

細胞製剤開発支援－体内動態試験への取り組み

細胞製剤の体内動態試験では、実験動物レベルでの生体組織への到達および生着、生体組織内での分化、生体組織からの消滅、また血管移行などを解析する必要がある。これらの解析には、既存技術を応用することができ、その例としてRT-PCR法、免疫組織化学染色法、FACS法を紹介する。

低分子医薬品の体内動態試験

吸収
薬物吸収の程度・速度、生物学的利用能

分布
組織分布、タンパク結合など

代謝
代謝物、代謝酵素、酵素阻害など

排泄
排泄経路、排泄速度など

TK測定
毒性試験時の血中濃度

細胞製剤の体内動態試験

- ① どのような組織に**到達**するか？
目的組織？ 目的外組織？
- ② どのような組織に**生着**するか？
目的組織？ 目的外組織？
- ③ どのような細胞に**分化**するか？
目的細胞？ 目的外細胞？
- ④ どの程度の速さで組織から**消滅**するか？
- ⑤ 血管内からの**移行**については？
(血中細胞濃度推移は？)



細胞製剤を動物に投与



臓器採取



RT-PCR法

臓器をホモジナイズ
→ 遺伝子を抽出

免疫組織化学染色法

臓器を固定し、病理標本作製
→ 免疫染色を実施

フローサイトメトリー法

臓器をホモジナイズ
→ 細胞を単離

RT-PCR法



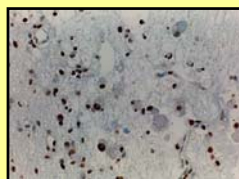
ViiA™7 (リアルタイムPCR)

【遺伝子解析】(上図の①、④を解析)

各臓器において、投与した細胞製剤に特異的な遺伝子を解析
細胞量が少なく、少量の遺伝子であっても増幅によって解析することが可能

→ 各臓器中における細胞製剤の存在の有無を判別

免疫組織化学染色法



免疫染色例

【細胞マーカーによる解析】(上図の②、⑤を解析)

各臓器において、投与した細胞製剤に特異的な抗原を標識して解析
光学顕微鏡下において細胞製剤の存在および形態を観察

→ 組織への生着、血管内から組織への移行像などを検索可能

フローサイトメトリー法(FACS法)



FACSCantoII
(フローサイトメーター)

【細胞マーカーによる解析】(上図の①、③、⑤を解析)

各臓器および血中において、投与した細胞製剤に特異的な抗原を標識して解析
投与細胞に特異的な抗原だけでなく、その他の複数の抗原も同時に標識することが可能

→ 各臓器および血中における細胞製剤の存在の有無のみならず、分化の検索も可能