

鹿児島大学発 社会実装を目指した最新技術

クラウン系ミニブタを用いた 移植・再生医療の最先端研究

佐原 寿史

鹿児島大学 先端科学研究推進センター
生命科学動物実験ユニット 大動物研究推進部門
医用ミニブタ・先端医療開発共同研究部門(兼)

鹿児島大学医歯学総合研究科 臓器置換・異種移植外科分野



COI開示

発表者名: 佐原寿史

演題発表内容に関連し、筆頭および共同発表者が開示すべきCOI関係にある企業等として、

- | | |
|--------------|--|
| ①顧問: | なし |
| ②株保有・利益: | なし |
| ③特許使用料: | なし |
| ④講演料: | なし |
| ⑤原稿料: | なし |
| ⑥受託研究・共同研究費: | 社会医療法人白光会白石病院および
NPO法人医用ミニブタ研究所(共同研究部門) |
| ⑦奨学寄附金: | なし |
| ⑧寄附講座所属: | なし |
| ⑨贈答品などの報酬: | なし |

講演内容

鹿児島大学の特徴である大動物を用いた研究紹介を通じて、新たなイノベーション創出につながる研究支援や研究推進の可能性を探る

1. 鹿児島大学開発ク라운系ミニブタの特徴と医学・薬学・農学など多分野にわたる研究事例
2. ブタをドナーとする異種移植の臨床応用を目指した最先端研究の紹介

鹿児島大学先端科学研究推進センターにおける 実験動物を用いた生命科学研究拠点整備

先端科学研究推進センター

- 地域特性を活かした研究及び先進的感染制御等の国際レベルの研究による地域への貢献を推進することを目的とし、研究支援ユニット、生命科学動物実験ユニット及び感染制御研究ユニットで構成

生命科学動物実験ユニット

- 小動物から大動物までの多彩な実験動物の活用による研究推進
- ブタ飼育室(約30ケージ)とサル飼育室(14ケージ)をフル活用した大動物実験実施体制(大動物研究推進部門)

先端科学研究推進センター



生命科学動物実験ユニット(動物実験施設)



手術室(3室・6ベッド)



CT、Cアーム、超音波レントゲン、内視鏡など



講演内容

鹿児島大学の特徴である大動物を用いた研究紹介を通じて、新たなイノベーション創出につながる研究支援や研究推進の可能性を探る

1. 鹿児島大学開発ク라운系ミニブタの特徴と医学・薬学・農学など多分野にわたる研究事例
2. ブタをドナーとする異種移植の臨床応用を目指した最先端研究の紹介

大動物実験の位置づけ(小動物実験との対比)

	小動物		大動物
扱いやすさ・飼育スペース	◎	>>>	×~△
コスト	◎	>>>	×~△
試薬	◎	>>	△
遺伝子改変	◎	>>	△
遺伝背景の確立	◎	>	△(クラウン系ミニブタ)
ヒトでの結果の再現性	△	<<<	◎

小動物実験のヒトでの再現性が低い

1. 代謝系の違い
2. 免疫系の違い(例. 細菌への感作、ヒト血管内皮上での恒常的なMHC class II発現)
 - 大動物前臨床実験の必要性(効果と安全性評価)
 - ブタを用いた大動物実験(倫理的側面や入手しやすさ)

特徴ある実験用ミニブタの開発

鹿児島大学開発クラウン系ミニブタ

- ヒトへの臨床応用を目指した長期間の観察を必要とする前臨床大動物実験に適したサイズ
- 国内唯一の主要組織適合性抗原 (Major histocompatibility complex: MHC) 判明個体が常時生産される実験用大動物
- MHCが異なる2系統のミニブタを用いた移植・再生医療実験によって、高い再現性をもって、均一な病変進展形式をたどる実験モデル



実験動物としてのミニブタの特徴 (長期実験に適したサイズ)

1. 家畜ブタ

○安価

×成長が早く、急性実験用

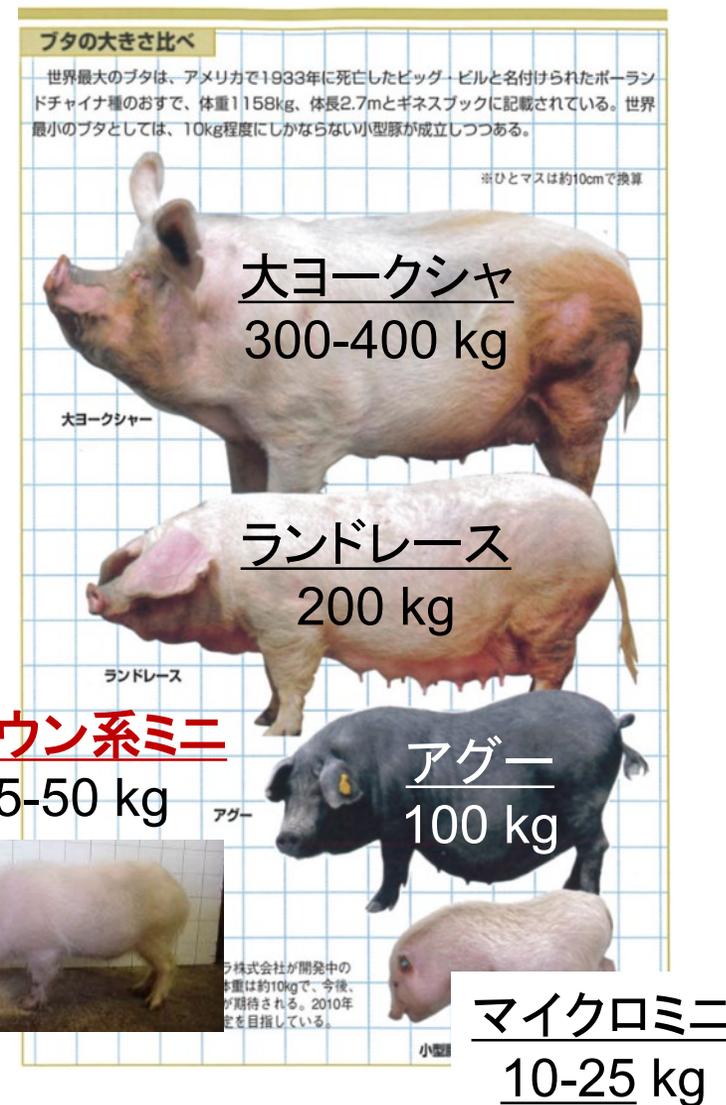
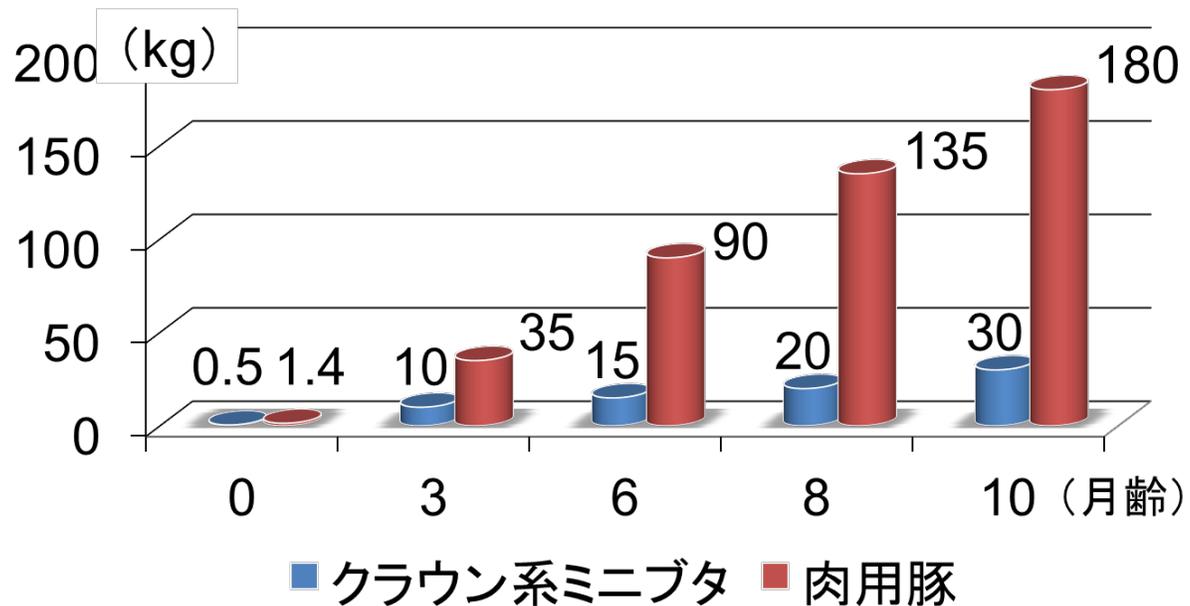
2. ミニブタ

○成熟後もサイズが限られる

- 限られたスペースでの長期飼育

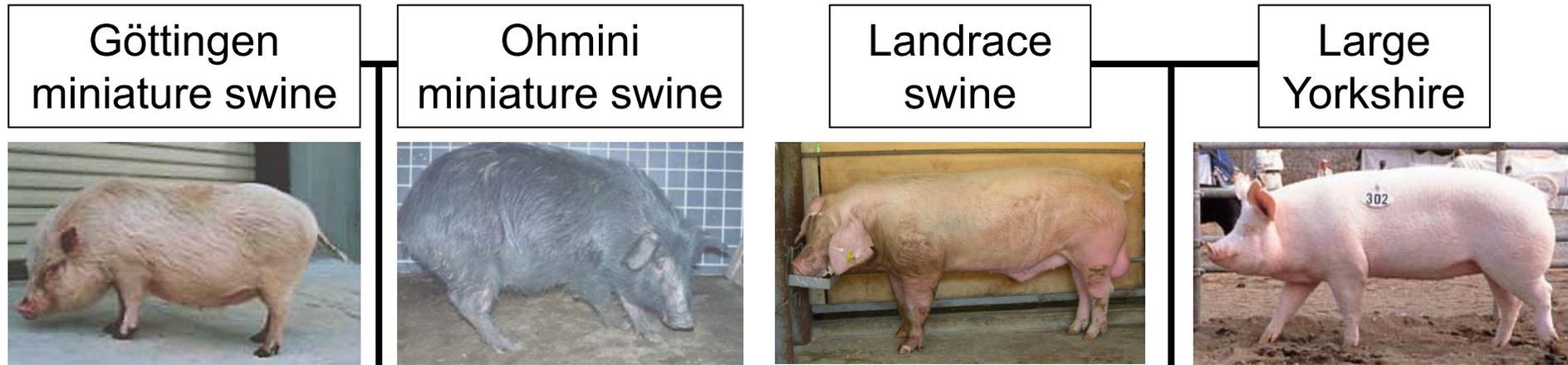
- ヒトと同等のサイズ (異種移植、医療器具、再生医療)

×価格 (出産数が家畜ブタより少、肥育時間が長い)



Gakkenフィールドベスト図鑑 特別版
「日本の家畜・家禽」をもとに改編

クラウン系ミニブタの開発過程



Initial breeders: メス2頭 / オス1頭 (1978年～ 鹿児島大学)

(株) ジャパンファーム・クラウン研究所 (2000年～2013年)

NPO法人医用ミニブタ研究所 (2013年～)

クラウン系ミニブタ

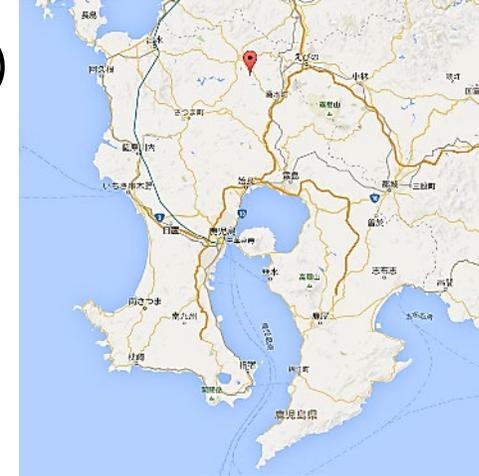
**国内唯一の
MHC確立ミニブタ**



クラウン系医用ミニブタ生産・供給施設

NPO法人医用ミニブタ研究所 (Kagoshima Miniature Swine Research Center)

- 年間>200頭生産体制を整備(鹿児島県伊佐市)
- 個別飼育ケージ
- ミニブタ実験に関する情報収集
- 受託試験体制の整備



<http://kmsrc.org/>

MHC確立クラウン系ミニブタ

MHC: 免疫応答に重要な役割を果たす遺伝子領域

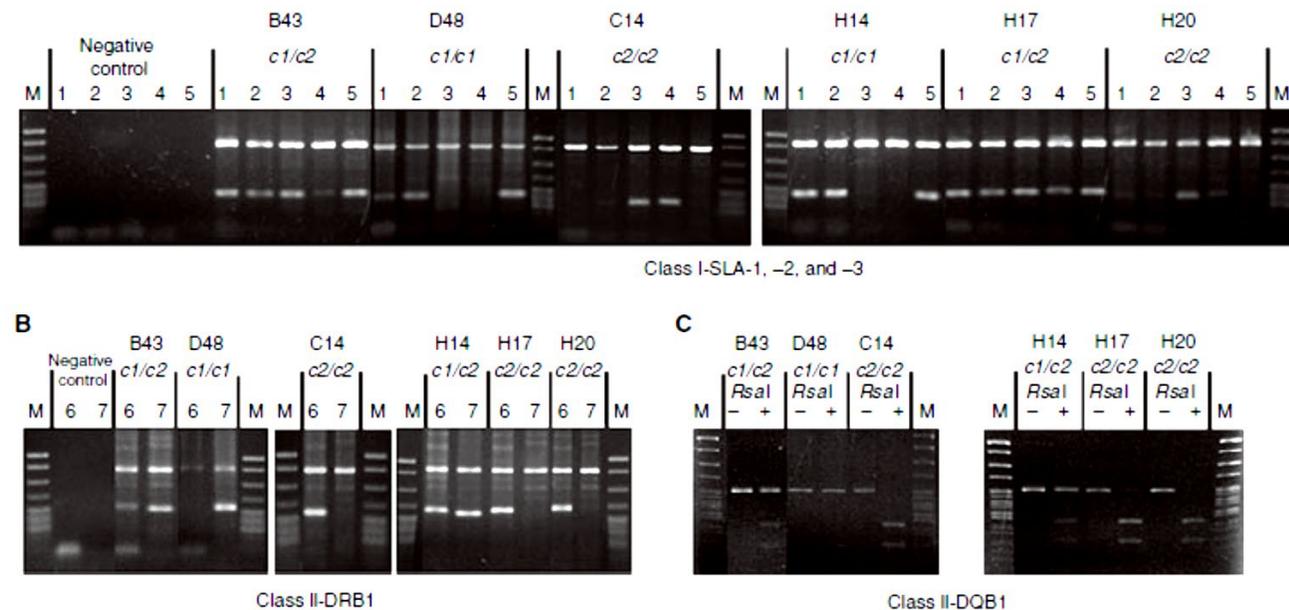
- **Class I** (全有核細胞) と **Class II** (免疫担当細胞) に大別
- ヒトMHC = **HLA** (Human leukocyte antigen)
- ブタMHC = **SLA** (Swine leukocyte antigen)

MHC (遺伝背景) が異なる組み合わせで、臓器移植・細胞移植を行うと、移植後成績に大きな差が生ずる。

→ 研究背景を均一化させるためには、MHC型を評価することが重要

クラウン系ミニブタのハプロタイプ

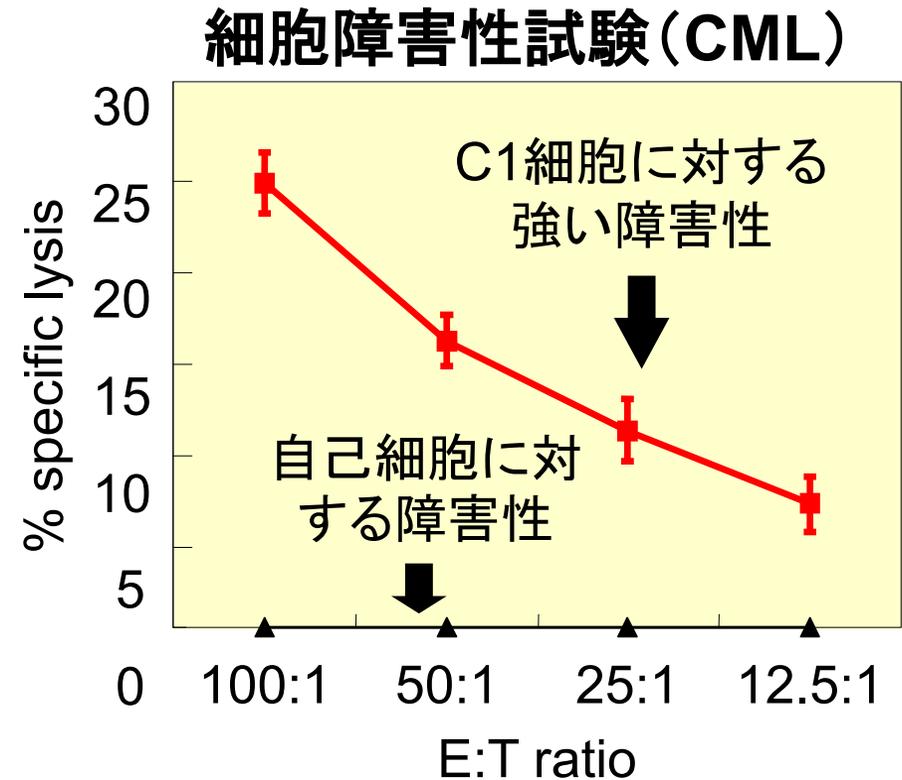
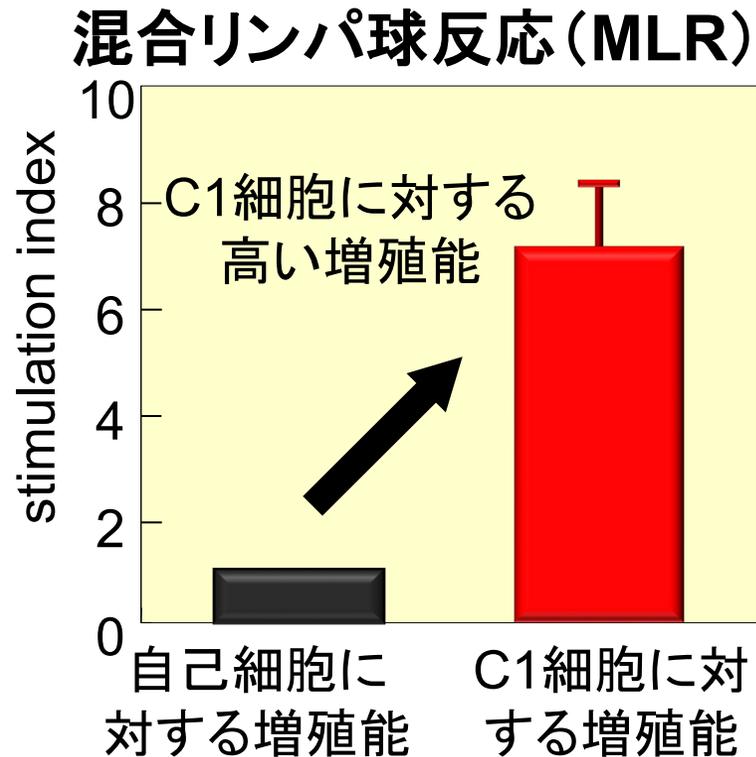
Haplotype	Class I			Class II	
	SLA-1	SLA-2	SLA-3	DRB1	DQB1
C1 (hp-16.16)	*0401	*w09an02	*06an03	*w11ac21	*0601
C2 (hp-17.17)	Blank	*06an03	*03an02	*0801	*0501
C3 (hp-16.17)	*0401	*w09an02	*06an03	*0801	*0501
C4 (hp-17.16)	Blank	*06an03	*03an02	*w11ac21	*0601



(Ando A et al. *Xenotransplantation* 2005)

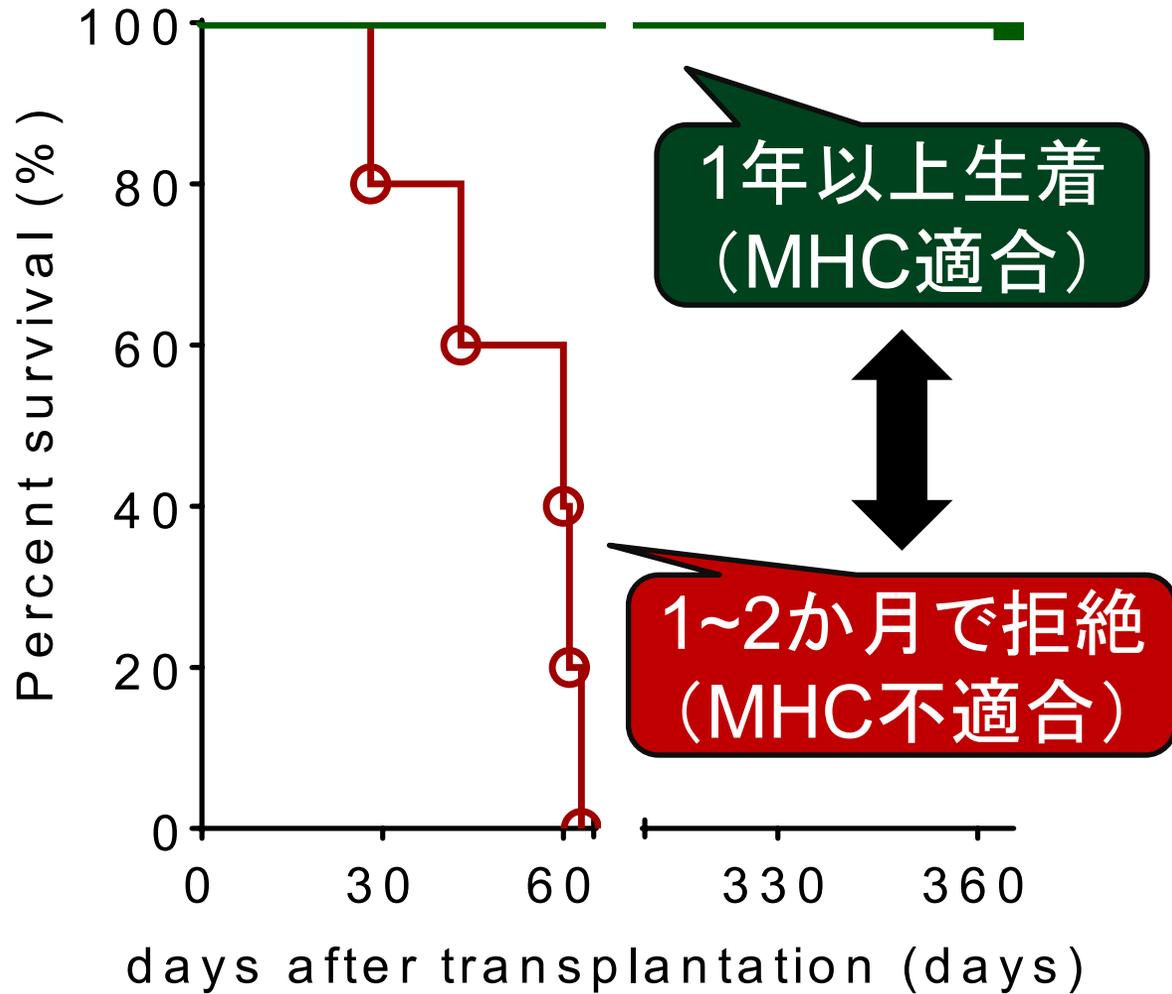
MHC確立クラウン系ミニブタの細胞学的特性

MHCが異なるC1タイプとC2タイプの細胞を用いた 細胞増殖能と障害性評価

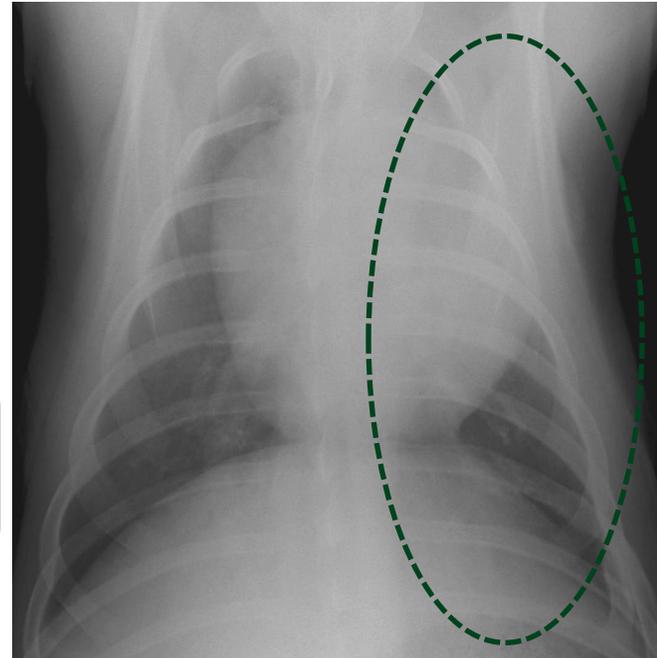


(Oku M, Sahara H et al. *Transpl Immunol* 2008)

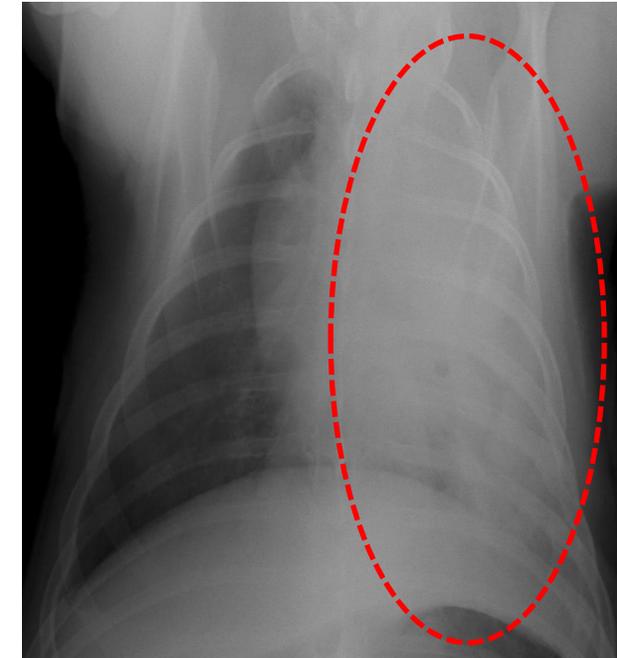
MHCの適合・不適合による移植臓器生着の違い



MHC適合間移植
(移植後1年)



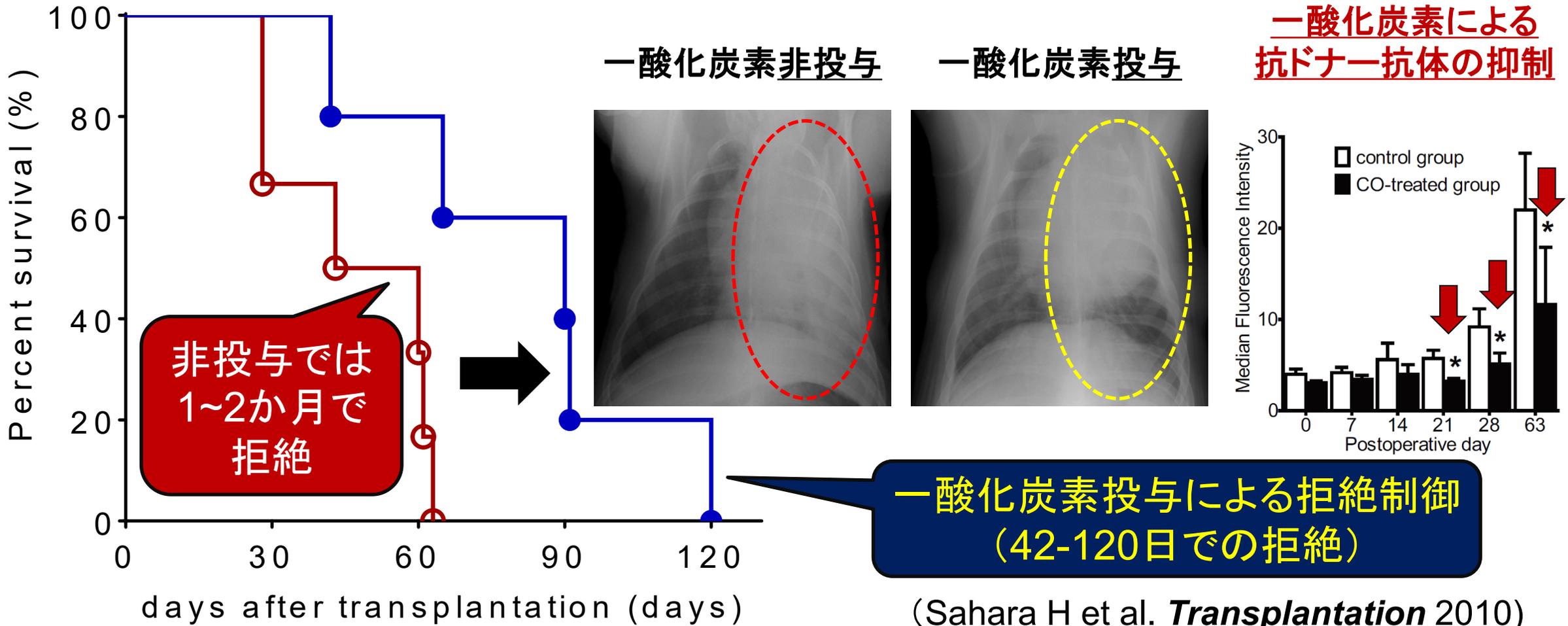
MHC不適合間移植
(移植後30日)



モデル応用例： 拒絶反応の抑制効果の評価（MHC不適合）

一酸化投与による拒絶抑制効果の評価

- 細胞・小動物実験で抗炎症・抗アポトーシス・免疫制御作用が報告される
- 毒ガスとして知られる一酸化炭素の効果は、安全性とともに大動物での評価が必須



(Sahara H et al. *Transplantation* 2010)

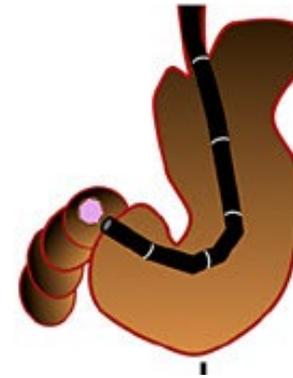
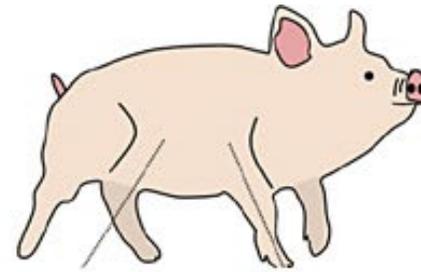
クラウン系ミニブタを用いた他の実験例

お茶の効能評価(鹿児島大学農学部)



(Wakamatsu M et al. *Food Sci Nutr* 2019)

消化性潰瘍評価モデル (鹿児島大学消化器内科)



(Kabayama M et al. *Digestion* 2022)

(Uehara S et al. *Den Open* 2024)

まとめ1: MHC確立クラウン系ミニブタを用いた 長期にわたる再現性の高い大動物前臨床研究の実施

- 実験動物愛護の基本理念3R(Replacement, Reduction, Refinement)に基づく大動物実験
- MHC適合間長期生着モデル
再生臓器の長期生着や安全性評価、臓器の長期保存実験
- MHC不適合間拒絶モデル
新規薬剤開発(免疫抑制、抗体関連拒絶反応の機序解明や制御法)
免疫寛容誘導戦略の開発

今後の展開

異種移植の臨床応用に使用可能となる、更なる高付加価値を加えた遺伝子改変ミニブタの作出(異種移植への応用)

講演内容

鹿児島大学の特徴である大動物を用いた研究紹介を通じて、新たなイノベーション創出につながる研究支援や研究推進の可能性を探る

1. 鹿児島大学開発クラウン系ミニブタの特徴と医学・薬学・農学など多分野にわたる研究事例
2. ブタをドナーとする異種移植の臨床応用を目指した最先端研究の紹介

背景：移植医療最大の課題→深刻なドナー不足



	日本	米国	日/米
人口	1億2,600万	3億3,100万	1対2.6
腎移植実施数 (2020年)	1,711	23,642	1対14
移植待機リスト登録数	14,275	>100,000	1対7

日本

移植待機の登録をしない患者が多数存在

米国

待機リストのうち13人が毎日死亡

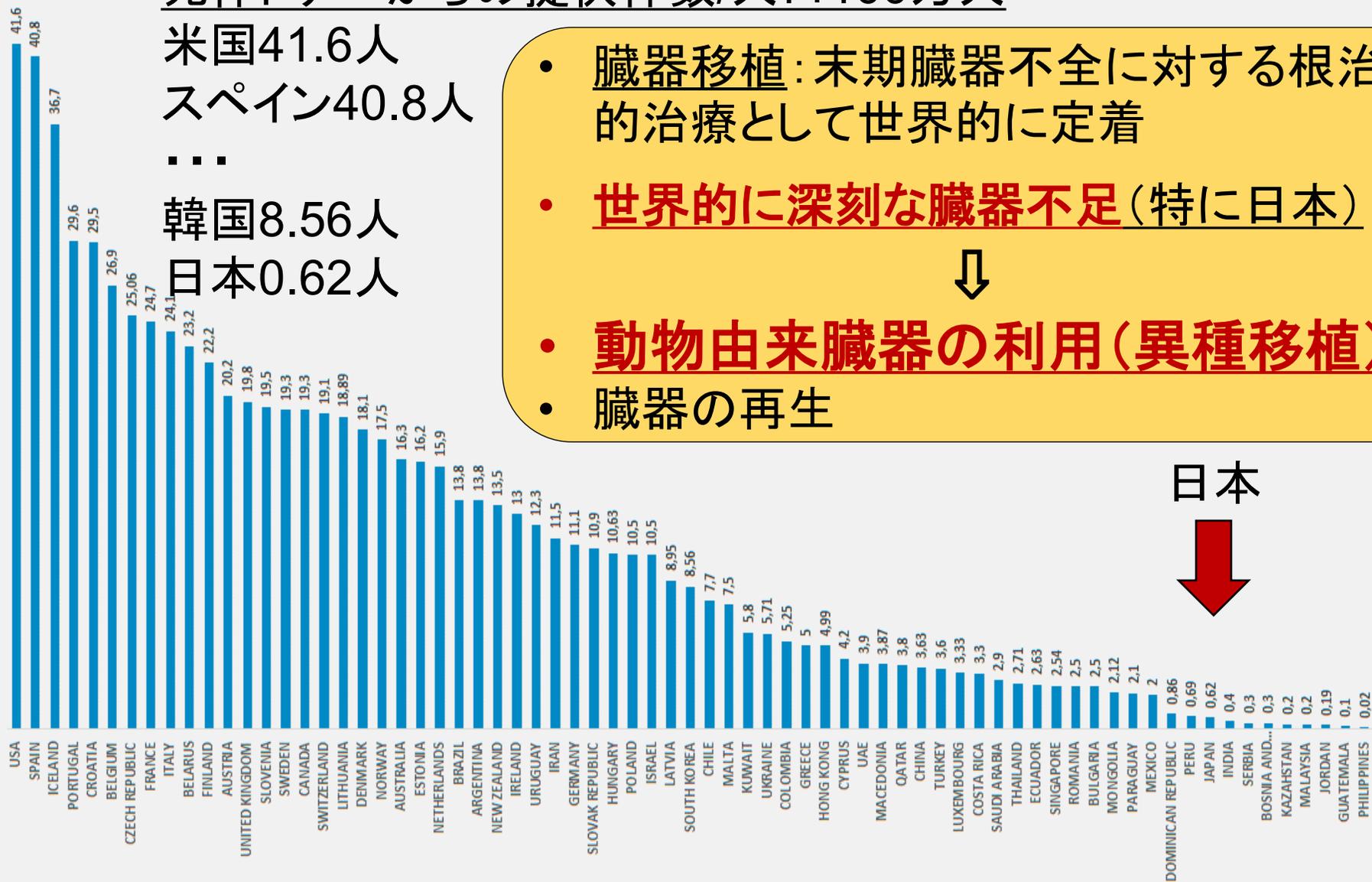
15分に1人が新しく待機リストに追加(101人/日)

背景：日本における非常に深刻なドナー不足

死体ドナーからの提供件数/人口100万人

米国41.6人
スペイン40.8人
...
韓国8.56人
日本0.62人

- 臓器移植：末期臓器不全に対する根治的治療として世界的に定着
 - 世界的に深刻な臓器不足（特に日本）**
- ↓
- 動物由来臓器の利用（異種移植）**
 - 臓器の再生

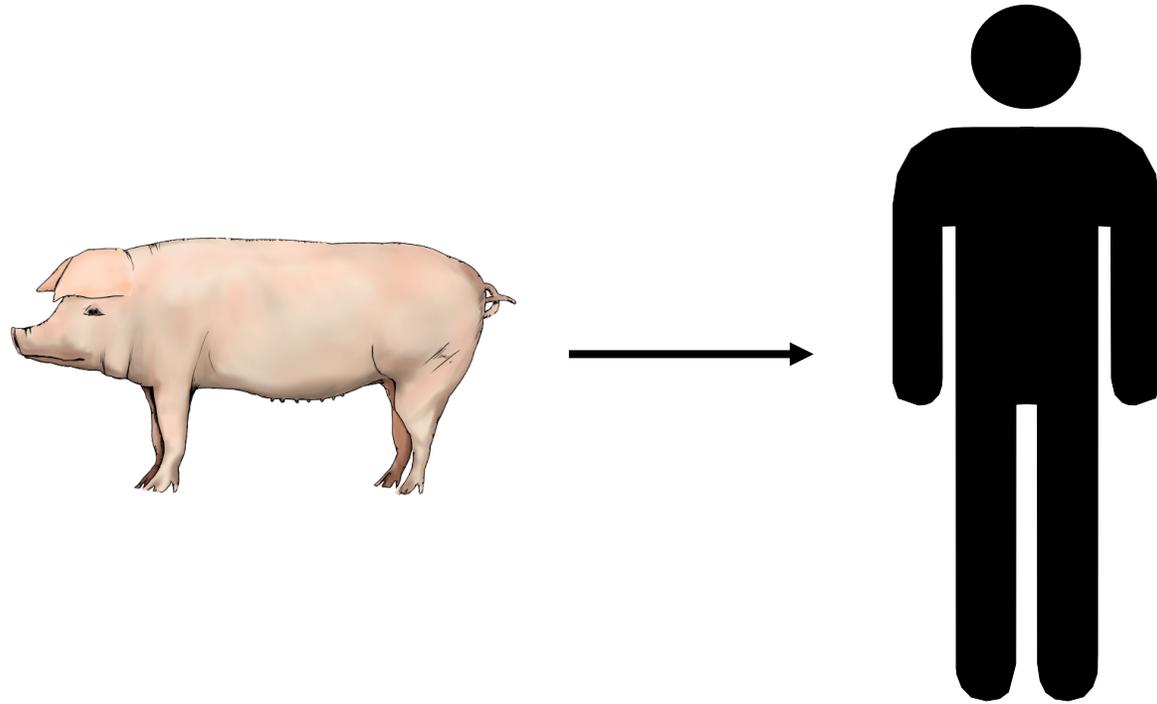


日本



Worldwide Actual Deceased

異種移植 (Xenotransplantation) : 究極のドナー臓器不足克服法



課題

- ヒトとブタの間の免疫学的・生理学的な違いによる拒絶反応や臓器の機能不全
- ヒトに未知の病気をもたらすウイルスの懸念

(2011年から鹿児島大学で継続的に異種腎臓移植や異種肺移植研究を実施)

異種移植研究の進歩: ①遺伝子改変(ブタ・霊長類間の免疫・凝固・炎症や内因性ウイルス制御), ②免疫抑制療法の改良, ③移植関連手技向上など

遺伝子改変の例

ノックアウト

- **異種抗原** (α Gal, Sda, CMAH)
- **成長因子受容体** (ミニブタを用いた場合は必要なし)

遺伝子導入

- **補体**制御 (CD55, CD46)
 - **凝固**制御 (hEPCR, hTM)
 - **炎症**制御 (CD47, HO-1, A20, HLA-E etc.) など
- **計10種の遺伝子改変(10-GE)**

米国ではUnited Therapeutics社やeGenesis社で開発が進み、安定品質の遺伝子改変ブタを供給

免疫抑制療法の例

導入療法 (T細胞/B細胞除去)

抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリン製剤
抗CD20モノクローナル抗体

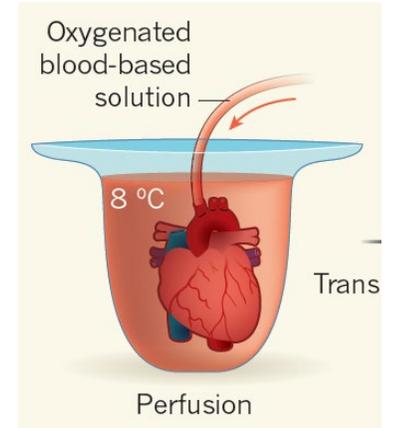
維持免疫療法

抗CD40Lもしくは抗CD40抗体
ミコフェノール酸モフェチル
ステロイド
*mTOR阻害剤

その他

抗炎症療法
抗凝固・血小板療法

異種移植に適した保存



PERVノックアウト



ブタ・霊長類間移植 成績の飛躍的向上

1997-2003年: 日単位
2004-2005年: 週単位
2005-2012年: 月単位
2013-2021年: 年単位

遺伝子改変ブタ臓器をヒトへ移植 (緊急措置 compassionate useとしての移植)

心臓移植

遺伝子操作したブタの心臓を男性に移植、世界初 アメリカ

2022年1月11日



UNIVERSITY OF MARYLAND SCHOOL OF MEDICINE
担当医のバートリー・クリアス外科医とデイヴィッド・ベネットさん(今月初の撮影)

米メリーランド大学医療センターは10日、遺伝子操作したブタの心臓を人に移植する手術を実施した。<https://www.bbc.com/japanese/59947468>

CNN health Life, But Better Fitness Food Sleep Mindfulness Relationships

Groundbreaking transplant of pig heart into living recipient is performed for the second time ever

By Nadia Kounang, CNN
Updated 6:23 PM EDT, Fri September 22, 2023

2023年9月20日



©2023 CNN. All rights reserved. A and/or part(s) of this content may be subject to copyright.

腎臓移植

2024年3月16日



緊急特例

Medscape

2024年4月12日



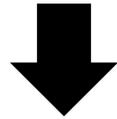
NYU Langone Health

NewsHub

GLPLレベルでの前臨床試験を実施した後、FDAにヒトへの異種移植臨床試験(IND)を申請する流れ

日本での異種移植の実現を目指すための課題

- 異種臓器移植(遺伝子改変動物由来臓器)の臨床応用に向けた指針
- ドナーとなる**遺伝子改変ブタ**の日本での作出
- ブタ由来の**感染症を効果的に制御**する体制の整備
- 日本における異種移植の**基礎研究**や**ブタ・サル間移植実験**の進展



- 日本での臨床試験の進め方
- 日本における適応患者の考え方や数の把握
- 日本における異種移植の社会での受容(倫理的側面)

国際的な異種移植の前臨床研究成果や臨床応用への道筋を正確に理解する必要性

AMED医薬品等規制調和・評価研究事業(研究班代表:佐原寿史)

「遺伝子改変動物由来の臓器・組織の品質・安全性に関する研究」

「遺伝子改変動物由来の臓器・組織の品質・安全性に関する研究」で検討すべき課題

- ① 最終製品である臓器へのウイルス等の感染因子の混入防止
- ② 免疫原性の評価
- ③ ドナー動物の動物飼育管理
- ④ 遺伝子改変動物胚の製造管理・品質管理

厚生労働省
PMDA

関連国内学会
国際学会

動物作出および感染管理チーム

動物作出・管理・検査

規制管理チーム

政策提言・ガイドライン作成・評価系

前臨床研究チーム

大動物移植実験
ウイルス研究

臨床研究チーム

(心臓・腎臓・肺・肝臓)

移植適応患者の同定
移植手技の確立
移植後患者の管理(免疫抑制・感染管理等)

国際レベルの遺伝子改変ブタ作出(10遺伝子改変)と異種腎移植研究の開始

eGenesis由来の細胞を用いて、**ポル・メド・テック社**で**10種の遺伝子が改変されたブタ**を作出 → **鹿児島大で異種腎臓移植実施** (京都府立医大執刀)



nature communications

Firl DJ et al. *Nat Commun* 14 (1):3022, 2022

Article <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38465-x>

Clinical and molecular correlation defines activity of physiological pathways in life-sustaining kidney xenotransplantation

Daniel J. Firl^{1,2,3}, Grace Lassiter^{1,3}, Takayuki Hirose¹, Robert Policastro², Ashley D'Attilio¹, James F. Markmann¹, Tatsuo Kawai^{1,4} & Katherine C. Hall^{2,4}✉

nature

2年以上の長期成績が得られる一方、15例中6例が1ヶ月以内に拒絶されるという課題

Article

Design and testing of a humanized porcine donor for xenotransplantation

Anand RP et al. *Nature* 622, 393-401, 2023



(2024年2月13日朝日新聞)

人へ臓器移植めざし 遺伝子改変ブタ

明治大発ベンチャーのポル・メド・テック社川崎市は13日、人間に臓器を移植しても激しい拒絶反応が起きないように遺伝子改変したブタが、日本で初めて生まれたと発表した。国内では人への移植をめざす研究チームも立ち上がり、今夏にもこのブタの腎臓をサルに移植する計画している。

明治大発ベンチャーのポル・メド・テック社川崎市は13日、人間に臓器を移植しても激しい拒絶反応が起きないように遺伝子改変したブタが、日本で初めて生まれたと発表した。国内では人への移植をめざす研究チームも立ち上がり、今夏にもこのブタの腎臓をサルに移植する計画している。

ポル・メド・テック社は、米国のバイオ企業eGenesisが作ったもので、通常のブタの臓器は、人に移植すると激しい拒絶反応が起きる。今回のブタはこれを抑えるため、10種類のブタの遺伝子が改変されている。

昨年9月、同社から遺伝子改変ブタの細胞を輸入し、クローン受精卵を作製した。成体のブタの子宮に移植し、妊娠を確認。今月11日に3頭のクローンブタが生まれた。

国内でも鹿児島県で生まれた。米国ではすでに、同社の遺伝子改変ブタの腎臓を、サルに移植する実験がおこなわれている。昨年10月には、最長で2年以上生存したことが報告されていた。

ローソンブタが帝王切開で生まれた。

国内ではすでに、同社の遺伝子改変ブタの腎臓を、サルに移植する実験がおこなわれている。昨年10月には、最長で2年以上生存したことが報告されていた。

ポル・メド・テック社は、創業者の長嶋比呂志、明治大教授によると、2025年にもブタの腎臓を人間へ移植するが目標で、さらに心臓の移植もめざしているという。長嶋さんは「日本での異種移植の実現はもともと未来の話と思われてきたが、私たちが実際に移植用のブタを育てて見せることが何卒の推進力になると思っています」と話した。

激しい拒絶反応制御

画像提供 ポル・メド・テック



ヒトへ移植想定し開発のブタ腎臓 サルに移植試験に成功

2024年11月25日 15時36分

ブタの臓器を用いた移植に対する社会的な認知向上

医療

医療ワイド
朝日新聞 アピスル

国内でも 現実味帯びる異種移植

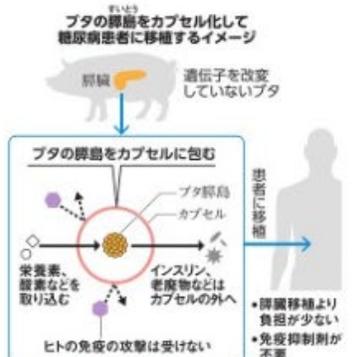
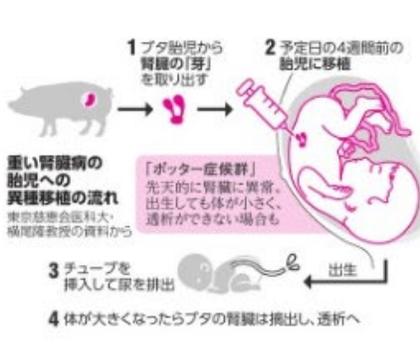
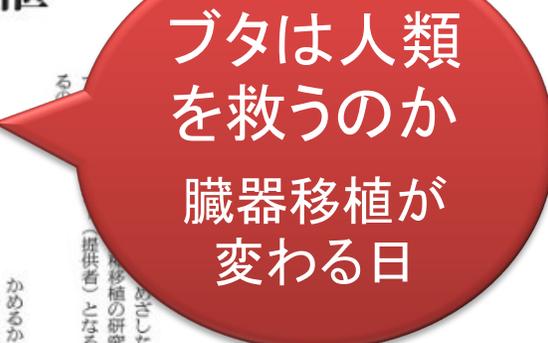


異種移植研究会で、いさづま寿一(左)が講演。鹿島大の佐藤孝史准教授も参加。

研究会では、腎臓や心臓など、異種移植をめざすいくつかのプロジェクトの経過が報告された。ただ、「臨床入り」には課題も多い。移植に適したサイズになるまで、無菌状態でブタを育てられるか▽無菌状態のまま、ブタをどうやって手術現場まで運ぶか▽移植手術をどう実施するか▽移植後に移植したブタの臓器がきちんと機能するか▽移植が原因のウイルス感染などがなく、どう確保

「(異種移植の研究)は、この1年で大きく進んだ。研究チームが動き出し、サルの実験もメドがたち、遺伝子改変ブタもできた」。今年2月、鹿児島市にあるピルスの会議室。「日本異種移植研究会」の冒頭、鹿児島大准教授の佐原寿史は、こう述べた。2023年、遺伝子改変したブタを使って異種移植の実現をめざす研究チームが、日本でも立ち上がった。佐原はその研究代表を務める。「国内でも、異種移植が現実的に動き出した」。26回目となった研究会には、遺伝子改変ブタの研究者や移植医ら約90人が集まった。

ブタは 人類を救うのか 臓器移植が変わる日



糖尿病患者に膵島カプセル 胎児に腎臓の「芽」 遺伝子改変せず 臓器以外の移植で負担減らす

◆「どうしました」は休みました。

文芸春秋社
詩歌句大賞

詩部門 30 句以上 (上級なし)
短歌部門 100 首以上 (上級なし)
俳句部門 100 句以上 (上級なし)

応募作品送付先
〒160-0022 東京都新宿区 新宿 1-10-1
株式会社文芸春秋社
文芸春秋社大賞受付
〒160-0022 東京都新宿区 新宿 1-10-1
株式会社文芸春秋社
文芸春秋社大賞受付

「どうしました」は休みました。◆田は3日、雨は10日に掲載しました。

「どうしました」は休みました。◆田は3日、雨は10日に掲載しました。

倫理面の検討 足りぬまま

一方、倫理的な面の検討は、進んでいない。「ゲノム編集が登場して以降の『近年型』の異種移植について、日本ではまだE.L.S.I(倫理的・法的・社会的課題)の研究が始まっていない」と指摘された。

6月に横浜市であった日本腎臓学会のシンポジウム。生命倫理に詳しい、東京大医学部研究科准教授の神里彰子(現在は国立成育医療研究センター1研究所・医事法制研究部長)が指摘した。

「いよいよ異種移植が試みられようとしているが、その是非を考える『基礎』となる、倫理面の研究が足りていない、この問題提起だった。異種移植によるリスクは、移植を受けた人だけに限らず、社会全体にも及ぶ可能性がある。たとえば、未知の感染症の引き金となるリスクだ。本来はヒトに感染しないウイルスなどが、ブタの臓器を介して移植を受けた患者の体内に持ち込まれ、ほかのヒトにも感

重い腎臓病の新生児を救うための研究もある。東京慈恵会医科大学の横尾隆教授らは、母親の妊娠中に「ポッター症候群」だとわかった胎児に、ブタ胎児の腎臓の「芽」を移植する治療法の実現をめざす。

この病気の胎児は、腎臓の機能不全で尿がつくれず、死産のこともあるが、体重1500gほどの未熟児で生まれる場合もある。ただ、体が小さすぎて透析が難しく、「体が大きくなるまで約4週間の『空白の期間』で、命を落とす子がいる」という。

出産の4週間前、胎児の背中にブタ胎児の腎臓を移植する。移植後、尿が排出されるようになる。生後3ヶ月ほど経て尿を排出し、透析が可能なようになったら、移植した腎臓を摘出する。

ブタ胎児の組織を移植する手法なら、遺伝子改変(免疫抑制剤も少なく)という。すでに胎児のサルでの実験も始めており、横尾は「早ければ年内にも臨床研究の計画を提出したい」と話す。想定通り進めば、日本で初の異種移植の「臨床入り」となるかもしれない。

日本での異種移植の実現に向けて(知の結集の必要性)

動物作出・管理

- 動物生産拠点
- 遺伝子改変ブタ作出
- DPFブタ
- 臓器・個体搬出管理
- 感染制御体制維持
- 動物倫理

- 動物生産拠点での高度な品質管理
- 畜産学と感染症を熟知する獣医師
- 複数の施設での生産

- 患者倫理
- 動物倫理

- 啓蒙活動

基礎・前臨床研究

- 至適遺伝子改変の評価
- 免疫抑制療法
- 免疫寛容誘導法
- 拒絶評価法
- 感染症評価

- 研究拠点での実験実施
- 実験工程の均一化
- 臓器間で隔たる治療成績の改善
- 免疫寛容誘導戦略
(臨床チームとの共同実施)

適切なガイドライン
動物管理や手技の標準化

臨床研究

- 患者の適応
- 移植手技の均一化
- 免疫抑制療法
- 移植後モニタリング(拒絶・感染)
- 異種移植の認知

- 臨床病院拠点病院による主導
 - 腎・肺・肝・心移植専門家
 - 移植内科医
 - 感染症専門家(基礎・臨床)
 - 臨床微生物検査専門家
- 適応評価
- プロトコール策定(手術・免疫抑制療法・感染症管理・モニタリングの標準化)

講演内容のまとめ

1. 鹿児島大学開発クラウン系ミニブタの特徴と医学・薬学・農学など多分野にわたる研究事例
2. ブタをドナーとする異種移植の臨床応用を目指した最先端研究の紹介

鹿児島大学の特徴である大動物を用いた研究紹介を通じて、新たなイノベーション創出につながる研究支援や研究推進の可能性を探る

