

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：医療に役立つブタの開発研究：免疫のないブタからヒト血液をもつブタへ
2. 研究開発代表者： 花園 豊（自治医科大学 先端医療技術開発センター）
3. 研究開発の成果：

最近、ブタが実験動物として注目を集めている。ブタは遺伝学的にヒトに近いわけではない。遺伝学的距離を言うなら実はマウスの方がブタよりヒトに近い。ブタの解剖学上および生理学上の性質がヒトに近い。ブタは反芻動物ではない。ヒトとブタの消化器系は似ている。ブタは私達と同じ物を食べたがり、同じように消化する。同じように運動不足になりがちでアルコールを好む。ともに何でも食べて肥満や糖尿病を患う。ブタの心臓や肝臓も私達に似ている。ブタの体重や骨格サイズがヒトのそれに近いことから医療用デバイスの開発にも役立つ。

本研究では、次世代の再生医療技術をブタで検証できるようにするために、(1)実験用ブタの飼育法の開発や(2)ミニブタ化へ向けた開発研究を行いつつ、(3)ブタの光分子イメージング技術を確立する。これによって、ブタ生体内の各種細胞、例えば血液細胞を可視化し、ブタ体内での血液細胞の動態や血栓形成の瞬間を捉える。以って次世代の医療技術をブタモデルで POC を取得できるようにする。上記目的を達成するため、以下のとおり研究開発を進めた。

(1) ピッグセンターの整備・運用(花園)：自治医科大学先端医療技術開発センター(ピッグセンター)において、H25 年度(初年度)は無菌ユニットを整備し、ISO クラス 6 を達成した。H26 年度はブタ用セルプロセッシングセンター(CPC)を整備し、ブタへの移植細胞の調整やブタのサンプル解析等の実験の効率化・円滑化を図るとともに、ピッグセンター内のブタに関して、E 型肝炎ウイルス(HEV)フリー化を行った。H27 年度は、免疫不全ブタ系統または無菌ブタを維持するための感染防止・無菌的飼育システムを開発し、新生仔ブタの 2 週間にわたる無菌飼育を実施した。

(2) 実験用ブタの作製(長嶋)：我が国で作られる遺伝子改変ブタや疾患モデルブタは、ほとんどが家畜ブタをベースにしている。これらのブタをミニブタ化できれば、ヒトのサイズに近づき実験動物としても使いやすくなる。H25 年度、赤色蛍光蛋白質クサビラオレンジの遺伝子を組み込んだミニブタの作出に成功した。さらに、新規 GIFT 法(配偶子卵管内移植法)によって、クサビラオレンジ遺伝子を組み込んだブタ(肉豚由来 200kg)のミニブタ化を進め、H26 年度ミニブタとほぼ同等(50kg)、H27 年度マイクロミニブタとほぼ同等(20kg)の体格にまで小型化した。H27 年度は SCID ミニブタ化のために SCID キャリア雌にミニブタ精子で人工授精を施し、その妊孕性を確認した。さらに、H27 年度はブスルファンの投与によって急性血小板減少のブタモデルを作出した(この部分は花園担当)。本ブタモデルは臨床応用をめざした止血剤の試験等に有用と思われる。

(3) ブタ用イメージングデバイスの開発・設置(西村)：特殊な顕微鏡(生体光分子顕微鏡)を使って、生きたブタのからだの内部を高解像度・高速で可視化することに成功した。一光子型の生体光分子顕微鏡が H25 年度に稼働し、二光子型は H26 年度に試験稼働を開始した。今まで、ラット以上の大型動物を用いた高解像度生体イメージングの実用例は国内・国外ともに存在せず、ハード・ソフトともに開発を行っている我々のブタ用システムはすでに大きなアドバンテージがある。H26 年度には実際にブタ生体内の血管を流れる赤血球、白血球、血小板を単一細胞レベルで可視化し、血栓形成過程を観察することに成功した。H27 年度は、輸注したヒト末梢血由来血小板がブタ生体内で血栓形成に寄与することを確認した。