

小腸－肝臓連結Microphysiological System (MPS)の開発

名古屋市立大学 大学院薬学研究科

臨床薬学分野

教授 松永 民秀

2024年3月12日

1. 小腸－肝臓連結MPS（仮称 MS-plate）
2. セルカルチャーインサート新型コンパニオン
プレート

1. 小腸－肝臓連結MPS（仮称 MS-plate）
2. セルカルチャーインサート新型コンパニオン
プレート

小腸-肝臓連結MPS (仮称: MS-plate) の外観と培地の灌流

AMED-MPS1事業 (2017~2021年度)
MS-plateの開発

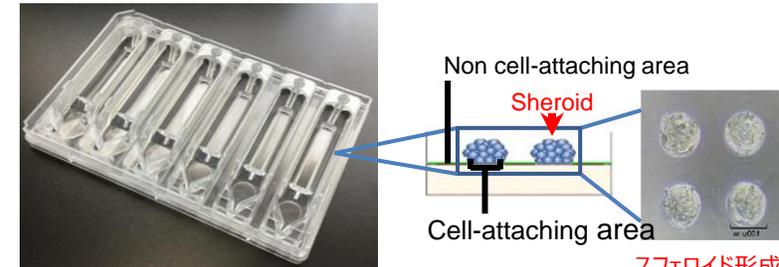
AMED-MPS2事業 (2022年度~
MS-plateの実証試験

- ① 薬物の添加：医薬品の経口投与を想定
- ② サンプル採取：門脈血を想定
- ③ サンプル採取：肝静脈血を想定

サンプル添加・採取：200 μ Lピペット使用

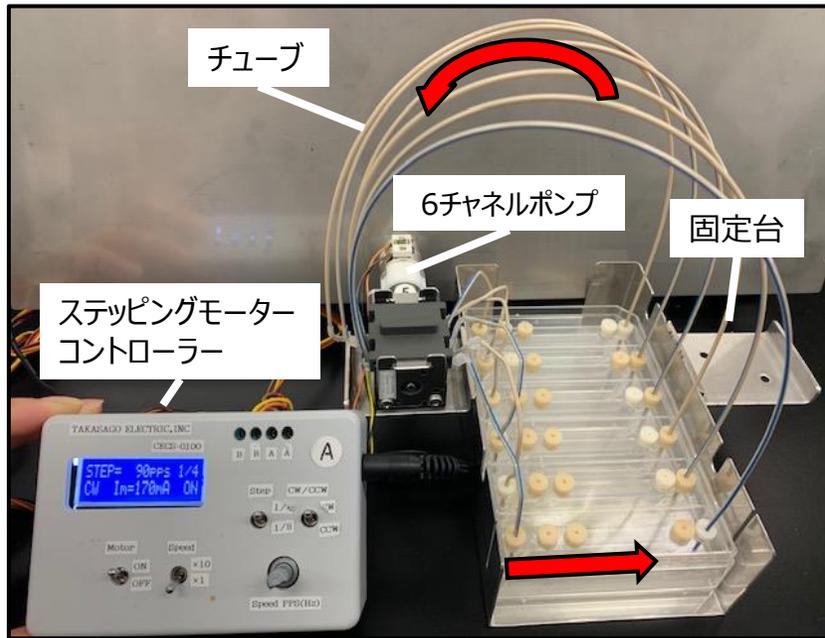
HiEs : ヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞
HPHs : ヒト初代肝細胞

肝細胞：2Dと3D培養の2タイプ

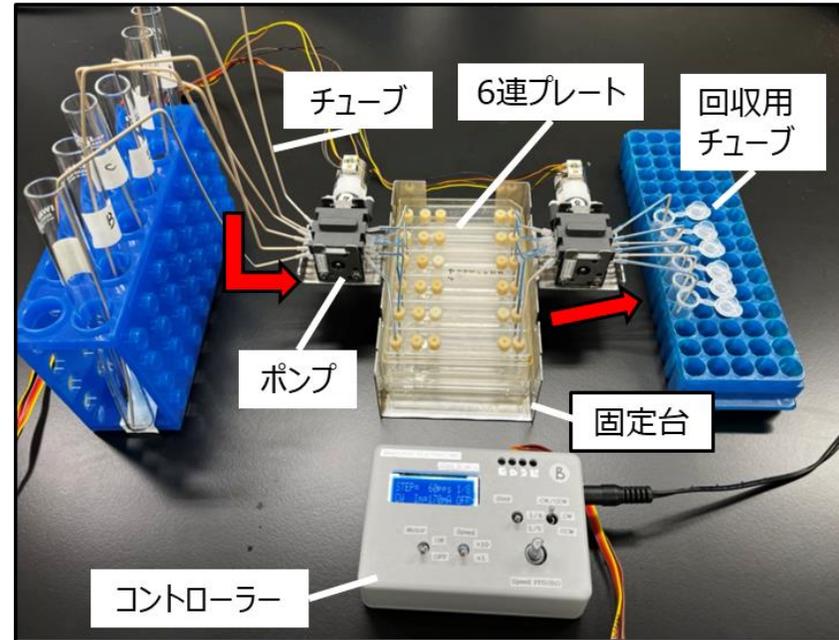


6連式一体型
(MS-plate)

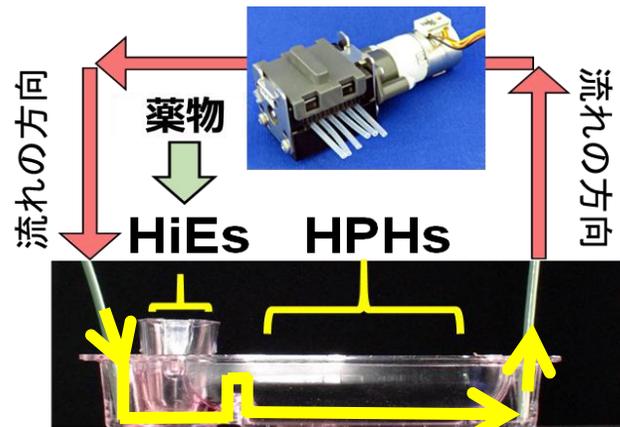
(3D培養タイプ)



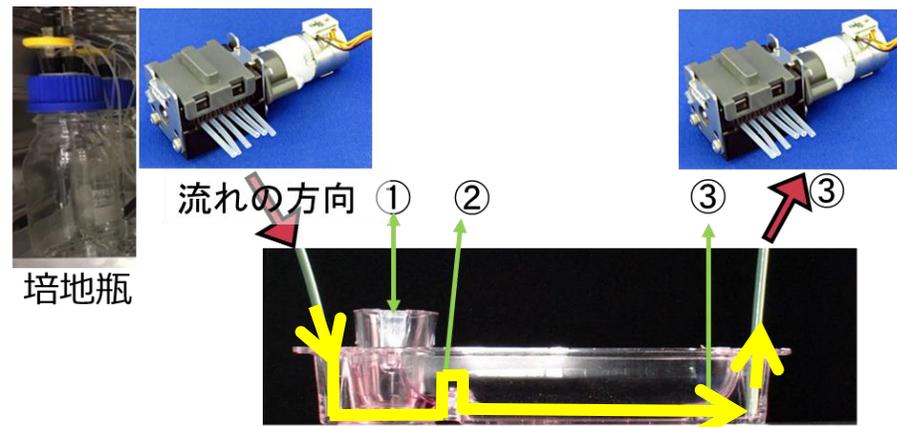
一方向循環：慢性毒性等の長期曝露実験



一方向灌流 (かけ流し)：短期暴露、初回通過効果



一方向循環
(駆動部 1 個)

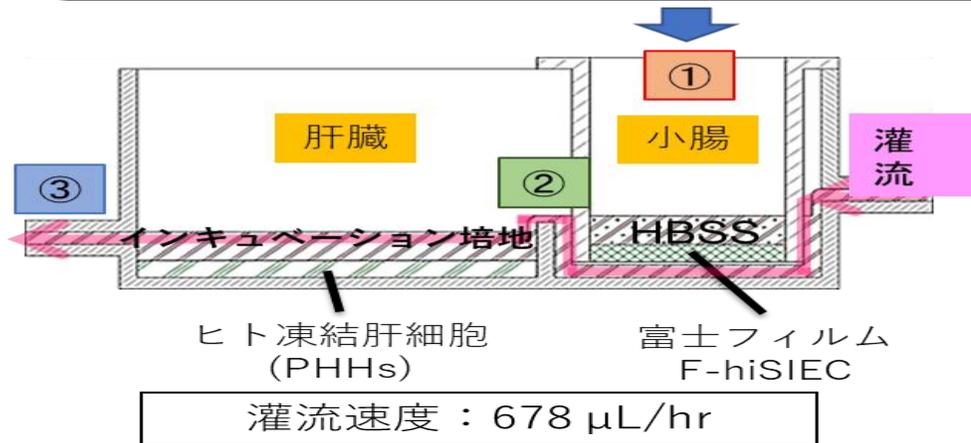


一方向灌流
(駆動部 2 個)

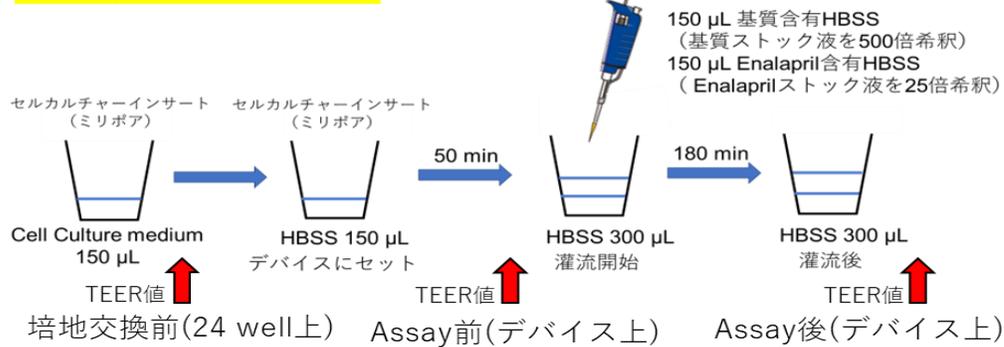
MS-plateを用いた初回通過効果の評価

機能評価	基質	濃度 (μM)	代謝物
CYP1A	Phenacetin	50	Acetaminophen
CYP2C9	Diclofenac	5	4'-Hydroxy diclofenac
CYP2C19	S- Mephenytoin	50	4'-Hydroxy S-mephenytoin
CYP2D6	Bufuralol	10	1'-Hydroxy bufuralol
CYP3A	Midazolam	5	1'-Hydroxy midazolam

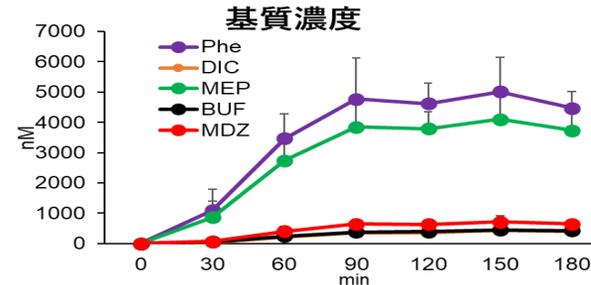
カクテル基質含有HBSS



TEER測定タイミング



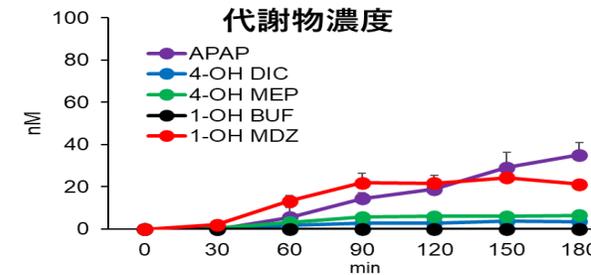
②



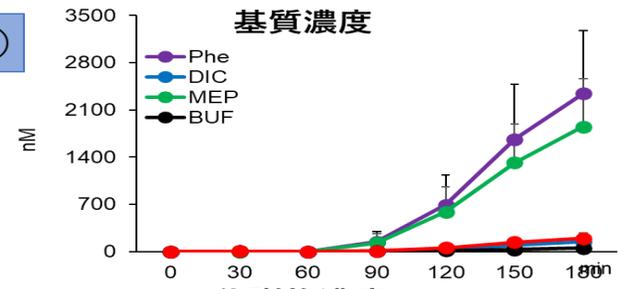
②

小腸通過後の基質・代謝物濃度：

小腸での吸収・代謝を評価



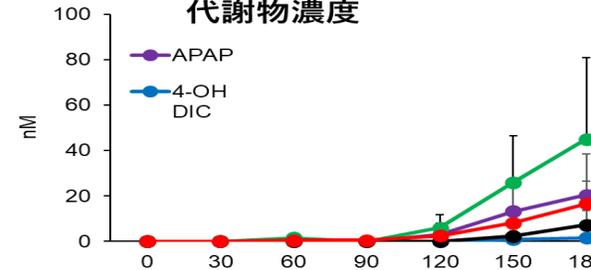
③



③

小腸及び肝臓 通過後の基質・代謝物濃度：

小腸での吸収・代謝及び肝臓での代謝の効果を評価



薬物の吸収と代謝の経時的変化をカクテル基質で確認

新技術の特徴・従来技術との比較

- 経口薬物の初回通過効果の予測は、従来小腸での吸収・代謝と肝臓での代謝に分けて行われていたが、新技術では両者を同時に評価することが可能となった。
- 本技術に加え、ヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞の改良により、より正確な予測が可能になることが期待される。
- 海外の多臓器連結MPSとの比較においては、次のスライドに示す優位性が挙げられる。

新製品（開発中も含む）の特徴と先行品との優位性の比較

MPS	先行品：CN-Bio PhysioMimix システム有	新製品：MS-plate (小腸－肝臓連結MPS) システム無	新製品：小腸－肝臓連結 MPS ハイブリッド仕様 (現在開発中)
基材 (収着)	ポリスルホン、アクリル、ポリウレタン (○)	PS (本体)、PET (多孔質膜)、未公開 (ポンプ チューブ)、PTFE・PEEK (配管) (○)	COP (本体)、多孔質膜 (COP, PET, ポリウレタン検討中) (○)
TEER	○	○ (Millicell ERS-2)	○ (Millicell ERS-2)
細胞選択性	○	○	○
試験化合物の選択性	○	○	○
薬物透過性の可否	○	○	○
送液方向性	一方向 (一部混合) 循環	一方向循環/一方向 (かけ流し) 切替可	循環
小腸	独自のインサーター (6セル/プレート) 静置培養	各社のインサーター (6セル/プレート) 静置培養	独自のインサーター (3セル/セット、 2セット/プレート) 灌流培養
肝臓	独自のセル (マイクロウェルでスフェロイド?) 長期培養 (4週間以上)	2D/3D (Cell-able仕様) 培養選択可 3D (4週間以上)	2D/3D培養選択可 3D (4週間以上)
臓器モデル	単臓器モデル、多臓器モデル 別プレート	1プレートで単臓器・多臓器可能	1プレートで単臓器・多臓器可能
駆動	気圧	ポンプ	－
特徴	<ul style="list-style-type: none"> ➢ 吸収プラットフォーム：トランズウェルを模した系：小腸・肝・肺・皮膚などの模倣 ➢ 肝細胞、クッパー細胞、星細胞を足場となるマイクロウェルに播種することで、スフェロイドを形成すると考えられる。栄養素及び酸素は、底の膜を通して供給。 ➢ 小腸・肝細胞の顕微鏡観察？ 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ 操作が容易 ➢ 特別な周辺機器必要なし (初期投資安価) ➢ 小腸・肝細胞の顕微鏡観察可能 ➢ 肝細胞の非破壊的観察可能 (OTC技術 SCREEN社 Cell3iMager) ➢ 胆汁うっ滞毒性：微細胆管形成・観察等可能 ➢ 初回通過効果の評価 	<ul style="list-style-type: none"> ➢ ハイブリッド仕様・簡易なシステム ➢ 腸肝連関：薬物動態評価。腸内細菌叢の影響評価 ➢ 嫌気性菌に対応 ➢ 特別な周辺機器不要 ➢ BBB、腎モデル可

想定される用途

- 経口薬物の初回通過効果や薬物相互作用の予測への利用が期待される。
- また、単臓器としての利用も可能であり、例えば、薬物による胆汁うっ滞肝毒性や肝障害の毒性試験の利用も可能である。
- さらに、小腸と肝臓の臓器連関（腸肝連関・腸肝軸）の研究への利用が考えられる。

実用化に向けた課題

- MS-plateについては、周辺装置の開発も進んでおり、現在、施設間差等の実証試験や手順書の作成を行っている。
- 今後、薬物動態学的予測のための数理モデル（PBPKモデル）の構築を目指す。また、生体由来の細胞など、複数の細胞種について実験データを取得し、アプリケーションの幅を広げる。
- 発展的なシステムとして、腸内細菌との共培養系構築を目指してデバイスを開発している。

企業への期待

- ユーザビリティの更なる向上のため、総合システム構築技術を持つ企業との共同研究を希望。
- また、小腸－肝臓MPS（MS-plate及びハイブリッド仕様製品）を事業に利用したいと考えている企業に、本技術の導入を期待したい。
- さらに、腸内細菌との共培養系のMPS（ハイブリッド仕様）開発に関して、本技術の導入に興味をお持ちの企業との共同研究を期待したい。

企業への貢献、PRポイント

- MS-plateは循環／一方向（かけ流し）灌流並びに肝細胞の2D/3D培養の組み合わせが可能のため、ニーズに合った選択が可能である。
- 本技術の導入により、動物実験代替法の実現に貢献できると考えている。
- サンプル提供並びに本格導入にあたっての技術指導（MS-plate操作、細胞培養、試験法）等

1. 小腸－肝臓連結MPS（仮称 MS-plate）
2. セルカルチャーインサート新型コンパニオン
プレート

従来技術とその問題点

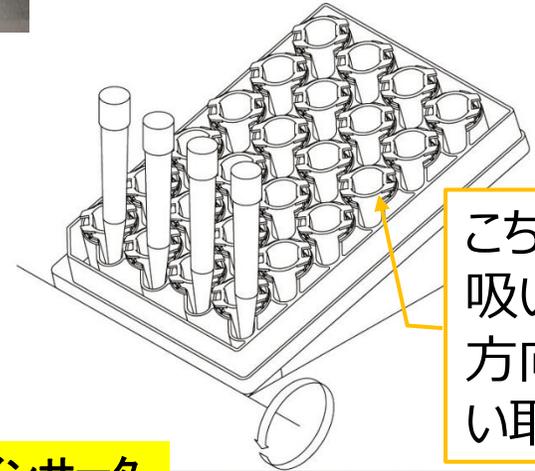
- 従来の固定化されていないセイルカルチャーインサート用コンビニオンプレートは、インサータが固定化できず不安定な為、ピンセット等でインサータを持ち上げて内部の培地を吸引する機会が多い。また、慣れない場合、貴重なサンプルを落とすことがある。
- また、同じ理由で自動装置での利用が非常に困難である。

セルカルチャーインサート新型コンパニオンプレート

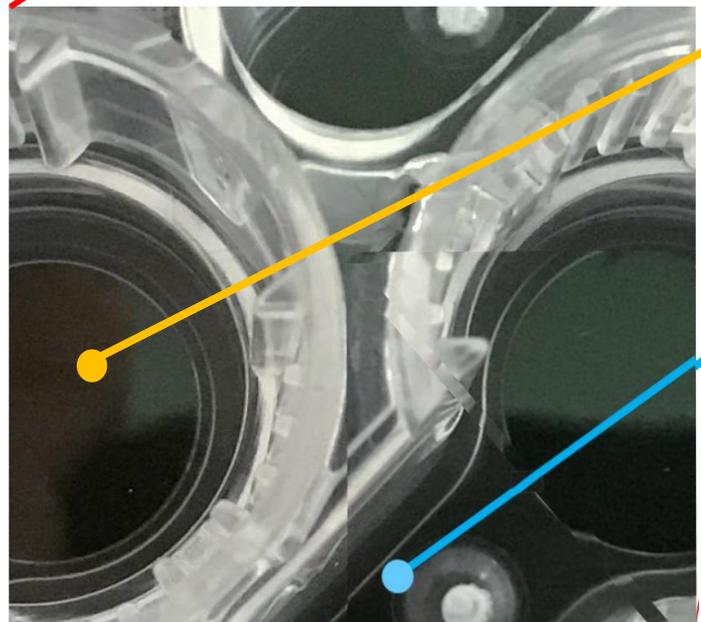


インサートの選択性：有
通常用いているインサートをそのまま使える。

一般的な24wellプレートと同等の底面積約1.9cm² (ピペット挿入部+インサート挿入部の合計) で設計

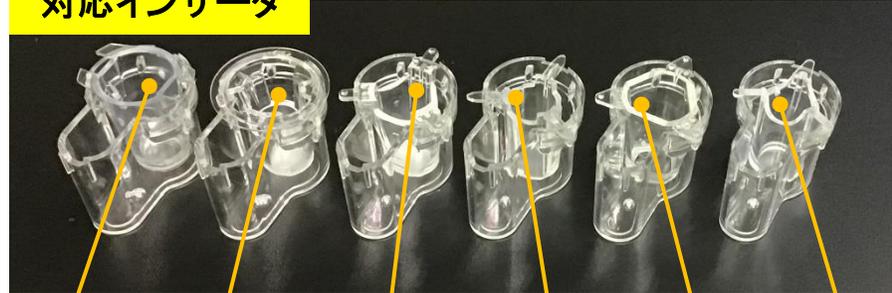


こちら側を下にしても吸い取りができ、2方向どちらからでも吸い取り可能



培地交換時にチップを挿入するスペース。TEER値測定 of 電極挿入スペースとしても有効

対応インサータ



- Falcon
- Corning
- Millipore
- Vitrigel
- 富士フイルム
- Grainer

6種類の各インサートは、培地交換時に傾けにもずれにくい設計

新技術の特徴・従来技術との比較

これまでの培地交換



新型コンパニオンプレートでの培地交換



ピンセットでのインサータ
持ち上げ操作必要

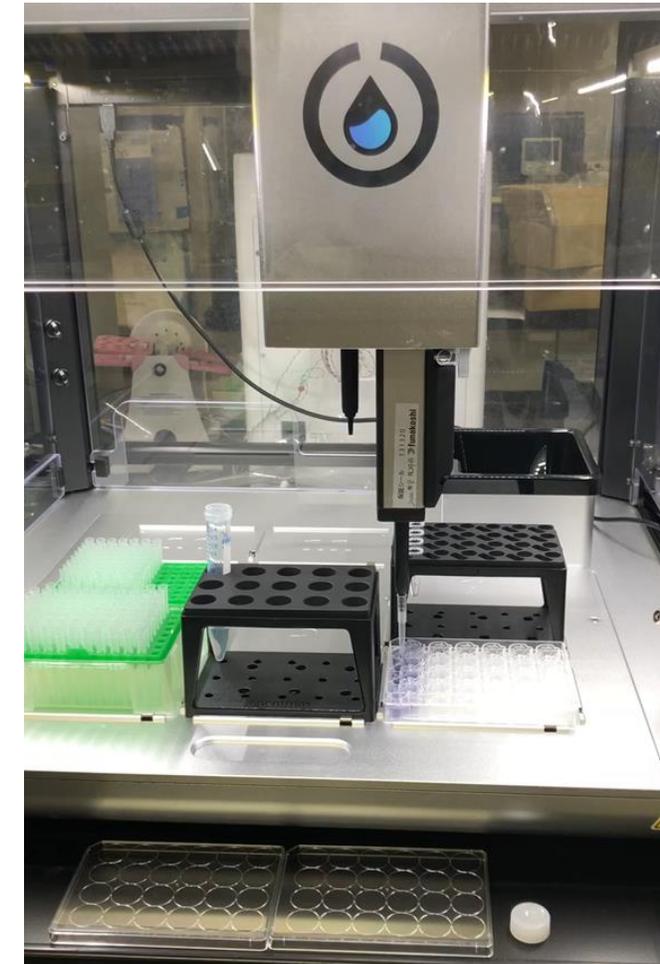


操作性が悪い
落とすリスクが高い

開発の目的

操作の簡便化・リスク低
減・**自動装置に適応可**

- 通常のマルチウェルプレート感覚で操作 **(作業の効率化)**
- インサータ内の培地も装着したまま吸引
- 市販のインサータに対して対応可能
- マルチチャネルピペットの利用可能
- インサータのぐらつき無し **(TEER値安定)**
- 細胞培養の自動化 **(人件費等経費削減)**
- 膜透過試験の自動化 **(人件費等経費削減)**



自動分注機を用いた
薬物透過試験

想定される用途

- インサータを用いる細胞培養や薬物透過試験。
- 細胞培養における自動培養装置での利用。
- 薬物透過試験における自動化。

実用化に向けた課題

- 多施設での実証試験を行っているが、従来品との切り替えに対する抵抗感の払拭。

例えば、便利であり、結果は従来品と変わらないのは理解できるが、今から変えたくないなど。

企業への期待

- MS-plateを事業に利用したいと考えている企業に、新型コンパニオンプレートの導入を期待したい。
- また、MS-plateに関係なくセルカルチャーインサートを用いている企業、セルカルチャーインサート播種細胞を販売している企業に、新型コンパニオンプレートの導入を期待したい。

企業への貢献、PRポイント

- マルチウェルプレート感覚で操作（作業の効率化）
- インサーター内の培地も装着したまま吸引
- 市販のほぼ全てのインサータに対して対応可能
- マルチチャンネルピペットの利用可能
- インサータのぐらつき無し（TEER値安定）
- インサータでの細胞培養自動化（人件費等経費削減）
- 膜透過試験の自動化（人件費等経費削減）
- サンプル提供及び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

小腸-肝臓連結MPS（仮称：MS-plate）関連

- 発明の名称：化学物質評価用のデバイス、および、化学物質評価方法
- 出願番号：特願2018-562427、米国16/514762、欧州18742157.3、中国201880007139.5
- 出願人：伸晃化学株式会社、名古屋市立大学
- 発明者：松永民秀、岩尾岳洋、近藤聡志、土井 淳史、西東 勲

セルカルチャーインサート新型コンパニオンプレート関連

- 発明の名称：細胞培養基材および細胞培養方法
- 出願番号：PCT/JP2023/018621
- 出願人：伸晃化学株式会社、名古屋市立大学
- 発明者：松永民秀、岩尾岳洋、堺陽子、小川 勇、山田秀樹、土井淳史

産学連携の経歴

- 2015年- 伸晃化学株式会社と共同研究実施
- 2016年- 富士フイルム株式会社と共同研究実施
- 2017年-2022年 AMED-MPS 1 期目事業に採択（代表）
- 2019年- パナソニック プロダクション エンジニアリング株式会社と共同研究実施
- 2021年-2022年 JST 社会還元加速プログラ（SCORE）
大学推進型に採択
- 2022年- AMED-MPS 2 期目事業に採択（分担）

お問い合わせ先

名古屋市立大学

産学官共創イノベーションセンター

T E L 052-853-8309

F A X 052-841-0261

e-mail ncu-innovation@sec.nagoya-cu.ac.jp