

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム セットアップスキーム (ACT-MS)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 異種豚島移植実現のための幼若ブタ豚島研究
(英語) Study of neonatal porcine islets for islet xenotransplantation

研究開発実施期間: 2018年9月6日~2020年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 霜田雅之
(英語) Masayuki Shimoda

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立国際医療研究センター・研究所 豚島移植プロジェクト・プロジェクトリーダー
(英語) National Center for Global Health and Medicine, Pancreatic Islet Cell Transplantation Project, Project Leader

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

和文:

研究開発の目的

本研究の目的は、日本初のブタ豚島を用いた異種豚島移植の臨床応用に向け、2つの主要な課題を解決することである。

目的1: 幼若ブタの豚島の *in vitro* での成熟化方法を確立する。

研究内容: iPS細胞分化法で用いたハイスループット分析法を用いて既存方法と比較してより高いインスリン分泌能をもつ幼若ブタ豚島への成熟化培養法を確立する。

目的2: ブタ豚島輸送の際に品質を維持できる輸送法を確立する。

研究内容: 国内において、幼若ブタ豚島の輸送実験を実施し、さらに大塚製薬工場より供与される米国のブタから作成した幼若ブタ豚島の日本への輸送実験を実施し、遠距離輸送法を確立する。

(1) 幼若ブタ豚島の成熟法の開発

① 実施内容

iPS 細胞で確立したハイスループット分析法を用いて、アデノウイルスベクターを用いて遺伝子導入したところ、ブタ膵島でもハイスループット分析法システムが機能することを確認した。

さらに未成熟である幼若ブタ膵島の成熟化を促進する化合物や培養法を同システムを活用して多数の条件で探索した。iPS 細胞において膵β細胞への分化を促進する化合物を中心に培養液に添加したところ、単独もしくは化合物の組み合わせにより、幼若ブタ膵島のインスリン産生および Ngn3 産生の誘導を顕著に促進した。通常法と比較し、いくつかの条件の成熟化法では、通常 3 週間程度かかる成熟化培養が、9 日ほどまで短縮した。成熟化培養 3 日目で Ngn3 が強力に発現し、通常法ではまだ低い発現しか認めないインスリンが、9 日目に強く発現した。

② 研究開発成果

上記のように、新規の成熟化培養法によって培養にかかる日数の短縮を達成した(既存法約 24 日 → 新規法 14 日以下、最短 9 日)。新規の誘導培地には基本培地に対して、各種化合物やサイトカインのグロースファクターなどを添加している。すなわち他種細胞では実績のある因子群を中心に使用している(具体的な因子名は特許のため記載せず)。成熟化培養 2 週間における *in vitro* グルコース応答性インスリン分泌試験の結果では、通常法と比較して約 2.5 倍のインスリン分泌を認めた。その際、成熟化の指標の一つであるグルコース応答性インスリン分泌能を保持していた。また、成熟化した幼若ブタ膵島を糖尿病マウスに移植し、血糖値の低下や血中ブタインスリンの検出を認めた。

③ 達成度

設定した目標：既存方法と比較して、インスリン分泌能を既存法の 1.5 倍以上に改善、または成熟化に要する期間を 20%以上短縮する。

達成度：100%

理由：インスリン分泌能向上、成熟化期間短縮のいずれも目標を達成したため。

(2) 幼若ブタ膵島の輸送法の開発

① 実施内容

ブタ膵島移植を実際臨床で実施する際、医療用ブタの飼育・膵臓摘出施設と移植を実施する医療施設は異なっているため、施設間の輸送が発生する。この輸送の際にブタ膵島の品質が低下しないかどうかを検証し、品質を維持できる輸送法を確立することを目的に、国内および海外からの輸送実験を行った。国内輸送試験を 2 回実施した。鳴門市にある(株)大塚製薬工場(本研究のセットアップ企業)の研究所より国立国際医療研究センター研究所に低温で密閉された容器にて輸送した。また、2019 年度においては米国にある FDA 認可の医療用ブタ供給施設から日本へのブタ膵島輸送実験を行った。

② 研究開発成果

上記の国内輸送試験において、輸送時間は 4~5 時間程度で、輸送前後での膵島量の低下は認めず、viability は輸送後も約 90%と良好であった。

海外輸送実験も良好な結果で、膵島数、バイアビリティの低下は 10%以内であった。また、通常法にて成熟化培養を行って成熟化したカプセル化ブタ膵島を糖尿病マウスに移植すると、血糖値が 1 か月以上改善した。

② 達成度

設定した目標：国内で輸送した後の幼若ブタ膵島について、膵島数、バイアビリティ、インスリン分泌能の低下を5%以内に抑える輸送法を確立する。さらに、米国でブタから分離した幼若ブタ膵島を日本に輸送し、到着後膵島数、バイアビリティ、インスリン分泌能の低下を10%以内に抑える技術を確立する。

達成度：100%

理由：複数回の試験の平均においてそれぞれ目標を達成したため。

研究の意義：

臓器移植は、20世紀の医学的奇跡とよばれ、従来の治療で治らなかった病気を治すことに貢献している。一方で、ヒトのドナー数は限られており、多くの患者の治療はできない。異種膵島移植が可能になると、移植医療の永遠の課題であった臓器不足を解決できるため、21世紀の最大の医学的進歩の一つとなりうる。本研究はその端緒となる。

本研究後の展開としては、当初はワイルドタイプの医療用ブタを利用するが、将来的にはCRISPR/CAS9システムなどの方法を用いた、遺伝子改変ブタの利用が考えられる。

以上のように、幼若ブタ膵島を用いた異種移植は21世紀の医療をリードする分野の一つである。(株)大塚製薬工場は、世界に先駆けて医療用ブタを用いた異種膵島移植の商品化を目指して治験を実施し、すでに一定の効果が見られているが、より広くこの治療を広げるためには有効性の改善がきわめて重要であり、本研究は非常に意義があると言える。

英文：

We developed a method for in vitro maturation of neonatal porcine islets using a high-throughput analysis as a combined tool of our culture technology and hIveNry system.

1. Specific aim 1: establishment in vitro maturation method of neonatal porcine islets

1st year:

A study of development of a maturation culture method for immature neonatal porcine islets was started using the high throughput analysis method with reference to iPS cell differentiation method. We confirmed that high-throughput analysis method could work even in neonatal porcine islets.

2nd year:

We established a maturation culture method for neonatal porcine islets with higher insulin secretion capacity compared with the current standard methods. The insulin secretion ability was about 2.5 times of the existing method, and the period required for maturation was shortened by 50% or more. We have achieved the research goal.

2. Specific aim 2: establishment a transportation method of neonatal porcine islets

1st year:

Transport experiments of neonatal porcine islets were carried out in Japan, and the quality control tests of islets were performed. For neonatal porcine islets after transportation in Japan, we established a transportation method that reduces a drop of the islet number,

viability and insulin secretion ability within 5%.

2nd year:

Experiments on transporting neonatal porcine islets prepared from pigs in the US to Japan were carried out and the quality control tests of islets were performed. For neonatal porcine islets after transportation from the US to Japan, we established a transportation method that reduces a drop of the islet number, viability and insulin secretion within 10%. We have achieved the research goal.

Significance:

Based on the result of this research, if the insulin secretion ability of neonatal porcine islets would be equivalent to that of human pancreatic islets, it is a new breakthrough treatment method of brittle type 1 diabetes as shown by allogeneic islet transplantation. Furthermore, the study of transport of porcine islets is directly related to clinical application. Together with the Otsuka Pharmaceutical Factory, a partner company, the research leader aims to clinical trial on islet xenotransplantation in Japan and to commercialize it in the future. This research has significance in a realization of islet xenotransplantation.

III 事後評価総合所見

インスリン分泌能の低い幼若ブタ膵島を試験管内で成熟させる手法と、国内および米国からの膵島輸送方法を確立し、当初予定された研究目標は概ね達成できました。

なお、今後のデータの充実、細胞移植後の生着期間の明確化、新規成熟化法の安全性評価等の検討が重要です。また、成熟させたブタ膵島の生体内でのインスリン分泌機能と、アルギン酸カプセルの免疫隔離機能の詳細解明、新規培養法の特許出願を含む知財戦略、先行臨床試験と差別化する事業化戦略の策定も必要です。免疫抑制剤が不要な膵島移植は、社会の医療ニーズに応えるものであり、本テーマの早期実用化で、ドナー不足の解消に繋がることを期待します。