

第36回WakoWebセミナー
オルガノイド・スフェロイド研究の最前線～
医薬品開発、再生医療への応用



株式会社サイフューズ

ヒト3Dミニ肝臓作製サービスのご紹介

2023年 2月

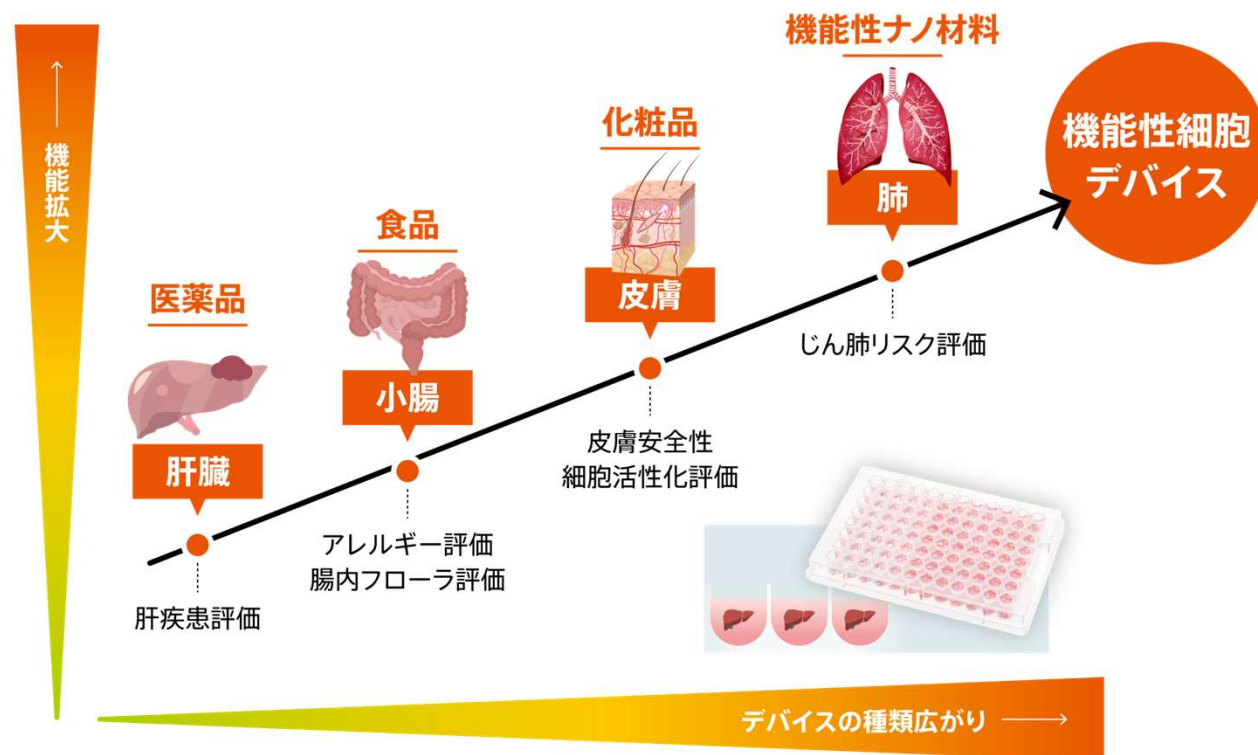
研究開発部 前川敏彦

事業 創薬支援領域

機能性細胞デバイス（Functional Cellular Device；FCD）の開発

次世代ヘルスケア分野（イメージ）

- 医薬、食品や化粧品などヘルスケア分野の製品開発企業様向けに、開発支援用のツールとしての細胞製品を提供
- ヒト体内の機能の一部を取り出して再現した機能性デバイス
- プラットフォーム技術を有する強みを活かし、多様な臓器への応用展開



機能性細胞デバイス(FCD)

ヒト体内の機能の一部を取り出して再現した機能性デバイス

【既存評価法】

動物モデル



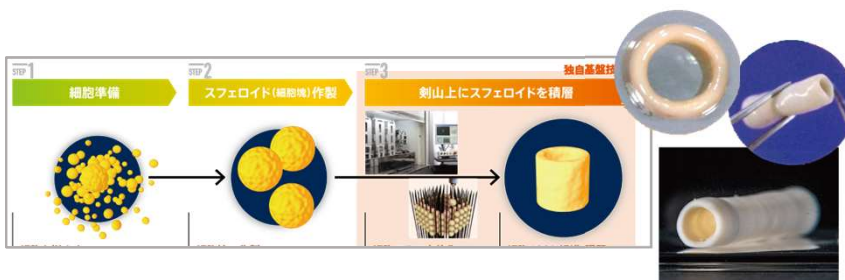
2次元細胞培養モデル



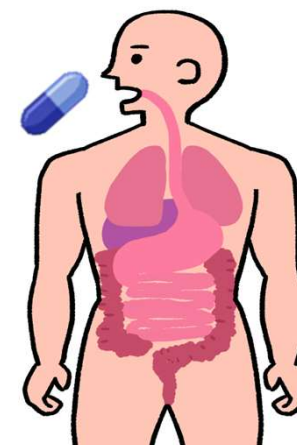
ヒト体内の挙動と
異なる事例多い

【FCD】

ヒト細胞から成る3次元組織を用いた評価系



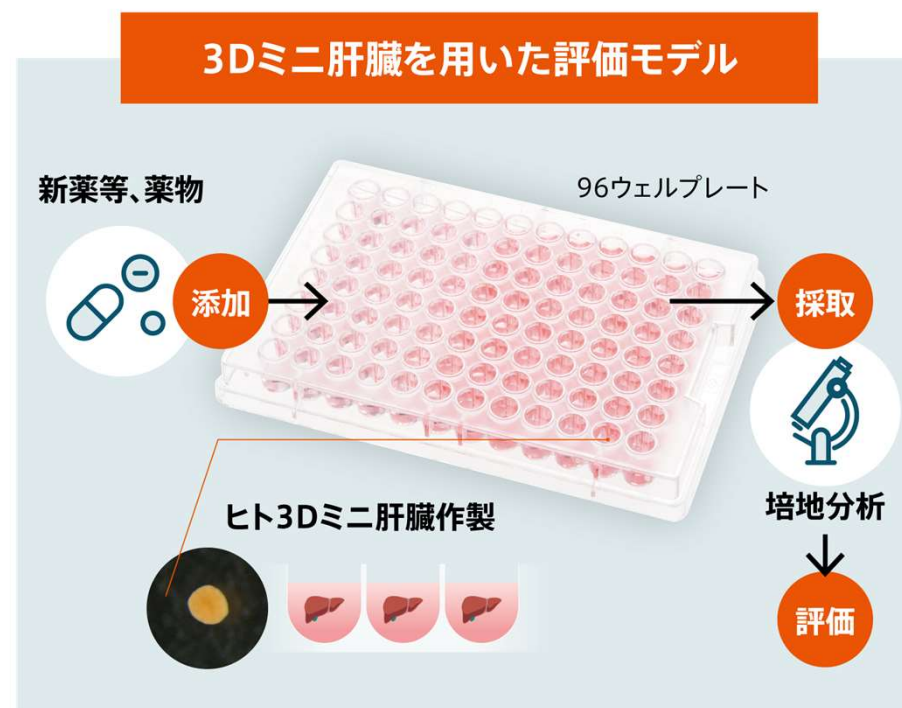
ヒト体内の挙動を
予測できる



- 体内動態予測
- 人体での安全性
- 薬効評価メカニズム解明

ヒト肝臓の評価モデルに求められる性能

- 長期間培養ができる
- 薬物代謝機能がある
 - ・ 代謝関連の遺伝子発現
 - ・ 代謝酵素活性
- 機能の変動が小さい
 - ・ 多数検体の計測における再現性
 - ・ 製品性能の安定性
- 使い易い

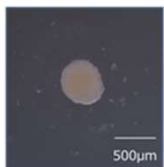


3Dミニ肝臓製造フロー

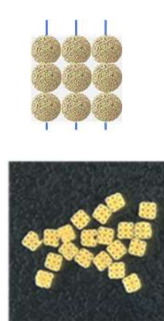
◆ヒト肝細胞
プレート播種



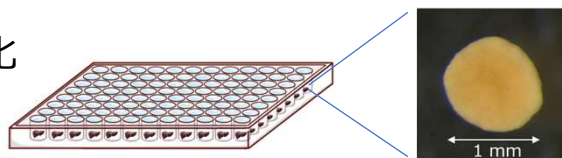
◆スフェロイド化



◆3Dミニ肝臓



◆パッケージ化

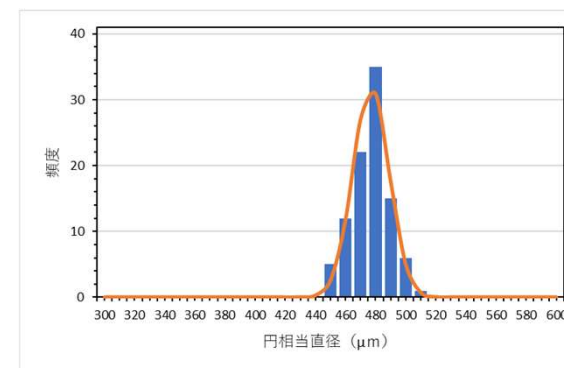


新開発の攪拌培養装置

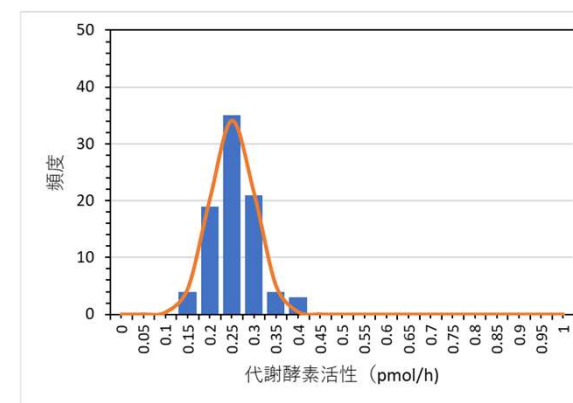


バイオ3Dプリンター

粒子径の揃った肝細胞スフェロイドの作製



肝細胞スフェロイドの均質な代謝酵素活性



組織大型化による代謝酵素活性の均質化

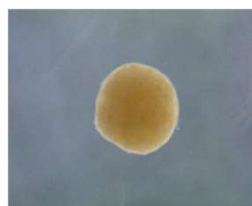
3Dミニ肝臓、組織のサイズ

(小)

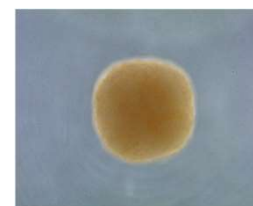
(大)



$\phi = 480 \mu\text{m}$



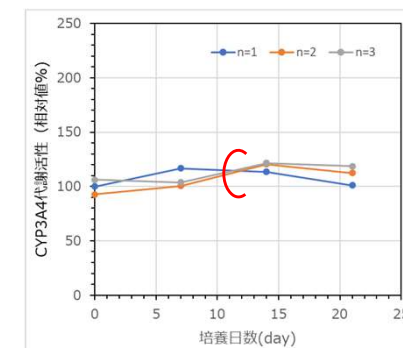
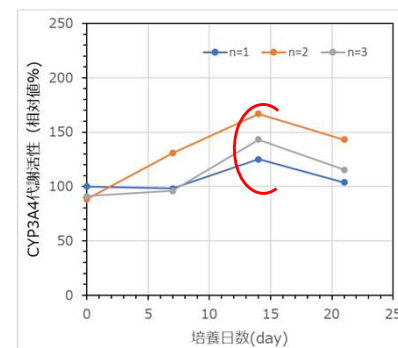
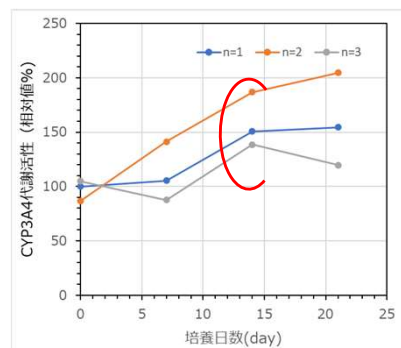
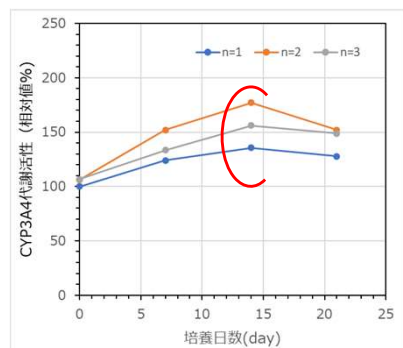
$\phi = 900 \mu\text{m}$



$\phi = 1,050 \mu\text{m}$



$\phi = 1,200 \mu\text{m}$

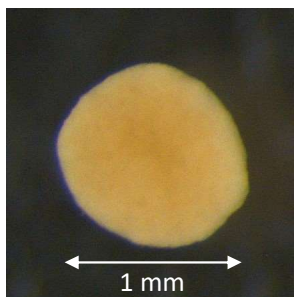


(大)

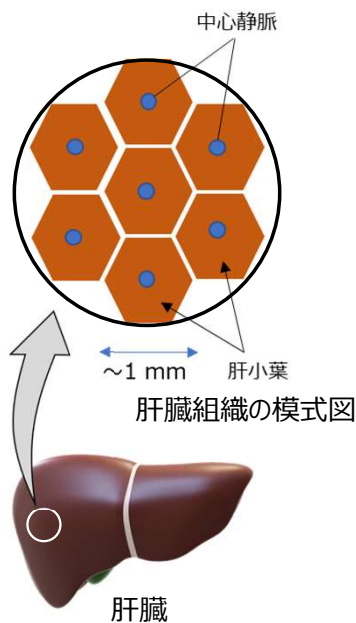
代謝酵素活性の変動、ばらつき

(小)

3 D ミニ肝臓の特徴



3次元ヒト培養肝臓組織の外観



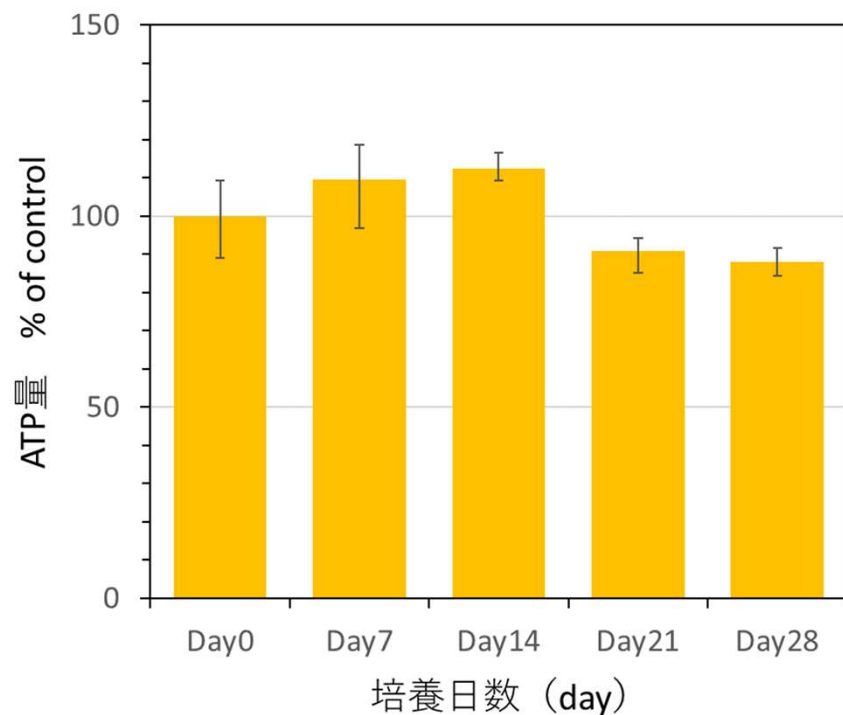
健常なヒト肝臓の薬物代謝機能を再現した肝臓モデル

- 約 1 mm の球状体（肝小葉同等のサイズ）
- ヒト肝臓の細胞のみで構成
- 健常肝臓と同じく静止期の肝星細胞を含有（線維化していない）
- 96ウェルプレート内で長期培養（1ヶ月以上）
- ヒト肝臓に類似の代謝機能
 - ・ 代謝に関連する様々な遺伝子を発現
 - ・ ヒト肝臓と類似の薬物代謝反応が進行
- 薬物投与に応答してエクソソームやマイクロRNAを分泌

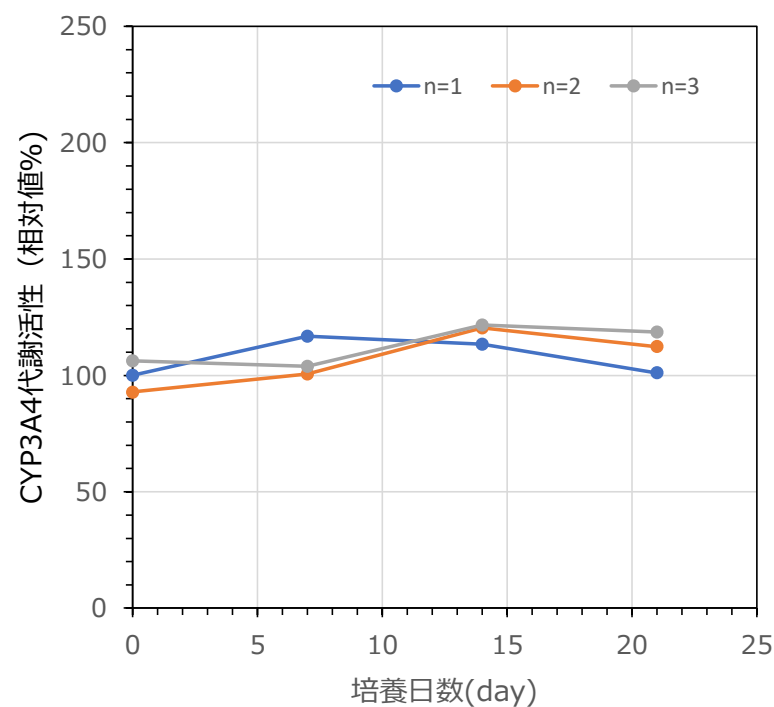
長期間安定な生存率と代謝酵素活性

- 直径1mmの大サイズでありながら、約1ヶ月間の安定な培養が可能
- 安定な代謝酵素活性を示し、ばらつきの少ない評価系を構築できる

1ヶ月間の生存率90%以上



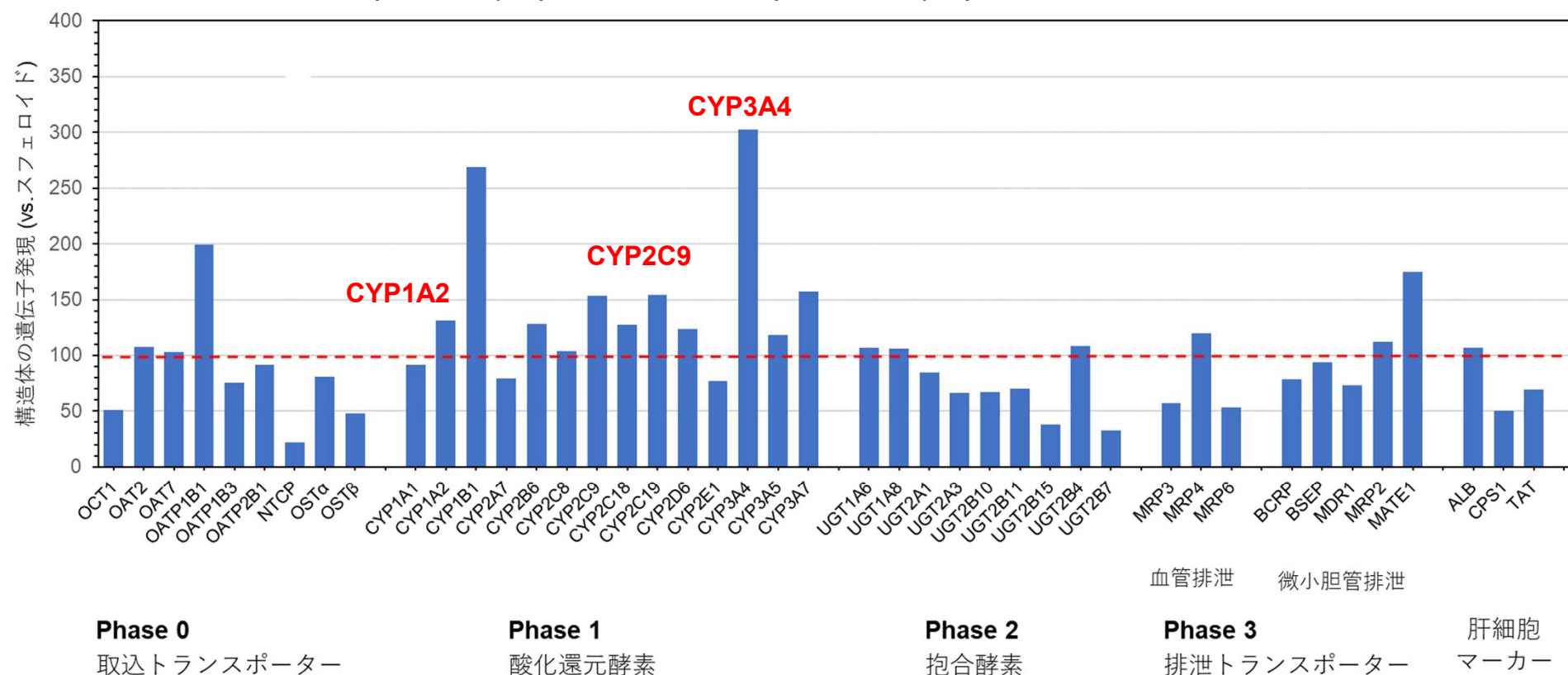
再現性の高い酵素活性



大型化による代謝関連遺伝子発現の向上

大サイズにすることで、注目度の高い酵素(CYP3A4など)の遺伝子発現量が向上

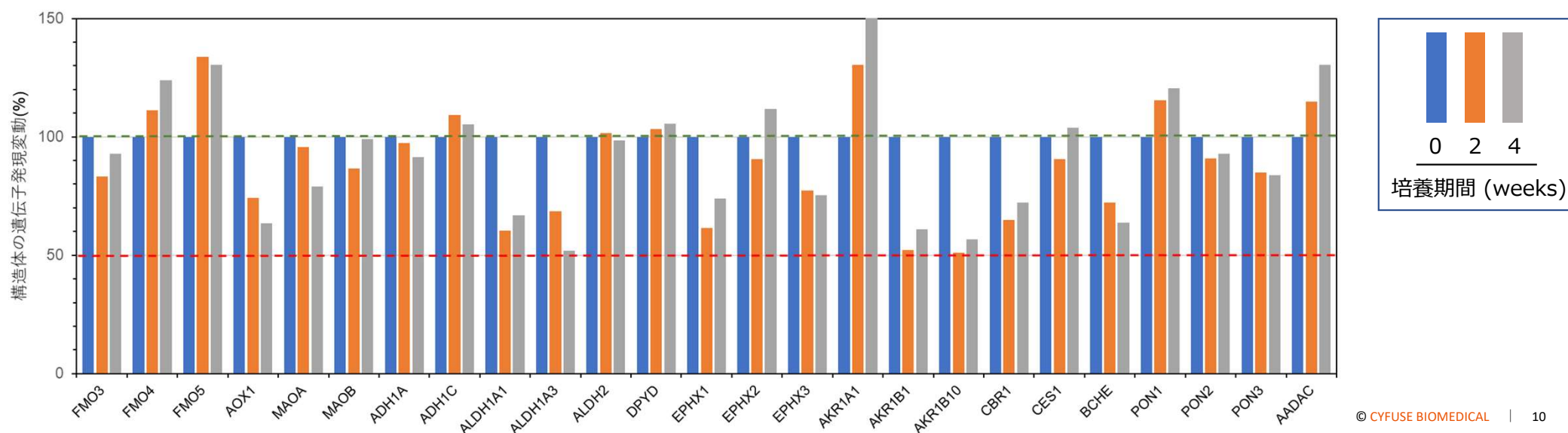
※縦軸は、小スフェロイド(直径200 μm)に対する3Dミニ肝臓(直径1,200 μm)の遺伝子発現量を示しています



non-CYP代謝酵素の遺伝子発現

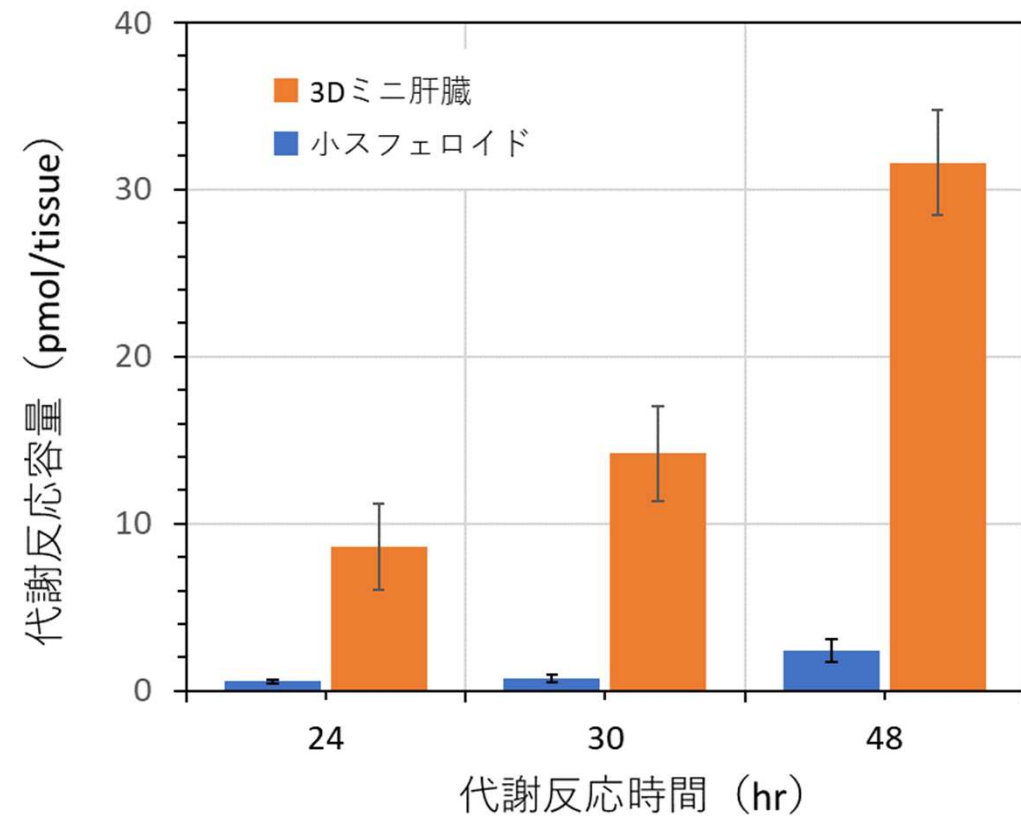
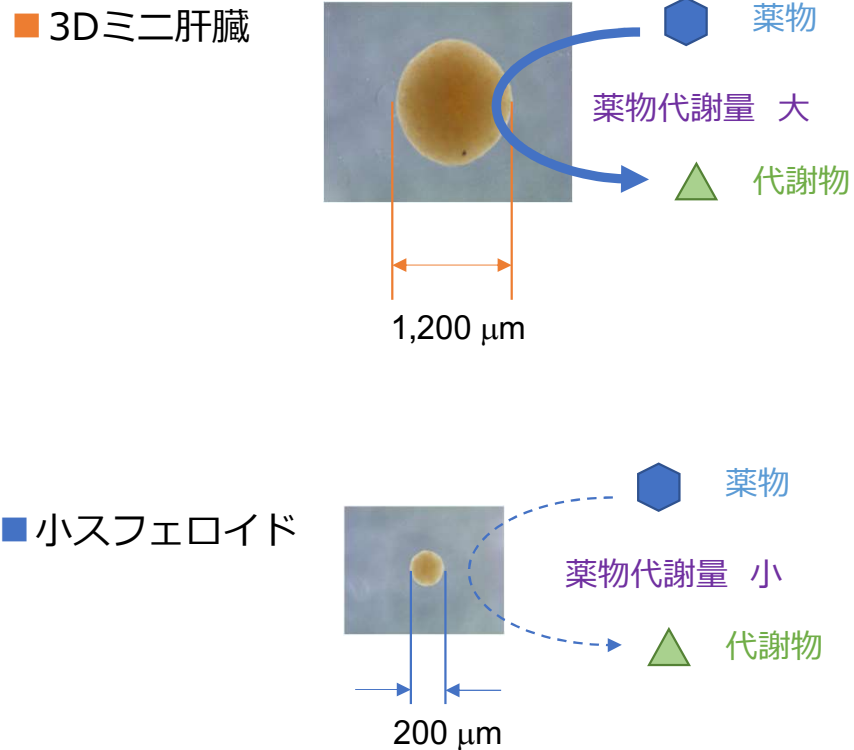
- 薬物代謝に関与するCYP以外の代謝酵素の遺伝子も発現
- 培養4週間経過後も50%以上の発現量が持続

Drug metabolizing Enzyme	abbreviation	Drug metabolizing Enzyme	abbreviation	Drug metabolizing Enzyme	abbreviation
Flavin-containing monooxygenase	FMO	Dihydropyrimidine dehydrogenase	DPYD	Butyrycholine esterase	BCHE
Aldehyde oxidase	AO	Epoxide hydrolase	EPHX	Paraoxonase	PON
Monoamine oxidase	MAO	Aldo-keto reductase	AKR	Arylacetamide deacetylase	AADAC
Alcohol dehydrogenase	ADH	Carbonyl reductase	CBR		
Aldehyde dehydrogenase	ALDH	Carboxylesterase	CES		



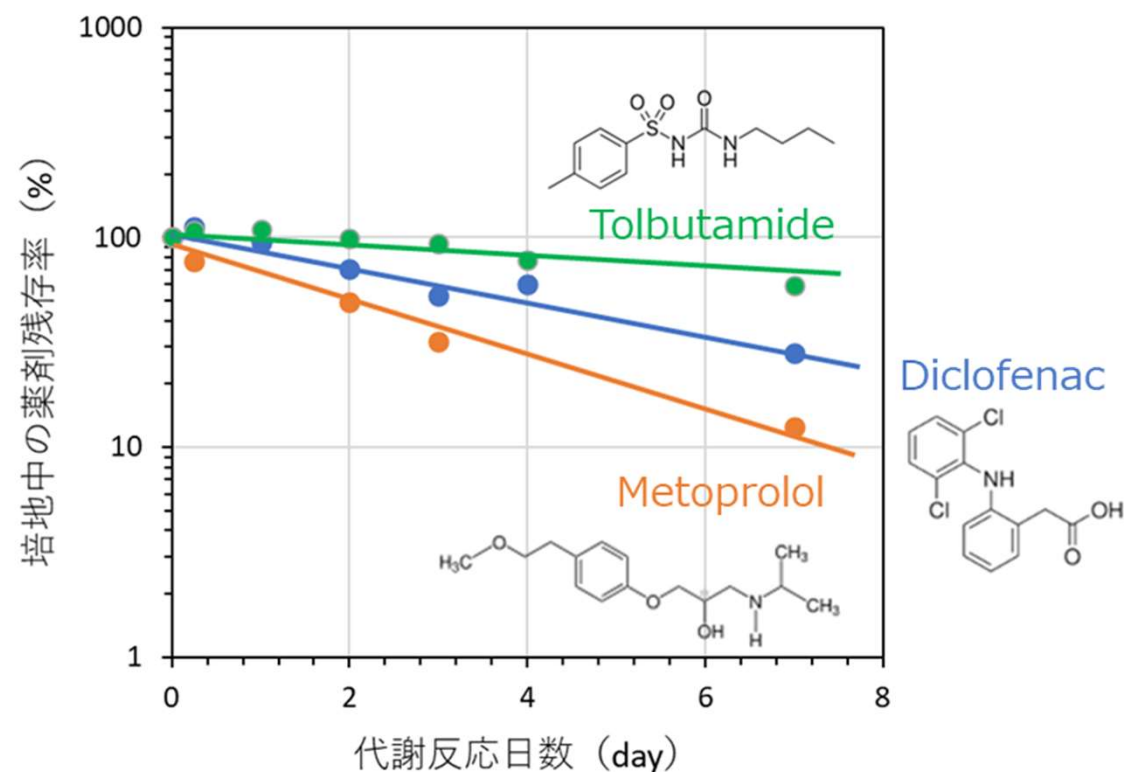
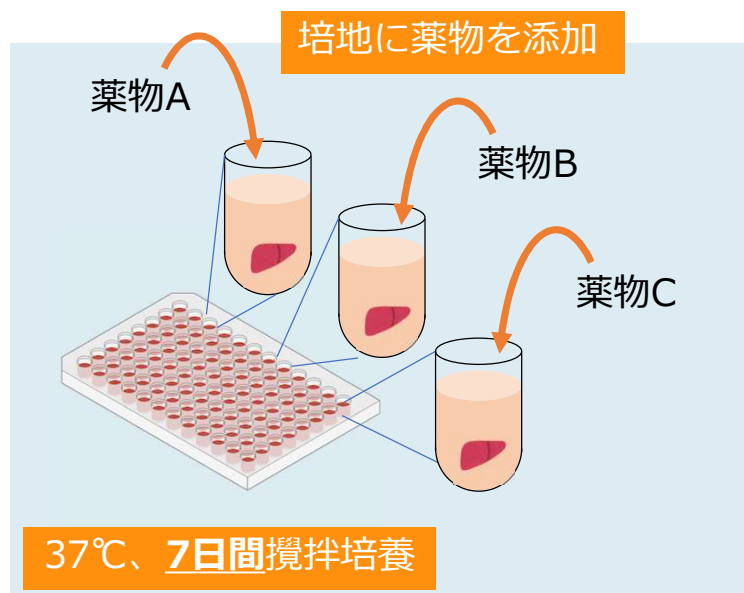
大サイズ組織に由来した高い代謝容量

- 大サイズであるため圧倒的に高い代謝容量を実現
- 高感度な長期代謝安定性試験が可能



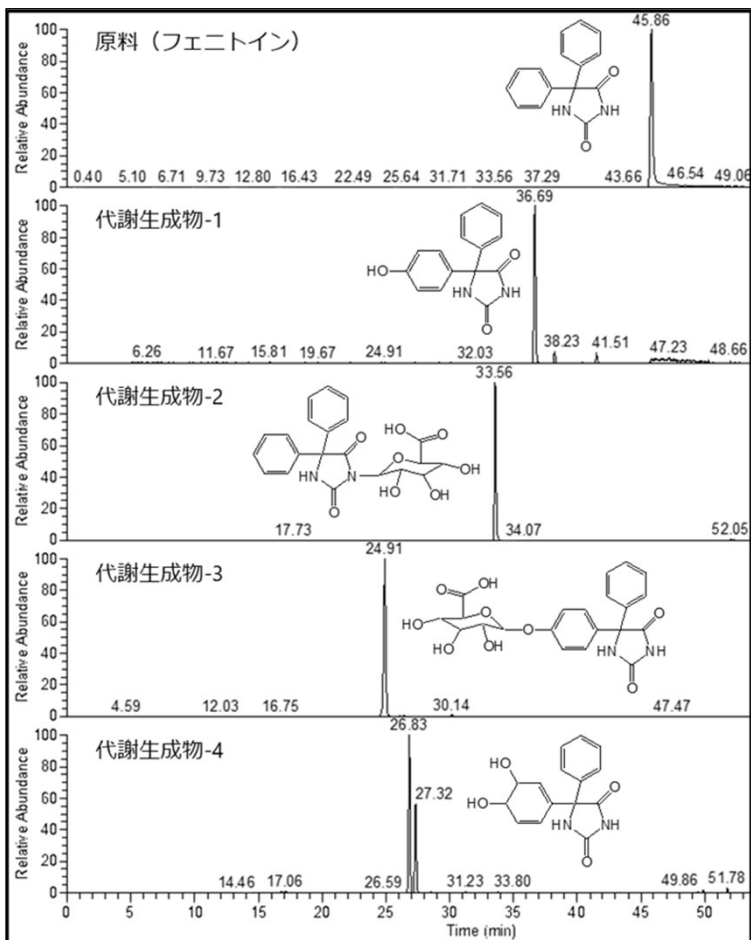
応用例-1 薬物代謝速度の評価

- 薬物の代謝され易さを簡便に評価できる
- 培地交換が1回/週でよいから、長期の代謝反応を経時的に定量評価できる

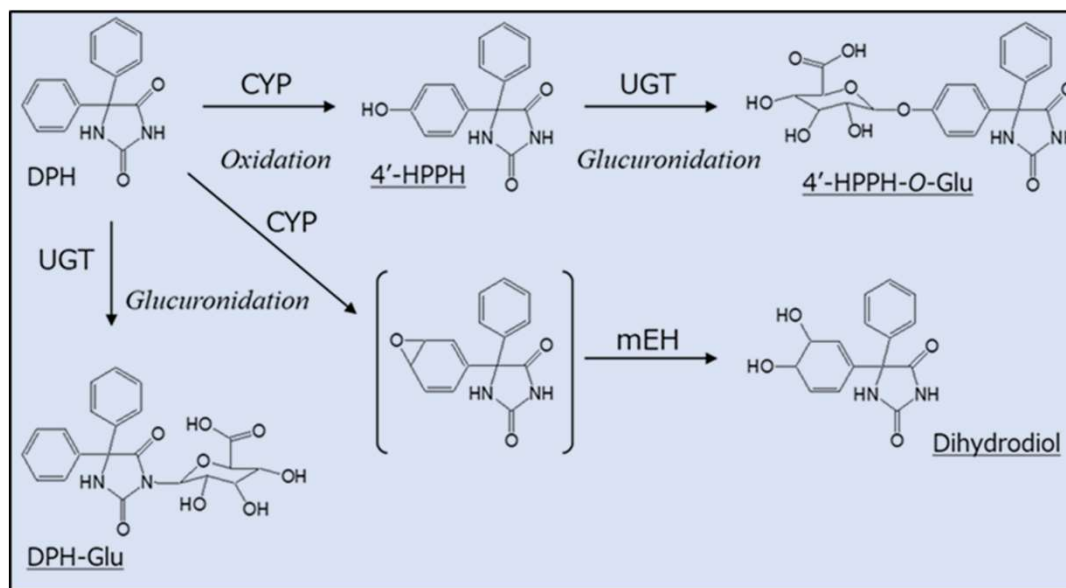


低クリアランスの薬物代謝反応の解析が可能

応用例-2 代謝物の化学構造解析



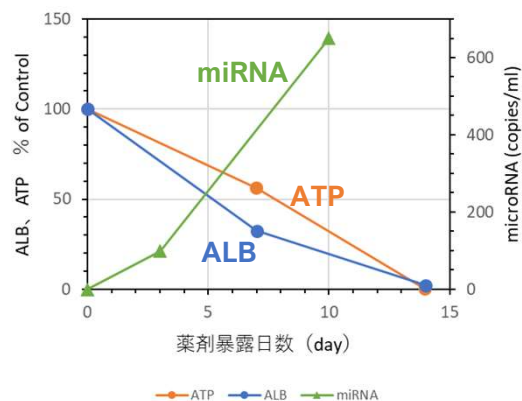
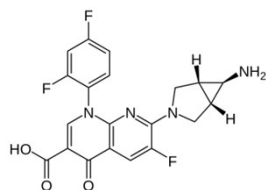
- 培地に添加した薬物の代謝産物を培地上清から検出
- 薬物投与したヒトから検出された代謝物と同等の代謝産物
- 複数の酵素による多段階的な反応が進行



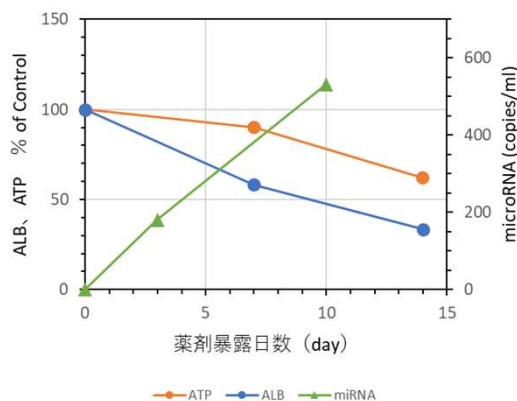
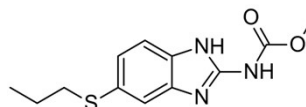
ヒト体内（肝臓）での薬物代謝反応の推測が可能

FDA
安全性

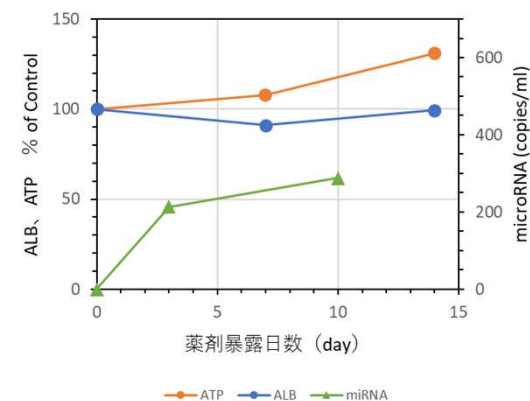
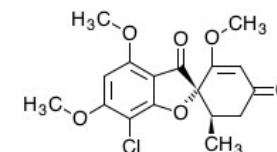
Withdrawn



Warning & precautions



Warning & precautions



- ATP : 肝細胞の生存率、 ● ALB : アルブミン分泌機能、 ● miRNA : miR122-5 p

3つの指標を用いることで肝細胞に与える影響を高感度に検知

応用例-4 3Dミニ肝臓による薬物安全性の評価

3Dミニ 肝臓	小スフェ ロイド
------------	-------------

- 肝障害を与える薬物を培地に添加したところ、microRNA,肝臓機能,生存率の変化を観測
- 小スフェロイドに比べて高い毒性検出力

※アメリカ食品医薬品局 (Food and Drug Administration ; FDA)に登録されている肝障害を与える薬物を培地に添加
37℃、2週間培養後に毒性を評価

+ ; 検出
- ; 検出なし
■ ; 毒性予測可
▲ ; 毒性予測不可

	FDA 安全性ラベル	micro RNA	肝臓 機能	生存 率	総合 判定	比較
A	Withdrawing		+	+	■	■
B		+	+	+	■	▲
C		+	+	+	■	▲
D		+	+	+	■	▲
E		+	+	-	■	■
F	Box warning	+	+	+	■	■
G		-	+	-	■	■
H	Warnings and precautions	-	+	-	■	■
I		+	+	+	■	■
J		-	+	-	■	■
K		+	+	+	■	■
L		+	+	+	■	■
M		-	+	+	■	▲
N		-	+	-	■	▲
O		+	+	-	■	▲
P		+	+	+	■	▲
Q		-	+	+	■	▲
R		-	-	-	▲	▲
S		-	+	-	■	▲
T		+	+	-	■	▲
U		+	-	-	■	▲
V		-	+	-	■	■
W	Adverse reactions	+	-	-	■	■

3Dミニ肝臓の受託製造

サイフューズの創薬支援

ヒト3Dミニ肝臓

ヒト3Dミニ肝臓はサイフューズ独自のバイオ3Dプリンティング技術を用いて作製したヒト肝臓モデルです。

ヒト肝臓での薬物代謝と毒性

モデル化

化合物(毒物) → 添加 → 96ウェルプレート → 解析

肝臓 → 薬物代謝 → 代謝産物が肝毒性を引き起こす → 消化管で吸収された薬物

ヒト3Dミニ肝臓の特徴

- FEATURE 01 ヒト肝臓由来細胞
- FEATURE 02 長期アッセイに対応
- FEATURE 03 高い薬物代謝機能
- FEATURE 04 容易な取り扱い性

100% ヒト細胞

ヒト3Dミニ肝臓 実物

96ウェルプレートで1ウェル1組織を培養

これまでにない創薬分野での評価を可能にします

90%以上の生存率を長期間持続可能
約1か月間に渡り、90%以上の生存率を維持して培養できます。長期間の評価が安定に実施できます。

小スフェロイドに比べて約30倍の薬物代謝機能
CYP3A4酵素の反応容量が小スフェロイドに比べて圧倒的に高く、高感度な代謝試験ができます。

仕様	内容	用途
大きさ・形状	直径1.0~1.2mm・球状	薬物の長期肝毒性評価
容器	96ウェルプレート(1個/ウェル)	薬物の代謝経路解析
培地交換頻度	1回/週	代謝安定性の高い薬物の評価
遺伝子発現	肝臓に発現する多くの遺伝子(遺伝子発現トランスクリプター、酸化還元酵素、結合反応酵素)	
納期	ご注文後約3週間	

◆用途 新薬開発時の代謝反応解析、長期間の肝毒性評価

- ご要望のプレート枚数の3Dミニ肝臓をお届け
- 96ウェルプレートの1ウェルに1個を格納
- 商品到着後、すぐに試験が可能



◆仕様

大きさ・形状	直径1.0~1.2 mm・球状
容器	96ウェルプレート(1個/ウェル)
培地交換頻度	1回/週
遺伝子発現	肝臓に発現する多くの遺伝子
納期	ご注文後約3週間

3D細胞組織の受託製造

Contract Manufacturing of Cellular 3D-tissues

細胞製3次元組織の受託製造サービス

人工的な足場材を使用せず、細胞100%で立体的な組織を構築します。
生体内に近い微小環境を再現することで、高い機能発現が期待できます。
疾患モデル、臓器モデルや再生医療研究用のツールとして
in vitro assayや動物への移植試験などにご使用いただけます。

形状	球状(スフェロイド)	球状	シート状	リング状	チューブ状
原料細胞	● 線粒体細胞 ● 間葉系幹細胞 ※細胞数にご対応いたします	● ヒト肝細胞	● 線粒体細胞 ● 間葉系幹細胞 ※細胞数にご対応いたします	● 線粒体細胞 ● 間葉系幹細胞 ※細胞数にご対応いたします	● 線粒体細胞 ● 間葉系幹細胞 ※細胞数にご対応いたします
大きさ	直径: 0.2~0.5mm	直径: 1.2mm	縦: 5mm 横: 5mm 厚み: 0.5mm	内径: 2.5mm 外径: 3.5mm 長さ: 1mm	内径: 2.5mm 外径: 3.5mm 長さ: 5mm
価格	お見積りいたしますので、お問い合わせ下さい。				

その他、ご要望に応じたスフェロイド・3次元組織の作製を賜ります **要相談**

※製造したスフェロイドおよび3次元組織は研究用以外の用途(診断や治療等)にはご使用いただけません。

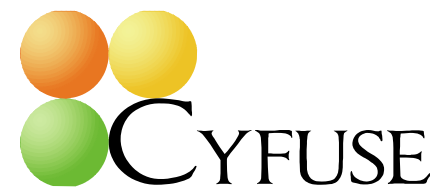
CYFUSE 細胞サイフーズ
www.cyfusebio.com info.jp@cyfusebm.com
本社所在地 〒108-4301 東京都港区三田3-5-27住友不動産三田ビル西側1F tel. 03 6435 1885

ご要望の形状、大きさ、細胞からなる三次元組織をサイフーズのメンバーがバイオ3Dプリンタを使って作製、お届けします

3次元組織を使って、再生医療製品開発、様々な作用解析や評価、薬物有効性評価などをお考えの研究者様に最適です

- スフェロイド、● シート状組織、● リング状組織、● チューブ状組織





細胞から希望をつくる。