

論文の内容の要旨

論文題目「創薬分野への活用に向けたオンチップポンプ型多臓器生体模倣システムに関する研究」

学位申請者 榛葉 健汰

キーワード：生体模倣システム, Organ-on-a-chip, マイクロ流体デバイス, 臓器間相互作用, 薬物動態

本論文は、創薬分野における *in vitro* 試験系として注目される多臓器生体模倣システムに関するものである。本論文で報告されている主な学術的成果は、操作性に優れた多臓器生体模倣システムを構築し、薬効試験や臓器間相互作用の評価試験を通して従来の *in vitro* 試験系に対する多臓器生体模倣システムの有用性を示したことである。

Organ(s)-on-a-chip に代表される生体模倣システムは、マイクロ流体デバイスの技術を基盤とし、生体内の血流や構造などを模倣した微小な環境下で細胞培養することで、ヒトや動物の臓器・組織の機能や疾患を *in vitro* で模倣する技術である。なかでも複数の臓器モデルの共培養が可能な多臓器生体模倣システムは、吸収・分布・代謝・排泄(ADME; Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion)などの薬物動態だけでなく、薬効や毒性などの生体内の各臓器・組織で生じる薬理作用を評価・予測するためのツールとして期待されている。しかし、相互作用を示すと考えられる臓器・組織の組み合わせは多数存在し評価項目も多岐に渡るため、単臓器生体模倣システムに比べ多臓器生体模倣システムの創薬分野での活用は未だ限定的である。そこで、本研究では、従来の培養細胞を用いた *in vitro* 試験と臨床試験や動物実験などの *in vivo* 試験の間に生じる乖離を補完する新たな *in vitro* 試験系として注目される多臓器生体模倣システムの創薬研究への応用に向けて、操作の簡便な多臓器生体模倣システムを構築し、薬物動態や臓器間相互作用の *in vitro* 試験系としての有用性を示すことを目的とした。本論文の構成は以下の通りである。

第1章では、研究背景として創薬における現在の *in vitro* 試験系が抱える課題と生体模倣システムの概要と現状について述べ、生体模倣システムの実用化に向けた課題を提示することで本研究の目的を示した。

第2章では、薬物間相互作用の評価における多臓器生体模倣システムの有用性を示すことを目的とし、生理的な血液流入量比を再現するオンチップポンプ型多臓器生体模倣システム(KIM-chip; Kinetic-pump integrated microfluidic chip)を構築し薬物間相互作用を評価した。生理的な血液流入量比の再現によって、肝モデルによる抗がん剤モデル(CPT-11)の代謝速度が変化することで、肺がんモデルに対する CPT-11 の薬効が低下した。これは、多臓器生体模倣システムの設計において生理的なパラメータの再現の重要性を示している。また、KIM-chip 内の薬物動態を表現する、Pharmacokinetic-Pharmacodynamic (PK-PD) model を提案した。CPT-11 の主な代謝酵素の阻害剤である Simvastatin と Ritonavir を用いて実施した薬物相互作用の評価試験では、KIM-chip を用いた実験と PK-PD model による薬効を予測し、薬物間相互作用によって生じる肺がんモデルに対する CPT-11 の薬効を評価した。PK-PD model による薬物間相互作用の予測結果と薬効試験の結果が近似していた。また、本研究で得られた薬物間相互作用の評価結果は、先行研究で示されている結果と同様の傾向であり PK-PD model と多臓器生体模倣システムを用いた薬物間相互作用の評価が有用であることを示している。

第3章では、多臓器生体模倣システムの操作性の向上を目的とし、オンチップポンプ型多臓器生体模倣システムプラットフォームとして Kinetic-pump integrated microfluidic plate (KIM-plate)とスターラモーターベースを構築し、正常肝細胞と乳がん細胞を用いた薬効試験を実施した。

KIM-plate は 24 ウェルサイズの培養チャンバをマイクロ流路で接続した非常にシンプルな構造である。KIM-plate の最大の特徴は、従来の培養容器と同じ方法で使用できる操作性の高さである。セルカルチャーインサートやセルデスクなどを用いることで、従来の 24 ウェルプレートで細胞の分化・前培養・評価を行うことができる。これによって、KIM-chip のような閉鎖型の生体模倣システムでは困難であった、機能性の高い細胞を用いた共培養や薬剤の濃度変化の評価が可能である。乳がん細胞に対する抗がん剤 SN-38 の薬効試験の結果、ウェルプレートを用いた静的な培養に比べ KIM-plate を用いた灌流培養では、薬効が高く出ることが示された。CPT-11 の薬効評価試験では、従来の conditioned medium を用いた培養に比べ KIM-plate を用いた共培養では、CPT-11 の反応性代謝物である SN-38 の総曝露量の低下が確認されたものの、薬効に有意な差は見られなかった。これは、灌流による薬剤に対する応答性の向上と薬剤の総曝露量の低下に伴う薬効の低下が相殺されたためであると考えられる。これらの結果は、KIM-plate を用いることで薬剤の濃度変化を伴う環境下で薬効評価試験が可能になることを示している。従来の in vitro 試験系では、生体内で代謝や排泄によって生じる薬剤濃度の変化の影響を十分に考慮することが困難であり、薬効や毒性を過大・過小評価する恐れがある。これに対して、簡便に共培養を実施可能な KIM-plate ではより生体内に近い薬物動態下で薬効試験が可能であり、臓器モデルの機能を高め、生体内と同等の薬剤濃度変化を KIM-plate 内で再現することで、生体内の薬効・毒性の評価精度の向上に寄与すると考えられる。

第 4 章では、多臓器生体模倣システムプラットフォームを用いて臓器間相互作用の評価を実施した。肝モデル細胞と乳がんモデル細胞の共培養実験では、従来の conditioned medium を用いた培養と比較して KIM-plate を用いた共培養で正常肝細胞による乳がん細胞の増殖促進作用が高いことが確認された。また、正常肝細胞とヒト iPS 由来小腸細胞の共培養実験の結果、先行研究と同様の共培養効果が確認されたことから、KIM-Plate を用いて共培養効果を評価可能なことが示された。これらの結果より、KIM-plate を用いることで、従来の臓器間相互作用の評価手法である培養液をリレー方式で活用し培養する conditioned medium を用いた培養方法に比べ高感度な評価が可能となることが示唆された。In vitro 評価系の高感度化によって、これまで十分な影響が認められていなかった効果が顕在化する可能性があり、生体内で生じる現象の評価・解明に繋がると期待される。

第 5 章では、本研究の総括を行い、多臓器生体模倣システムの有用性と実用化に向けた課題と展望について述べている。本研究では、多臓器生体模倣システムの創薬研究への活用に向けて、操作の簡便な多臓器生体模倣システムを構築し、薬物動態や臓器間相互作用の in vitro 試験系としての有用性を示すことを目的としている。これに対して、オンチップポンプ型多臓器生体模倣システムプラットフォームを構築することで多臓器生体模倣システムの課題であった操作性の低さを改善した。また、薬効試験や臓器間相互作用の評価を実施することで、多臓器生体模倣システムを用いた実験のアプリケーションの一例を示すとともに有用性を評価した。多臓器生体模倣システムと数理モデルや従来の in vitro 試験系を併用することでこれまで明らかにすることができなかった多くの生体反応の評価が可能になることを確認し、本研究で開発した多臓器生体模倣システムが薬物動態や臓器間相互作用を評価するための有力な in vitro 試験系であることを示した。