

# 第8回 一般社団法人予防衛生協会講習会

(2020年2月7日、つくば)

特別講演

## サルの肝臓をブタに移植：何のため？

古くからブタ、サルは、ヒトの前臨床実験動物として極めて重要とされてきた。ともすると、ブタ派、サル派のような呼び名で、一方のみが有用であると強調する実験動物研究者もいるが、いずれもヒトの医薬品や医療用機器等を検証するためには欠くべからざる実験動物であることには異論がない。

昨今のサル、ブタの実験動物としての進歩に概説を加えてうえで、著者が試みている研究を紹介する。



小林英司  
慶応大学

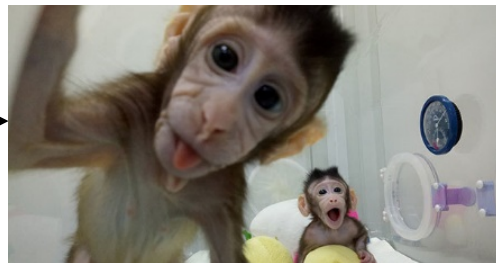
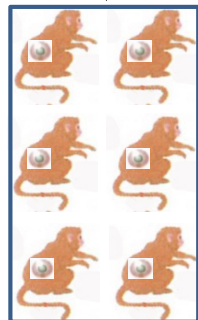
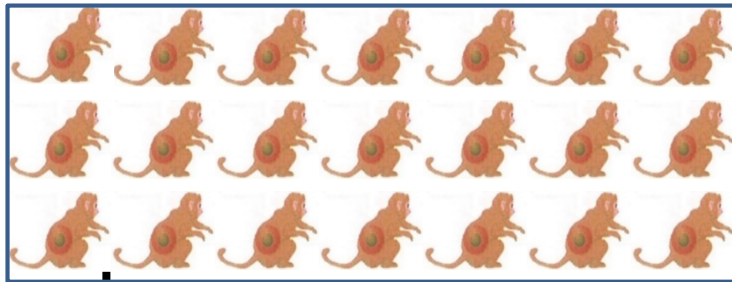
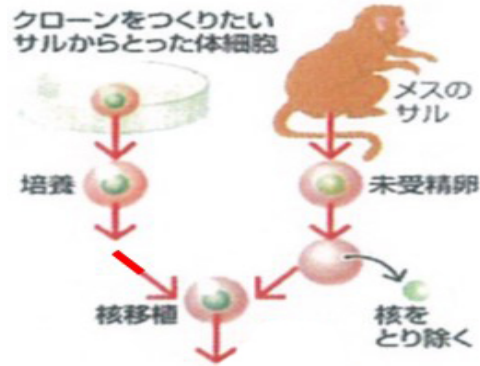
医学部 臓器再生医学寄付講座

COI:富士マイクラ(株)、大日本住友製薬(株)

# —世界初の実験動物が続々と中国から—

## クローン猿が誕生

## 神経疾患モデルブタが誕生



中中(チョンチョン)  
華華(ホワホワ)

(Liu Z, et al. Cell 2018)

ゲノム編集技術(CRISPR/Cas9)と体細胞核移植技術を用い、世界初の「ハンチントン病」遺伝子ノックイン



(Yan S, et al. Cell 2018)

# 自治医科大学 先端医療技術開発センター

# 沿革

**2001年** 栃木県重点分野研究開発促進事業(医療福祉関連)採択。「医療技術トレーニングシステムの構築」をテーマに保健所からの譲渡犬を用いた動物実験を全て中止し、ブタの実験使用推進を開始。



**2007年04月** 自治医科大学実験医学センター内に「医療技術トレーニング部門」設置



**2008年** 文部科学省「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」の一つとして、自治医科大学の「大型動物(ミニブタ)を用いた先進的医療技術実現化」事業が採択

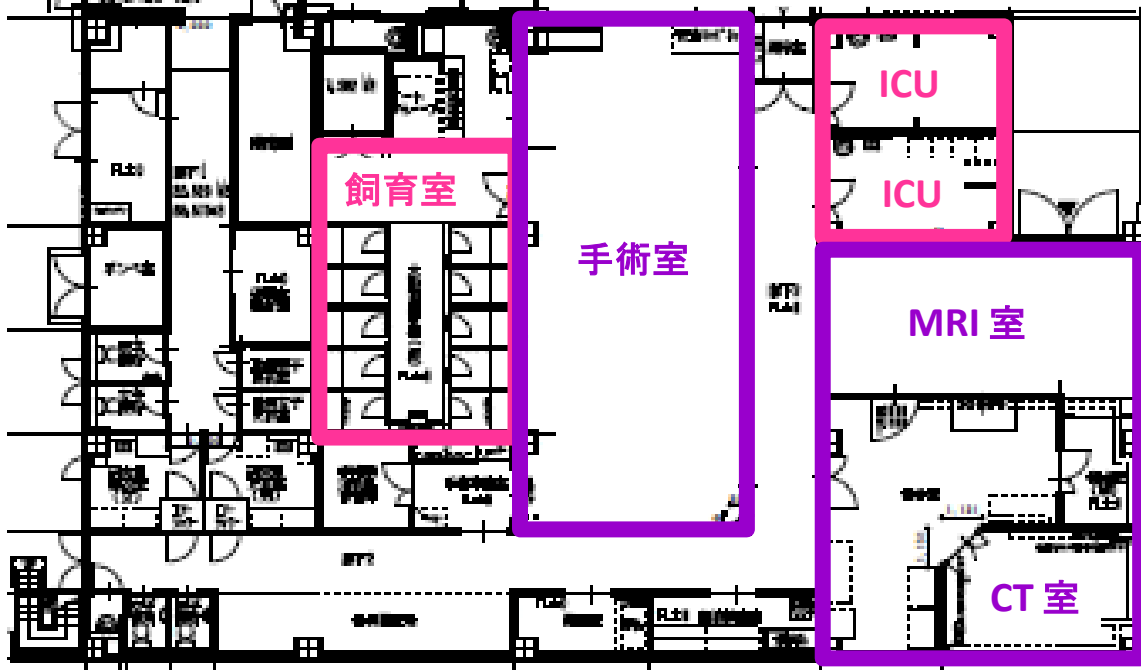
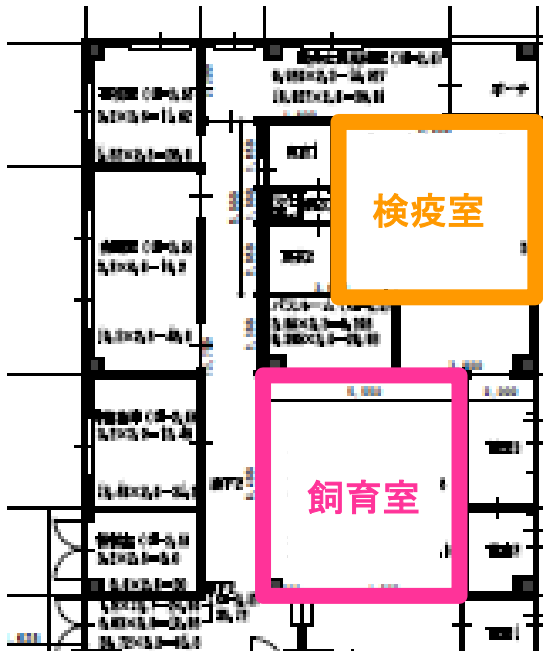


**2009年04月**  
先端医療技術開発センター  
(CDAMTec)開設



(自治大ホームページより)

# 自治医科大学ピッグセンターの設計



総床面積: 763.92 m<sup>2</sup>  
(2012年5月第I期増築工事後)



# 幼若なブタを実験や手術トレーニングに使うときはE型肝炎ウイルスに気をつけて！

[Molecular investigation of hepatitis E virus infection in domestic and miniature pigs used for medical experiments.](#)

Tanaka H, Yoshino H, Kobayashi E, Takahashi M, Okamoto H. Xenotransplantation. 2004 Nov;11(6):503-10.

[The pig as a model for translational research: overview of porcine animal models at Jichi Medical University.](#)

Kobayashi E, Hishikawa S, Teratani T, Lefor AT. Transplant Res. 2012 Aug 16;1(1):8. doi: 10.1186/2047-1440-1-8.

[Swine used in the medical university: overview of 20 years of experience.](#)

Kobayashi E, Hanazono Y, Kunita S. Exp Anim. 2018 Feb 9;67(1):7-13. doi: 10.1538/expanim.17-0086. Epub 2017 Oct 7. Review.

# 孤発例でありながら、HEV遺伝子解析により感染源が同一と推察された中部地方発生のE型肝炎の3組6症例

Table 1 Characteristics of 6 patients with sporadic acute hepatitis E in Mie and Gifu, Japan

No. of case	1	2	3	4	5	6
Age (years)	61	61	60	74	67	73
Sex	Male	Male	Male	Male	Female	Male
Residence (prefecture)	Mie	Mie	Gifu	Mie	Gifu	Gifu
Date of onset	2012/2	2012/7	2013/12	2014/5	2017/12	2017/12
Symptom on onset	None	Itching	General fatigue	General fatigue	General fatigue	None
Peak ALT (IU/L)	525	918	1247	2741	2464	1779
Peak AST (IU/L)	141	542	633	2292	1617	2376
Peak T-Bil (mg/dl)	2.4	2.0	1.4	0.9	1.4	4.3
Lowest PT %	82%	>100%	>100%	83.0%	>100%	96.2%
Highest PT-INR	1.11	0.99	0.94	1.10	0.98	1.02
Hospitalization (days)	0	0	18	7	10	14
IgA anti-HEV	+	+	+	+	+	+
HEV RNA	+	+	+	+	+	+
HEV genotype	3b	3b	3b	3b	3b	3b
Strain name	JA12-0483	JA12-0940	JHT-Gif14	JA14-1566	JMH-Gif17	JA17-1533
Possible source of infection	Raw fish	Raw meat from a horse	Undercooked pork	Cooked pig viscera	Cooked pork	Cooked pig viscera
Homology within ORF1 326 nt	100.0%			99.7%		99.7%
Homology within ORF2 412 nt	100.0%			100.0%		99.8%

Cases 1 and 2 correspond to cases 13 and 17 in the previous report by Okano et al.<sup>1)</sup>, respectively.

Case 3 corresponds to case 4 in the previous report by Watanabe et al.<sup>2)</sup>.

Case 6 corresponds to the case in the report by Shimizu et al.<sup>3)</sup>.

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; T-Bil, total bilirubin;

PT %, prothrombin activity in %; PT-INR, prothrombin time international normalized ratio;

HEV, hepatitis E virus; IgA anti-HEV, immunoglobulin A-class antibodies to HEV.

# DVA Vaccination by Electroporation in Pigs



*(With Khan A and Kim J,  
Invivo Biomedical Corporation)*

*Eiji Kobayashi, Chapter 14 Experimental Gene Therapy using Naked DNA,  
Advances in Experimental Surgery edited by Chen F & Martins PN.*

## 動物体内でヒトの臓器作成に道 文科省部会が指針了承

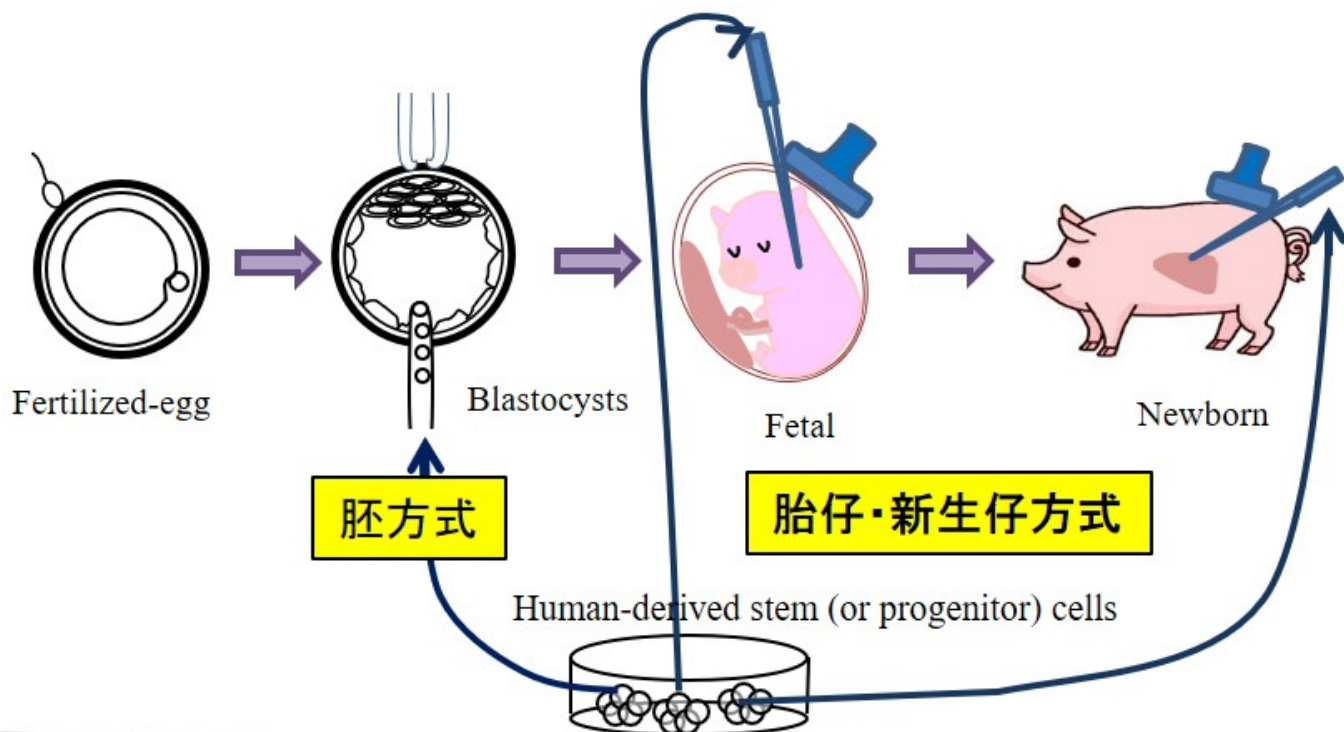
動物とヒトの細胞を持った「動物性集合胚(はい)」の取り扱いについて、文部科学省の専門部会は20日、より幅広い基礎研究ができるように指針を改正することを了承した。今後、内閣府の専門会議で認められれば、動物の体内でヒトの臓器を作る研究に道が開ける。

動物性集合胚は動物の受精卵が成長した段階の胚にヒトの細胞を入れたもの。国は2013年、動物の体内でヒトの臓器を作る基礎研究を認める見解をまとめており、文科省が指針改定に向けて技術面や倫理などの観点から検討してきた。

これまで、動物性集合胚を動物の子宮に移植し、子どもを産むことはできなかったが、指針の改正によって可能になる。



# ブタ体内でヒト臓器を造る戦略と仮題

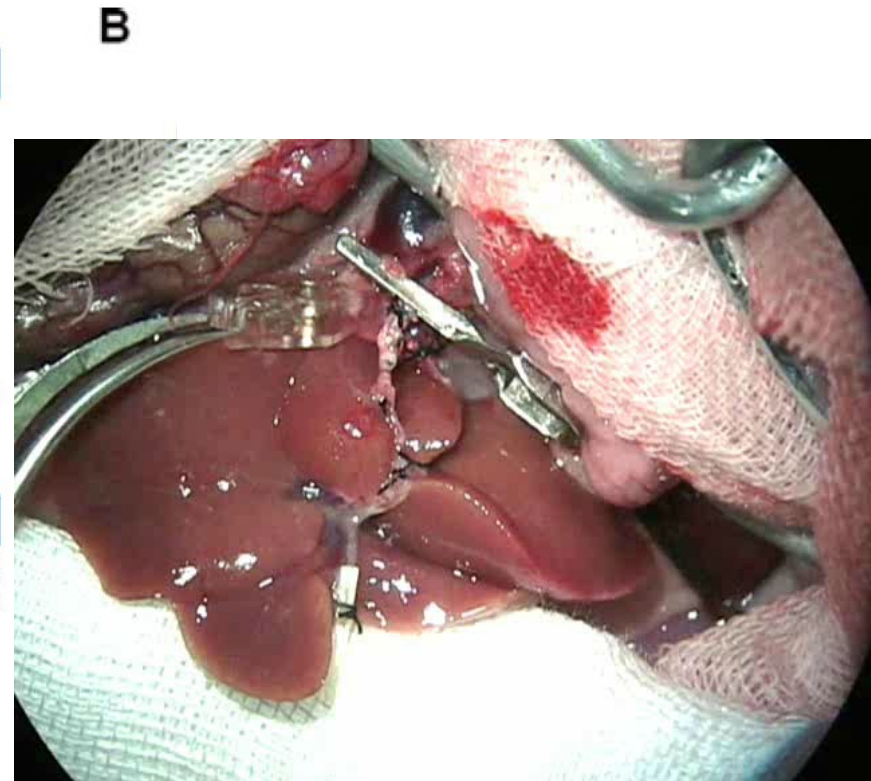
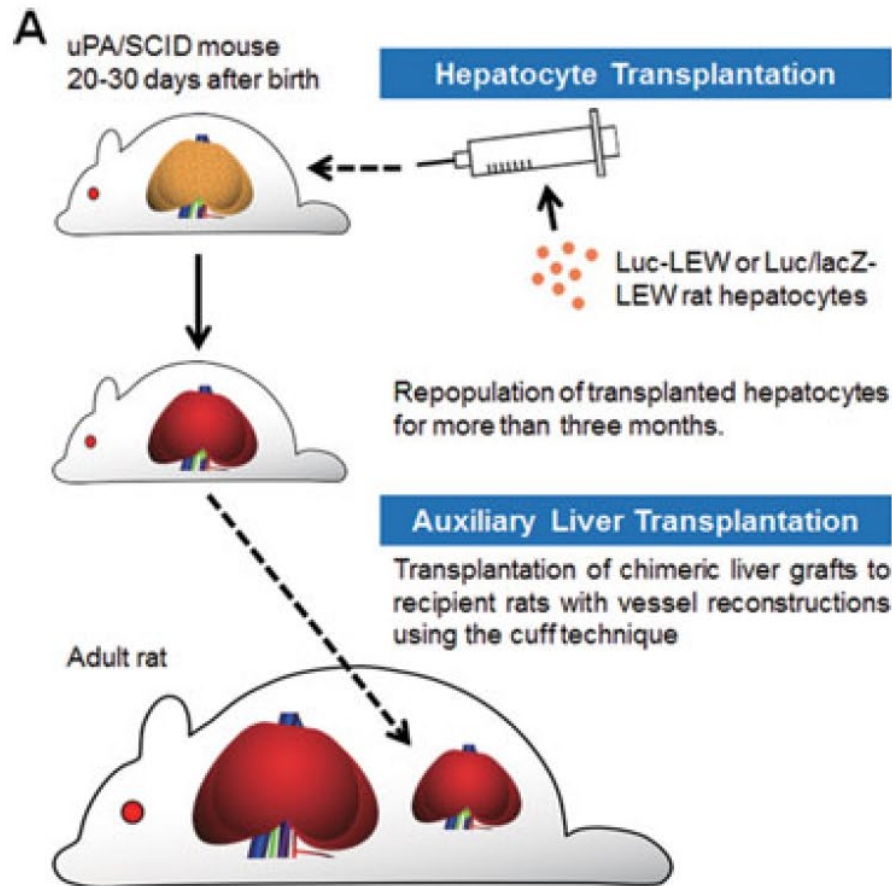


Problems Animal set embryos  
(Chimera in neuro and genital cells)

Immune Responses  
(Rejection of human-derived cells)

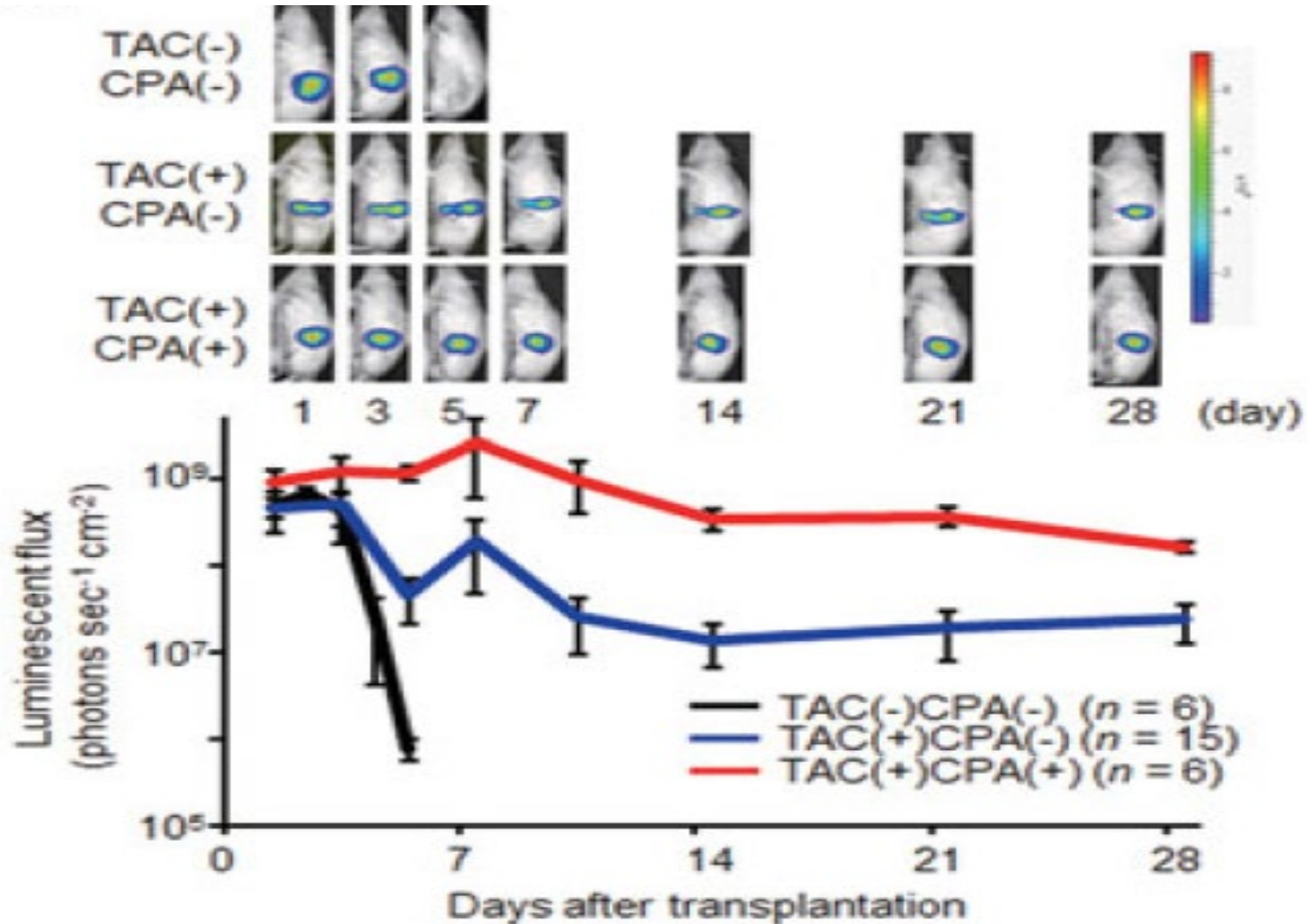
(Kobayashi E, et al. Keio J Med 2019)

# Transplantation of Engineered Chimeric Liver With Autologous Hepatocytes and Xenobiotic Scaffold



(Hata T, et al. *Annals of Surgery* 2013)

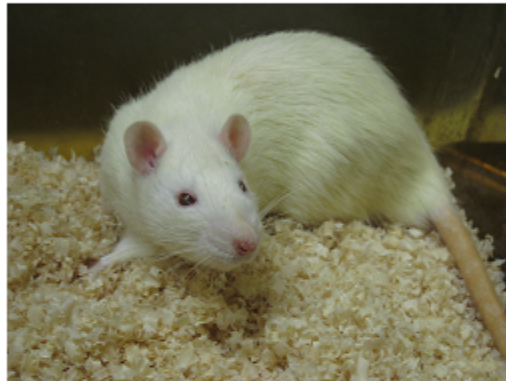
# Viability of transplanted CL grafts in wild-type LEW rat recipients



(Hata T, et al. *Annals of Surgery* 2013)

# 再生医療、なぜマウス学者は臨床が遠いのか？

## 小動物



## 大動物



## 臨床



細胞数 1.0~3.0 x 10<sup>6</sup> cells

1.0~3.0 x 10<sup>8</sup> cells

5.0~8.0 x 10<sup>8</sup> cells

100mm dish 1~2枚

100~200枚

350~550枚

移植時間 1~10秒

10~30分

15~60分

移植法 シリンジによる  
局注または静注

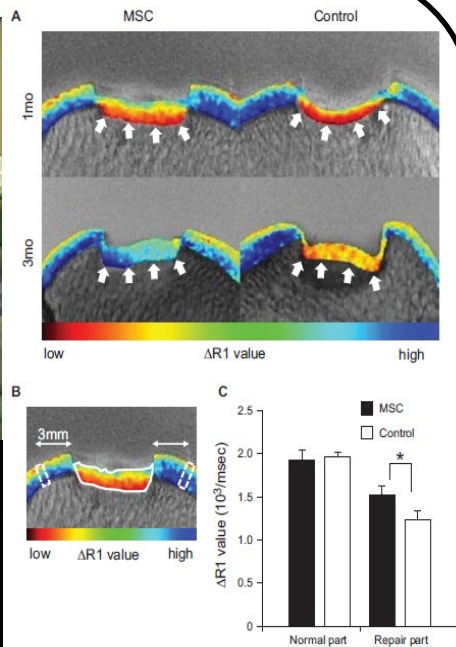
シリンジによる  
局注または静注  
点滴バックによる  
静注

シリンジによる  
局注または静注  
点滴バックによる  
静注



# 非臨床・臨床一体型評価法の 導入でいち早く臨床応用へ (MSCによる軟骨再生療法)

## 豚での関節鏡



(Nakamura T, et al. Cytotherapy 2012)

## 患者での関節鏡



滑膜由来MSC

関矢教授、宗田教授らとの  
(東京医科歯科大学との共同研究)

# 慶大審査委、iPS心筋移植了承

2020/2/6 10:49 (2020/2/6 10:51 更新)

## 共同通信

人工多能性幹細胞（iPS細胞）から作った心臓の細胞を重い心臓病の患者に移植する慶応大研究チームの臨床研究計画について、学内の審査委員会が6日までに実施を了承した。近く厚生労働省に申請し、認められれば移植を始める。

福田恵一教授らのチームは、京都大が備蓄しているiPS細胞から心臓の筋肉（心筋）の細胞を作り、重い心不全の患者に特殊な注射で約5千万個移植する。移植細胞が周りの心筋細胞と一緒に収縮することが期待できるという。1年かけて安全性や効果を確かめる。

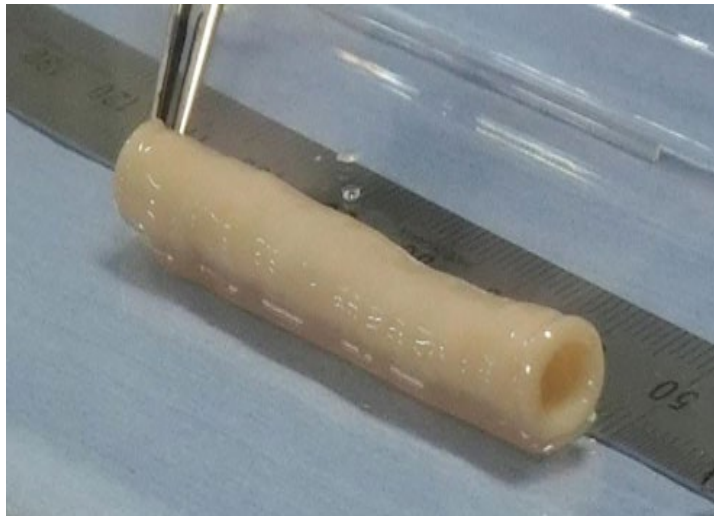
iPS細胞による心臓治療では、大阪大のチームが1月「心筋シート」の治験を開始したことを明らかにしている。





# バイオ3Dプリンタで作った人工血管を移植する臨床研究、佐賀大学などの研究グループが開始

2019年11月13日 13時31分 公開



バイオ3Dプリンタで作った  
細胞製人工血管

佐賀大学と再生医療ベンチャーのサイフューズ（東京都文京区）は11月12日、独自開発のバイオ3Dプリンタで細胞製人工血管を作り、ヒトへ移植する臨床研究を開始すると発表した。

人工透析を必要とする患者に移植し、安全性の高いバスキュラーアクセス（血液の出入口）を作るという。



## 「人間」を拒絶しないブタ 再生医療で移植臓器に期待



免疫に関わる細胞を作る臓器を取り除き、体外からの異物を拒絶しない状態にしたブタを、慶応大の小林英司・特任教授らが生み出した。体内で人間の臓器を作る再生医療の研究に役立つという。

21日、英科学誌ネイチャー・コミュニケーションズで発表した。

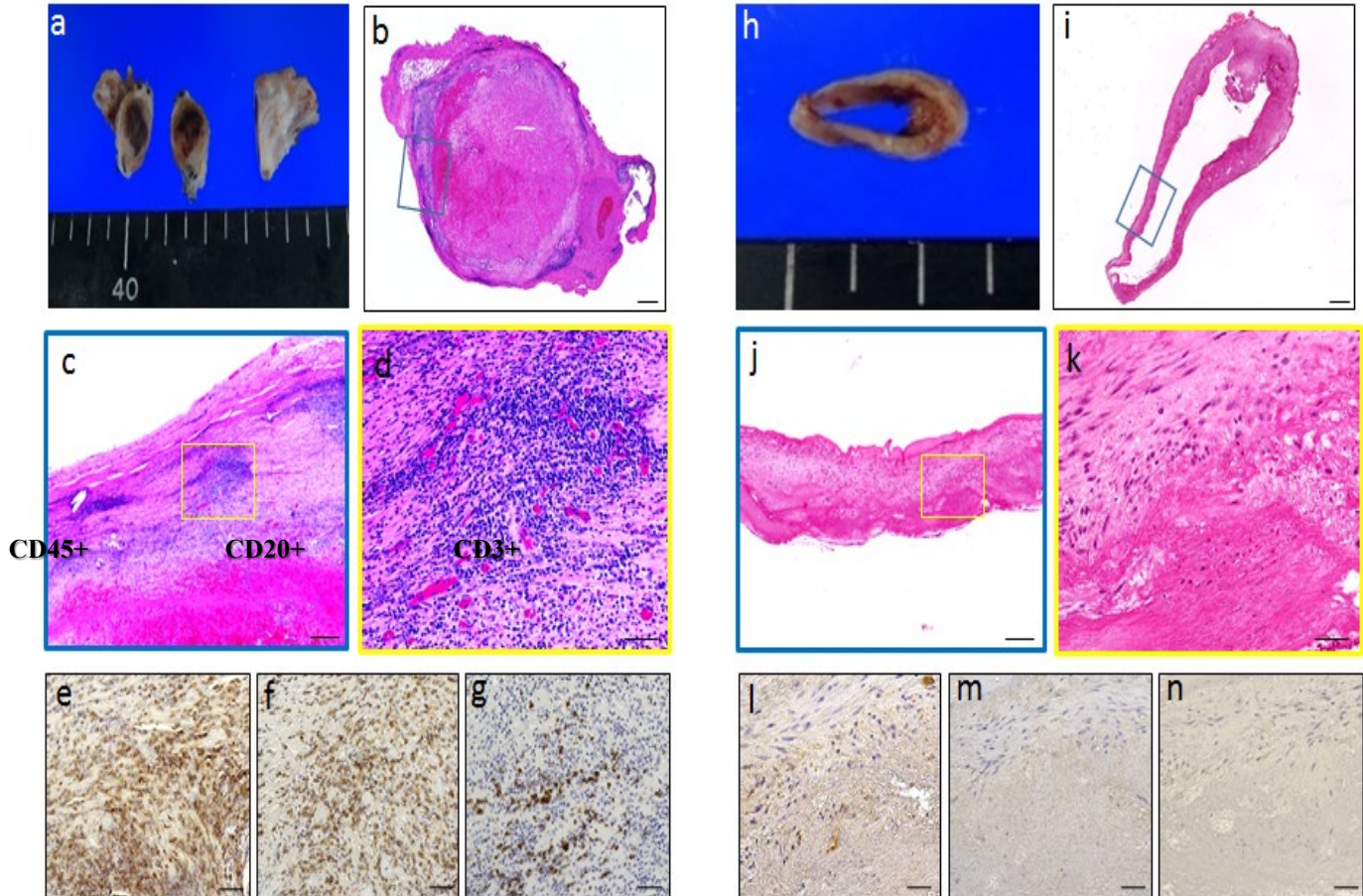
# ブタを使った研究



## Development of an immunodeficient pig model allowing long-term accommodation of artificial human vascular tubes

通常の成熟ブタ

外科的に主要免疫臓器を摘出したブタ



(Ito M, et al. Nat Commun.2019 May 21;10(1):2244.)

# Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2.



サルを実験に使う整合性！？

*(Liu Z, et al. Nature. 2016 Feb 4;530(7588):98-102)*





京都大学

KYOTO UNIVERSITY

# サルの肝臓を持ったブタ誕生

我々は、ヒトの肝臓を「臓器として」最大限増幅させる手段としてブタをIn vivoバイオリアクターとする研究を進めている。先に成熟ブタで免疫系を手術したうえで免疫抑制薬を使ったoperational SCIDブタの産出に成功した(*Ito M, et al. Nature Communications 2019*)が、今回、本免疫制御システムを使ってサルの肝臓を補助的にブタに移植した。本革命的技術は、移植不可能な過小グラフトの増幅や心停止による移植不適合肝臓などを移植可能とする技術となり得る。



移植後1週間生存したサルの肝臓を持つブタ

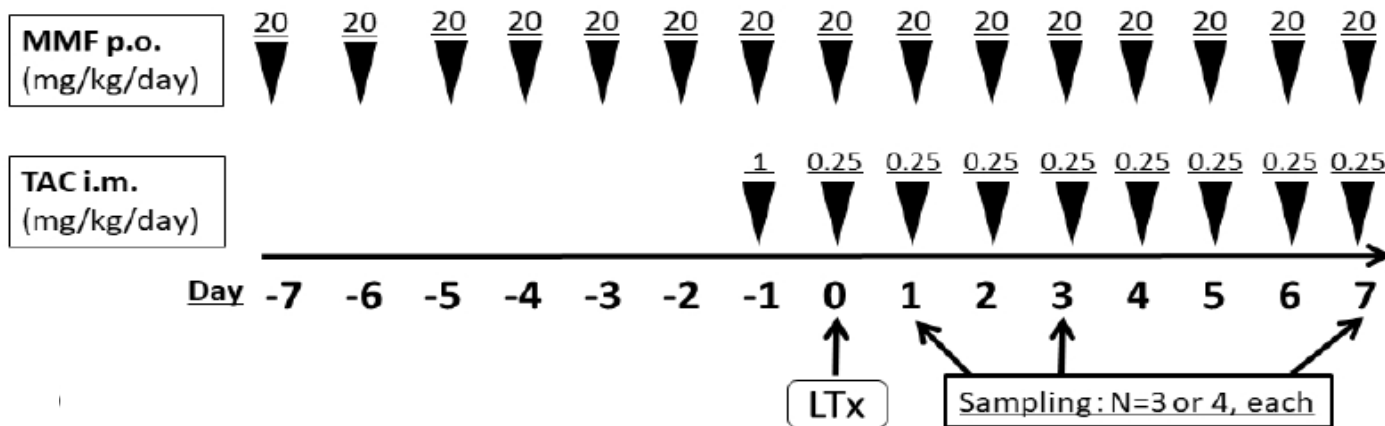
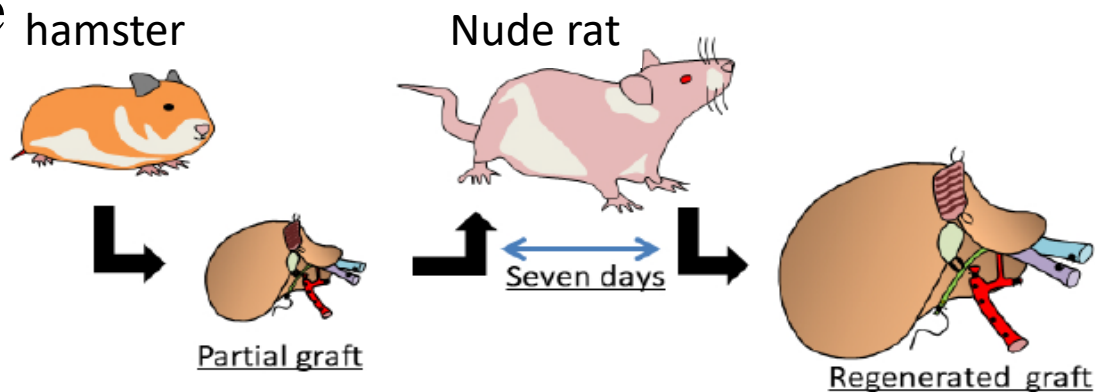
本研究は、京都大学医学部の実験承認を得て、文部省科学研究費（A）で行われた。

**ヒトの肝臓はどこまで  
大きくなれるか？その応用は？**

2020年2月15日（仙台） 発表予定

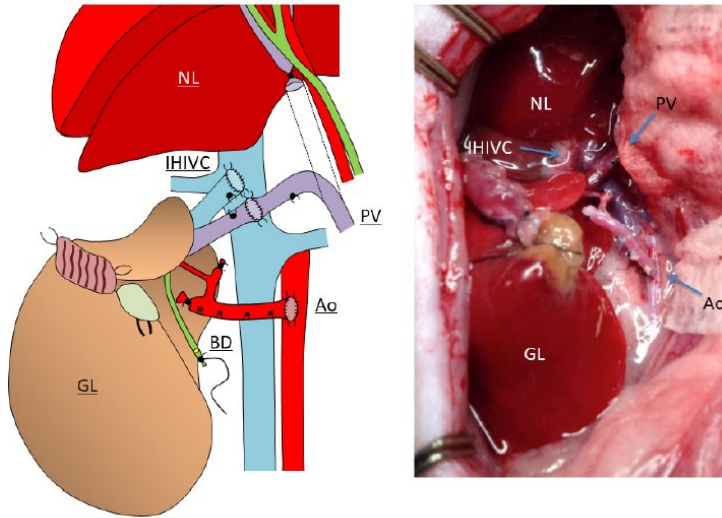


# Auxiliary xenotransplantation as an in vivo bioreactor— Development of a transplantable liver graft from a tiny partial live hamster

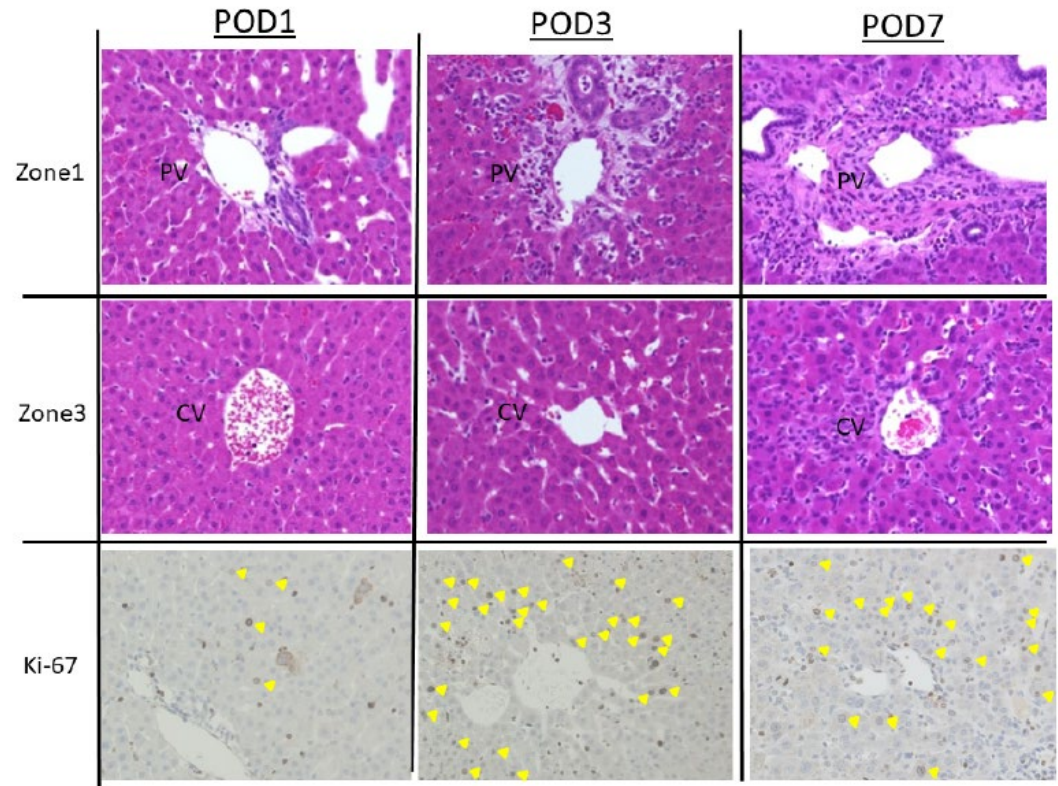


(Masano Y, et al. Xenotransplantation. 2019)

Images and scheme of auxiliary xenogeneic partial liver transplantation (AxPLT) just after vessel reconstruction



Histopathological changes of hamster's liver graft (HE and Ki-67 staining).  
Yellow arrowheads show the Ki-67 positive cell



2019年04月05日



大日本住友製薬

Innovation today, healthier tomorrows

## 腎臓の再生医療実現に向けた取り組み開始について

学校法人 慈恵大学・東京慈恵会医科大学（所在地：東京都港区、以下「東京慈恵会医科大学」）、学校法人 明治大学（所在地：東京都千代田区、以下「明治大学」）、バイオス株式会社（所在地：東京都台東区、以下「バイオス」）、株式会社ポル・メド・テック（所在地：神奈川県川崎市、以下「ポル・メド・テック」）および大日本住友製薬株式会社（本社：大阪市中央区、以下「大日本住友製薬」）の5者は、このたび、iPS細胞を用いた「胎生臓器ニッチ法」による腎臓再生医療の2020年代での実現を目標として、共同研究・開発などの取り組みを開始しますので、お知らせします。

（インターネットより）

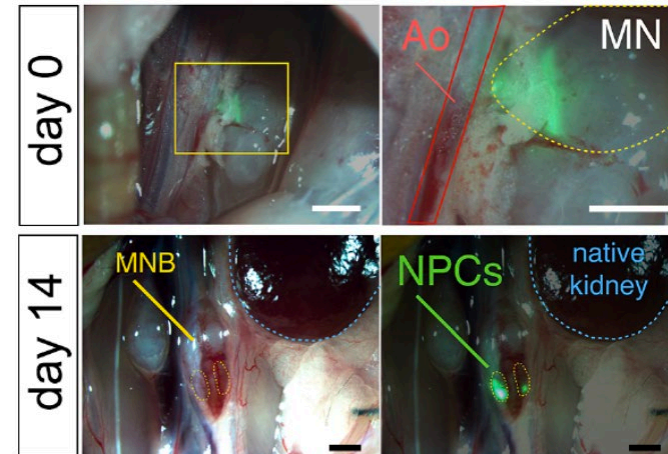
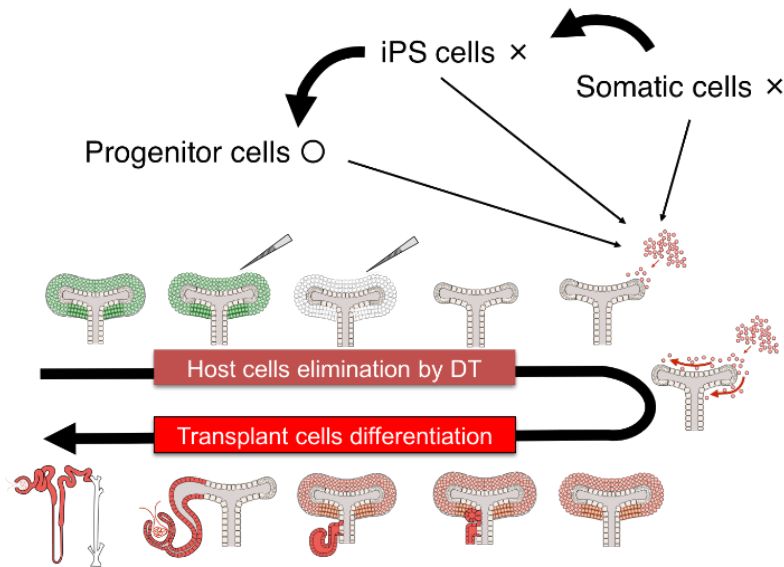
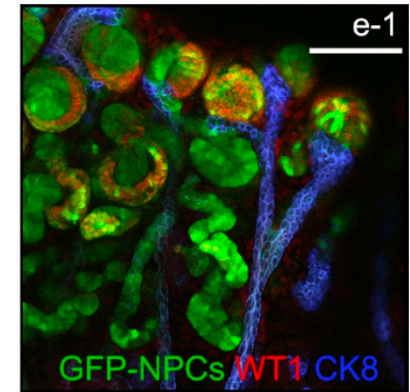
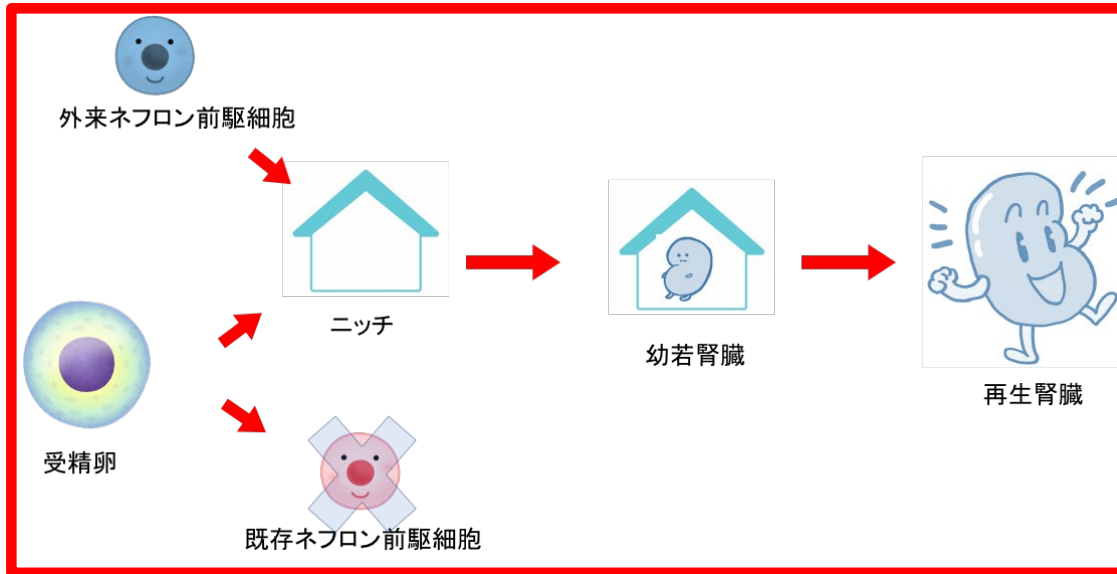
**ヒトで使用する免疫抑制薬の  
有効性と安全性をチェック！**

# 腎臓再生プロジェクト: Yamaton-K



学校法人  
慈恵大学

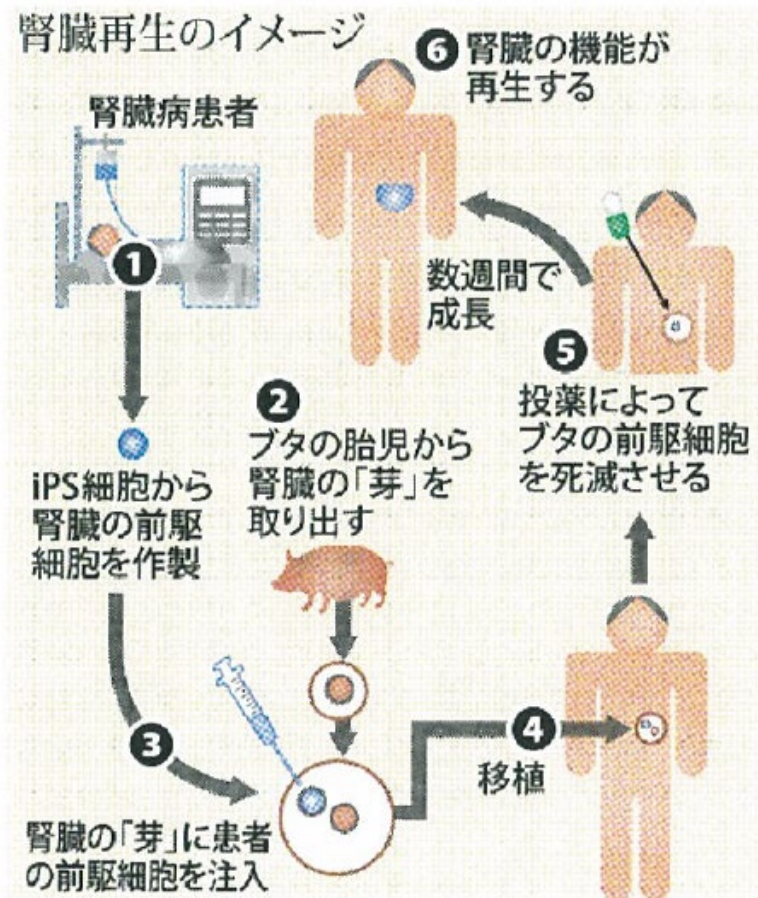
See the patients, not the disease. 病気を診ずして病人を診よ



(Yanamaka S, et al. Nature Com 2017)



## ＜腎再生＞初の臨床研究 患者のiPS使用、年内開始



毎日新聞（2018年1月5日）

## 乗り越えるべき課題と戦略

### ①患者iPS細胞の安全性

再生医療等の安全性の確保等に関する法律（平成25年法律第85号）

知財（2012年7月6日 日本 登録番号5030039）

### ②ブタ胎仔の臓器の芽の安全性

異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針

### ③臓器の芽へのヒトの細胞注入技術

知財（2012年6月5日 ニュージーランド 登録番号590122）

### ④移植後の免疫抑制法

知財（未登録 免疫抑制薬のコンビネーションによるヒト組織生着法）

### ⑤Cell Fate Controlにおける安全性

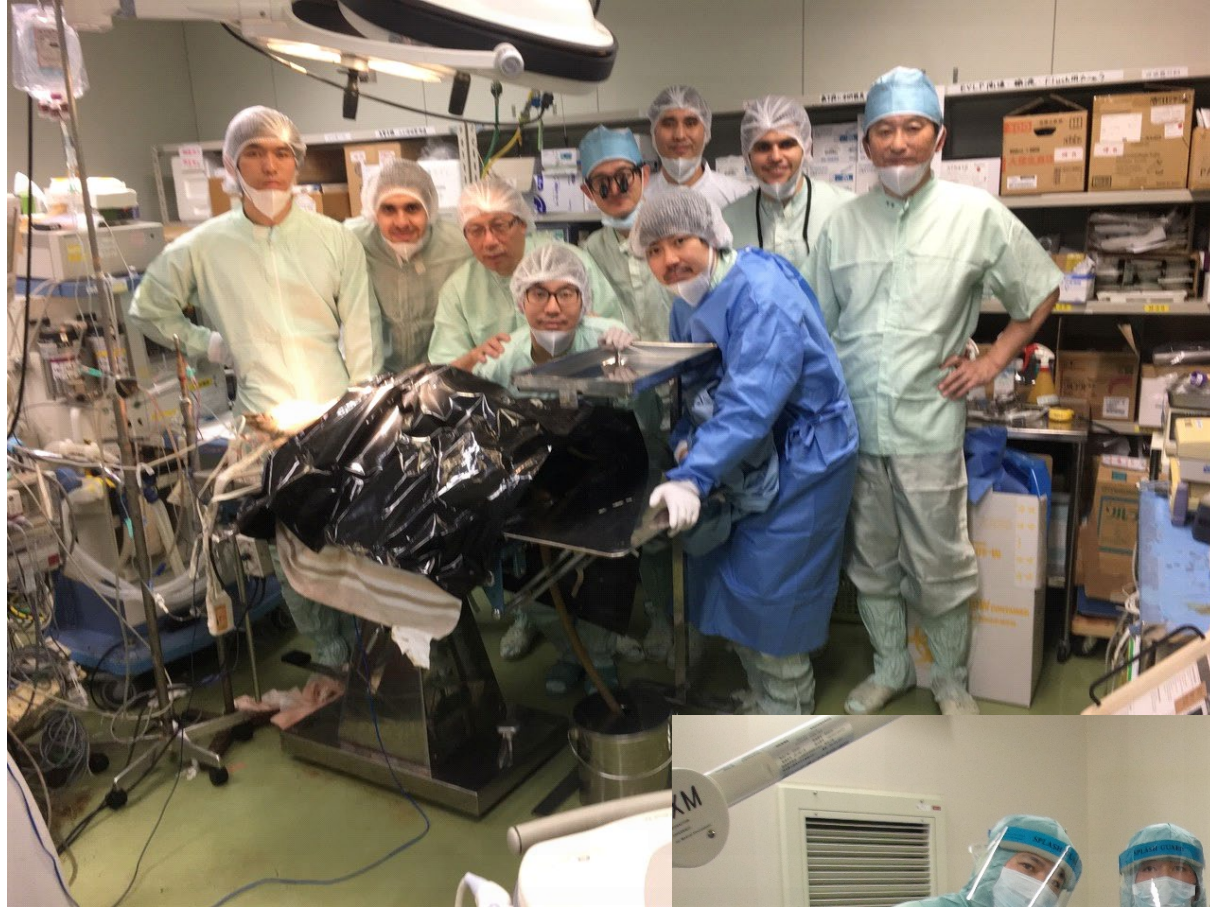
遺伝子治療医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針（2004）

### ⑥尿路作成技術

知財（移植用臓器及び臓器構造体（特願2014-257957）

（小林英司 2018年1月20日、関東腎研究会）





京都大学  
KYOTO UNIVERSITY



学校法人  
慈恵大学

See the patients, not the disease. 病気を診ずして病人を診よ



# Acknowledgement / 共同研究者

## 慶應義塾大学

水素ガス治療センター 佐野元昭

循環器内科 遠山周吾、藤田淳、福田恵一  
心血管外科 川口新治、平野暁教、志水秀行  
消化器外科 八木 洋、北川雄光  
消化器内科 杉本真也、佐藤俊朗

## 慈恵医科大学

高血圧内科 横尾隆、他

## 自治医科大学

先端医療技術開発センター  
寺谷 工、阿部朋行 花園 豊

## 東京医科歯科大学

再生医学 関矢一郎、他

## 明治大学 農学部

発生工学 中野和明、松成ひとみ、長嶋比呂志

## 北里大学

獣医学部 岩井聡美

## 日本獣医生命科学大学

獣医看護 袴田陽二

## 京都大学 医学部

胆管膵・移植外科 八木真太郎、上本伸二

## 九州大学 医学部

小児外科 柳佑典、田口智章

## 佐賀大学 医学部

臓器再生医工学講座 中山功一  
循環器外科 伊藤 学

## 長崎大学 医学部

腫瘍外科 土谷智史

## 琉球大学 医学部

再生医学講座 野口洋文

## 東京女子医科大学

先端生命 佐野和紀、関根秀一、清水達也

## 理化学研究所

多細胞システム 石川潤、辻孝

## 国立成育医療センター

先端医療開発室 許懐哲、絵野沢伸