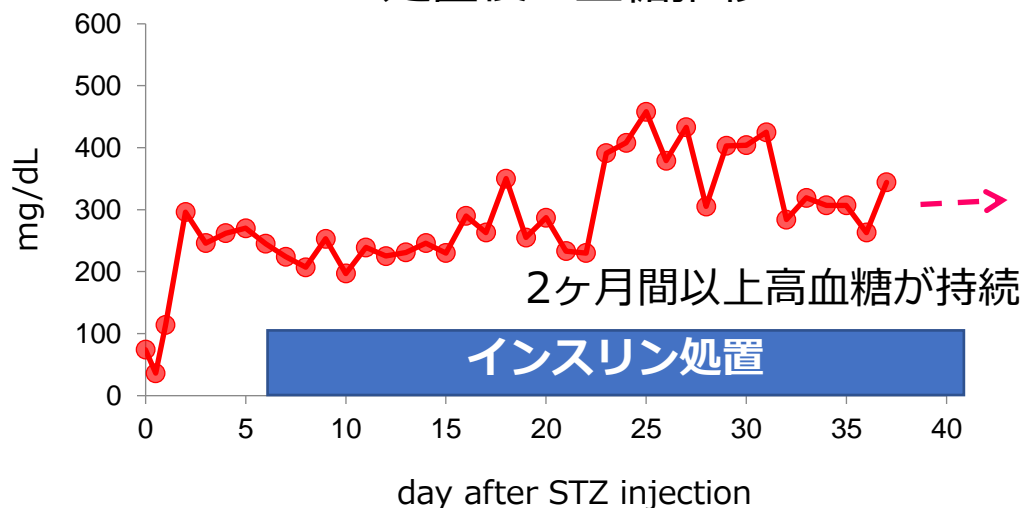
ストレプトゾトシン (STZ) 処置



- ✓ 2ヶ月間高血糖を維持
- ✓ 耐糖能異常やc-peptide分泌低下 (ivGTT試験)
- ✓ 安定した健康状態を維持

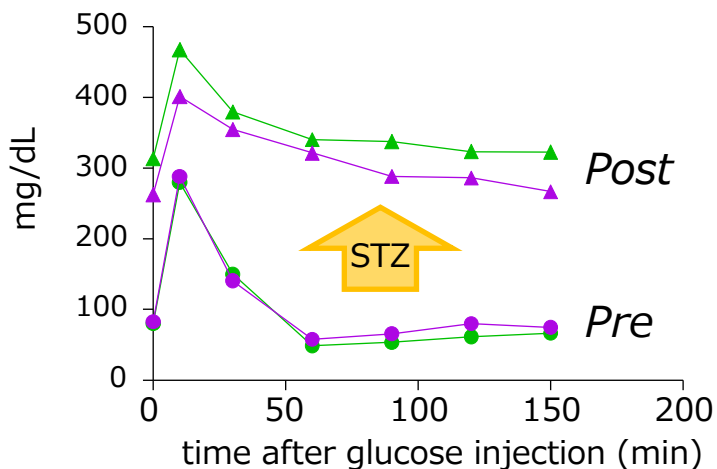
ivGTT : IntraVenous Glucose Tolerance Test

STZ処置後の血糖推移



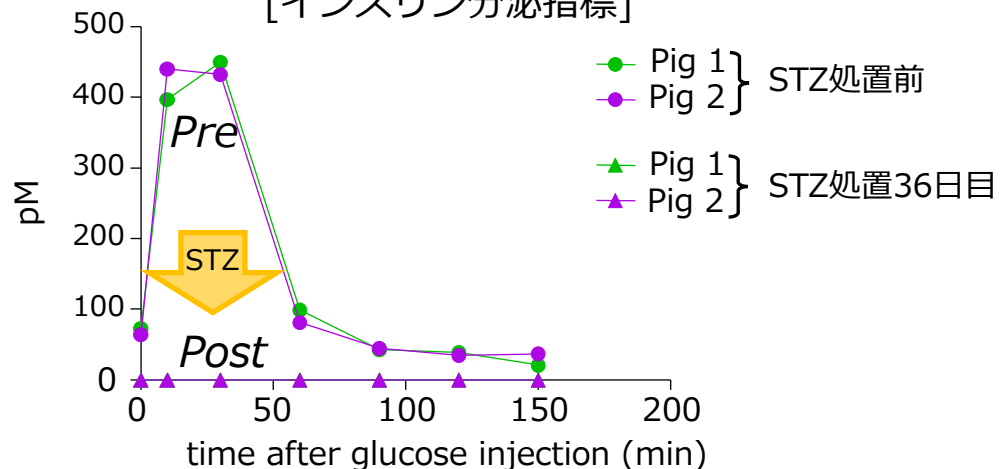
ivGTT (STZ処置前と処置後)

血糖



C-peptide

[インスリン分泌指標]

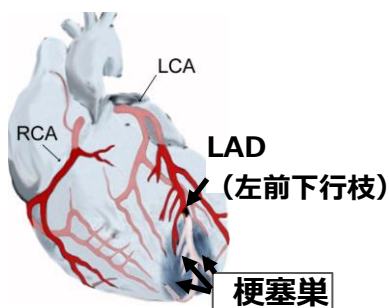


心不全ブタ/サルモデルの確立

冠動脈結紮



- ✓ 心筋梗塞
- ✓ 手術2週間後には駆出率 (EF) 低下



3D Echo
(Aplio i900)

	Normal [before myocardial infarction]	Heart failure [35days after myocardial infarction]
Apical 4-Chamber		
3D Plastic BAG		
Area strain curve	 EF:57.95%	 EF:41.36%

再生医療等製品の創薬における前臨床試験の問題点と解決策

問題点

- 臨床試験と小動物試験の間のギャップ
- 確立された免疫抑制大動物モデルが無い



解決策

免疫系臓器の摘出と免疫抑制剤投与の組み合わせによるテラーメイドな免疫抑制大動物モデルの構築



高い臨床外挿性により臨床試験における成功確率の向上が期待できる

We are Your Best Partner

共に手を取り
創薬を通して
希望ある未来を創りたい

Axcelead Drug Discovery Partners

<https://www.axcelead.com>

contact@axcelead.com