

2024年3月12日

再生・細胞医療・遺伝子治療 ～AMED～ 新技術説明会

生体模倣システムのための 高汎用型流体プラットフォーム

木村 啓志

東海大学 マイクロ・ナノ研究開発センター 教授

東海大学 工学部 生物工学科 教授（兼任）

東海大学 工学部 機械工学科 教授（兼任）

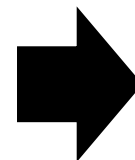
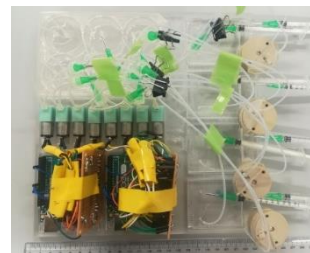


従来技術とその問題点

創薬分野での応用が進んでいる**生体模倣システム**

(Microphysiological system: MPS) として既に実用化されているものには、培養液を灌流しながら細胞培養するための送液方法として、**空気圧駆動**や**ペリスタルティックポンプ駆動**などがあるが、

- チューブ配管操作の煩雑性
– 使いにくく、スループットが低い
- システムが高価（数百万～数千万円）かつ大型
- 細胞観察が困難



等の問題があり、広く利用されるまでには至っていない。

創薬における課題

非臨床試験

薬物動態・薬理薬効・安全性の評価

動物実験(= in vivo)



- 臓器間相互作用評価



- 種差問題
- 倫理問題
- 低スループット・コスト大

細胞アッセイ(= in vitro)



- 高スループット・コスト小
- 倫理問題回避



- 臓器間相互作用の欠落
- 低機能活性

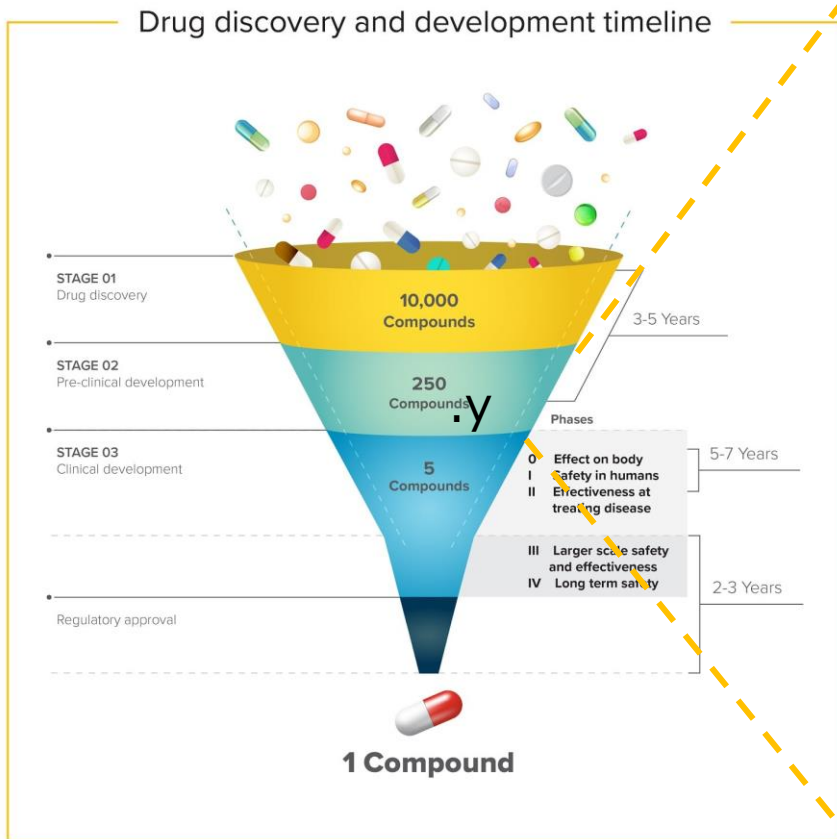
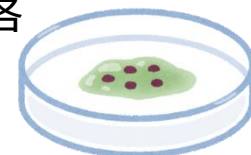


Image source: <http://www.ourgenome.org>

生体模倣システム : Microphysiological Systems (MPS)

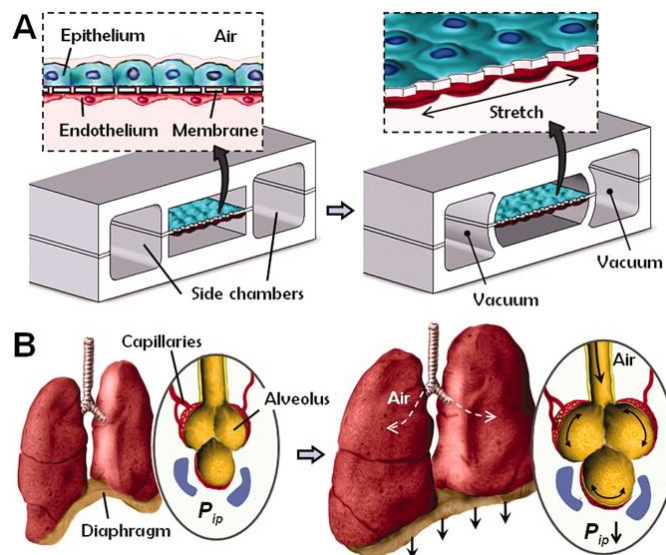


Image source: Huh D., *Science* 328, 2010

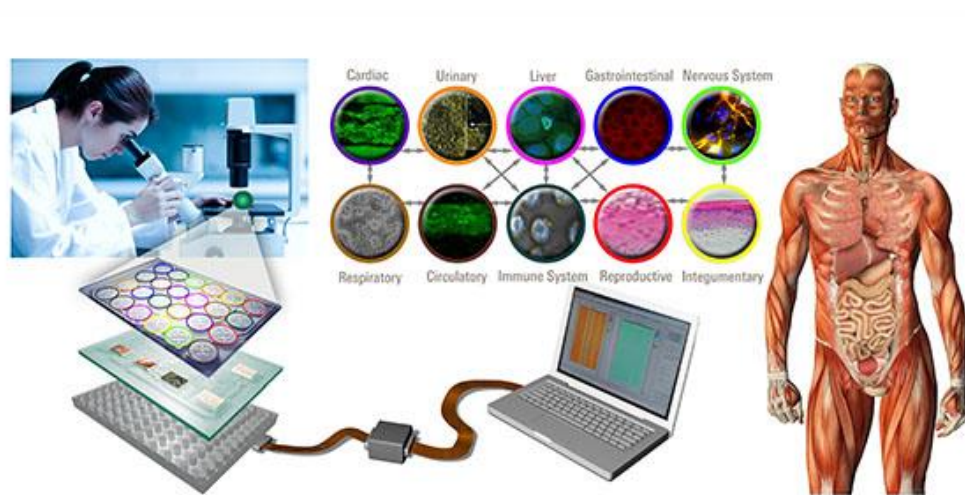


Image source: <https://www.darpa.mil/>

Microphysiological systems (= in vitro)

マイクロ・バイオエンジニアリングを
活用して生理的環境を再現

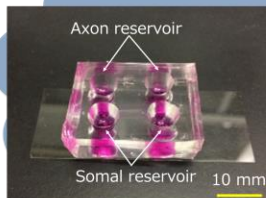
- 機械的伸縮動作
- せん断応力負荷
- 微小足場構造の再現
- 複数臓器集積化



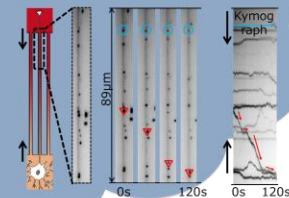
- 倫理問題の回避
- 臓器間相互作用評価の応用
- 高スループット・コスト小
- 細胞活性の維持・向上

◆ Microphysiological systems

ALS model

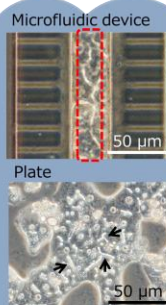
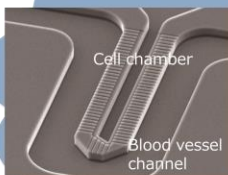


Amyotrophic Lateral Sclerosis disease model



BMF, 2019;
J. Neurosci. Res., 2021

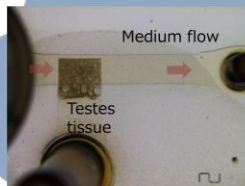
Liver model



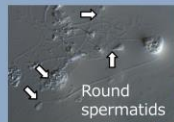
Hepatic cords structure

BMF, 2011

Testes model



Long-term testis tissue culture

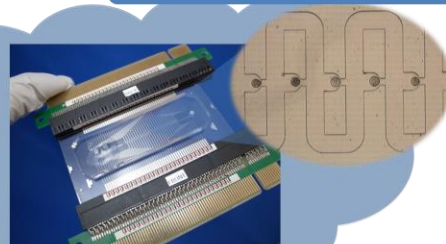


Sci Rep, 2016
Sci Rep, 2017
BBRC, 2018
Reprod Med Biol, 2019
Sci Rep, 2021
Sci Rep, 2023



Embryo production system with sperm sorter

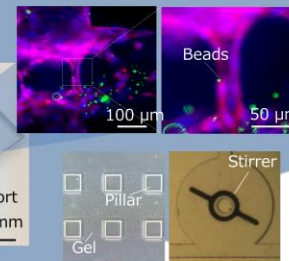
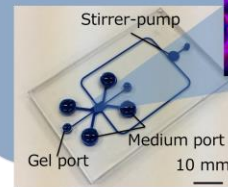
Ovary/uterus model



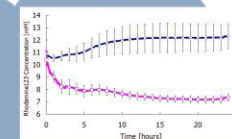
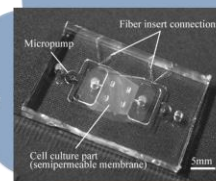
Automated embryo culture system

Stroke model

Brain Blood Barrier in collagen gel with perfusion



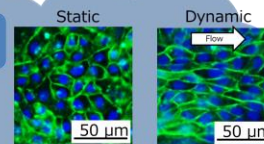
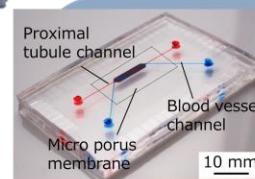
Gut model



Real-time measurement of membrane transporter function

Lab Chip, 2008; **IEEE J**, 2009

Kidney model

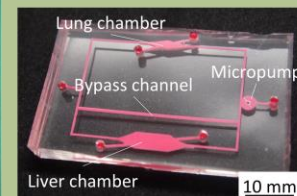
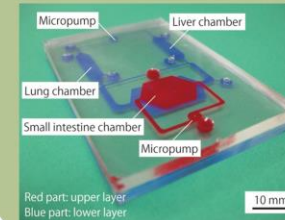


Proximal tubule structure model for toxicity assay

BMF, 2018; **BMF**, 2020;
BBRC, 2021, **Lab Chip**, 2023, 2024

Multi-organ model

Evaluation of organ-organ interactions



JBB, 2011, 2014; **JALA**, 2015; **BMF**, 2020; **Sci Rep**, 2021; **Micromachines**, 2021

Body on-a-Chip

Hesperos*



Michael Shuler
James Hickman

Multi-Organ Chip
(2, 4 organs)
(5-10 organs)*

cnBio
innovations



Linda G Griffith

LiverChip®
LiverChip® 36

TSSUSE
Emulating Human Biology



Uwe Marx

2-Organ-Chip (2-OC)
4-Organ-Chip (4-OC)
Human-on-a-Chip
(HoC)*

DRAPER



Joseph Charest

Microphysiological
Systems

Tissue interface on-a-Chip

emulate



Donald Ingber

Lung on-a-Chip
Airway on-a-Chip
Gut on-a-Chip
Kidney on-a-Chip
Bone Marrow on-a-Chip

MIMETAS
the organ-on-a-chip company



Jos Joore
Paul Vulto
Thomas Hankemeier

OrganoPlates®

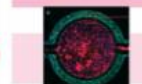
AlveoliX
In-vitro models inspired by nature



Olivier Guenat

Lung-on-a-chip array

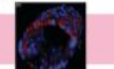
SYNVIVO



Kapil Pant
B. Prabhakar Pandian

SynTumor
SynBBB
SynRAM
SynTox

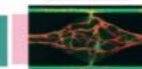
NORTIS



Thomas Neumann

Kidney on-a-Chip
Vessel on-a-Chip

Bio
ADDITION BIOSCIENCES



G. Wesley Hatfield
Christopher Hughes
Steven George
Abraham Lee

Vascularized
micro-organ
(VMO) platform

Quorum



Axel Guenther

Artery on-a-Chip

AIM
BIOTECH



Roger Kamm

3D cell culture chips

Parenchymal tissue on-a-Chip

Hepregen



Sangeeta Bhatia

HepatoPac®
HepatoMune™

TARA



Milica Radisic
Gordana Vunjak-Novakovic

Cardiac Biowire™ II
AngioChip*

organovo™



Gabor Forgacs
Keith Murphy

ExVive3D™ Liver
ExVive3D™ Kidney*

μOrgano



Kevin Healy

μOrgano

Aspect
biosystems



Tamer Mohamed
Konrad Walus
Sam Wadsworth
Simon Beyer

Lab-on-a-Printer™
3DBioRing™ Airway

EHT
Technologies



Thomas Eschenhagen

Engineered Heart
Tissue (EHT)

insphero



Jan Lichtenberg
Jens M. Kelm
Wolfgang Moritz

3D Insight™ Liver
3D Insight™ Islet
3D Insight™ Tumor

myriamed



Wolfram-Hubertus
Zimmermann

3D Cardiac Systems

3D Biomatrix™
Three-Dimensional Cell Culture



Nicholas Kotov

PERFECTA3D®
HANGING DROP
PLATES

AxoSim



Michael Moore

Nerve-on-a-Chip™

HuREL
CORPORATION



Greg Baxter
Robert Freedman

HuREL human™
HuREL flux™
HuREL Tox™
HuREL flow™

xona
MICROFLUIDICS



Noo Li Jeon
Carl W. Cotman
Anne Taylor

Standard /
Triple Chamber
Neuron Device

KIYATEC®



Matthew R. Gevaert

3DKUBE™

Micr+Brain BT



Bernadette Bung

Neuronal Diode

VAXDESIGN



William L. Warren

MIMIC® Technology

Jananda



Margaret Magdesian

Neuro Device

Image source: Zhang B., *Lab Chip* 17, 2017

我が国におけるMPSプロジェクト（AMED-MPS事業） （第一期事業：2017-2021年度）（第二期事業2022-2026年度）



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
Japan Agency for Medical Research and Development

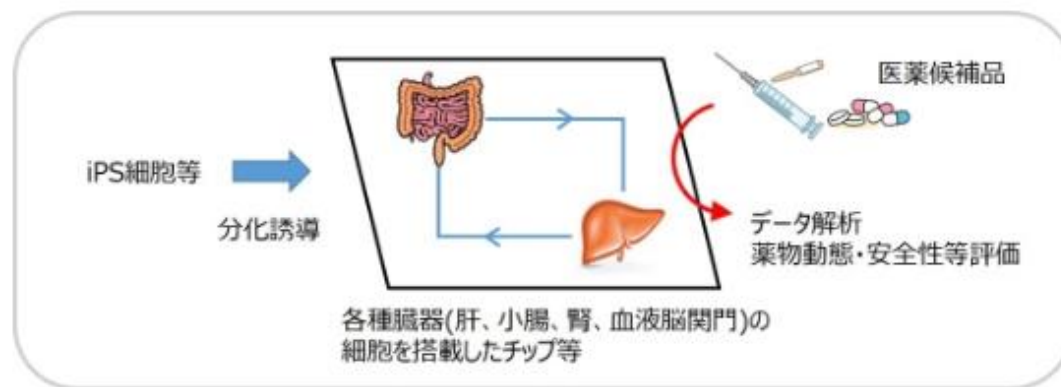
再生医療研究課

再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業（再生医療技術を活用した創薬支援基盤技術の開発）

これまで文部科学省・厚生労働省・経済産業省による3省連携プロジェクト「再生医療実現プロジェクト」においては、iPS細胞等を用いた創薬支援ツールの開発を促進し、新薬開発の効率化を図るための研究支援を実施してきました。

そこで本事業では、それらの成果を活用し、iPS細胞等から分化誘導される細胞を培養しチップ等のデバイス上に搭載することでOrgan(s)-on-a-Chipシステムを構築し、医薬候補品の安全性や薬物動態等を評価する基盤技術の開発を目指します。

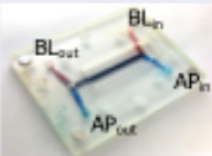
具体的には、チップ等のデバイス上で各種臓器細胞を立体培養・共培養する高度な技術を駆使し、これまで成し得なかった培養モデルを構築します（項目2-1、2-2）。その培養技術を産業化可能なデバイス作製技術へと応用します（項目1）。さらに、構築されたデバイス上での細胞培養手法を検証し基準を設定する（項目3）ことにより、医薬候補品の安全性や薬物動態等が評価可能な新規の創薬基盤技術の確立を目指します。



事業イメージ図

出展：<https://www.amed.go.jp/>

AMED-MPS事業で製品化検討中のMPSデバイス

概要								
名称 (仮称)		設計/製造 関連デバイス製造	構造	開発対象臓器				特徴
				肝	腸	BBB	腎	
松永デバイス		名古屋市立大学 松永研 /伸晃化学 (株)	2臓器連結	◎	◎			2臓器連結アッセイの他に膜系組織・臓器のアッセイにも応用可能。 - 市販の5種類のインサートに適用可能。 - ポンプ駆動を採用。 - サイズはSBS規格に準拠。
木村デバイス Fluid3D-X (フルードスリーディクロス)		東海大学 木村研 /東京応化工業 (株)	膜上下 実験例 ・せん断応力負荷 ・上皮・内皮細胞共培養 ・AP-BL物質移動の経時観察	◎	◎	◎	◎	- チップ素材としてプラスチックを使用し低収着性を実現 - TOK独自プロセスにより高い設計自由度を実現 - 低細胞毒性、良好な観察性 (蛍光・位相差)を実現
		産総研						
PD-MPS		/住友ベークライト (株) 関連デバイス製造 (株) 島津製作所・ (株) SCREEN ホールディングス	2臓器連結	◎	○			- 流路デザイン、搭載インサートの組換えにより様々な臓器アッセイに対応可能な、プラットフォームデバイス。 - 圧力駆動による閉鎖系送液が可能。
			膜下フロー		◎	◎		
酒井・木村 デバイス (On-chipポンプ 型MPSデバイ ス)		東京大学 酒井研・東 海大学 木村研 /住友ベークライト (株)	2臓器連結	◎	○			- 各種培養器材 (インサートやセルデスク) の組換えにより様々な臓器アッセイに対応可能な、臓器ブロック型プラットフォームデバイス。 - デバイス内臓スターラー式ポンプ駆動による灌流培養可能。 - ウェル底面を酸素透過性材料、ハニカム構造材等へ変更可能

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス誌Vol.53 No.5 P390 Fig2を引用し一部改変

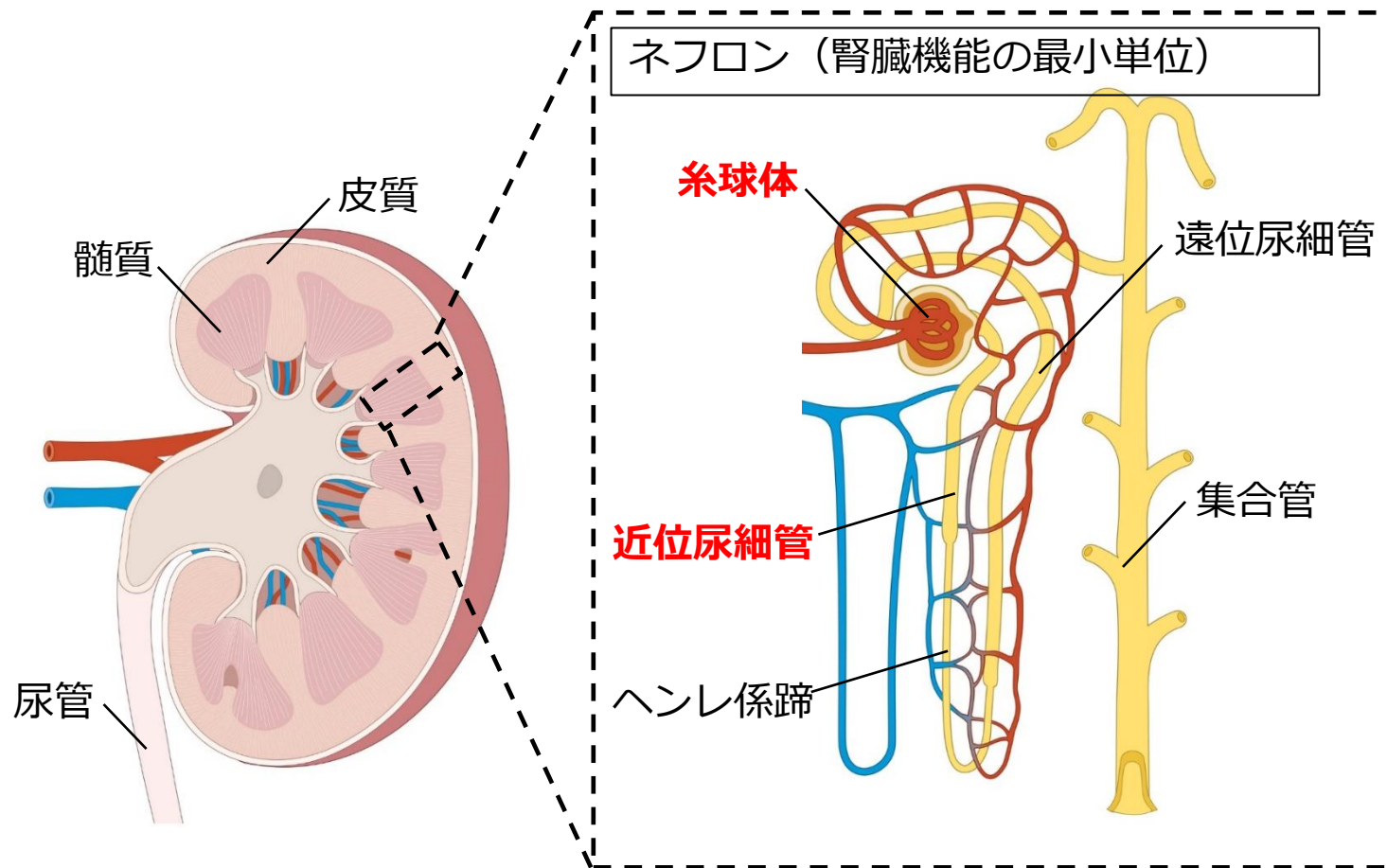
再生医療・遺伝子治療の産業化に向けた基盤技術開発事業
「再生医療技術を応用した創薬支援基盤技術の開発」
(第一期：2017～2021年度)

Kidney-MPS

腎臓の近位尿細管モデルとしてのProximal tubule-on-a-chip

共同研究者：
藤井輝夫（東大生研）
南学正臣（東大医）
（株）ニコン
東京応化工業（株）
SCREEN HD（株）（ほか）

腎臓の構造と機能



腎臓の働き: ①老廃物をろ過して尿を作る、②体内の水分量やイオンバランスを調節する、③血圧を適正に制御する、④造血ホルモンを分泌して赤血球をつくる、⑤ビタミンDを活性化させる

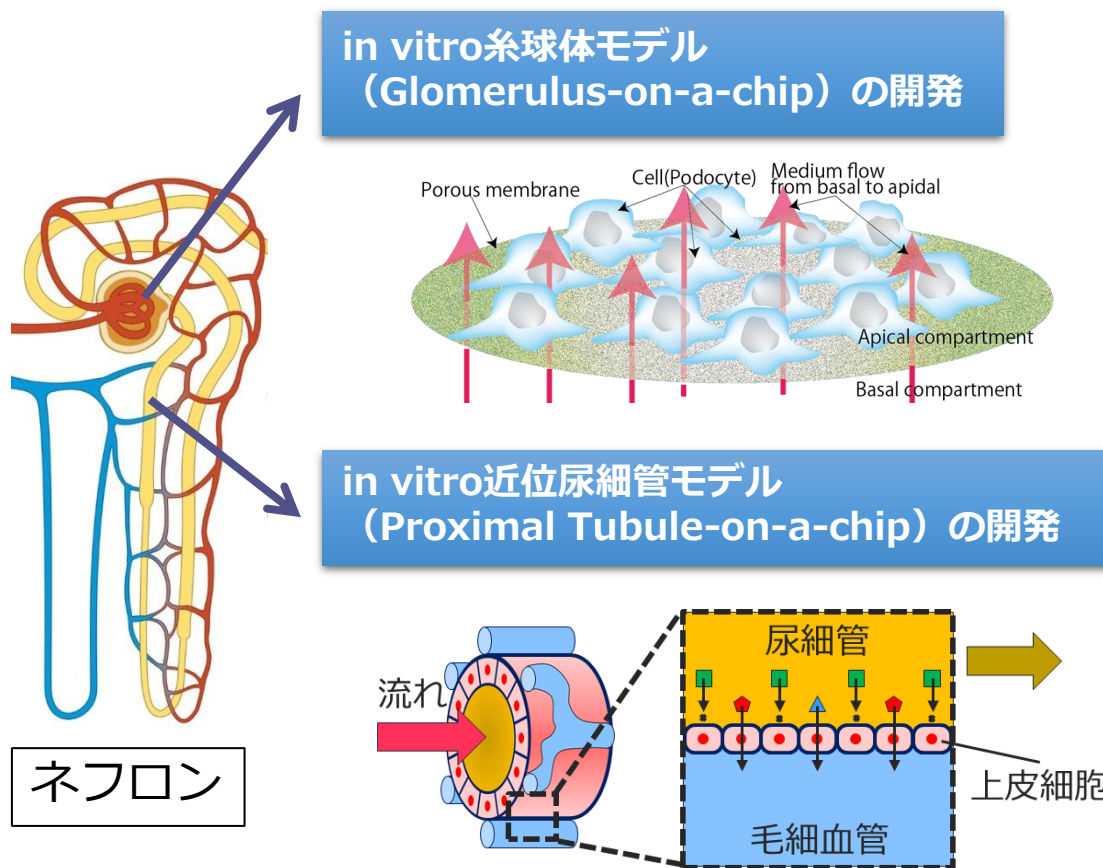
創薬における高次in vitro評価系としてのKidney-MPS

創薬における腎臓評価のニーズ：

- ◆ 腎毒性評価
- ◆ 薬物代謝・排泄機能評価
- ◆ 腎疾患モデル

問題点：

- in vitro系で有用な評価系がない
- 実験動物とヒトとの種差



非侵襲三次元観察自動化 細胞培養システムの構築



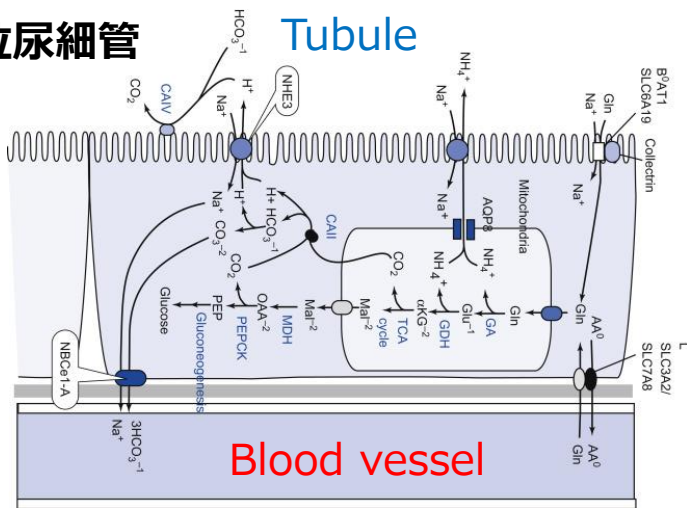
細胞培養観察装置
BioStation CT (Nikon)

- 非侵襲三次元観察システムの構築と実装
- デバイス観察に最適化された観察自動化培養システム

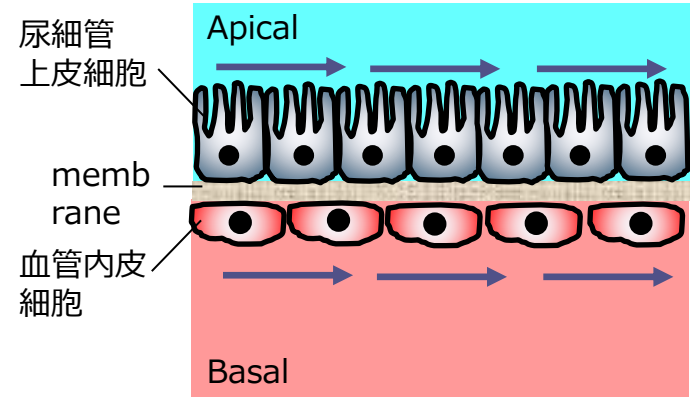
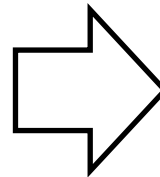
Proximal tubule-on-a-chip

近位尿細管

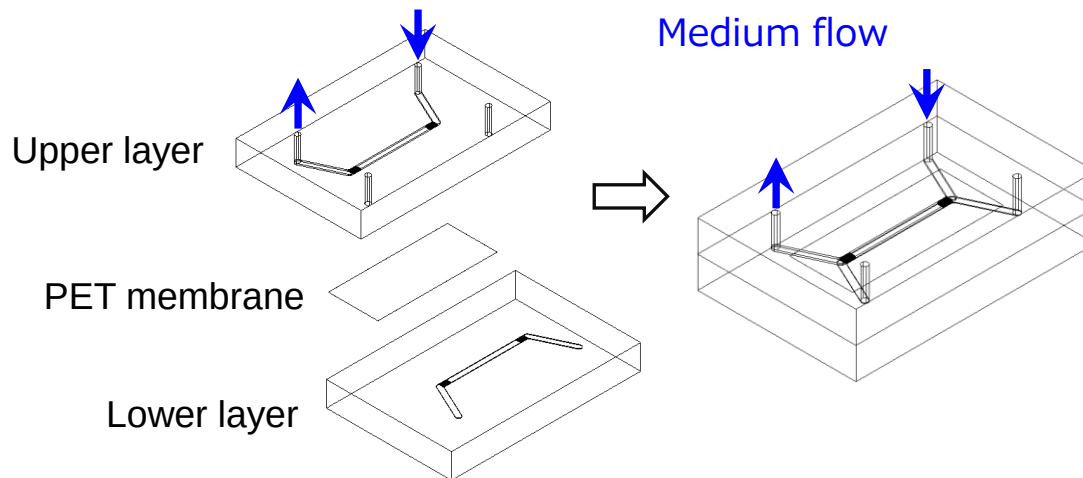
Tubule



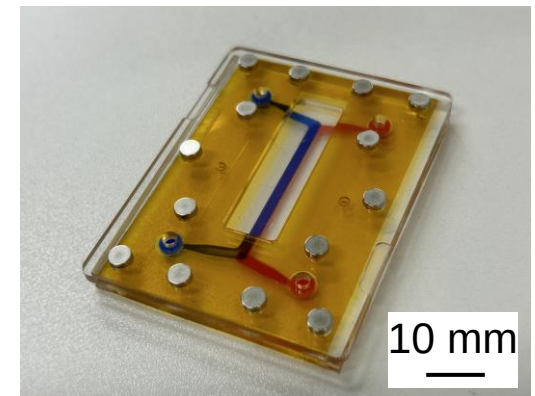
Modeling



Quantitative Human Physiology (Second Edition), 2017, 752-764

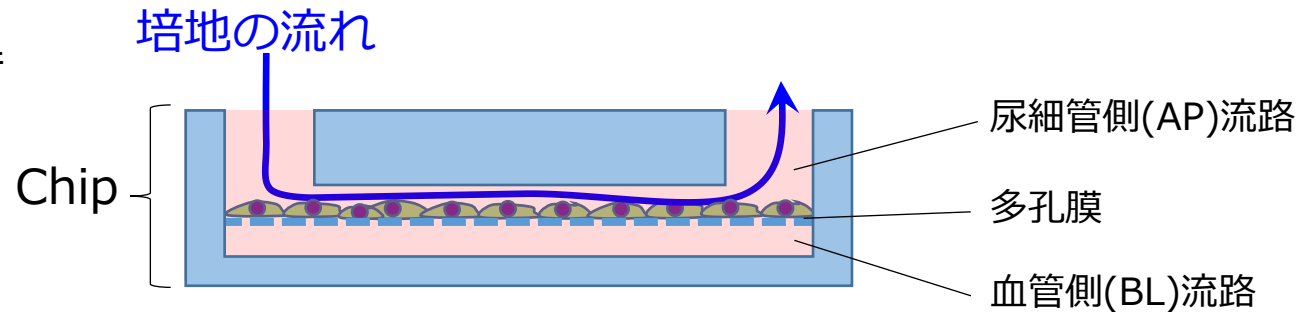


Blue: AP channel
Red: BL channel

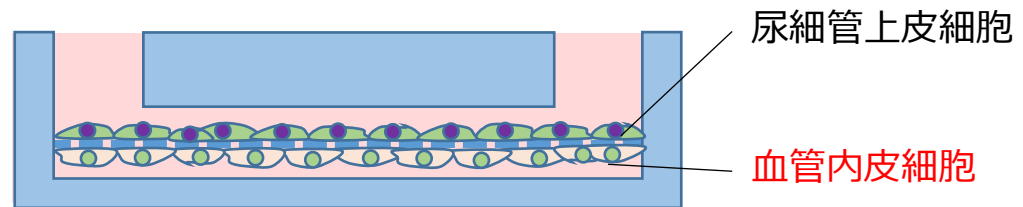


膜型チップで実施可能な実験例

1. せん断応力負荷

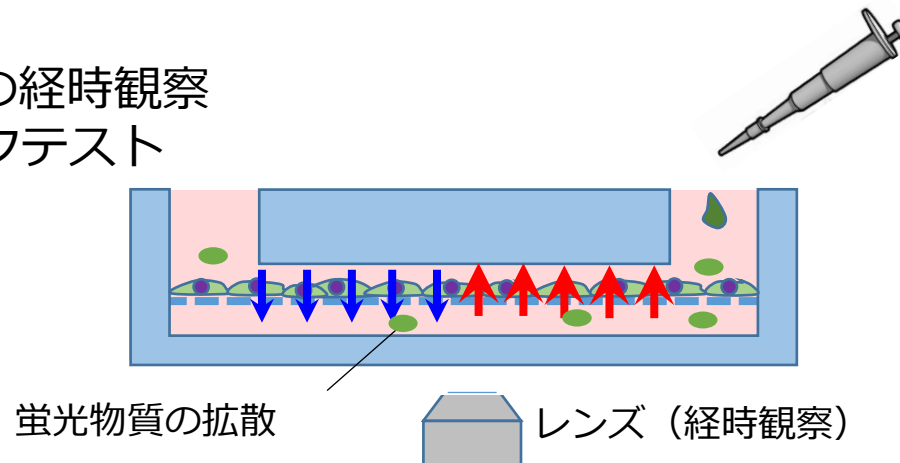


2. 上皮・内皮細胞共培養



3. AP-BL物質移動の経時観察

- 毒性評価のリークテスト
- 再吸収評価
- 分泌評価



6 well plate
(medium tank)

Bubble
trap

8 pumps

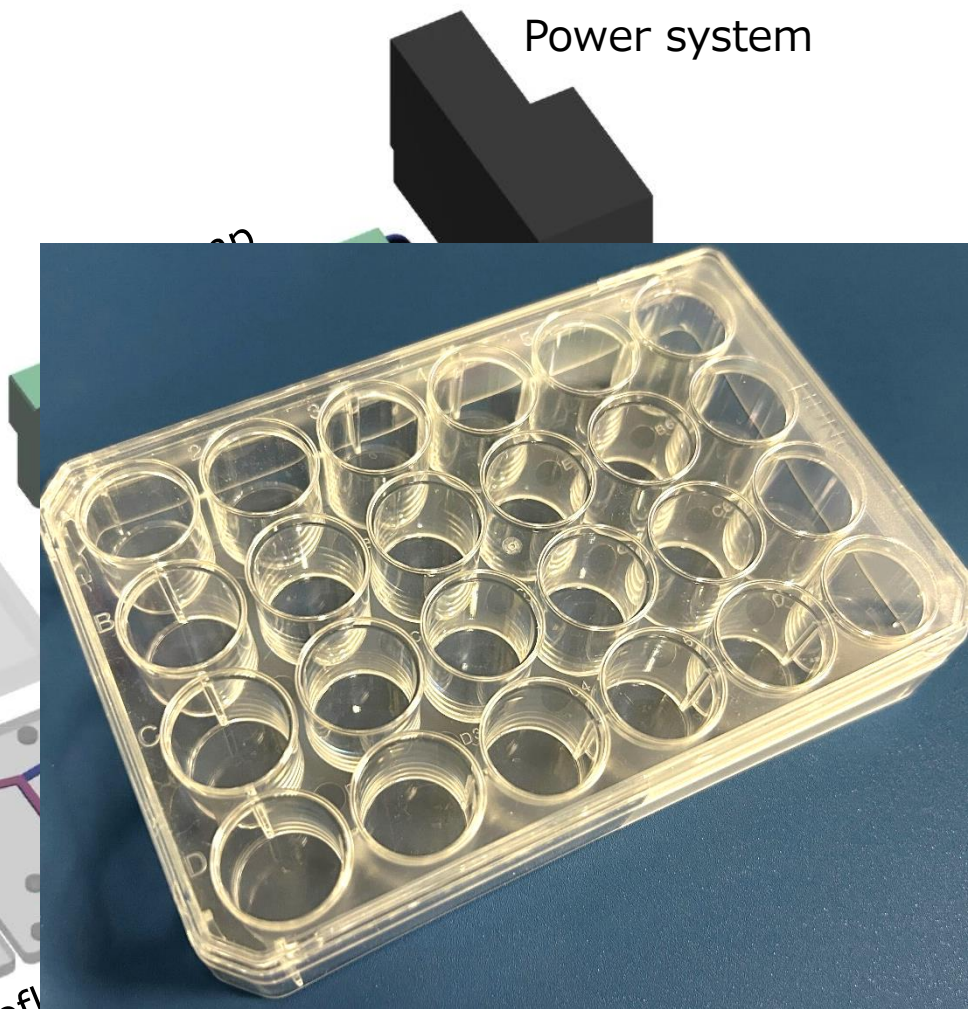
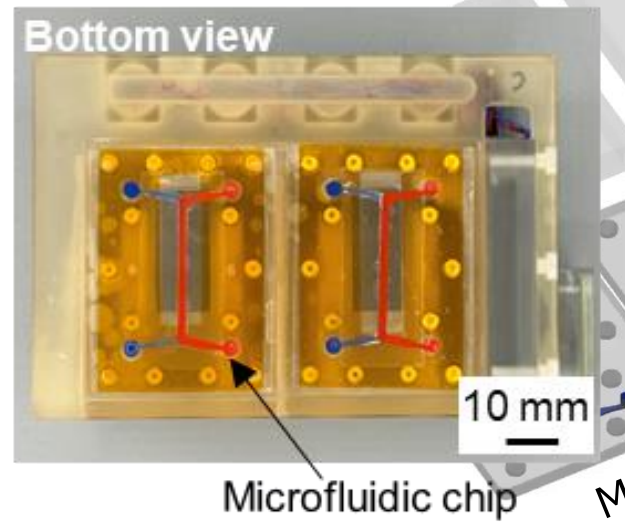
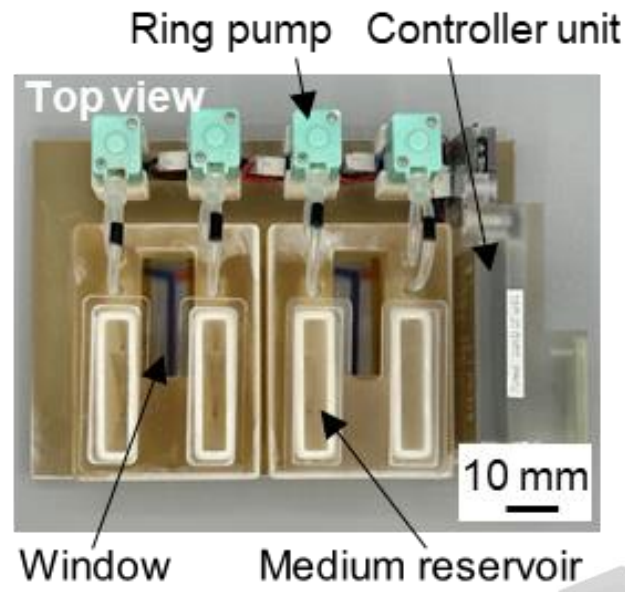
5 cm

Microcomputer

Organ-on-a-chip

MPSの実用化に向けたANSI/SLAS規格サイズの高汎用型流体プラットフォーム(SCCMD)

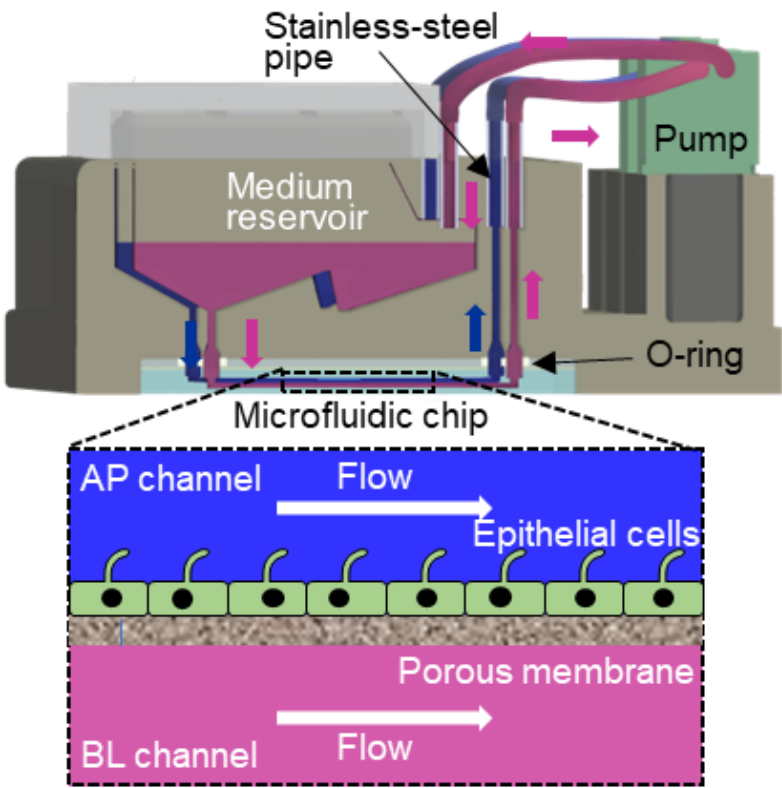
Kimura H., et al., *Lab Chip* 24 (2024)



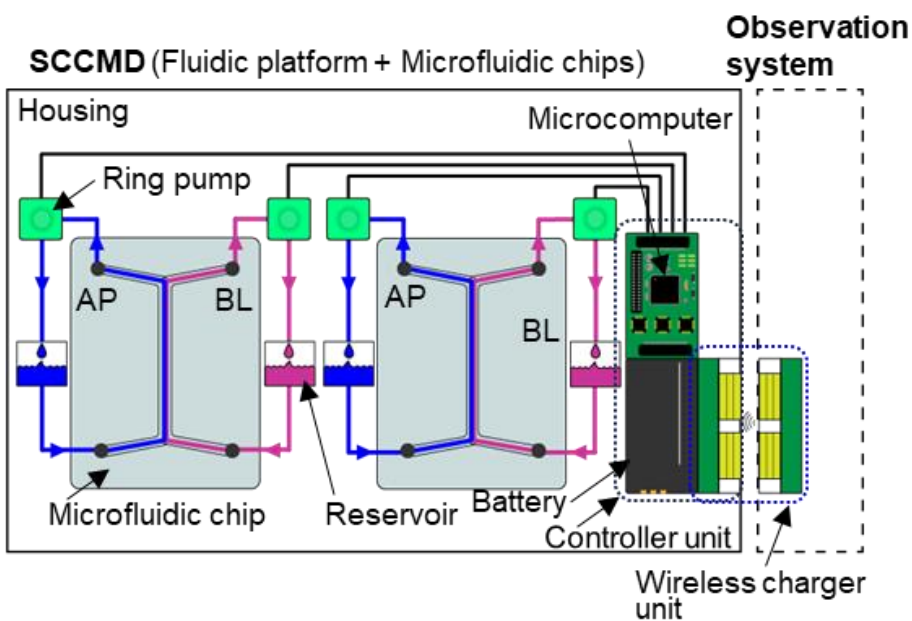
MPSの実用化に向けたANSI/SLAS規格サイズの高汎用型流体プラットフォーム(SCCMD)

Kimura H., et al., *Lab Chip* 24 (2024)

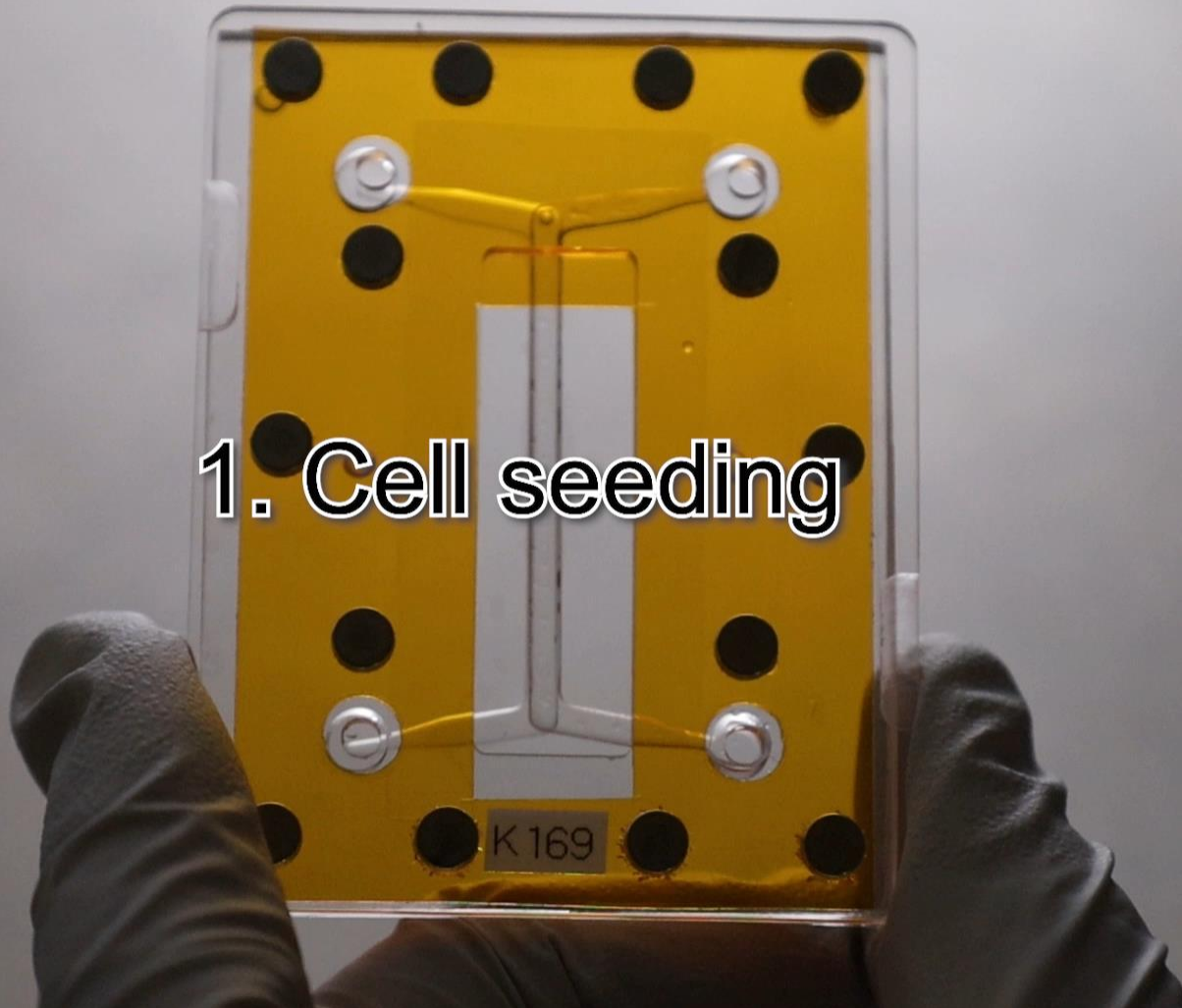
断面図



回路図



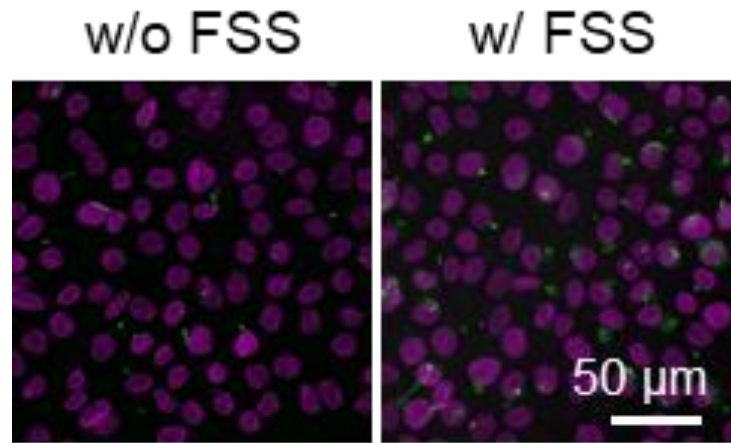
1. Cell seeding



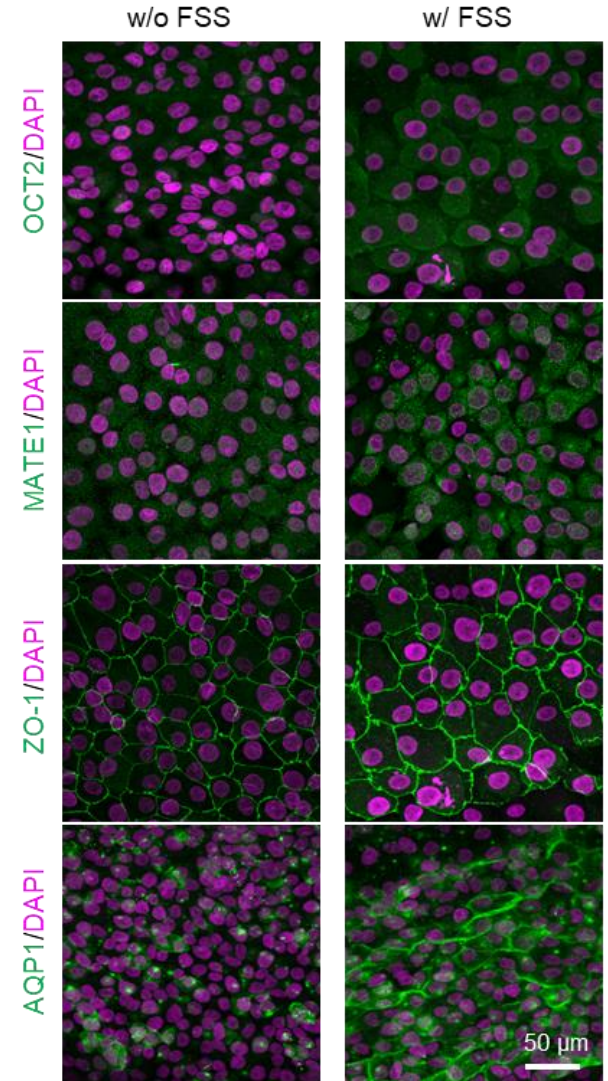
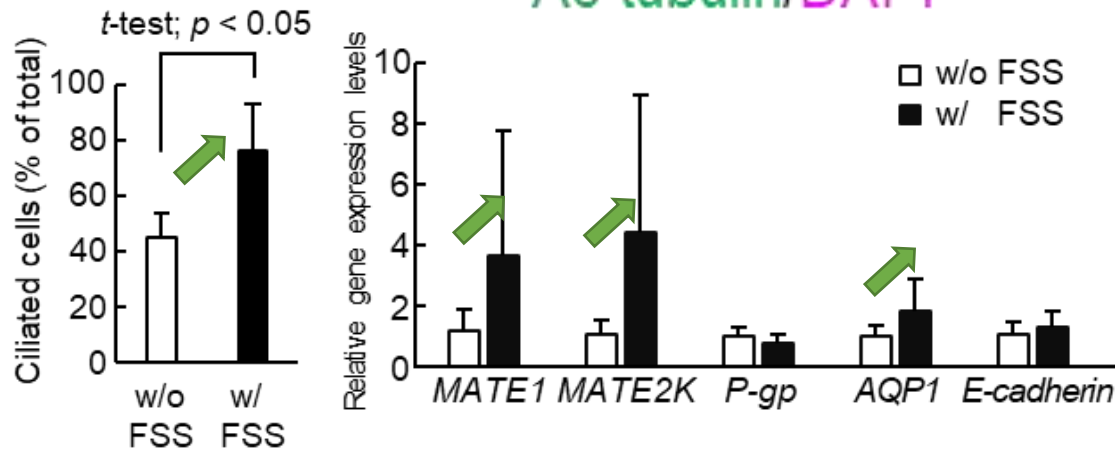
灌流培養（せん断応力(FSS)負荷）の影響

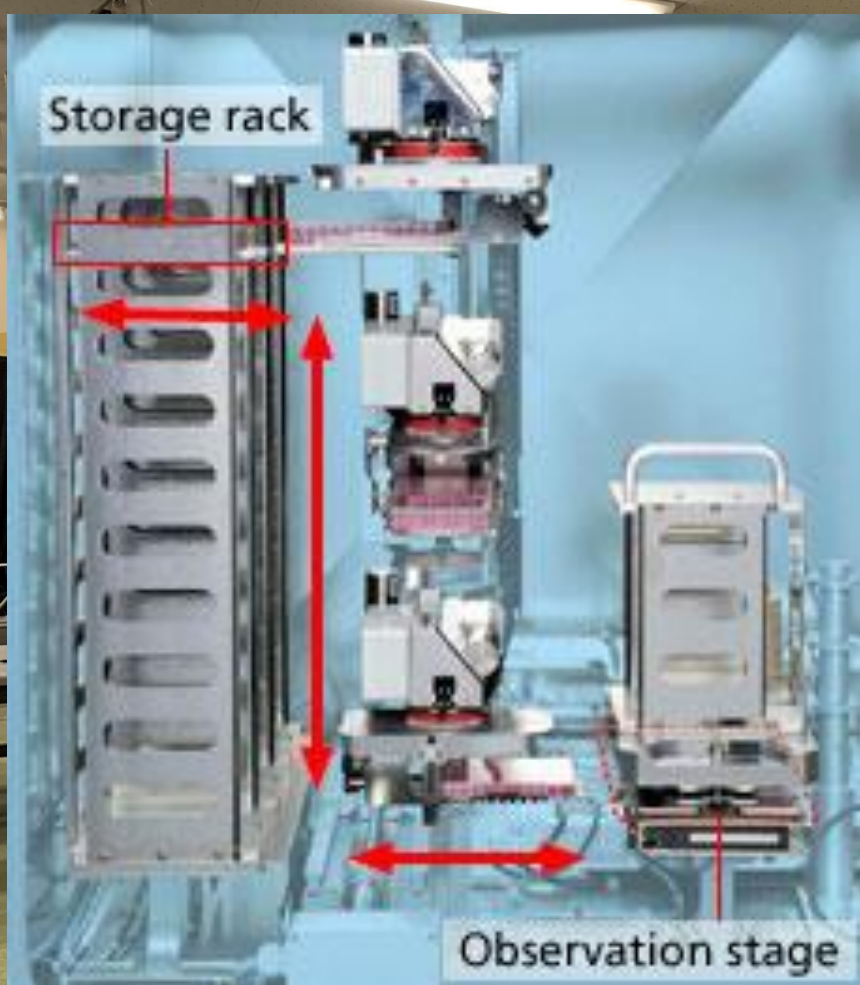
ヒト腎臓近位尿細管上皮細胞 (RPTEC/TERT1)
Fluidic (0.1 dyn/cm²)

Kimura H., et al., *Lab Chip* 24 (2024)



Ac-tubulin/DAPI





共同研究 NIKON

BioStation CT for MPS
@Tokai Univ. Imaging Center for
Advanced Research



機能：
MPS用給電システム
MPS用観察システム

Introduction to BioStation CT

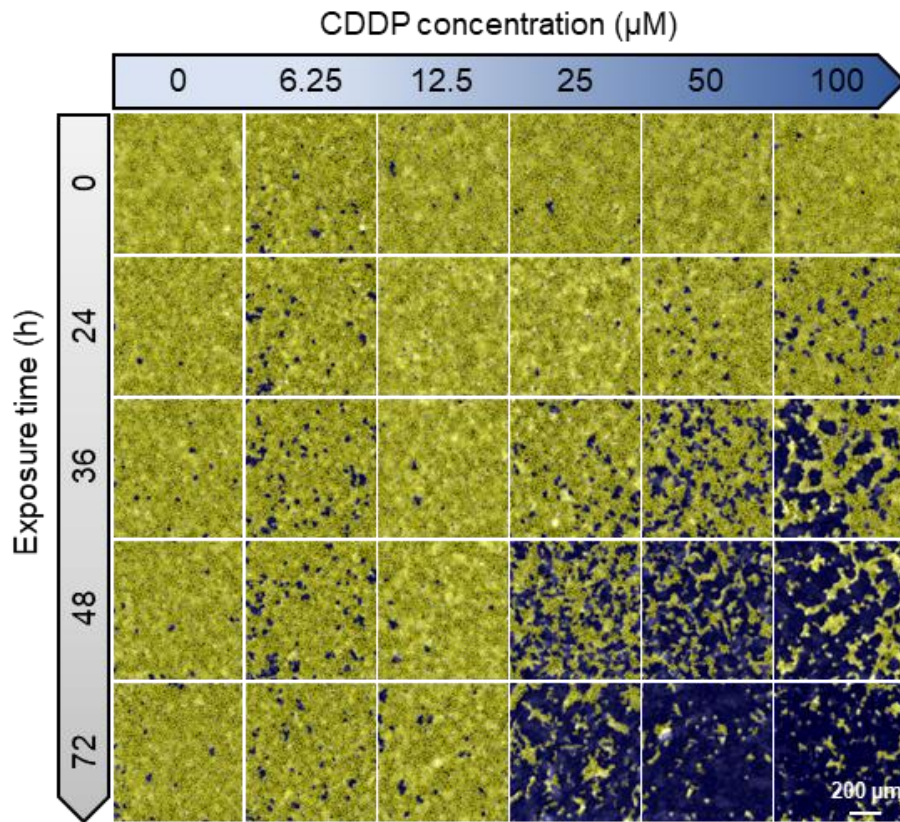
腎毒性試験（細胞形態評価）

共同研究: NIKON

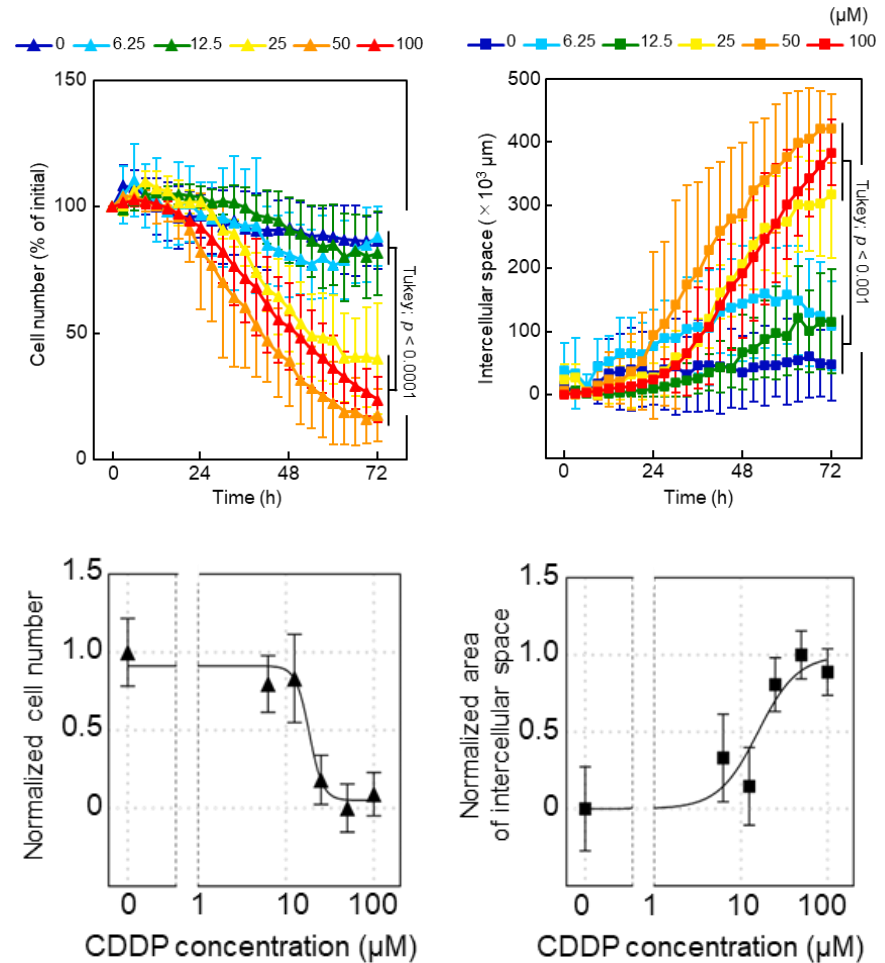
抗がん剤（シスプラチン: CDDP）の毒性試験

Kimura H., et al., *Lab Chip* 24 (2024)

細胞形態自動観察



細胞数と細胞間隙面積の評価



腎毒性試験（物質リーク評価）

共同研究：NIKON

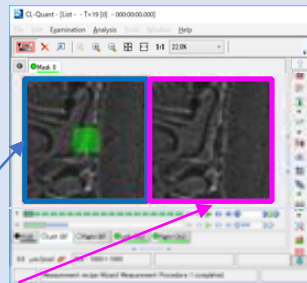
BioStation CT for MPS

上層・下層流路の
タイムラプス画像取得

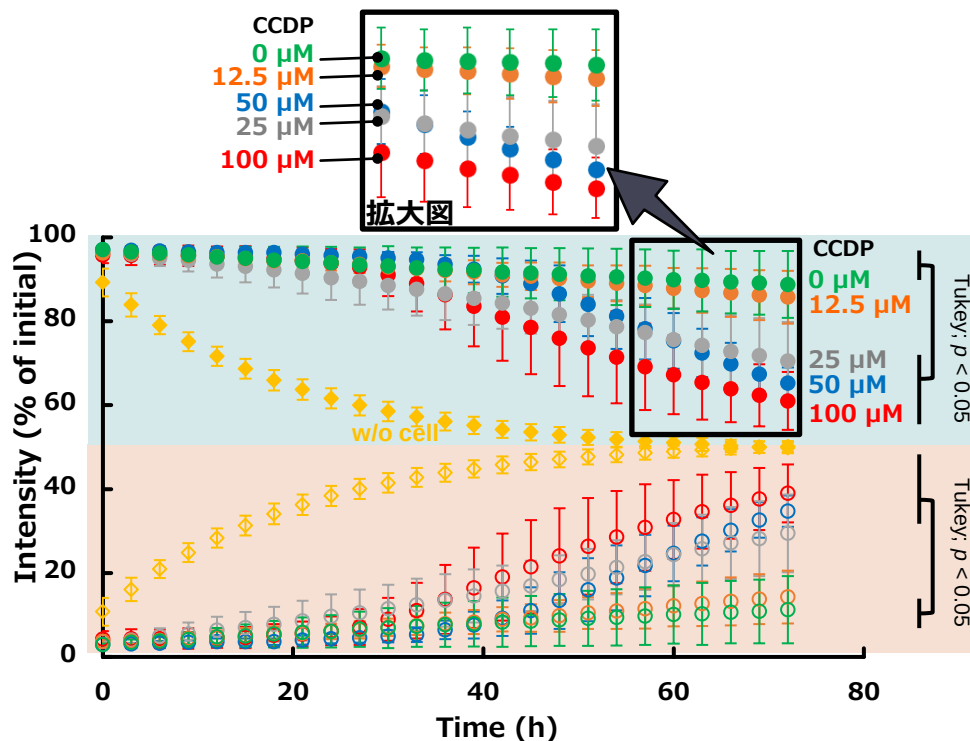


リークテスト解析レシピ

蛍光チャンネルの緑領域の輝度の中央値を計測



上層流路
下層流路



Kimura H., et al., *Lab Chip* 24 (2024)

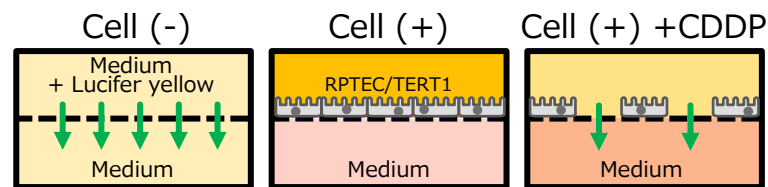
Tight junction機能評価

蛍光標識試薬：200 μM Lucifer Yellow

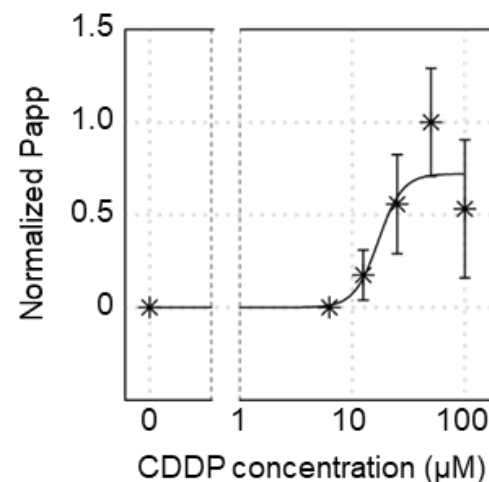
薬剤：Cisplatin (CDDP: 0, 12.5, 25, 50, 100 μM)

細胞：RPTEC/TERT1 in Fluidic condition

断面図



Secker P.F. et al., *ALTEX*, 2018
臨床利用濃度：10 μM



電気化学モニタリングによる細胞状態評価

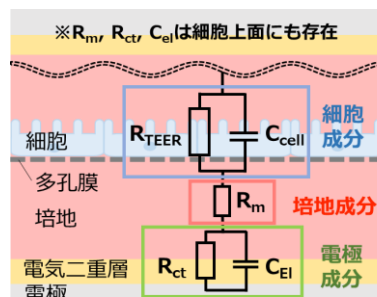
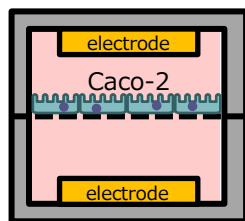
共同研究: TOK, SCREEN HD

経上皮電気抵抗 (TEER) による細胞状態評価

◆TEER 計測電極搭載型Fluid3D-X



断面概念図

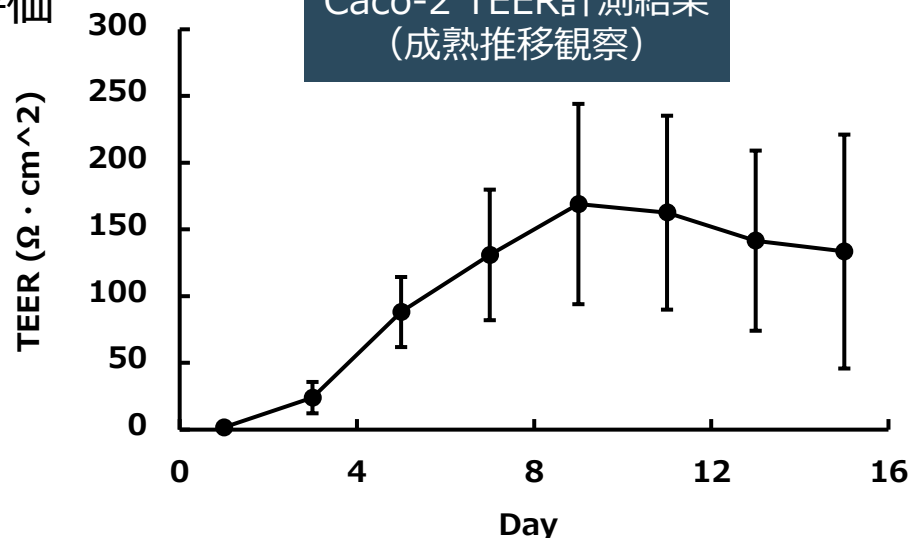


TEER計測システムの外観

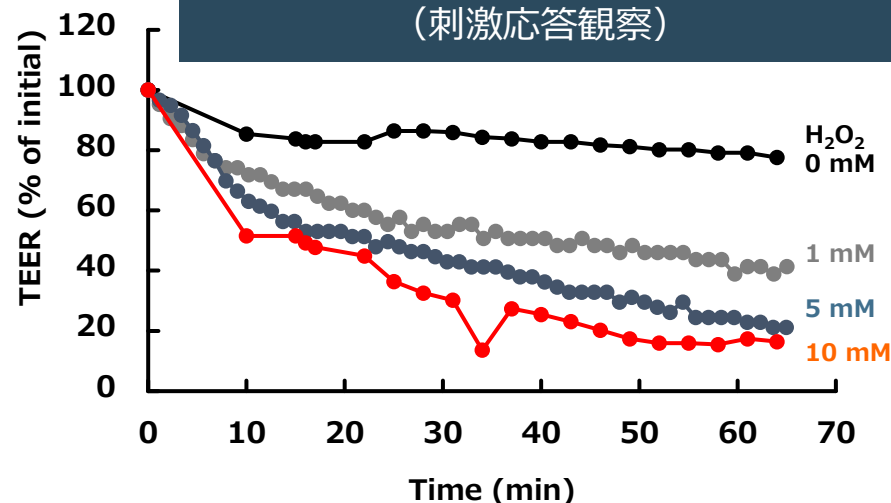


- 灌流培養下でのTEER計測可能
- リアルタイム計測可能

Caco-2 TEER計測結果 (成熟推移観察)



酸化ストレスによるバリア機能RT評価 (刺激応答観察)



Nakamura H., unpublished data

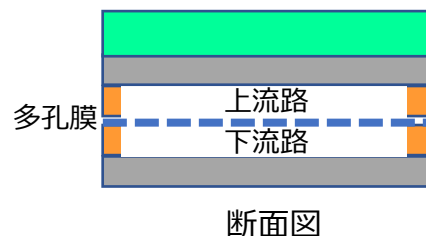
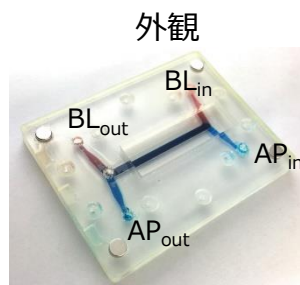
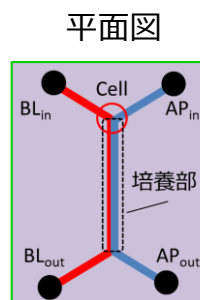
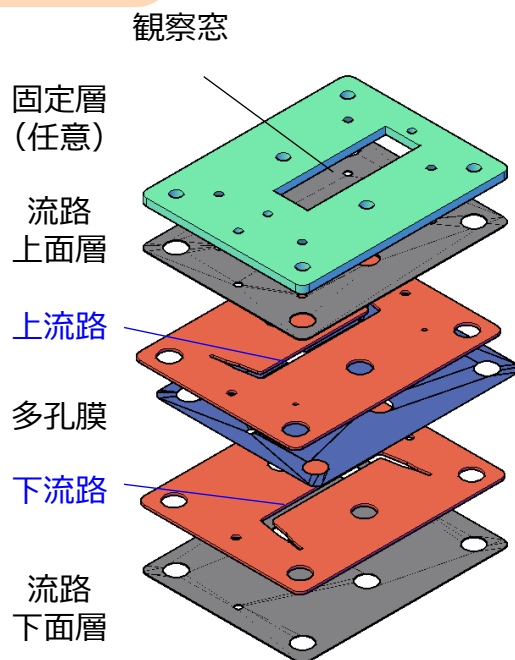
Fluid3D-X[®]

膜上下フロー型 MPSチップ

特長

- チップ素材として非シリコン樹脂を用い低収着性を実現
- AM（Additive Manufacturing）を用いた製造により高い設計自由度を実現
- 低細胞毒性，良好な観察性（蛍光・位相差）を実現

構造



東海大学/木村先生資料より

灌流培養



Static
8 days



Static
1 day
+
Fluidic
7 days

ヒト初代近位尿細管細胞（RPTEC）培養結果

2021年4月 販売開始

MPSのほんの少しの先の未来～10年後～

MPS利用が創薬プロセスにおけるスタンダードに！

一部

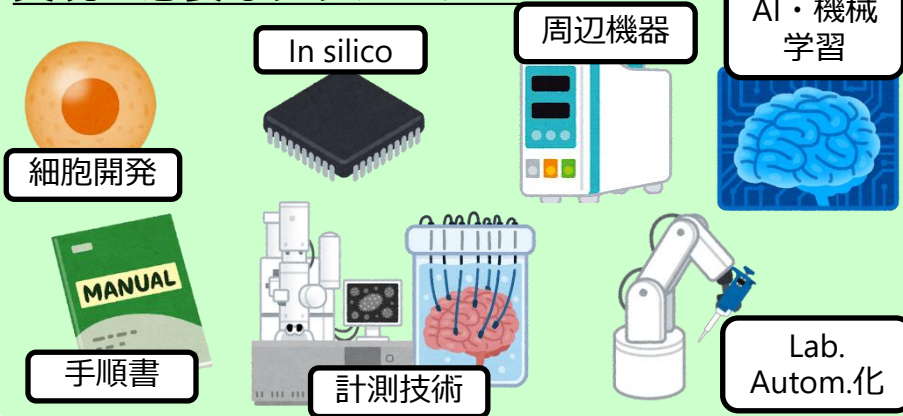
動物実験代替
臨床試験代替

医薬品だけでなく化粧品、食品、化成品、農薬などの安全性・動態評価系への展開

-EPA 2035年までに
実質的動物実験廃止
-FDA 近代化法2.0



実現に必要なテクノロジー



CROでの運用

国産MPS
シェア10%



製薬企業でのイン
ハウスはもちろん



海外製品はやはり
強いが・・・

もっと先の未来～10年後以降～

再生医療

Personalized
MPS



移植用臓器



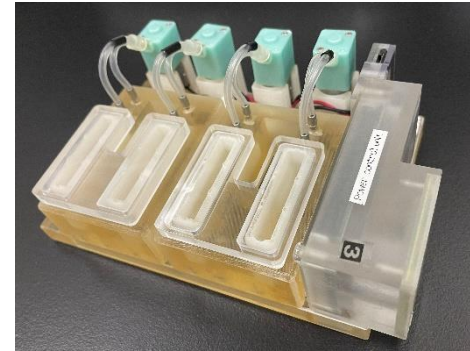
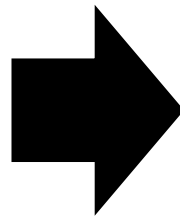
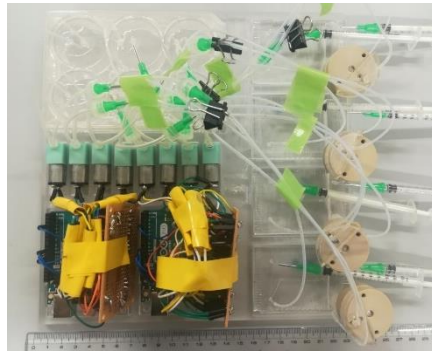
テーラーメイド創薬

まとめ

- MPSは動物実験代替法としてのin vitro評価系として期待されている。
- マイクロエンジニアリングで生理的な環境を整えることによって、培養細胞の機能の維持・向上を期待できる
- 産官学連携のAMED-MPS事業により国産MPSデバイスの製品化が進められている
- MPSの実用化に向けて、細胞技術・デバイス・材料・情報科学・ロジスティクス・RSなど様々な角度からの取り組みが重要

新技術の特徴・従来技術との比較

- ANSI/SLAS規格に機能を集積化することによって、従来MPS技術の問題点であった、ユーザビリティ（使いやすさ）を改良することに成功した。
- 本技術の適用により、装置の小型化・低コスト化が可能となり、初期コストが1/100程度まで削減されることが期待される。
- 従来の製品の用途は培養操作のみに限定されていたが、本技術は、細胞培養に加え、細胞のリアルタイムでの光学的・電気化学的観察・評価への応用も可能となった。



実用化に向けた課題と企業への期待

【課題】

- 現在、基本的な構造・機能・構成については開発済み。現在はプロトタイプなので、3Dプリンタによって作製している。
→製品化に向けた生産性の向上・材料（低細胞毒性・低薬剤吸着/収着）の検討が必要。
- 今後、スループット性向上のための機能集積化も必要（現在6系統までは開発済み）。

【期待】

- MPSを開発中の企業、MPS分野への展開を考えている企業に、本技術の導入を期待したい。
- MPSデバイスの製品化とサービサーとしてMPSの運用。
- MPSニーズを有するユーザー企業（製薬・食品・化成品・化粧品）企業との共同研究を希望。

企業への貢献、PRポイント

- 本技術は、MPSの大幅なコストダウンとユーザビリティの向上により、ユーザーのMPS導入障壁を下げるものであり、製造・ユーザー両方に貢献できる
- 本技術の導入にあたり必要な追加実験を行うことで科学的な裏付けを行うことが可能
- MPSの本格導入にあたっての技術指導等

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細胞培養装置
- 出願番号 : 特願2020-58541
- 出願人 : 東海大学
- 発明者 : 木村啓志ほか

特開2021-153520

お問い合わせ先

東海大学

学長室（研究推進担当）

T E L 0463-58-1211（内線：4620）

e-mail sangi01@tsc.u-tokai.ac.jp