

新たな戦略： 免疫抑制ブタ/サルモデルを用いた再生医療研究への応用

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社
統合トランスレーショナル研究

2020.9.4
第27回 HAB 研究機構学術年会

主任研究員

牧 敏之

toshiyuki.maki@axcelead.com

無断転載禁止

免疫抑制ブタ/サルモデルを用いた再生医療研究への応用

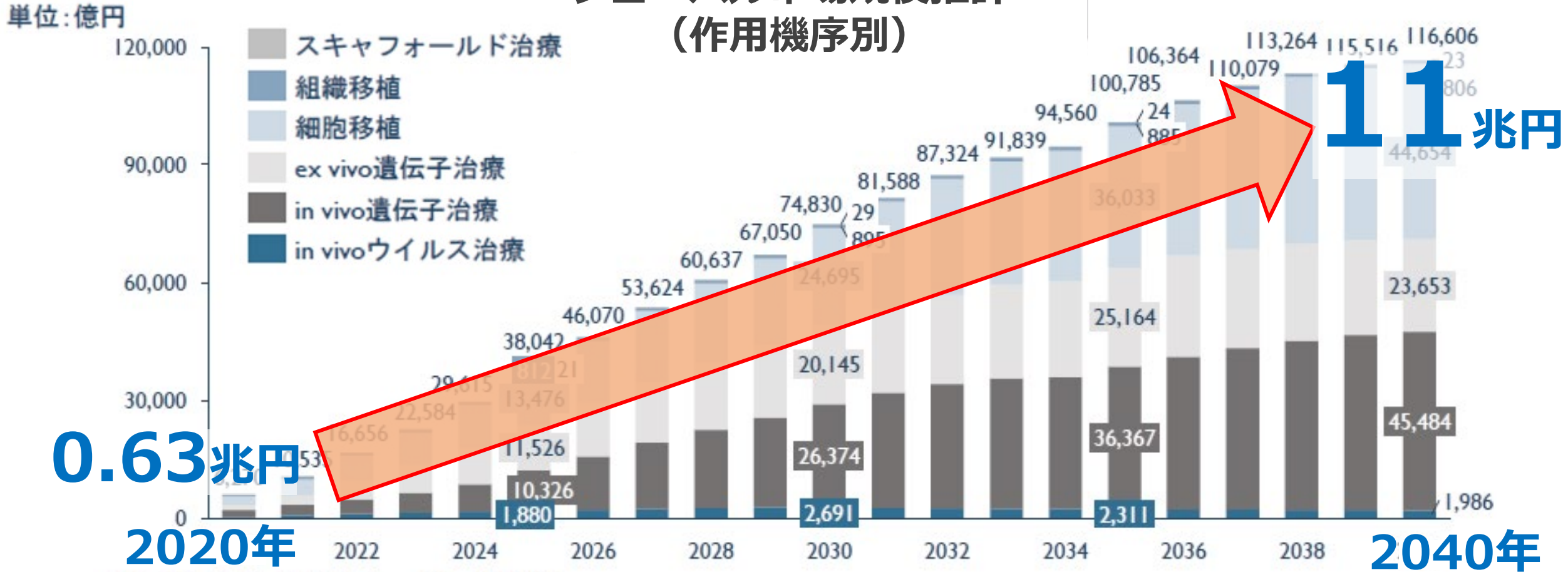
- ① 大動物免疫抑制モデル
- ② 心不全モデル
- ③ 糖尿病モデル
- ④ 再生医療研究への応用例

『④再生医療への応用例のスライド』は、発表時のみの限定資料となり、webでの公開は行っておりません。ご了承ください。

再生医療が世界規模で市場を拡大

AMED 2019年度再生医療・遺伝子治療の市場調査 最終報告書より一部改変
<https://www.amed.go.jp/content/000062056.pdf>

グローバル市場規模推計 (作用機序別)

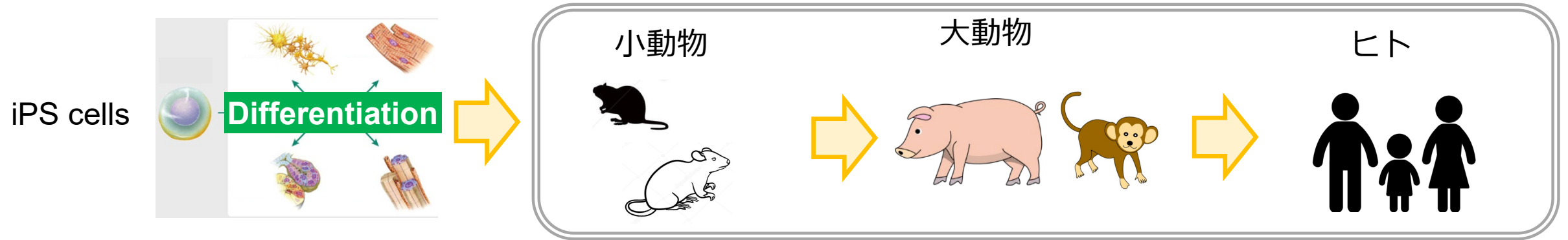


出所: ADLデータベースよりアーサー・ディ・リトル作成

© Arthur D. Little Japan

無断転載禁止

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

ブタ

- マイクロミニピッグ (MMP)
- ゲッチンゲンミニブタ (GMP)

- 循環器系の解剖学的/生理学的特徴がヒトと類似
- 体や臓器のサイズが小動物と比較してヒトに近い

サル

- カニクイザル

- 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、臨床検体取扱室有



ブタ飼育ケージ



手術室



臨床検体取扱室

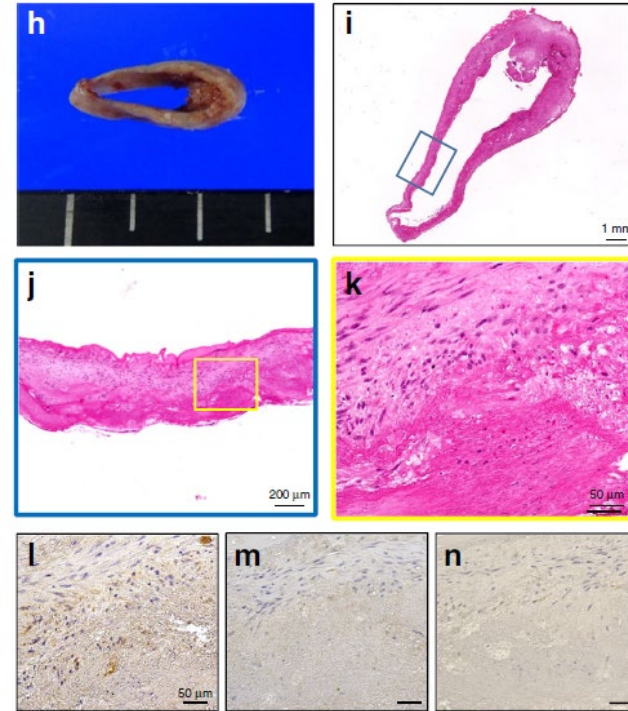
再生医療の観点から見た 大動物免疫抑制ブタモデル

免疫抑制剤投与モデル

Pros	簡便
Cons	十分な生着が認められていない

免疫関連臓器の摘出 + 免疫抑制剤投与

Pros	長期間ヒト由来組織が生着
Cons	モデル作出および維持飼育出来る施設が少ない



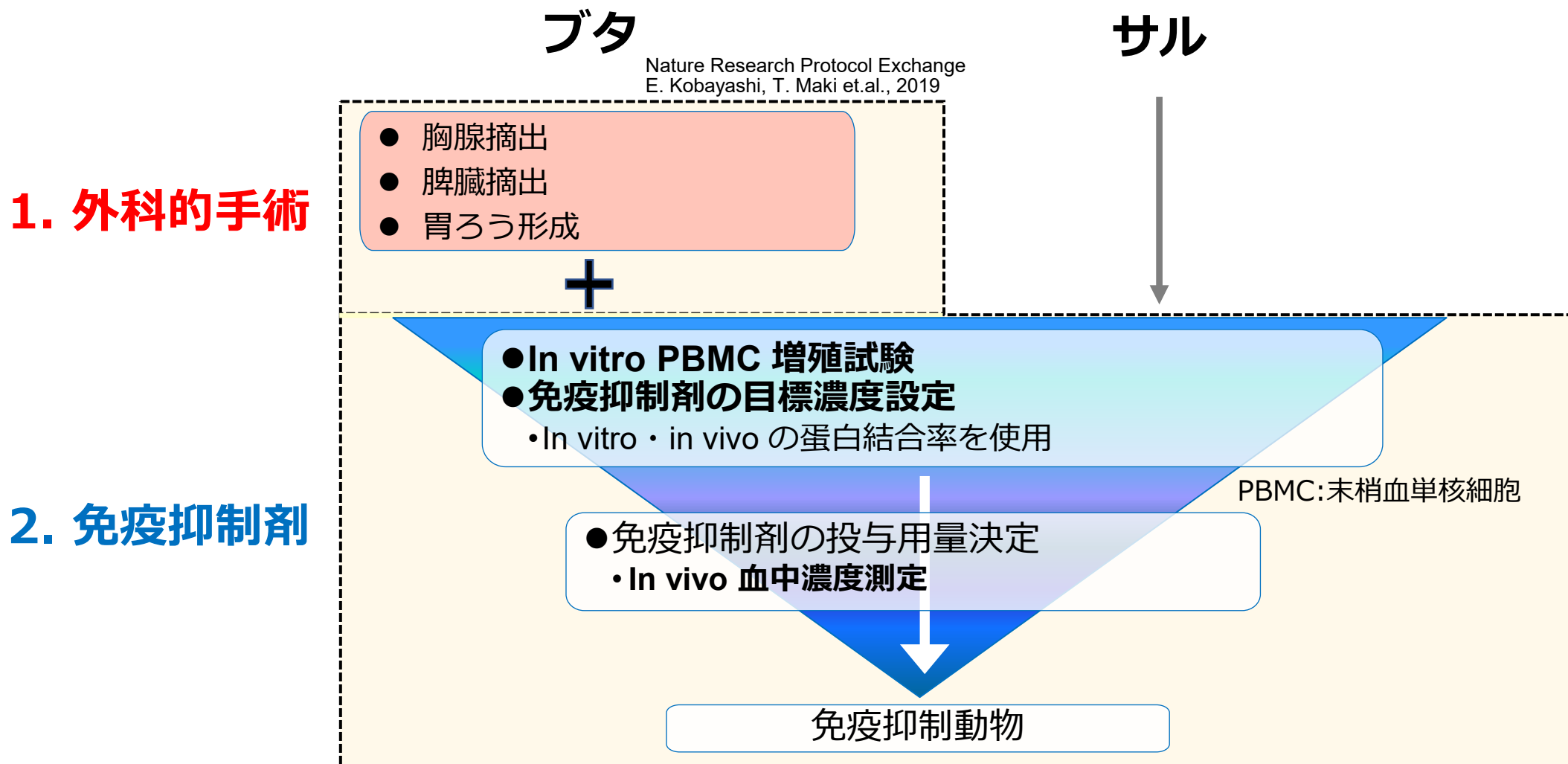
Nat. Commun. 2019;10(1):2244

弱

免疫抑制の程度(イメージ)

強

AXL 社における免疫抑制 ブタ/サルモデル の作製手法



テーラーメイド免疫抑制ブタ/サルモデルの構築

1. 外科的手術による免疫抑制

アドバイザー：小林 英司 先生 (慶應義塾大学)

免疫系臓器の摘出

■ 胸腺摘出

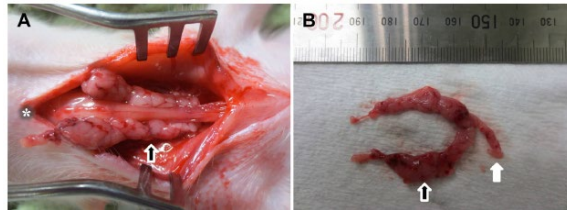
- 富士マイクラ社から胸腺摘出 MMP を購入
- AXL 社で GMP の胸腺摘出手術を実施



Transplantation Proceedings, 49, 153-(2017)

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,*}



■ 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

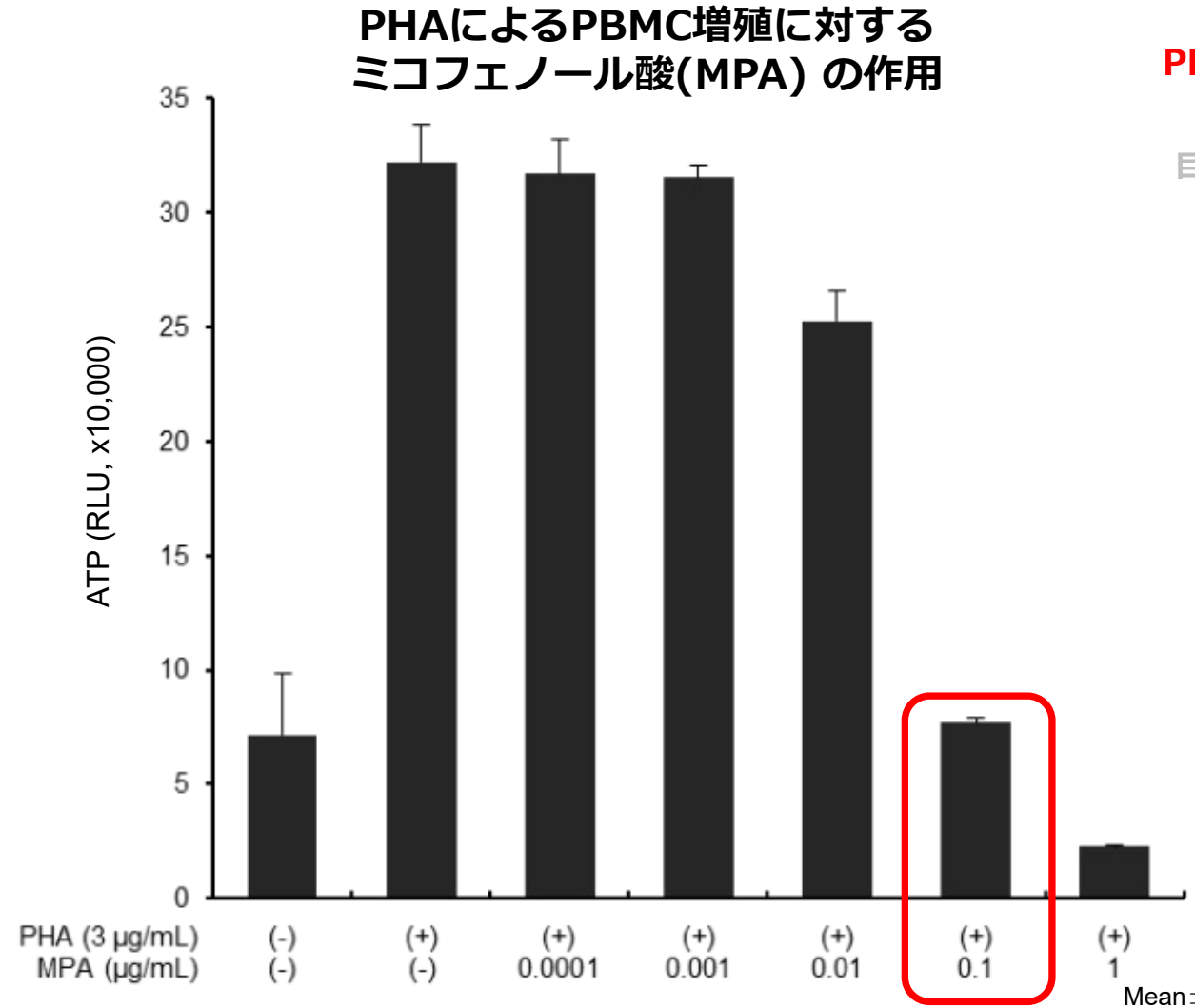
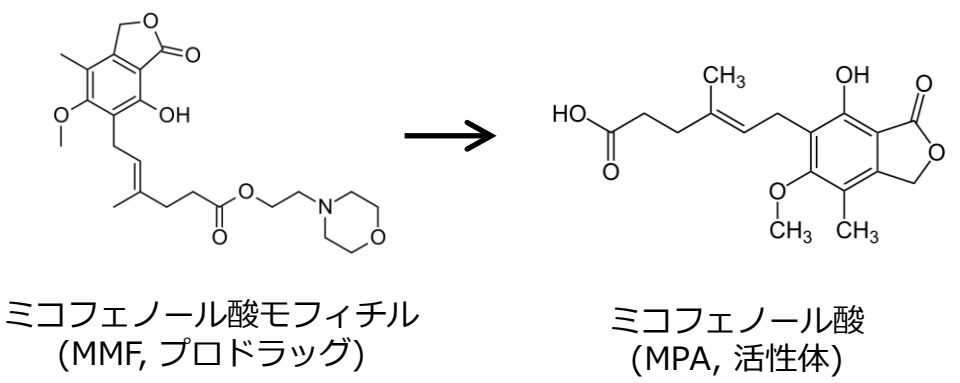
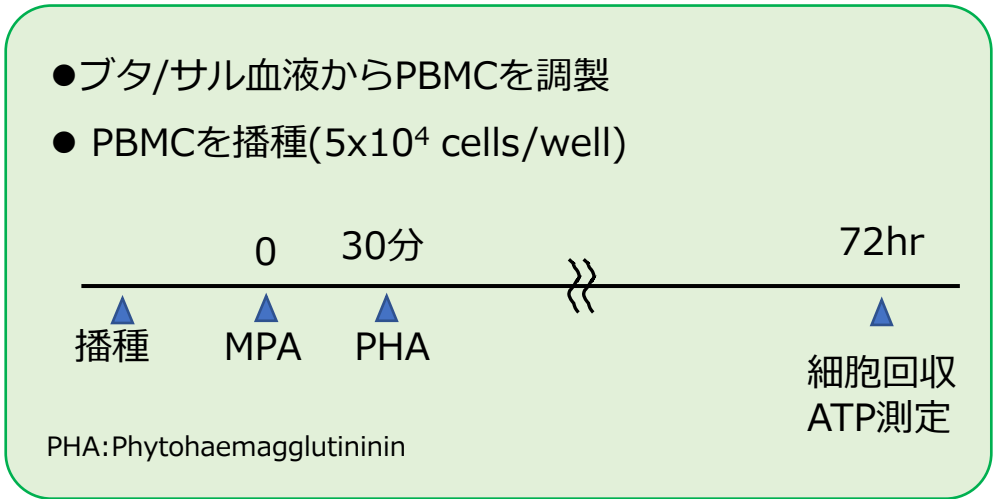
用途

- 薬物動態試験用の採血
- 体調不良時の点滴ライン

2. 免疫抑制剤による免疫抑制

=in vitro PBMC 増殖試験=

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



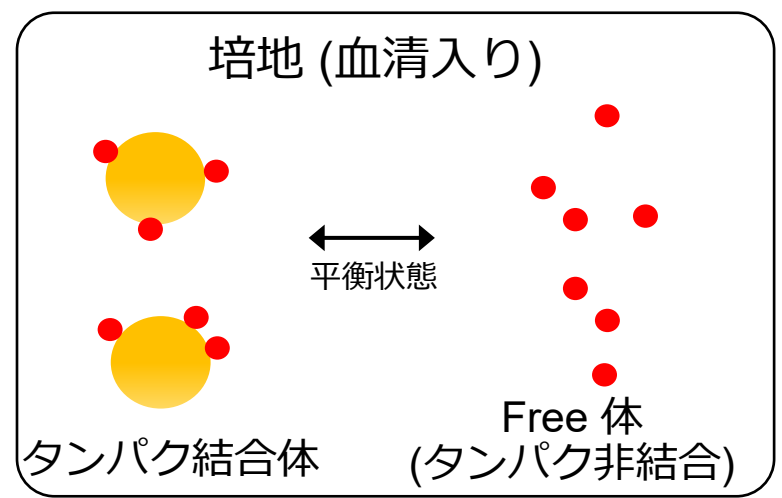
PHA による PBMC 増殖に対して MPA は 0.1 µg/mL で完全に抑制した

無断転載禁止

2. 免疫抑制剤による免疫抑制_in vivo における目標血中濃度の予測



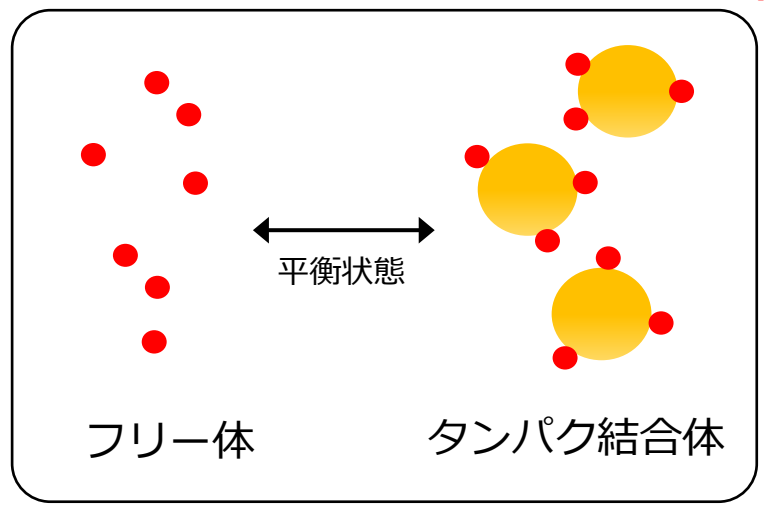
PBMC 増殖試験での有効性濃度算出



培地中 濃度 (μg/mL)	
Total conc.	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



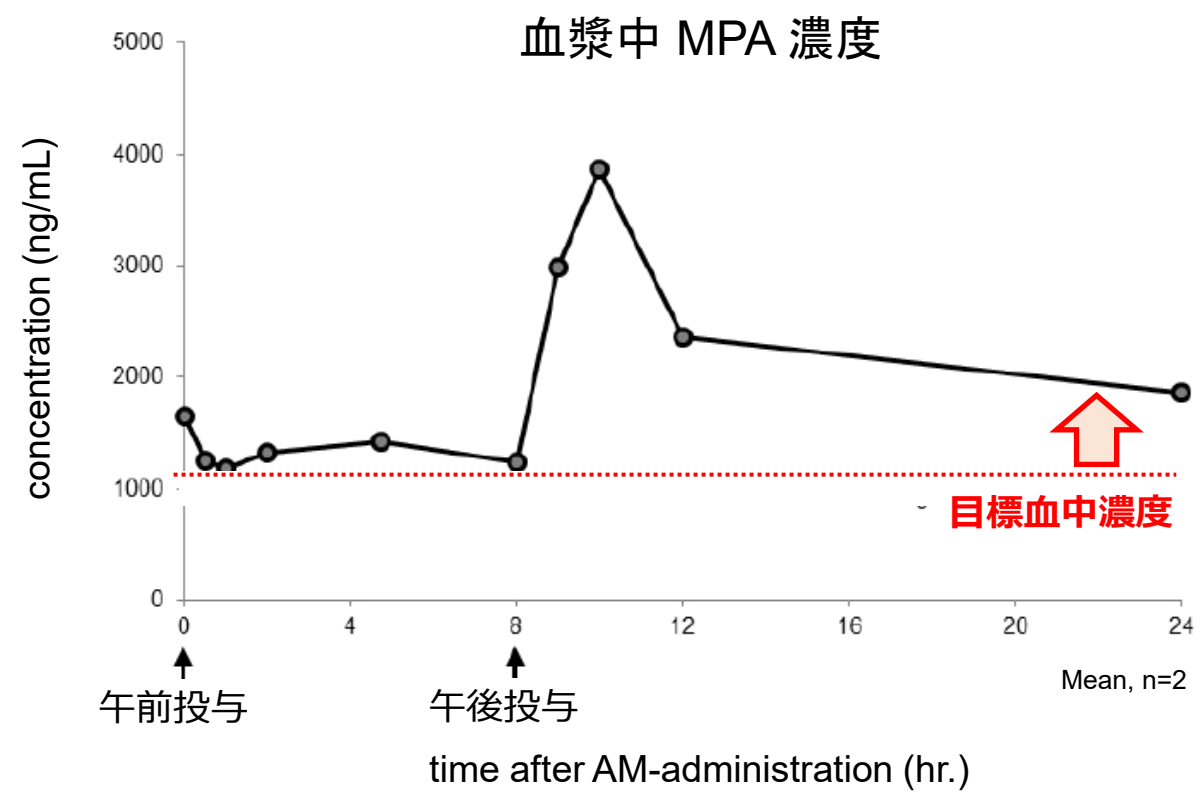
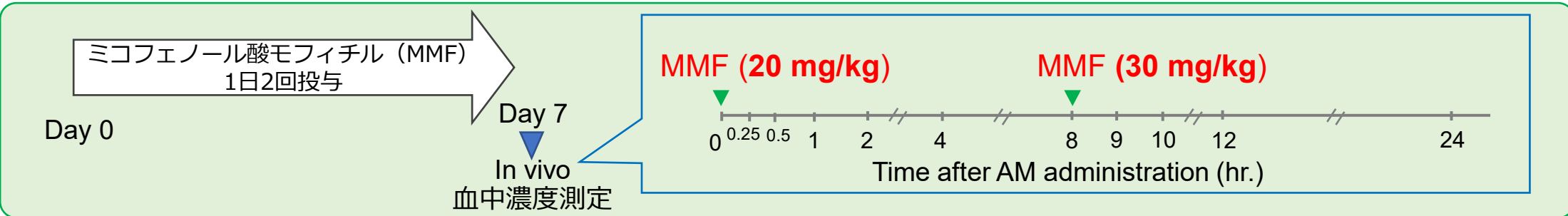
血漿中濃度 (μg/mL)	
Free 体	Total conc.
0.059	1.18

$fu:0.05$
Total = protein-bound drug + free drug



血漿中ミコフェノール酸の目標値を **1.18 μg/mL** と決定

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



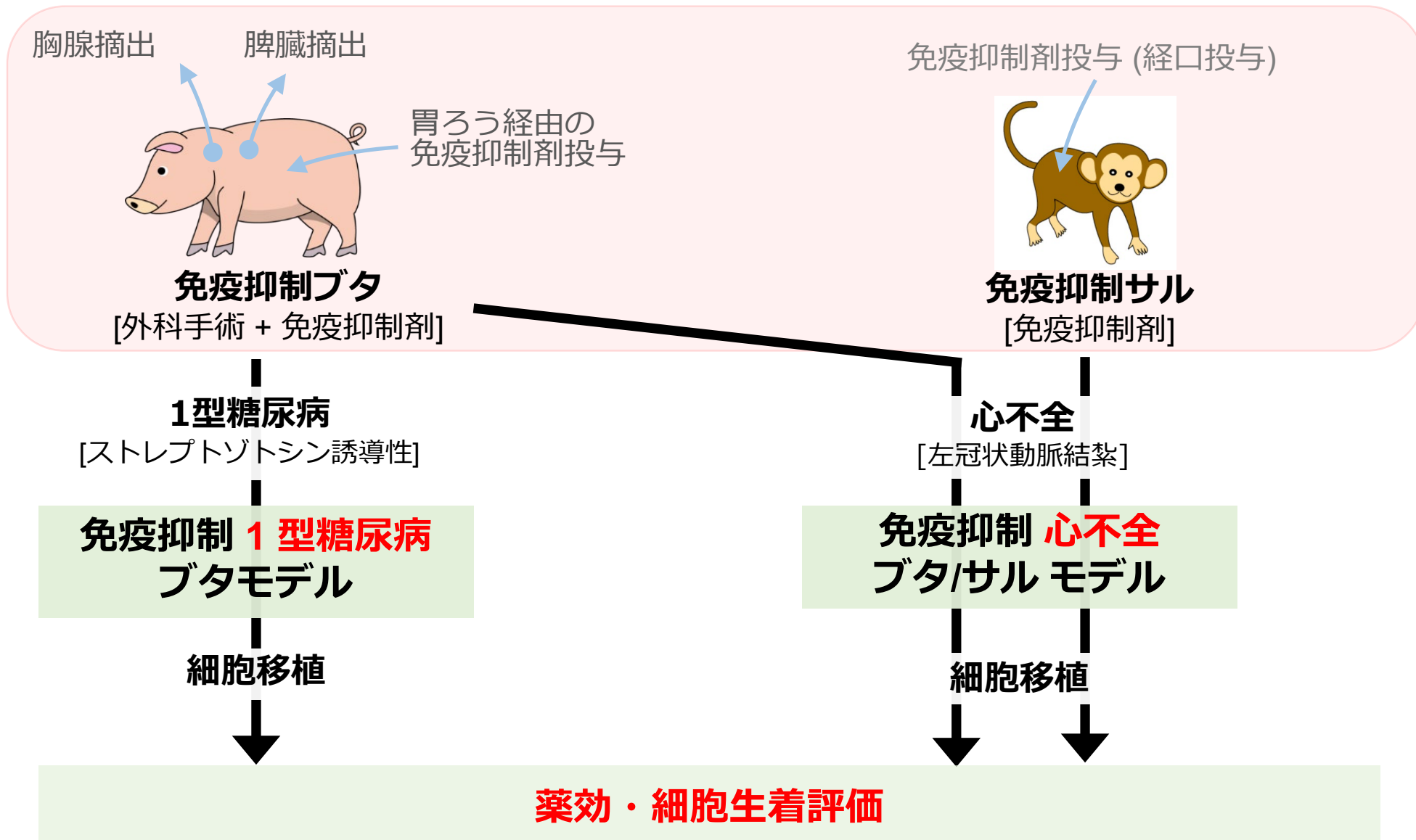
Nature Research Protocol Exchange
E. Kobayashi, T. Maki et.al., 2019

無断転載禁止

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



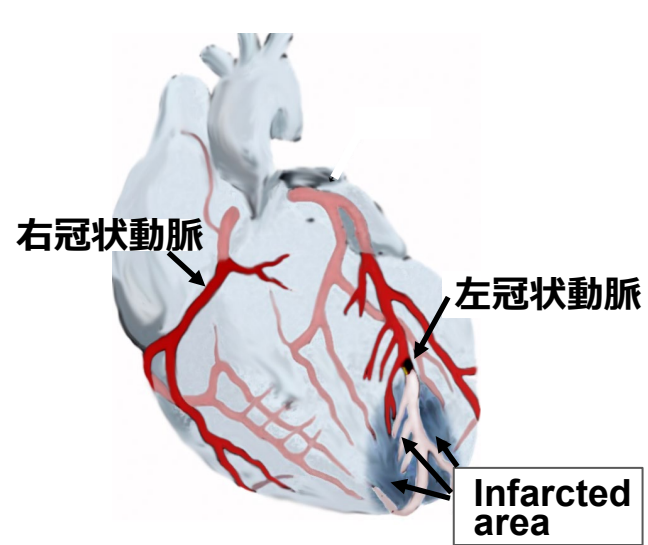
AXL 社における免疫抑制動物モデルを用いた 薬効・細胞生着評価試験



心不全ブタモデル_3D Echoを用いた心機能評価

Left coronary artery ligation in pig

- ↓
- ✓ Myocardial infarction
- ✓ Decrease in ejection fraction after the surgery

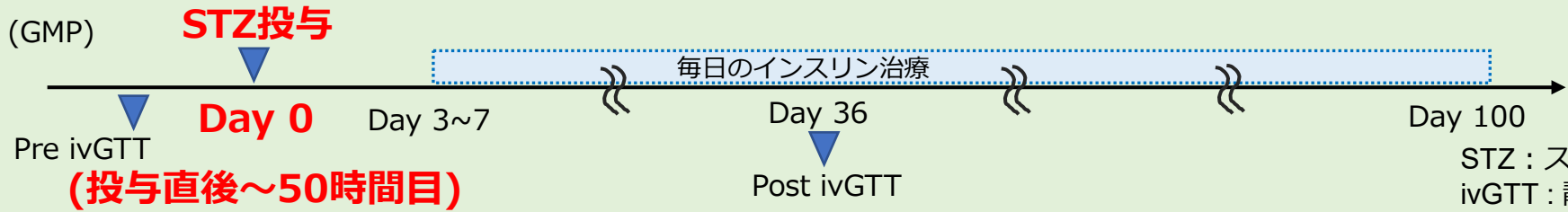


3D Echo (Aplio i900)

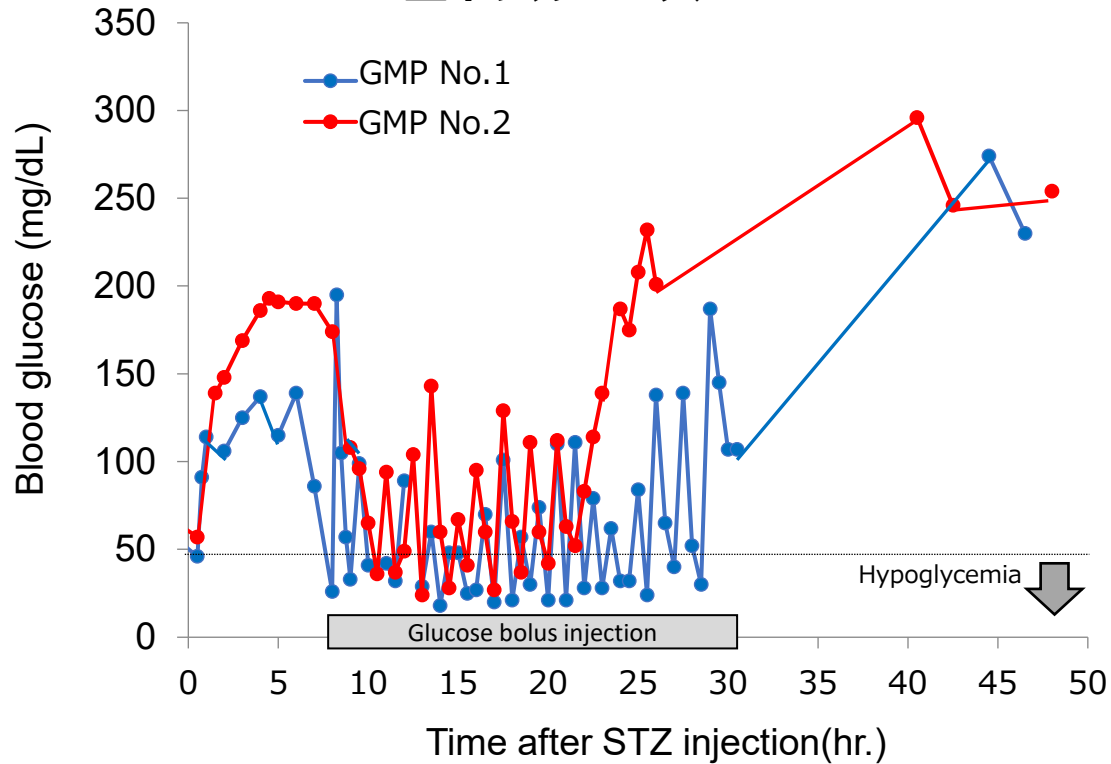
	Normal [before myocardial infarction]	Heart failure [35days after myocardial infarction]
Apical 4-Chamber		
3D Plastic BAG		
Area strain curve	 EF: 57.95%	 EF: 41.36%

1型糖尿病ブタモデル_STZ投与後、低血糖から高血糖までの推移

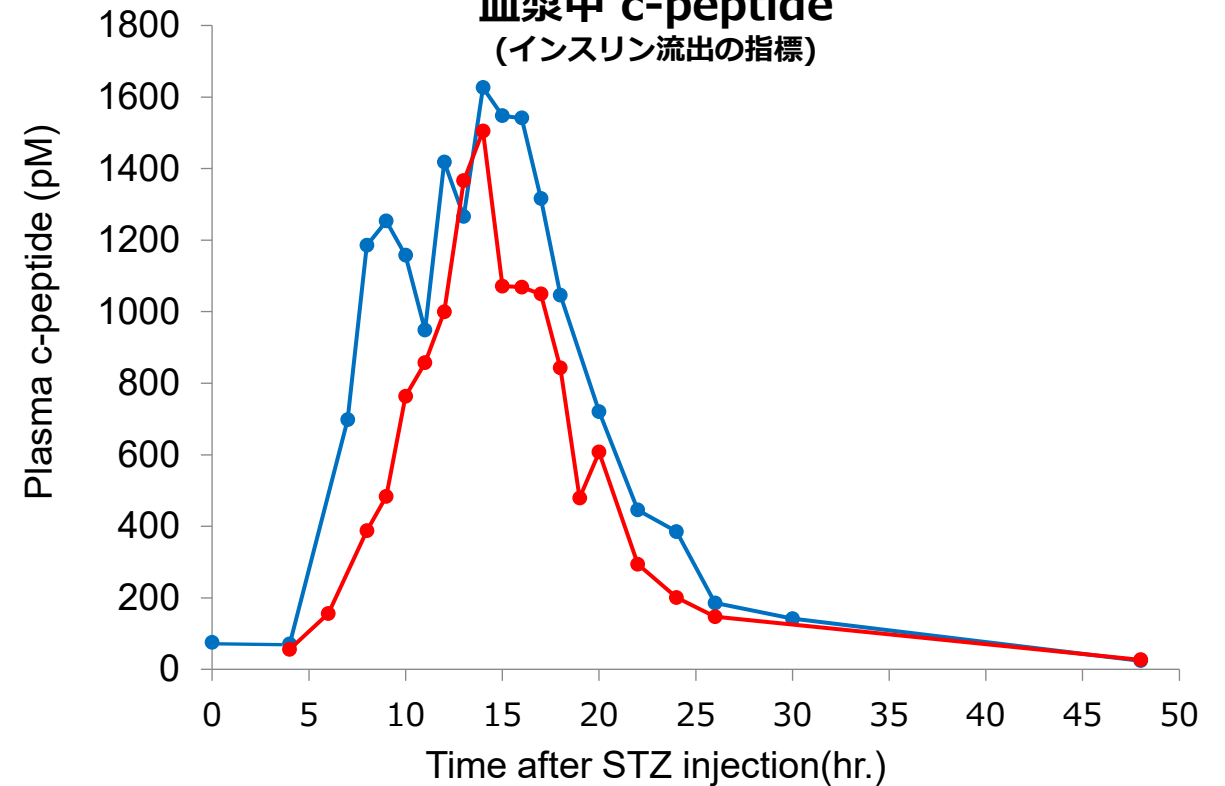
動物：ゲッチングミニブタ (GMP)
体重：15kg



血中グルコース



血漿中 c-peptide (インスリン流出の指標)



1型糖尿病ブタモデル_STZ投与後、100日目までの推移

動物：ゲッチンゲンミニブタ (GMP)
体重：15kg

STZ 投与

Day 0

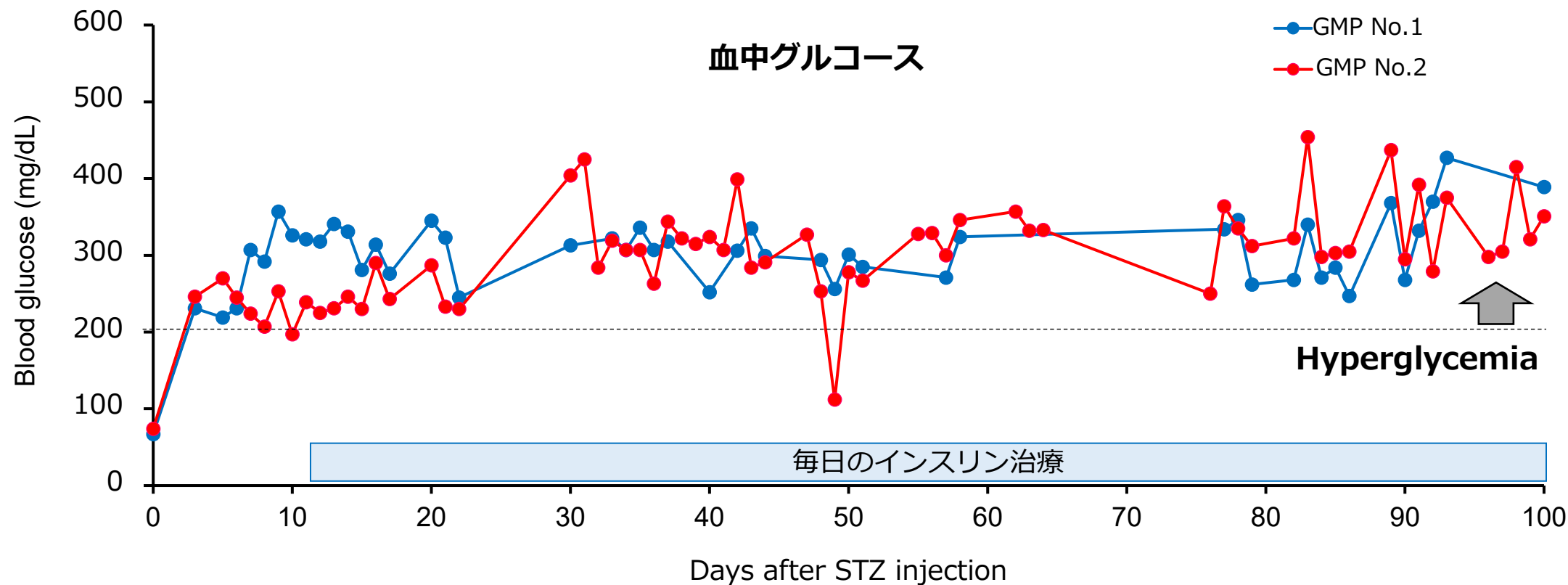
Day 3~7

毎日のインスリン治療

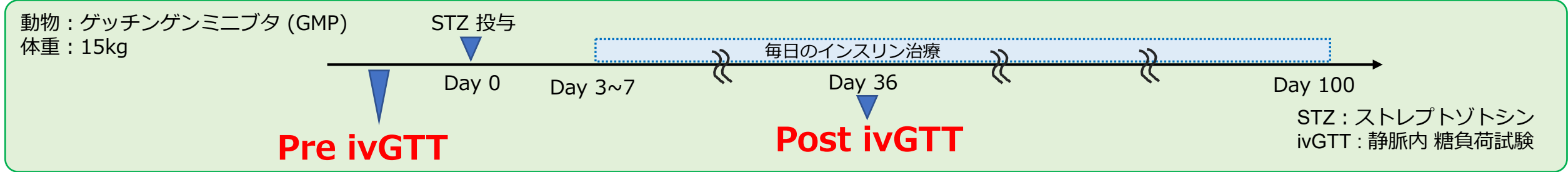
Day 36

Day 100

STZ : ストレプトゾトシン
ivGTT : 静脈内 糖負荷試験

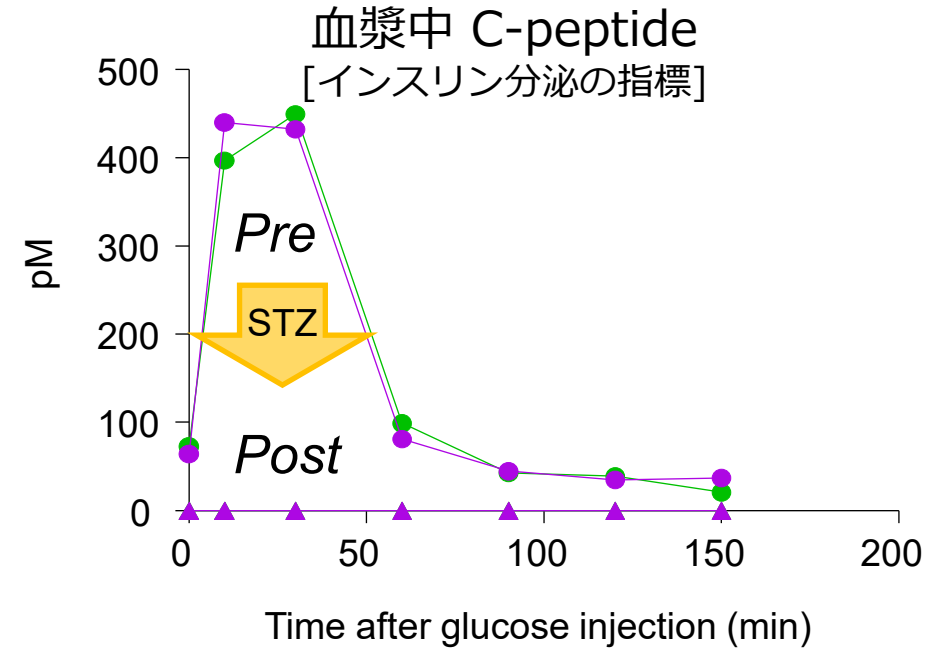
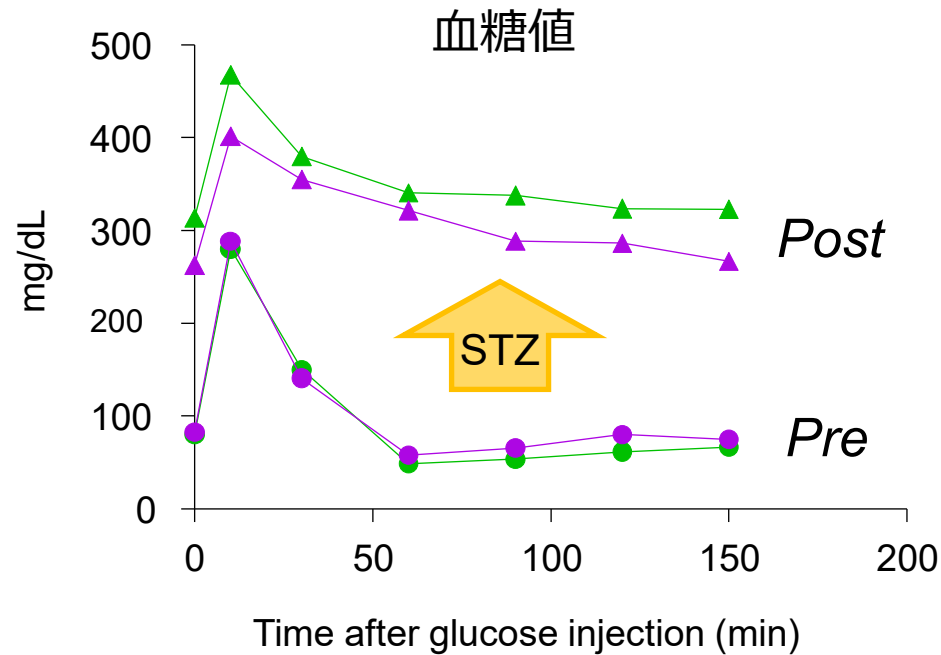


1型糖尿病ブタモデル_STZ投与前後の 静脈内糖負荷試験 (ivGTT)



ivGTT (STZ 処置前および処置後)

- Pig 1 } STZ 投与前
- Pig 2 } STZ 投与前
- ▲ Pig 1 } STZ 処置 36 日目
- ▲ Pig 2 } STZ 処置 36 日目



再生医療等製品の開発における前臨床試験の問題点とその解決策

▶小動物試験のみではヒトへの外挿性が低い

⇒ **免疫抑制大動物モデルを活用**

- 大動物を用いた薬効薬理試験を実施可能な人材不足
- 大動物を用いた免疫抑制モデル作製のノウハウ不足



再生医療分野でより外挿性の高い免疫抑制大動物モデルを用いてヒト細胞の生着評価・前臨床薬効薬理試験が可能となり、臨床試験での成功確率が向上が期待できる

Acknowledgement

京都大学 iPS 細胞研究所 CiRA

吉田 善紀
豊田 太郎

慶応義塾大学医学部臓器再生医学寄附講座

小林 英司

武田薬品工業株式会社 T-CiRAディスカバリー

田村 憲久
西本 誠之

山崎 緑
伊藤 亮

富士マイクラ株式会社

佐竹 典明

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社

伊井 雅幸
池畑 農
大塚 博比古
金子 まなみ
北浦 智規

佐野 典康
林 良太
濱田 輝基
向谷 茉耶
吉岡 豊晃

敬称略、50音順