

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02018/135572

発行日 令和1年11月7日(2019.11.7)

(43) 国際公開日 平成30年7月26日(2018.7.26)

(51) Int.Cl. F 1 テーマコード(参考)
C 1 2 M 1/34 (2006.01) C 1 2 M 1/34 Z 4 B 0 2 9

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 39 頁)

出願番号	特願2018-562427 (P2018-562427)	(71) 出願人	000190068 伸晃化学株式会社 石川県金沢市藤江南2丁目4番地
(21) 国際出願番号	PCT/JP2018/001356	(71) 出願人	506218664 公立大学法人名古屋市立大学 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1番地
(22) 国際出願日	平成30年1月18日(2018.1.18)	(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
(31) 優先権主張番号	特願2017-6873 (P2017-6873)	(74) 代理人	100118902 弁理士 山本 修
(32) 優先日	平成29年1月18日(2017.1.18)	(74) 代理人	100106208 弁理士 宮前 徹
(33) 優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)	(74) 代理人	100120112 弁理士 中西 基晴

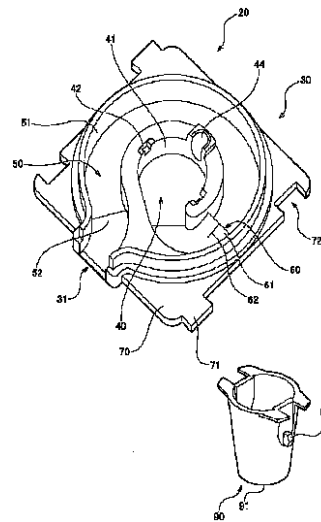
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 化学物質評価用のデバイス、および、化学物質評価方法

(57) 【要約】

化学物質のより適切な評価のためのデバイスおよび方法を提供する。

化学物質評価用のデバイスは、第1のコンパートメントと、第1のコンパートメントに連通し、隔壁によって第1のコンパートメントから区画される第2のコンパートメントと、を備えている。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

化学物質評価用のデバイスであって、
第 1 のコンパートメントと、
前記第 1 のコンパートメントに連通し、隔壁によって前記第 1 のコンパートメントから
区画される第 2 のコンパートメントと、
を備えるデバイス。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のデバイスであって、
前記第 1 のコンパートメントおよび前記第 2 のコンパートメントを覆うためのカバーを
備える
デバイス。 10

【請求項 3】

請求項 2 に記載のデバイスであって、
前記カバーには、該カバーを貫通し、前記第 1 のコンパートメントおよび前記第 2 のコ
ンパートメントの少なくとも一方に開口するサンプリング穴が形成されている
デバイス。

【請求項 4】

請求項 2 又は請求項 3 に記載のデバイスであって、
前記カバーには、該カバーを貫通し、前記第 1 のコンパートメントに化学物質を投入す
るための化学物質投入口が形成されている
デバイス。 20

【請求項 5】

請求項 2 ないし請求項 4 のいずれか一項に記載のデバイスであって、
前記カバーには、前記第 1 のコンパートメントに連通し、該第 1 のコンパートメントに
灌流液を注入するための入口ポートが形成されている
デバイス。

【請求項 6】

請求項 2 ないし請求項 5 のいずれか一項に記載のデバイスであって、
前記第 1 のコンパートメントを形成する壁部には、内部で細胞を培養可能な細胞培養容
器を、該細胞培養容器が前記第 1 のコンパートメント内に挿入された状態で、支持するた
めの支持構造が形成された
デバイス。 30

【請求項 7】

請求項 5 を引用元を含む請求項 6 に記載のデバイスであって、
前記入口ポートは、前記細胞培養容器が前記支持構造によって支持された状態において
、前記第 1 のコンパートメントにおける前記細胞培養容器の外部の領域に連通するよう
に形成された
デバイス。

【請求項 8】

請求項 2 ないし請求項 7 のいずれか一項に記載のデバイスであって、
前記カバーは、透明部材から形成されている
デバイス。 40

【請求項 9】

請求項 1 ないし請求項 8 のいずれか一項に記載のデバイスであって、
前記第 1 のコンパートメントおよび前記第 2 のコンパートメントの各々の底部は、透明
部材から形成されている
デバイス。

【請求項 10】

請求項 1 ないし請求項 9 のいずれか一項に記載のデバイスであって、 50

前記隔壁は、前記第 1 のコンパートメント内において、第 2 のコンパートメントに向かうに従って壁高が高くなるように傾斜した傾斜面を有するデバイス。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 に記載のデバイスであって、

前記傾斜面には、該傾斜面の頂部から前記第 1 のコンパートメント側に向けて延在する溝が形成されている

デバイス。

【請求項 1 2】

請求項 1 ないし請求項 1 1 のいずれか一項に記載のデバイスであって、

10

前記第 2 のコンパートメントを通る経路で前記灌流液を循環させるために、ポンプに接続するための循環入口ポートおよび循環出口ポートを備える

デバイス。

【請求項 1 3】

請求項 1 ないし請求項 1 2 のいずれか一項に記載のデバイスであって、

前記第 2 のコンパートメントは、前記第 1 のコンパートメントを少なくとも部分的に取り囲むように該第 1 のコンパートメントの周囲に配置された

デバイス。

【請求項 1 4】

請求項 1 ないし請求項 1 2 のいずれか一項に記載のデバイスであって、

20

前記第 2 のコンパートメントは、前記第 1 のコンパートメントと並んで配置された

デバイス。

【請求項 1 5】

請求項 1 ないし請求項 1 4 のいずれか一項に記載のデバイスであって、

前記第 2 のコンパートメントは、排出口を備え、

前記排出口は、V 字状に形成された内側底面を備える

デバイス。

【請求項 1 6】

請求項 1 5 に記載のデバイスであって、

前記排出口は、下流側の外縁部を備え、

30

前記排出口の外側底面は、前記外縁部のところで突出している

デバイス。

【請求項 1 7】

化学物質評価用のキットであって、

請求項 1 ないし請求項 1 6 のいずれか一項に記載のデバイスを備え、

前記デバイスは、複数のデバイスを備え、

前記複数のデバイスの各々は、ベースを備え、

前記ベースの各々は、前記複数のデバイスが並んで配置されるときに隣り合うベース同士が係合可能な係合構造を備える

キット。

40

【請求項 1 8】

化学物質評価用のキットであって、

請求項 1 ないし請求項 1 6 のいずれか一項に記載のデバイスを備え、

前記デバイスは、複数のデバイスを備え、

前記キットは、さらに、前記複数のデバイスの各々が並んだ状態で前記複数のデバイスの各々を収納するケースを備える

キット。

【請求項 1 9】

化学物質評価用のデバイスであって、

直列に連通する N 個 (N は 3 以上の整数) のコンパートメントと、

50

前記 N 個のコンパートメントのうちの隣り合う 2 つのコンパートメントを区画する N - 1 個の隔壁と
を備えるデバイス。

【請求項 20】

化学物質評価用のデバイスであって、
直列に連通する N 個 (N は 2 以上の整数) のコンパートメントと、
前記 N 個のコンパートメントのうちの隣り合う 2 つのコンパートメントを区画する N - 1 個の隔壁と
を備え、
前記 N 個のコンパートメントを形成する壁部には、内部で細胞を培養可能な細胞培養容器を、該細胞培養容器が前記 N 個のコンパートメント内にそれぞれ挿入された状態で、支持するための支持構造が形成された
デバイス。

10

【請求項 21】

請求項 1 に記載のデバイスであって、
前記第 1 のコンパートメントは、N 個 (N は 2 以上の整数) の第 1 のコンパートメントを備え、
前記隔壁は、N 個の隔壁を備え、
前記第 2 のコンパートメントは、1 対 1 の関係で前記 N 個の第 1 のコンパートメントにそれぞれ連通する N 個の第 2 のコンパートメントであって、前記 N 個の隔壁によって前記 N 個の第 1 のコンパートメントからそれぞれ区画される N 個の第 2 のコンパートメントを備える
デバイス。

20

【請求項 22】

請求項 21 に記載のデバイスであって、
前記 N 個の第 1 のコンパートメントおよび前記 N 個の第 2 のコンパートメントを覆うためのカバーを備え、
前記カバーは、
前記 N 個の第 1 のコンパートメントおよび前記 N 個の第 2 のコンパートメントの少なくとも一方にそれぞれ開口する N 個のサンプリング穴と、
前記 N 個の第 1 のコンパートメントの各々に化学物質を投入するための N 個の化学物質投入口と、
前記 N 個の第 1 のコンパートメントにそれぞれ連通し、該 N 個の第 1 のコンパートメントに灌流液を注入するための N 個の入口ポートと、
前記 N 個の第 2 のコンパートメントにそれぞれ連通し、該 N 個の第 2 のコンパートメントから前記灌流液を排出するための N 個の出口ポートと
を備える
デバイス。

30

【請求項 23】

化学物質の評価方法であって、
請求項 1 ないし請求項 16 および請求項 19 ないし請求項 22 のいずれか一項に記載のデバイスの各コンパートメントに細胞を播種すること、
化学物質をいずれかのコンパートメントに適用すること、
各コンパートメントにおいて化学物質を評価すること、
を含む評価方法。

40

【請求項 24】

化学物質の評価が、化学物質の体内動態評価、生体への効果の評価又は毒性評価である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

各コンパートメントに異なる細胞を播種することを含む、請求項 23 又は請求項 24 に

50

記載の方法。

【請求項 26】

単一又は複数のコンパートメントに異なる化学物質を適用することを含む、請求項 23 ないし請求項 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

請求項 23 ないし請求項 26 のいずれか一項に記載の方法であって、
前記コンパートメント内の液体に食物繊維を添加することと、
前記コンパートメント内の前記食物繊維が添加された前記液体を攪拌することと
を含む方法。

【請求項 28】

請求項 1 ないし請求項 16 および請求項 19 ないし請求項 22 のいずれか一項に記載のデバイスに 1 又はそれ以上の臓器の細胞を適用した臓器モデル。

【請求項 29】

請求項 1 ないし請求項 16 および請求項 19 ないし請求項 22 のいずれか一項に記載のデバイス、あるいは、請求項 28 の臓器モデルの、請求項 23 ないし請求項 27 のいずれか一項に記載の方法への使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、化学物質評価用のデバイス、および、化学物質評価方法に関する。

【背景技術】

【0002】

医薬品には様々な剤形が存在し、その投与ルートは多岐にわたっているが、経口製剤は臨床で最も使用されている投与剤形である。経口投与された化学物質は、主に小腸で吸収され、門脈、肝臓を経て全身循環系に入る。そのため、経口製剤は、小腸や肝臓での初回通過効果（吸収、代謝、排泄）を受けるため、バイオアベイラビリティの低下やその個体間変動が、化学物質療法上の重要な問題となる。したがって、開発候補物質の優先順位付けやヒトにおける化学物質動態を予測する際には、これら腸管および肝臓における初回通過効果を正確に予測することが重要である。このような化学物質動態を評価することができるデバイスとして、例えば、下記特許文献 1, 2 に記載された細胞培養デバイスが知られている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】特表 2005 - 503169 号公報

【特許文献 2】国際公開第 94 / 28501 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、上記特許文献 1, 2 のデバイスでは、小腸や肝臓での初回通過効果を同時に評価することはできず、化学物質の代謝安定性や吸収性はインビトロ実験で別々に評価される。また、実験動物を用いたインビボ実験では、化学物質投与後の門脈血中、全身循環血中化学物質濃度の差から、小腸での吸収の程度や速度、肝通過率などを評価する PS 法などによる間接的な評価が行われているが、これらの方法は化学物質の動態的な種差の問題や倫理的な問題がある。かかる問題は、化学物質の小腸や肝臓での初回通過効果等の体内動態の評価に限らず、生体の複数の組織、臓器を経由する化学物質の生体への影響の評価（例えば、薬効・薬理等の効果の評価、毒性評価等）にも共通する。

【0005】

このようなことから、化学物質のより適切な評価のためのデバイスおよび方法が求められる。

10

20

30

40

50

【課題を解決するための手段】**【0006】**

本発明は、上述の課題の少なくとも一部を解決するためになされたものであり、例えば、以下の形態として実現することが可能である。

【0007】

本発明の第1の形態によれば、化学物質評価用のデバイスが提供される。このデバイスは、第1のコンパートメントと、第1のコンパートメントに連通し、隔壁によって第1のコンパートメントから区画される第2のコンパートメントと、を備えている。

【0008】

かかる化学物質評価用のデバイスによれば、生体の複数の組織、臓器を経由する化学物質を好適に評価できる。例えば、このデバイスは、以下のように使用することができる。まず、第1のコンパートメント内および第2のコンパートメント内に培養細胞を配置する。次いで、第1のコンパートメントに灌流液が連続的に注入される。この灌流液は、第1のコンパートメント内を流れ、隔壁を越えて第2のコンパートメントに流入し、第2のコンパートメントから排出される。このようにして灌流液が流れる状態において、第1のコンパートメント内に、評価対象としての化学物質が投入される。そして、各コンパートメントに配置された細胞を観察したり、第1のコンパートメント内の灌流液、および、第2のコンパートメントから排出された灌流液をサンプリングして、所定項目の測定を行ったりすることによって、第1のコンパートメント内の細胞と第2のコンパートメント内の細胞とが同時に評価される。すなわち、第1のコンパートメント内の細胞と第2のコンパートメント内の細胞とについて、動物（本願においては、人を含む）の体に模した環境下で互いに関連付けられて評価され得る。第1および第2のコンパートメントに加えて、追加的なコンパートメントが設けられてもよい。

10

20

【0009】

本発明の第2の形態によれば、第1の形態において、デバイスは、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントを覆うためのカバーを備える。かかる形態によれば、評価試験中にカバーを第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントに装着することによって、試験環境をクリーンな状態に容易に保つことができる。

【0010】

本発明の第3の形態によれば、第2の形態において、カバーには、カバーを貫通し、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントの少なくとも一方に開口するサンプリング穴が形成されている。かかる形態によれば、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントにカバーを装着した状態で、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントを流れる灌流液を、サンプリング穴を介して容易にサンプリングすることができる。

30

【0011】

本発明の第4の形態によれば、第2又は第3の形態において、カバーには、カバーを貫通し、第1のコンパートメントに化学物質を投入するための化学物質投入口が形成されている。かかる形態によれば、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントにカバーを装着した状態で、評価対象の化学物質を、化学物質投入口を介して容易に投入することができる。

40

【0012】

本発明の第5の形態によれば、第2ないし第4のいずれかの形態において、カバーには、第1のコンパートメントに連通し、第1のコンパートメントに灌流液を注入するための入口ポートが形成されている。かかる形態によれば、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントにカバーを装着した状態で、入口を介して灌流液を第1のコンパートメントに容易に注入することができる。

【0013】

本発明の第6の形態によれば、第2ないし第5のいずれかの形態において、第1のコンパートメントを形成する壁部には、内部で細胞を培養可能な細胞培養容器を、細胞培養容

50

器が第1のコンパートメント内に挿入された状態で、支持するための支持構造が形成されている。かかる形態によれば、第1のコンパートメント内に細胞培養容器を挿入することができる。つまり、第2のコンパートメント内に配置される細胞を当該第2のコンパートメント内で培養しつつ、第1のコンパートメント内に配置される細胞を、別の場所で、別の条件下で培養した後に、第1のコンパートメント内に配置することができる。また、第1のコンパートメントの底部にも細胞を培養する場合には、当該細胞と、細胞培養器で培養される細胞と、を別々の条件で培養することができる。

【0014】

本発明の第7の形態によれば、第5の形態を含む第6の形態において、入口ポートは、細胞培養容器が支持構造によって支持された状態において、第1のコンパートメントにおける細胞培養容器の外部の領域に連通するように形成される。かかる形態によれば、細胞培養容器としてトランスウェルを使用することができる。つまり、灌流液がトランスウェルの外部を流れる状態において、化学物質をトランスウェル内に投入し、トランスウェルの膜を通過した化学物質が灌流液に流入する環境下（例えば、小腸を模したモデルが該当する）で、評価を行うことができる。

10

【0015】

本発明の第8の形態によれば、第2ないし第7のいずれかの形態において、カバーは、透明部材から形成されている。かかる形態によれば、顕微鏡を用いて第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメント内の細胞を観察することができる。

20

【0016】

本発明の第9の形態によれば、第1ないし第8のいずれかの形態において、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントの各々の底部は、透明部材から形成されている。かかる形態によれば、顕微鏡を用いて第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメント内の細胞を観察することができる。

【0017】

本発明の第10の形態によれば、第1ないし第9のいずれかの形態において、隔壁は、第1のコンパートメント内において、第2のコンパートメントに向かうに従って壁高が高くなるように傾斜した傾斜面を有する。かかる形態によれば、第1のコンパートメントから隔壁を越えて第2のコンパートメント内に流入する灌流液の流れを緩やかにすることができる。その結果、灌流液の流れの緩急変動による灌流液内の化学物質の濃度変化を抑制することができる。

30

【0018】

本発明の第11の形態によれば、第10の形態において、傾斜面には、傾斜面の頂部から第1のコンパートメント側に向けて延在する溝が形成されている。かかる形態によれば、毛細管現象によって、灌流液が溝内を通過して第1のコンパートメントから第2のコンパートメントに少量ずつ移動することができる。したがって、灌流液が隔壁を越える際に脈流が生じることが抑制される。その結果、灌流液の脈流による灌流液内の化学物質の濃度変化を抑制することができる。

【0019】

本発明の第12の形態によれば、第1ないし第11のいずれかの形態において、第2のコンパートメントを通る経路で灌流液を循環させるために、ポンプに接続するための循環入口ポートおよび循環出口ポートを備えている。かかる形態によれば、入口ポートおよび出口ポートを介して灌流液を循環させることができる。したがって、動物の循環器系を模した環境下で、化学物質の長期的な影響を評価することができる。

40

【0020】

本発明の第13の形態によれば、第1ないし第12のいずれかの形態において、第2のコンパートメントは、第1のコンパートメントを少なくとも部分的に取り囲むように第1のコンパートメントの周囲に配置される。かかる形態によれば、第1および第2のコンパートメントをコンパクトに配置して、デバイスの縦および横の幅を小さくすることができる。

50

【 0 0 2 1 】

本発明の第 1 4 の形態によれば、第 1 ないし第 1 2 のいずれかの形態において、第 2 のコンパートメントは、第 1 のコンパートメントと並んで配置される。かかる形態によれば、デバイスの縦および横の一方の幅を小さくすることができる。したがって、デバイスを複数並べて使用する場合に、複数のデバイスを短手方向に並べることによって、複数のデバイスをコンパクトに配置して、複数のデバイス全体の縦および横の幅を小さくすることができる。

【 0 0 2 2 】

本発明の第 1 5 の形態によれば、第 1 ないし第 1 4 のいずれかの形態において、第 2 のコンパートメントは、排出口を備える。排出口は、V 字状に形成された内側底面を備える。かかる形態によれば、排出口から排出される灌流液の排出箇所を限定することができる。

10

【 0 0 2 3 】

本発明の第 1 6 の形態によれば、第 1 5 の形態において、排出口は、下流側の外縁部を備える。排出口の外側底面は、外縁部のところで突出している。かかる形態によれば、排出口から排出される灌流液が外側底面上を伝って第 2 のコンパートメント側に向けて進入することを抑制できる。

【 0 0 2 4 】

本発明の第 1 7 の形態によれば、化学物質評価用のキットが提供される。このキットは、第 1 ないし第 1 6 のいずれかの形態のデバイスを備える。デバイスは、複数のデバイスを備えている。複数のデバイスの各々は、ベースを備えている。ベースの各々は、複数のデバイスが並んで配置されるときに隣り合うベース同士が係合可能な係合構造を備えている。かかる形態によれば、複数のデバイスを容易に固定的に並べて配置することができる。

20

【 0 0 2 5 】

本発明の第 1 8 の形態によれば、化学物質評価用のキットが提供される。このキットは、第 1 ないし第 1 6 のいずれかのデバイスを備えている。このデバイスは、複数のデバイスを備えている。キットは、さらに、複数のデバイスの各々が並んだ状態で複数のデバイスの各々を収納するケースを備えている。かかる形態によれば、複数のデバイスを容易に固定的に並べて配置することができる。ケースは、デバイスの各コンパートメント底部位置に相当する部位を開放形にしてもよく、あるいは、ケース底部を透明部材から形成してもよい。

30

【 0 0 2 6 】

本発明の第 1 9 の形態によれば、化学物質評価用のデバイスが提供される。このデバイスは、直列に連通する N 個 (N は 3 以上の整数) のコンパートメントと、 N 個のコンパートメントのうちの隣り合う 2 つのコンパートメントを区画する N - 1 個の隔壁と、を備えている。かかる形態によれば、第 1 の形態と同様の効果を奏する。第 1 9 の形態に、第 2 ないし第 1 8 の形態のいずれかを付加することも可能である。

【 0 0 2 7 】

本発明の第 2 0 の形態によれば、化学物質評価用のデバイスが提供される。このデバイスは、直列に連通する N 個 (N は 2 以上の整数) のコンパートメントと、 N 個のコンパートメントのうちの隣り合う 2 つのコンパートメントを区画する N - 1 個の隔壁と、を備えている。 N 個のコンパートメントを形成する壁部には、内部で細胞を培養可能な細胞培養容器を、細胞培養容器が N 個のコンパートメント内にそれぞれ挿入された状態で、支持するための支持構造が形成される。かかるデバイスによれば、 N 個のコンパートメントのうちの任意の数の任意の位置のコンパートメントに細胞培養容器を挿入して、所望の評価対象環境をモデル化することができる。また、細胞培養容器の挿入位置を変更することによって、評価対象環境を容易に変更することができるので、汎用性に優れている。

40

【 0 0 2 8 】

本発明の第 2 1 の形態によれば、第 1 の形態において、第 1 のコンパートメントは、 N

50

個（ N は2以上の整数）の第1のコンパートメントを備えている。隔壁は、 N 個の隔壁を備えている。第2のコンパートメントは、1対1の関係で N 個の第1のコンパートメントにそれぞれ連通する N 個の第2のコンパートメントであって、 N 個の隔壁によって N 個の第1のコンパートメントからそれぞれ区画される N 個の第2のコンパートメントを備えている。かかる形態によれば、単一のデバイスにおいて、第1のコンパートメントおよび第2のコンパートメントの複数の対を確保することができる。

【0029】

本発明の第22の形態によれば、第21の形態において、 N 個の第1のコンパートメントおよび N 個の第2のコンパートメントを覆うためのカバーを備えている。カバーは、 N 個の第1のコンパートメントおよび N 個の第2のコンパートメントの少なくとも一方にそれぞれ開口する N 個のサンプリング穴と、 N 個の第1のコンパートメントの各々に化学物質を投入するための N 個の化学物質投入口と、 N 個の第1のコンパートメントにそれぞれ連通し、 N 個の第1のコンパートメントに灌流液を注入するための N 個の入口ポートと、 N 個の第2のコンパートメントにそれぞれ連通し、 N 個の第2のコンパートメントから灌流液を排出するための N 個の出口ポートと、を備えている。かかる形態によれば、サンプリング穴、化学物質投入口、入口ポートおよび出口ポートにそれぞれ管を挿入することによって、灌流液の循環、化学物質の投入、および、灌流液のサンプリングを自動的に行うことができる。

10

【0030】

本発明の第23の形態によれば、化学物質の評価方法が提供される。この方法は、第1ないし第16および第19ないし第22のいずれかの形態のデバイスの各コンパートメントに細胞を播種すること、化学物質をいずれかのコンパートメントに適用すること、各コンパートメントにおいて化学物質を評価すること、を含む。

20

【0031】

本発明の第24の形態によれば、第23の形態において、化学物質の評価は、化学物質の体内動態評価、効果の評価又は毒性評価である。

【0032】

本発明の第25の形態によれば、第23又は第24の形態において、化学物質の評価方法は、各コンパートメントに異なる細胞を播種することを含む。

30

【0033】

本発明の第26の形態によれば、第23ないし第25のいずれかの形態において、化学物質の評価方法は、単一又は複数のコンパートメントに異なる化学物質を適用することを含む。

【0034】

本発明の第27の形態によれば、第23ないし第26のいずれかの形態において、化学物質の評価方法は、コンパートメント内の液体に食物繊維を添加することと、コンパートメント内の食物繊維が添加された液体を攪拌することと、を含む。

【0035】

本発明の第28の形態によれば、第1ないし第16および第19ないし第22のいずれかの形態のデバイスに1又はそれ以上の臓器の細胞を適用した臓器モデル、を含む。

40

【0036】

本発明の第29の形態によれば、第1ないし第16および第19ないし第22のいずれかの形態のデバイス、あるいは、請求項28の形態の臓器モデルの、第23ないし27のいずれかの形態の方法への使用、を含む。

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】本発明の第1実施形態による化学物質評価用のデバイスの本体の斜視図である。

【図2】本発明の第1実施形態によるデバイスのカバーの斜視図である。

【図3】本体にカバーが装着されたデバイスの斜視図である。

【図4A】デバイスの上面図である。

50

- 【図 4 B】デバイスの断面図である。
- 【図 5】デバイスを用いて評価試験を行う場合の手順を示す説明図である。
- 【図 6】本発明の第 2 実施形態による複数の化学物質評価用のキットの斜視図である。
- 【図 7】図 6 の本体の斜視図である。
- 【図 8】図 7 の本体の内部を示す断面斜視図である。
- 【図 9】本発明の第 3 実施形態による化学物質評価用のキットの斜視図である。
- 【図 10】図 9 のキットの分解斜視図である。
- 【図 11】本発明の第 4 実施形態による化学物質評価用のデバイスの分解斜視図である。
- 【図 12】図 11 のデバイスの斜視図である。
- 【図 13】図 11 のデバイスの本体の断面図である。 10
- 【図 14 A】臓器（腸管・肝臓） - モデル（ヒト B 型肝炎ウイルスによる肝炎モデル）の一例である。
- 【図 14 B】臓器（腸管・肝臓） - モデル（ヒト B 型肝炎ウイルスによる肝炎モデル）の一例である。
- 【図 15 A】臓器（脳（血液脳関門 / 中枢神経系）） - モデルの一例である。
- 【図 15 B】臓器（脳（血液脳関門 / 中枢神経系）） - モデルの一例である。
- 【図 16】臓器（腸管・肝臓・脳（血液脳関門 / 中枢神経系）） - モデルの一例である。
- 【図 17】臓器（腸管・肝臓・脳（血液脳関門 / 中枢神経系）） - モデルであって、腸内細菌叢又は薬物による破綻モデルの一例である。
- 【図 18】臓器（腸管・肝臓・腎臓） - モデルの一例である。 20
- 【図 19】小腸コンパートメントにおけるミダゾラムの透過量と代謝物の生成量を示す。
- 【図 20】肝臓コンパートメントにおけるミダゾラムの透過量と代謝物の生成量を示す。
- 【図 21】本発明の第 5 実施形態による化学物質評価用のデバイスの分解斜視図である。
- 【図 22】本体にカバーが装着された状態の図 21 のデバイスの斜視図である。
- 【図 23】図 21 のデバイスの断面図である。
- 【図 24】図 22 のデバイスの断面図である。
- 【図 25】本発明の第 6 実施形態による化学物質評価用のデバイスの分解斜視図である。
- 【図 26】本体にカバーが装着された状態の図 25 のデバイスの斜視図である。
- 【図 27】図 25 の本体の斜視図である。
- 【図 28】本発明の第 7 実施形態による化学物質評価用のデバイスの斜視図である。 30
- 【図 29】図 28 のデバイスの断面図である。
- 【図 30】インサート内を攪拌する様子を示す断面図である。
- 【図 31】インサート内を攪拌する様子を示す断面図である。
- 【発明を実施するための形態】
- 【0038】
- A. 化学物質評価用のデバイス：
- 図 1 は、本発明の第 1 実施形態による化学物質評価用のデバイス 20 の本体 30 の斜視図である。本実施形態では、デバイス 20 は、小腸細胞および肝臓細胞を使用した初回通過効果の評価試験に使用される。ただし、デバイス 20 は、後述するように、種々の化学物質の生体への影響の評価（例えば、体内動態、効果、毒性の評価）にも使用することができる。本体 30 は、第 1 のコンパートメント 40 と、第 2 のコンパートメント 50 と、隔壁 60 と、ベース 70 と、を備えている。第 1 のコンパートメント 40 は、略円形に湾曲する壁部 41 によって、その内側に形成されている。壁部 41 の一部分は、渦巻き状に旋回しながら開口している。壁部 41 の外側には、壁部 41 と間隔を隔てて壁部 41 の周囲を取り囲む壁部 51 が形成されている。壁部 41 と壁部 51 とによって、それらの間に第 2 のコンパートメント 50 が形成されている。つまり、第 2 のコンパートメント 50 は、第 1 のコンパートメント 40 を少なくとも部分的に取り囲むように配置されている。本実施形態では、第 1 のコンパートメント 40 および第 2 のコンパートメント 50 の底部は、透明部材から形成されている。 40
- 【0039】 50

第1のコンパートメント40の壁部41と第2のコンパートメント50の壁部51との間を延在するように隔壁60が形成されている。この隔壁60によって、単一のデバイス20内において第1のコンパートメント40と第2のコンパートメント50とが区画される。隔壁60は、壁部41および壁部51よりも低い壁高で形成されている。また、隔壁60は、後述する壁部52よりも高い壁高で形成されている。第1のコンパートメント40と第2のコンパートメント50とが隔壁60を介して連通する（つまり、隔壁60をオーバーフローすることのみによって連通する）ことによって、灌流液が流れる渦巻き状の流路が形成される。

【0040】

第1のコンパートメント40には、インサート90が挿入される。インサート90は、その内部で細胞を培養可能な細胞培養容器であり、本実施形態では、市販のトランスウェルである。インサート90の底部91は、多孔性メンブレンフィルターから形成されている。この多孔性メンブレンフィルター上には、小腸細胞96が配置される。インサート90は、有底円筒形に形成されている。インサート90の外面には、対向する一对の突出部92が形成されている（図1では、一方のみ示されている）。

10

【0041】

第1のコンパートメント40を形成する壁部41の上端には、対向する一对のスリット42が形成されている。スリット42は、突出部92が挿入される大きさに形成されている。スリット42は、インサート90が第1のコンパートメント40内に挿入された状態で、インサート90を支持するための支持構造として機能する。インサート90がスリット42によって支持された状態において、インサート90の底部91と、第1のコンパートメント40の底面と、の間には、灌流液が流通するための僅かな隙間が形成される。この隙間は、細胞を培養するためにも利用され得る。

20

【0042】

また、第1のコンパートメント40を形成する壁部41の上端には、切欠部44が形成される。切欠部44は、略半円形に形成されており、その断面積は、第1のコンパートメント40の底部に向かうに従って小さくなる。この切欠部44は、スリット42内で支持されるインサート90の外部に位置している。

【0043】

隔壁60は、壁部41および壁部51よりも低い壁高で形成されている。本実施形態では、隔壁60は、第1のコンパートメント40内において、第2のコンパートメント50に向かうに従って壁高が高くなるように傾斜した傾斜面61を有している。かかる構成によれば、傾斜面61の上端付近の、表面張力によって液面レベルが上昇する部分が、鉛直壁と比べて水平方向に長くなる。よって、灌流液が第1のコンパートメント40から隔壁60をオーバーフローして第2のコンパートメント50に僅かな量ずつ流入するように灌流液の量を調節することによって、第1のコンパートメント40から隔壁60を超えて第2のコンパートメント50に流入する灌流液の流れを緩やかにすることができる。その結果、灌流液の流れの緩急変動に起因して生じる、第2のコンパートメント50内での化学物質の濃度変化を抑制することができる。

30

【0044】

さらに、本実施形態では、傾斜面61には、傾斜面61の頂部から第1のコンパートメント40側に向けて延在する溝62が形成されている。かかる構成によれば、毛細管現象によって、灌流液が溝62内を通過して第1のコンパートメント40から第2のコンパートメント50に少量ずつ移動することができる。したがって、灌流液が隔壁60を越える際に脈流が生じることが抑制される。その結果、第2のコンパートメント50内での化学物質の濃度変化をさらに抑制することができる。本実施形態では、溝62は、傾斜面61の略中央に形成されているが、溝62は、傾斜面61の傾斜に沿って任意の場所から傾斜面61の頂部まで形成されていてもよい。例えば、溝62は、隔壁60と、壁部41又は壁部51と、の接続部に形成されていてもよい。

40

【0045】

50

第2のコンパートメント50の下流端には、壁部41と壁部51との間を延在する壁部52が形成される。壁部52は、壁部41および壁部51よりも低い壁高で形成されている。壁部52よりも下流側には、灌流液の出口31が形成されている。かかる第2のコンパートメント50の底部には肝臓細胞97が配置される。上述の壁部52は、第2のコンパートメント50内で細胞を培養する際に、第2のコンパートメント50内に培地液を貯留するために設けられている。この壁部52が形成されていない場合には、例えば、出口31をシールによって塞ぐことで、第2のコンパートメント50内に培地液が貯留されてもよい。この説明からも明らかなように、本願において、「コンパートメント」との用語は、細胞が配置される複数の領域であって、互いから区画された複数の領域を意味しており、各コンパートメントは、例えば、壁部52が形成されていない場合の出口31のように、その一部が開放されていてもよい。

10

【0046】

ベース70は、壁部51の外側において、壁部51の基部から水平方向に延在している。ベース70は、それぞれ2つの凸部71と凹部72とを備えている。この凸部71および凹部72は、相補的な形状を有している。凸部71および凹部72は、複数のデバイス20が並べて配置される際に、隣り合うベース70同士を係合させる。つまり、1つのベース70の凸部71は、隣り合う他の1つのベース70の凹部72と係合する。かかる構成によれば、複数のデバイス20を容易に固定的に並べて配置することができる。

【0047】

デバイス20は、さらに、第1のコンパートメント40および第2のコンパートメント50を覆うためのカバー80を備えている。本実施形態では、カバー80は、透明部材から形成されている。図2は、カバー80の斜視図である。図示するように、カバー80の上面には、当該上面を貫通するサンプリング穴81が形成されている。本実施形態では、サンプリング穴81は、第1のコンパートメント40の直上に形成されており、第1のコンパートメント40に開口している。サンプリング穴81に代えて、又は、加えて、第2のコンパートメント50に開口するサンプリング穴が形成されていてもよい。

20

【0048】

さらに、カバー80の上面には、当該上面を貫通する化学物質投入口82が形成されている。化学物質投入口82は、評価対象の化学物質を第1のコンパートメント40に投入するために設けられる。本実施形態では、化学物質投入口82は、カバー80の略中央に形成されており、その直下には、第1のコンパートメント40、あるいは、インサート90が位置する。このため、化学物質投入口82から投入された化学物質は、インサート90が設置されてない場合は第1のコンパートメント40に、インサート90が設置されている場合にはインサート90内に投入される。さらに、カバー80には、入口ポート83が形成される。入口ポート83は、第1のコンパートメント40に灌流液を注入するために設けられる。入口ポート83には、例えば、灌流液を供給するためのシリンジポンプが接続される。入口ポート83の内部通路は、切欠部44の直上で開口する。切欠部44は、インサート90の外部に位置しているので、入口ポート83は、第1のコンパートメント40におけるインサート90の外部に連通する。つまり、入口ポート83から供給される灌流液は、切欠部44を介して、第1のコンパートメント40内かつインサート90の外部に供給される。かかるカバー80は、図3に示すように、壁部51上に載置される。

30

40

【0049】

かかるカバー80によれば、評価試験中に試験環境(すなわち、第1のコンパートメント40および第2のコンパートメント50)をクリーンな状態に容易に保つことができる。しかも、サンプリング穴81によって、灌流液を容易にサンプリングすることができる。さらに、化学物質投入口82によって化学物質を容易に投入できるとともに、入口ポート83によって灌流液を容易に注入することができる。

【0050】

図4Aは、デバイス20の上面図である。図4Bは、図4Aの矢視角A~Cに基づくデバイス20の断面図であり、初回通過効果の評価試験時の様子を示している。入口ポート

50

83から連続的に注入される灌流液95は、第1のコンパートメント40に流入し、インサート90の周囲およびインサート90の底部91の下方を流れて、隔壁60を超えて、第2のコンパートメント50に流入する。灌流液は、第2のコンパートメント50では、第2のコンパートメント50の底部に配置された肝臓細胞97の上方を流れ、壁部52を超えて、出口31から排出される。また、化学物質投入口82から投入された化学物質は、インサート90内の培地液98と混ざり、小腸細胞96および底部91(多孔性メンブレンフィルター)を透過して、第1のコンパートメント40内の灌流液95に移行する。そして、化学物質は、上述した灌流液95の流れによって肝臓細胞97上を流通して、肝臓細胞97で代謝される。

【0051】

図5は、デバイス20を用いて初回通過効果の評価試験を行う場合の手順を示す説明図である。この試験では、まず、本体30の第2のコンパートメント50に肝臓細胞97を播いてカバー80を被せて培養する(ステップS110)。次いで、インサート90に小腸細胞96を播いて、底部91(多孔性メンブレンフィルター)の上面を覆うように培養する(ステップS120)。次いで、肝臓細胞97を培養させた本体30(より具体的には、第1のコンパートメント40)に、小腸細胞96を培養させたインサート90を差し込む(ステップS130)。次いで、本体30にカバー80を被せて、入口ポート83にシリンジポンプを接続する(ステップS140)。次いで、シリンジポンプを作動させ、一度、灌流液95をデバイス20全体(つまり、第1のコンパートメント40および第2のコンパートメント50全体)に流す(ステップS150)。そして、カバー80の中心に形成された化学物質投入口82から、インサート90に化学物質を投入し、カバー80を被せた状態で試験を実施する(ステップS160)。

【0052】

この試験では、サンプリング穴81から灌流液95をサンプリングして、化学物質成分がどの程度混入しているかを確認することができる。また、出口31から排出される灌流液95を経時的にサンプリングして、検査することができる。さらに、第1のコンパートメント40および第2のコンパートメント50の底部(透明部材)を介して、小腸細胞96および肝臓細胞97を顕微鏡で観察することができる。また、カバー80(透明部材)を介して、小腸細胞96および肝臓細胞97を顕微鏡で観察することもできる。

【0053】

図6は、第2実施形態としての化学物質評価用のキット105の斜視図である。以下、キット105について、第1実施形態と異なる点についてのみ説明する。キット105は、複数の化学物質評価用のデバイス120を備えている。

【0054】

図7は、デバイス120の本体130およびインサート90の斜視図である。図8は、本体130およびインサート90の断面斜視図である。デバイス120は、その形状が第1実施形態のデバイス20と異なっている。具体的には、図7に示すように、デバイス120は、略円筒形の壁部141によって形成された第1のコンパートメント140と、壁部141から連続する2つの矩形の壁部151によって形成された第2のコンパートメント150とを備えている。つまり、本実施形態では、第1のコンパートメント140と第2のコンパートメント150とが並んで配置されている。第2のコンパートメント150は、円柱状の第1のコンパートメント140から延在する細長い形状を有している。図8に示すように第1のコンパートメント140と第2のコンパートメント150とは、第1実施形態と同様に、傾斜面161を有する隔壁160によって区画されている。また、第2のコンパートメント150の下流端には、壁部152が形成されている。壁部152が形成されていない場合には、図7に示すように、壁部152よりも下流側には、第2のコンパートメント150における細胞培養時に第2のコンパートメント150をシールするためのシール93が取り付けられてもよい。

【0055】

本実施形態では、デバイス120は、カバーを備えていない。このため、図7に示すよ

10

20

30

40

50

うに、灌流液を注入するためにシリンジポンプに接続される入口ポート145が壁部141に形成されている。ただし、デバイス120は、第1実施例と同様のカバーを備えていてもよい。この場合、カバーは、入口ポートを備えていなくてもよい。入口ポート145は、図8に示すように、第1のコンパートメント140の内部と直接的に連通している。入口ポート145の下端は、隔壁160よりも高い位置にあってもよい。この場合、第1のコンパートメント140内の灌流液の水位は、入口ポート145よりも下方に位置することになる。このため、シリンジポンプから入口ポート145を介して第1のコンパートメント140内に供給される灌流液の流速が遅い場合であっても、第1のコンパートメント140内の灌流液と入口ポート145内の灌流液との間での化学物質の濃度勾配に起因して第1のコンパートメント140から入口ポート145へ化学物質が移行することを防止できる。また、壁部141には、第1実施形態と同様に、インサート90を支持するための一对のスリット142が形成されている。

10

【0056】

壁部151の基部からベース170が延在している。ベース170は、壁部141の外径とほぼ同一の幅を有している。ベース170は、第1実施例と同様に、凸部171および凹部172を備えており、図6に示すように、複数のデバイス120を、第1のコンパートメント140と第2のコンパートメント150とが並ぶ方向と直交する方向に連結することができる。かかるキット105によれば、複数のデバイス120をコンパクトに並べて配置することができる。

【0057】

図9は、第3実施形態としての化学物質評価用のキット205の斜視図である。図10は、キット205の分解斜視図である。以下、キット205について、第2実施形態と異なる点についてのみ説明する。キット205は、複数の化学物質評価用のデバイス220を備えている。図10に示すようにデバイス220の本体230は、略直方体の外形を有しており、その中に、第2実施形態と同様に、略円筒形の第1のコンパートメント240と、細長い第2のコンパートメント250と、が並んで配置されている。第1のコンパートメント240には、インサート290が挿入される。インサート290は、その上縁部がフランジ状に形成されており、当該フランジ状部分が本体230の上面に載置される点のみが第1実施形態のインサート90と異なっている。本体230には、第2実施形態と同様に、第1のコンパートメント240と直接的に連通する入口ポート245が形成されている。デバイス220は、カバーを備えていない。ただし、デバイス220は、第1実施例と同様のカバーを備えていてもよい。この場合、カバーは、入口ポートを備えていなくてもよい。

20

30

【0058】

キット205は、さらに、複数のデバイス220の各々を、それらが短手方向に並んだ状態で収納するケース100を備えている。ケース100は、1つの底部102と、複数のパーティション101と、を備えている。複数のパーティション101は、隣り合う2つのパーティション101の間にデバイス220を摺動的に挿入できるように離間されている。壁部103には、入口ポート245が挿入される貫通穴(図示省略)が形成されている。かかるキット205によれば、複数のデバイス220をコンパクトに並べて配置することができる。また、容易に固定的に並べて配置することができる。ケース100の底部102は、細胞を観察できるように透明部材から形成されていてもよい。また、代替態様として、ケース100は、底部102を備えていなくてもよい。つまり、デバイス220の各コンパートメントの底部位置に相当する部位は開放形であってもよい。かかる構成によっても各コンパートメント内の細胞を観察することができる。

40

【0059】

図11は、第4実施形態としての化学物質評価用のデバイス320の分解斜視図である。図12は、デバイス320の斜視図である。図13は、デバイス320の本体330の断面図である。以下、デバイス320について、第1実施形態と異なる点についてのみ説明する。図11に示すように、デバイス320の本体330は、略円筒形の壁部341と

50

、壁部 3 4 1 の外側で壁部 3 4 1 を取り囲むように配置された略円筒形の壁部 3 5 1 とを備えている。壁部 3 4 1 の内部に第 1 のコンパートメント 3 4 0 が形成され、壁部 3 4 1 と壁部 3 5 1 との間に第 2 のコンパートメント 3 5 0 が、第 1 のコンパートメント 3 4 0 と同心状に形成されている。第 1 のコンパートメント 3 4 0 と第 2 のコンパートメント 3 5 0 とは、隔壁 3 6 0 によって区画されている。

【 0 0 6 0 】

第 2 のコンパートメント 3 5 0 において、隔壁 3 6 0 の近傍には、第 2 のコンパートメント 3 5 0 の上流端と下流端とを仕切る仕切壁 3 5 2 が形成されている。図 1 3 に示すように、壁部 3 5 1 には、灌流液を注入するための入口ポート 3 4 5 が形成されている。入口ポート 3 4 5 は、第 2 のコンパートメント 3 5 0 の下方を延在して、連通穴 3 4 6 を介して第 1 のコンパートメント 3 4 0 内に連通している。図 1 1 に示すように、第 2 のコンパートメント 3 5 0 の下流端に対応する位置において、壁部 3 5 1 には、灌流液を排出するための排出口 3 5 3 が形成されている。入口ポート 3 4 5 から灌流液を連続的に供給すると、灌流液は、第 1 のコンパートメント 3 4 0 および第 2 のコンパートメント 3 5 0 を流れて、排出口 3 5 3 から排出される。

10

【 0 0 6 1 】

壁部 3 5 1 には、さらに、第 2 のコンパートメント 3 5 0 を通る経路で灌流液を循環させるために、ポンプ（例えば、チューブポンプ）に接続するための循環入口ポート 3 5 4 および循環出口ポート 3 5 5 が形成されている。循環入口ポート 3 5 4 は、第 2 のコンパートメント 3 5 0 の上流端に対応する位置に形成されており、循環出口ポート 3 5 5 は、第 2 のコンパートメント 3 5 0 の下流端に対応する位置に形成されている。排出口 3 5 3 および循環出口ポート 3 5 5 の上流側には、壁部 3 5 6 が形成されている。この壁部 3 5 6 は、第 2 のコンパートメント 3 5 0 内で細胞を培養する際に、培地液を貯留するために設けられており、図 7 に示される壁部 1 5 2 に相当する。

20

【 0 0 6 2 】

第 1 のコンパートメント 3 4 0 および第 2 のコンパートメント 3 5 0 に灌流液が一定量貯留された後、灌流液は、循環入口ポート 3 5 4 および循環出口ポート 3 5 5 を介して循環され得る。具体的には、まず、入口ポート 3 4 5 からの灌流液の供給を停止するとともに、排出口 3 5 3 が塞がれる。その後、循環出口ポート 3 5 5 を出た灌流液は、ポンプを介して、再度、循環入口ポート 3 5 4 から第 2 のコンパートメント 3 5 0 に流入する。それによって、灌流液は、第 2 のコンパートメント 3 5 0 を循環することになる。かかる構成によれば、動物の循環器系を模した環境下で、第 2 のコンパートメント 3 5 0 に配置された細胞に対する化学物質の長期的な影響を評価することができる。

30

【 0 0 6 3 】

図 1 1 に示すように、本実施形態では、カバー 3 8 0 は、サンプリング穴および化学物質投入口を有していない。このため、サンプリング時、および、化学物質投入時には、カバー 3 8 0 は取り外される。

【 0 0 6 4 】

上述した諸実施形態において、インサートは必須ではなく、第 1 のコンパートメント内に直接的に細胞が配置されてもよい。また、デバイスは、第 1 のコンパートメントおよび第 2 のコンパートメントのうちの少なくとも一方は、並列的に区画された 2 つ以上のサブコンパートメントを備えていてもよい。この場合、コンパートメント同士を区画する隔壁は、サブコンパートメントごとに設けられてもよい。さらに、デバイスは、直列に連通する 3 つ以上のコンパートメントを備えていてもよい。この場合、3 つ以上のコンパートメントのうちの隣り合う 2 つのコンパートメントは、それぞれ、隔壁によって区画される。3 つ以上のコンパートメントのうちの少なくとも 1 つは、並列的に区画された 2 つ以上のサブコンパートメントを備えていてもよい。

40

【 0 0 6 5 】

B . デバイスの使用態様

上述したデバイスは、複数あるコンパートメントに播種する細胞をヒトの臓器・組織を

50

模して組み合わせることが可能であることから、例えば、経口初回通過効果（腸管上皮細胞 - 肝細胞）、血液脳関門（脳毛細血管内皮細胞 - 神経細胞）、血液胎盤関門（シンシチオトロホプラスト（栄養膜合体）層 - 胎児組織・未分化組織）、腸管（腸管上皮細胞） - 肝臓（肝細胞） - 血液脳関門（脳毛細血管内皮細胞 - 神経細胞）、腸管（腸管上皮細胞） - 肝臓（肝細胞） - 腎（腎臓尿細管上皮細胞）等のモデル化が可能である。

【0066】

本発明の一態様において、デバイスに、底面に多孔質メンブレンフィルターを有する、着脱可能な細胞培養容器（インサート）を装着してもよい。細胞培養容器中で細胞を培養することにより、好ましくは、多孔質メンブレンフィルター上（又は下）に細胞の膜（細胞シート）が形成される。細胞培養液、灌流液等の液体、および、液体に溶解又は懸濁した小分子（化学物質等）は、多孔質メンブレンフィルターを透過するが、細胞は多孔質メンブレンフィルターを透過しない。細胞シートにより化学物質と液体キャリアとを分離させることで、化学物質が細胞シートを透過し、液体キャリアに移行する化学物質動態を直接的に評価出来る。細胞シートからの化学物質透過は、小腸、脳血管関門、胎盤、肺、腎臓などにおける化学物質吸収・排泄に加え、化学物質代謝、化学物質相互作用、遺伝子多型の影響等を直接的に反映できる。

10

【0067】

（1）化学物質

デバイスに適用しうる化学物質の種類は特に限定されない。デバイスに適用しうる化学物質には、生体に適用される可能性がある任意の化学物質が含まれる。化学物質は、液体であってもよく、あるいは、細胞培養液、灌流液等に溶解又は懸濁可能な固体、半固体であってもよい。化学物質には、例えば、医薬品、化粧品（化粧品）、食品添加物、農薬、あるいはこれらの候補物質などが含まれる。化学物質は、化合物、核酸、ペプチド、タンパク質（抗体等）、金属などを含む。化学物質は、人工的に合成されたものであっても、微生物、植物、動物等より得られた天然由来のものであってもよい。

20

【0068】

デバイスに提供される化学物質は、生体に影響を及ぼしうる有効成分自体であってもよい。あるいは、デバイスに提供される化学物質は、有効成分の他に生体に適用するための、生体に適用可能な担体、ビヒクル等を含む、組成物、剤の態様であってもよい。担体およびビヒクルは、経口投与又は非経口投与（経皮投与、皮下投与、腹腔内投与等）のための医薬組成物の調製のために一般に用いられるものを使用可能である。適切な単位形態には、経口形態、例えば錠剤、軟又は硬のカプセル剤、サシェ剤中の散剤又は顆粒剤、および液剤、懸濁剤又は乳剤、並びに、非経口投与用の注射剤、点滴剤、パッチ剤、エアゾール剤、点眼剤、眼軟膏剤、軟膏剤、リニメント剤、リモナーデ剤、流エキス剤、ローション剤、経皮吸収型製剤、貼付剤等が含まれる。

30

【0069】

あるいは、例えば、細胞培養容器（インサート）デバイスに適用するものは、生体に影響を及ぼしうる有効成分としての化学物質自体ではなく、化学物質を産生する若しくは放出する物質、生物であってもよい。「化学物質を産生する若しくは放出する物質、生物」とは、例えば、非限定的に、腸内細菌、核酸（核酸医薬等）等が含まれる。「化学物質を産生する若しくは放出する物質、生物」は、灌流液により運ばれなくても、これらから産生/放出された有効成分（化学物質）が細胞培養液、灌流液に溶解又は懸濁して、運ばれる。本明細書においては、このような「有効成分を産生する若しくは放出する物質、生物」も含めて「化学物質」と呼称する場合がある。

40

【0070】

複数種の化学物質を、上記のデバイスに適用してもよい。例えば、複数種の化学物質を細胞培養容器に同時又は経時的に適用したものを、第1のコンパートメントに挿入してもよい。本明細書および特許請求の範囲において、「第1のコンパートメントに化学物質を適用する」との記載は、特に明示しない限り、細胞培養容器を第1のコンパートメントに挿入し、化学物質を細胞培養容器に適用することと、細胞培養容器を使用しない場合にお

50

いて化学物質を第1のコンパートメントに直接的に適用することと、の双方を含む。これにより、複数種の化学物質の組み合わせを同じ臓器・組織に同時又は経時的に投与した場合の生体への影響を調べることができる。あるいは、第1のコンパートメントに細胞培養容器を挿入して、化学物質を細胞培養容器に適用し、別の又は同じ化学物質を第2又はそれ以降のコンパートメントに適用してもよい。これらにより、複数種の化学物質の組み合わせ又は1種類の化学物質を、異なる臓器・組織に同時又は経時的に投与した場合の生体への影響を調べることができる。

【0071】

(2) 細胞

上記のデバイスに適用しうる細胞の種類は、特に限定されない。デバイスに適用する細胞は、フィルター又は容器の底面若しくは壁面に付着する付着性細胞であってもよく、細胞培養液若しくは灌流液中に浮遊する浮遊細胞であってもよい。上記デバイスによれば、細胞を含むコンパートメントを連続的につなげることにより、より生体の臓器、組織の環境に近い状態を再現できる。評価をしたい臓器、組織の構成を再現するのに適した細胞を用いるのが好ましい。各臓器、組織のモデル細胞として確立している細胞株を用いることも可能である。例えば、非限定的に、腸管上皮細胞のモデル細胞としてCaco-2細胞、肝細胞のモデル細胞としてHepG2細胞、神経細胞のモデル細胞としてNSC-34細胞系(CELLutions BIOSYSTEMS社製、コスモバイオ社販売)、脳毛細血管内皮細胞のモデル細胞として、ヒト不死化脳毛細血管内皮細胞、腎臓尿管上皮細胞は遺伝子操作されたイヌ腎臓尿管上皮細胞株(MDCK)を用いてもよい。あるいは、ヒト人工多能性幹細胞(iPS細胞)から分化誘導した細胞、あるいはiPS細胞細胞から分化誘導して作製した3次元組織体(オルガノイドあるいはスフェロイド)を用いてもよい。血液胎盤関門(シンシチオトロホプラスト(栄養膜合体))のモデルは、例えば、ヒトの胎盤を用いて、例えば、Reproductive Biology and Endocrinology (2015) 13:71に記載のように調製することができる。遺伝子操作を施した細胞株を用いてもよい。

10

20

【0072】

細胞は、細胞培養容器に播種してもよい。細胞は、多孔質メンブレンフィルターを通過できず、かつ、灌流液によって運ばれない付着性細胞の場合、細胞培養器の多孔質メンブレンフィルターの上面に付着し、細胞シートを形成しうる。あるいは、細胞を第1のコンパートメントに播種してもよい。付着性細胞の場合、細胞培養器の多孔質メンブレンフィルターの下面又は第1のコンパートメントの容器の底面に細胞が付着して、細胞シートを形成しうる。本明細書および特許請求の範囲において、「第1のコンパートメントに細胞を播種する(配置する)」との記載は、特に明示しない限り、細胞を細胞培養容器に播種し、細胞培養容器を第1のコンパートメントに挿入することと、細胞を第1のコンパートメントに播種することと、の双方を含む。あるいは、細胞を第2又はそれ以降のコンパートメントに播種してもよい。

30

【0073】

細胞培養容器、コンパートメント毎に異なる種類の細胞を播種することができる。また、1つの容器又はコンパートメント中に2種類以上の細胞を播種してもよい。

40

【0074】

(3) 細胞培養容器(インサート)

細胞培養容器(インサート)は、公知のものを使用可能である。例えば、Falcon社製のカルチャーインサート、ミリポア社製のミリセルセルカルチャーインサート等が含まれる。多孔質メンブレンフィルターは、好ましくはポリカーボネート(PC)、ポリエステル又はポリエチレンテレフタレート(PET)、もしくはポリテトラフルオロエチレン(PTFE)等の材質で形成されており、好ましくは直径約0.1 μ m~約10.0 μ m、より好ましくは、約0.2 μ m~8.0 μ mの穴が複数空いているものである。

【0075】

本発明は、上記デバイスに1又は1以上の臓器の細胞を適用した臓器モデルも含む。本

50

発明は、上記デバイス又は上記臓器モデルの化学物質の評価方法への使用も含む。

【0076】

(4) 臓器(腸管・肝臓) - モデル(ヒトB型肝炎ウイルスによる肝炎モデル)

上記のデバイスを用いたモデルの一態様として、臓器(腸管・肝臓) - モデル(ヒトB型肝炎ウイルスによる肝炎モデル)が含まれる。

【0077】

腸管上皮細胞は腸管免疫系に様々な形で関わっている。炎症性サイトカインや過酸化物質などにより腸管上皮細胞層が傷害を受けると、その周囲の免疫細胞が活性化され、上皮層の修復や異物の排除が行われる。この免疫応答が過剰になると腸管組織に炎症を生じる。一方、腸管上皮細胞の炎症性サイトカイン産生は炎症反応の重要な要因の一つであり、免疫応答の初期段階を担っている。炎症性サイトカインは、免疫応答を自ら示すだけでなく、他の免疫担当細胞の応答を誘導する役割も担っている。

10

【0078】

経口投与された化学物質は、腸管上皮細胞から吸収され、門脈系の血管を介して、肝臓に運ばれる。門脈系の血管とは、腹部臓器の血液を集めて肝臓に入る血管であり、小腸の全部、盲腸、上行結腸、横行結腸からの上腸間膜静脈、下行結腸、S状結腸からの下腸間膜静脈、そして、脾臓からの脾静脈を含む。

【0079】

図14Aおよび図14Bは、臓器(腸管・肝臓) - モデル(ヒトB型肝炎ウイルスによる肝炎モデル)の一例を示す。肝細胞がヒトB型肝炎ウイルス(HBV)に感染して炎症を起こす状態のモデルである。細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルター上に、ヒト腸管上皮細胞が細胞シートを形成している。細胞培養溶液中には、腸内細菌代謝産物(腸内細菌生産物質)、リポ多糖(LPS)等が含まれている。炎症状態のため、灌流液中に、インターロイキン類(ILs)、腫瘍壊死因子(TNF)、トランスフォーミング増殖因子(TGF)等の炎症性サイトカイン、および、白血球の一種である好中球が存在する。第1のコンパートメントからの灌流液が、第2のコンパートメントに供給される。第2のコンパートメントには、ヒト肝細胞およびマクロファージ(M1又はM2-M)が存在する。マクロファージは白血球の1種で遊走性の食細胞である。第2のコンパートメントの肝細胞はHBVに感染しており、どのような条件が最も肝炎を起こしやすいかを評価できるモデルである。また、例えば、細胞培養溶液中に化学物質(例えば、医薬品候補物質)を添加することにより、化合物が腸管上皮細胞を通過し、肝細胞に感染しているHBVへの影響を評価することができる。HBVの代わりにヒトC型肝炎ウイルス(HCV)であってもよい。

20

30

【0080】

図14Aは、第1のコンパートメントと第2のコンパートメントの独立した組み合わせが複数ある態様である。第2のコンパートメントは、1つめの組み合わせ(図14Aの左)では、ヒト肝細胞がカプセル化されており、2つめの組み合わせ(図14Aの真ん中)では、ヒト肝細胞とマクロファージが各々別個にカプセル化されており、そして、3つめの組み合わせ(図14Aの右)では、ヒト肝細胞とマクロファージの双方がまとめてカプセル化あるいは共培養されている。カプセルとは、細胞は通り抜けできないがHBV、HCVあるいはタンパク質等は通り抜けできる膜である。

40

【0081】

図14Bは、第2のコンパートメントが複数のサブコンパートメントを有する態様である。第1のコンパートメントからの灌流液が、並列的に区画された3つのサブコンパートメントを備える第2のコンパートメントに分かれて供給される。第2のコンパートメントの1つめのサブコンパートメントでは、ヒト肝細胞がカプセル化されており、2つめのサブコンパートメントでは、ヒト肝細胞とマクロファージが各々別個にカプセル化されており、そして、3つめのサブコンパートメントでは、ヒト肝細胞とマクロファージの双方がまとめてカプセル化あるいは共培養されている。

【0082】

50

(5) 臓器 (脳 (血液脳関門 / 中枢神経系)) - モデル

上記のデバイスは、臓器 (脳 (血液脳関門 / 中枢神経系)) - モデルとしても利用可能である。

【0083】

血管周皮細胞 (ペリサイト、pericyte) は、Rouget細胞とも呼ばれ、中胚葉性の細胞で毛細血管壁を取り巻くように存在する。脳神経においては、血管周皮細胞 (ペリサイト) は神経細胞、脳血管内皮細胞、アストロサイト (astrocyte) (星状膠細胞) (中枢神経系に存在するグリア細胞の1つ) 等と共に神経血管単位 (Neurovascular unit、NVU) を形成し、血管の成熟・安定化、脳血液関門の維持、虚血時の神経保護・修復等を担っていると考えられている。

10

【0084】

図15Aおよび図15Bは、臓器 (脳 (血液脳関門 / 中枢神経系)) - モデルの一例を示す。細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルター上に、ヒト脳血管内皮細胞が細胞シートを形成している。第1のコンパートメントに含まれるヒトのペリサイトは、細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルターの下面に付着し、細胞シートを形成している。ヒトのアストロサイトは、第1のコンパートメントの底面に付着し、細胞シートを形成している。化学物質が、第1のコンパートメントに添加される。第1のコンパートメントからの灌流液が、第2のコンパートメントに供給される。第2のコンパートメントには、ヒト神経細胞やグリア細胞が存在する。神経細胞はドーパミン産生細胞等であり、グリア細胞 (神経膠細胞) は、ミクログリア (小膠細胞)、オリゴデンドロサイト (希突起グリア細胞)、アストロサイト (星状膠細胞)、上衣細胞、シュワン細胞等である。例えば、細胞培養溶液中に、化学物質を添加することにより、化学物質が、血管内皮細胞、ペリサイトを通り、アストロサイトと接触する。化学物質又はその代謝物が、第2のコンパートメント中の脳 (中枢神経系) モデルに到達し、神経細胞あるいはグリア細胞への影響を評価することができる。

20

【0085】

図15Aは、第1のコンパートメントと第2のコンパートメントの独立した組み合わせが複数ある態様である。第2のコンパートメントは、1つめの組み合わせ (図15Aの左) では、神経細胞が存在しており、2つめの組み合わせ (図15Aの真ん中) では、ヒトグリア細胞が存在しており、そして、3つめの組み合わせ (図15Aの右) では、ヒト神経細胞とグリア細胞の双方が存在して、共培養されている。

30

【0086】

図15Bは、第2のコンパートメントが複数のサブコンパートメントを有する態様である。第1のコンパートメントからの灌流液が、並列的に区画された3つのサブコンパートメントを備える第2のコンパートメントに分かれて供給される。1つめのサブコンパートメントでは、神経細胞が存在しており、2つめのサブコンパートメントでは、ヒトグリア細胞が存在しており、そして、3つめのサブコンパートメントでは、ヒト神経細胞とグリア細胞の双方が存在して、共培養されている。

【0087】

(6) 臓器 (腸管・肝臓・脳 (血液脳関門 / 中枢神経系)) - モデル

上記のデバイスは、臓器 (腸管・肝臓・脳 (血液脳関門 / 中枢神経系)) - モデルとしても利用可能である。

40

【0088】

図16は、臓器 (腸管・肝臓・脳 (血液脳関門 / 中枢神経系)) - モデルの一例を示す。この態様では、腸管モデル、肝臓モデル、血液脳関門モデルおよび中枢神経系モデルがタンデムに連通している。化学物質 (例えば、医薬品候補物質) が、腸管上皮細胞、肝臓細胞、血液脳関門、中枢神経系に与える効果を評価する。細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルター上に、ヒト腸管上皮細胞が細胞シートを形成している。化学物質が、第1のコンパートメントに添加される。化学物質は、腸管上皮細胞を介して、第1のコンパートメント中に入り、灌流液により運ばれる。腸管上皮細胞を経ることにより化学物質の全部又

50

は一部が代謝されうる。第1のコンパートメントからの灌流液が、第2のコンパートメントに供給される。第2のコンパートメントは、肝臓モデルである。第2のコンパートメントには、ヒト肝細胞およびマクロファージ（M1又はM2 - M）が存在する。マクロファージは白血球の1種で遊走性の食細胞である。第3のコンパートメントは、血液脳関門のモデルである。細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルター上に、ヒト脳血管内皮細胞が細胞シートを形成している。第3のコンパートメントに含まれるヒトのペリサイトは、細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルターの下面に付着し、細胞シートを形成している。ヒトのアストロサイトは、第3のコンパートメントの底面に付着し、細胞シートを形成している。第4のコンパートメントは、中枢神経系のモデルである。第4のコンパートメントには、ヒト神経細胞が存在する。神経細胞はドーパミン産生細胞等である。化学物質の血液脳関門の透過や機能への影響を評価することができる。

10

【0089】

図17は、臓器（腸管・肝臓・脳（血液脳関門/中枢神経系））-モデルであって、腸内細菌叢又は薬物による破綻モデルの一例である。図16と同様に、腸管モデル、肝臓モデル、血液脳関門モデル、中枢神経系モデルがタンデムに連通している。本モデルは、腸内細菌（Intestinal flora）あるいは腸内細菌が増殖に伴い産生する物質（腸内細菌代謝産物又は腸内細菌生産物質）が、腸管、肝臓、血液脳関門又は中枢神経系に与える効果を評価するモデルである。細胞培養容器の細胞培養液中に腸内細菌（乳酸桿菌、ビフィズス菌、大腸菌、ウェルシュ菌、ブドウ球菌等）が添加されている。あるいは腸内細菌産生物質（代謝産物、生産物質）、又は、腸管、肝臓、血液脳関門若しくは中枢神経系の機能への影響を与える可能性のある薬物を添加してもよい。細胞培養溶液中には、リポ多糖（LPS）等が含まれている。第1のコンパートメントの底面にヒト腸管上皮細胞が付着し、細胞シートを形成している。炎症状態のため、灌流液中に、インターロイキン類（ILs）、腫瘍壊死因子（TNF）、トランスフォーミング増殖因子（TGF）等の炎症性サイトカイン、および、白血球の一種である好中球が存在する。第1のコンパートメントからの灌流液が、第2のコンパートメントに供給される。第1～第4のコンパートメントのその他の構成は、図16に記載の態様と同様である。

20

【0090】

図17のモデルは、腸内細菌が産生する物質あるいは薬物により、腸管、肝臓、血液脳関門若しくは中枢神経系が障害された状態が再現されたモデルである。腸内細菌が産生する物質あるいは薬物による、腸管、肝臓、血液脳関門又は中枢神経系の機能への影響を評価することができる。

30

【0091】

（7）臓器（腸管・肝臓・腎臓）-モデル

上記のデバイスは、臓器（腸管・肝臓・腎臓）-モデルとしても利用可能である。

【0092】

図18は、臓器（腸管・肝臓・腎臓）-モデルの一例である。この態様では、腸管モデル、肝臓モデルおよび腎臓モデルがタンデムに連通している。第1のコンパートメントの腸管モデル、および第2のコンパートメントの肝臓モデルは、図16と同様である。第2のコンパートメントのヒト肝細胞により、化学物質はさらに代謝を受け、灌流液により第3のコンパートメントに運ばれる。第3のコンパートメントは、腎臓モデル（尿排泄）である。第3のコンパートメントに挿入される細胞培養容器の多孔質メンブレンフィルター上に、ヒト腎臓尿細管上皮細胞が細胞シートを形成している。第3のコンパートメントに挿入される細胞培養容器の下を化学物質およびその代謝物が移動する。移動の際に化学物質およびその代謝物の一部はヒト腎臓尿細管上皮細胞を経ることにより細胞培養容器内に移行する（尿細管排泄モデル）。あるいは、第3のコンパートメントに挿入される細胞培養容器に、第1のコンパートメントに添加される化学物質と同一又は異なる化学物質を添加してもよい（尿細管再吸収モデル）。

40

【0093】

（8）評価

50

上記のデバイスは、生体の組織、臓器により近い環境を提供するために、これを用いて、種々の化学物質の評価を行うことができる。化学物質の評価の内容は特に限定されない。医薬品、化粧品（化粧品）、食品添加物、農薬等の化学物質（その代謝産物を含む）の体内動態、生体に与える影響（生物学的活性を含む）、化学物質が生体から受ける影響など、化学物質を能動的若しくは受動的に生体に適用することによるあらゆる影響（生体内の単なる通過状況を含む）の評価を含む（本明細書において、「生体への影響の評価」と総称することがある）。非限定的に、化学物質の体内動態評価、医薬品の薬効・薬理などの効果の評価、毒性評価、食品添加物の生体へ与える効果・毒性の評価、あるいは、農薬の毒性評価等が含まれる。

【0094】

体内動態評価は、例えば、投与した化学物質又はその代謝物の各臓器、組織中の細胞（本発明のデバイス中の細胞シート、各コンパートメント）の透過量や透過率、などの動態を調べることによって行うことができる。

薬効・薬理評価は、例えば、化学物質が医薬品の場合に、投与する医薬品、対象とする組織、臓器、疾患等に応じて適宜公知の方法を用いて行うことができる。EC₅₀、IC₅₀等の数値によって効果の度合いを示すことができる。毒性評価は、医薬品の安全な投与量、投与期間等、化学物質を安全に投与するために必要な評価で、適宜公知の方法を用いて行うことができる。

あるいは、食品添加物、農薬等が生体に取り込まれた場合の好ましくない影響（毒性）の評価も含まれる。これらも、適宜公知の方法を用いて行うことができる。

【実施例】

【0095】

以下、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

【0096】

実施例1：化学物質の初回通過効果の評価

本実施例では、小腸上皮細胞と肝細胞を各々別のコンパートメントに播種し、各コンパートメントを流路系でつなげたデバイスを用い、化学物質の初回通過効果の評価を行った。図1に記載のデバイスに小腸上皮細胞のモデル細胞としてCaco-2細胞、肝細胞のモデル細胞としてHepG2細胞にCYP3A4が過剰発現するように遺伝子操作されたHepG2-CYP3A4細胞を播種し、化学物質の初回通過効果（吸収、代謝）を2種類の細胞（小腸上皮細胞および肝細胞）について同時に評価した。

【0097】

(1) 細胞

Caco-2細胞は理化学研究所バイオソースセンター（茨城）より入手した。HepG2-CYP3A4細胞は国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB細胞バンク（大阪）より入手した。

【0098】

(2) 細胞培養培地

10%ウシ胎仔血清（FBS）、2mmol/LのL-グルタミン（L-Glu）、1%非必須アミノ酸（NEAA）、100units/mLペニシリンG、100μg/mLのストレプトマイシンを含むダルベッコ改変イーグル培地（DMEM）を用いた。

【0099】

(3) 細胞の培養

a) Caco-2細胞

i) 多孔性メンブレンフィルターの内側（apical側）に、細胞懸濁液を0.5-5×10⁵cells/cm²（例：0.6×10⁵cells/cm²）の密度で0.4mL添加した。

ii) 多孔性メンブレンフィルターの外側（basal側）に培地を0.8mL添加

10

20

30

40

50

した。

i i i) 炭酸ガス培養器 (37、5% CO₂、加湿条件下) 内でおよそ3週間培養した。適宜、apical側、およびbasal側の培地交換を行った。

試験に供する前に、電気抵抗測定装置を用いて単層膜の電気抵抗を測定した。試験には100-800 x cm²の電気抵抗値を示す単層膜を使用した。

b) HepG2 - CYP3A4細胞

i) デバイスに1.0 x 10⁶ cellsの細胞を播種した。

i i) 炭酸ガス培養器 (37、5% CO₂、加湿条件下) 内で培養した。

i i i) 適宜、培地交換を行い、デバイスの培養面に対して100%コンフルエントになった時点で試験に供した。

10

【0100】

(4) 基質溶液の調製

ミダゾラム (Midazolam) (ベンゾジアゼピン系の麻酔導入薬) をメタノールに溶解し、10 mg / mLに調製した。さらにHBSSで希釈することで62.5 μg / mLの基質溶液を調製した。

【0101】

(5) 灌流試験

各操作は40 設定したホットプレート上で実施した。

(i) HBSS (pH 7.4)、および試験溶液を恒温槽 (37) 内で加温した。

(i i) Caco-2単層膜を調製したプレートのapical側とbasal側の培地を吸引除去した。

20

(i i i) HBSSをapical側に0.4 mL、basal側に0.8 mL添加して洗浄し、残ったHBSSを吸引除去した。

(i v) HBSSをapical側に0.06 mL添加し、インサートをデバイスに移した。

(v) 10分間、10 mL / hrの流速でデバイスにHBSSを予備灌流した。

(v i) 5分間、0.5 mL / hrの流速でデバイスにHBSSを予備灌流した。

(v i i) インサートに基質溶液を240 μL添加し、本灌流を開始した。

(v i i i) 30分ごとに小腸コンパートメント、および肝臓コンパートメントより180分間サンプリングを行った。

30

【0102】

(6) 定量

LC-MS-MSを用い、ミダゾラム、およびその代謝物 (1-ヒドロキシミダゾラム、4-ヒドロキシミダゾラム) の定量を行った。

【0103】

結果

小腸コンパートメントにおいて、Caco-2細胞単層膜を透過したミダゾラムの継続的な透過量の増大が認められた。また、代謝物である1-ヒドロキシミダゾラムの生成が確認された (図19)。肝臓コンパートメントにおいてもミダゾラムの継続的な透過量の増大が認められ、それに伴い代謝物である1-ヒドロキシミダゾラム、および4-ヒドロキシミダゾラムの生成が確認された (図20)。

40

【0104】

上記のデバイスにより、腸管上皮細胞のモデル細胞と肝細胞のモデル細胞を同時に用いることで、従来の方法では不可能であった化学物質の腸管からの吸収と代謝、肝臓での代謝を同時にかつ簡便に評価することが可能となった。本実施例では腸管上皮細胞のモデル細胞と肝細胞のモデル細胞を用いたが、その他の臓器モデル細胞をさらに用いることで、吸収や代謝に加え、薬効・薬理や毒性についても評価可能である。また、動物実験の代替法としての利用も可能であり、動物愛護にも貢献可能である。

【0105】

C. デバイスの他の態様 :

50

図 2 1 は、本発明の第 5 実施形態による化学物質評価用のデバイス 4 2 0 の分解斜視図である。図 2 2 は、デバイス 4 2 0 の斜視図であり、本体 4 3 0 にカバー 4 8 0 が装着された状態を示している。図 2 3 は、図 2 1 の断面図であり、図 2 4 は、図 2 2 の断面図である。以下、デバイス 4 2 0 について、第 1 実施形態と異なる点についてのみ説明する。図 2 1 に示すように、デバイス 4 2 0 の本体 4 3 0 は、略直方体の外形を有している。本体 4 3 0 は、複数の第 1 のコンパートメント 4 4 0 と、1 対 1 の関係で複数の第 1 のコンパートメント 4 4 0 にそれぞれ連通する複数の第 2 のコンパートメント 4 5 0 と、を備えている。第 1 のコンパートメント 4 4 0 および第 2 のコンパートメント 4 5 0 の形状は、第 2 実施形態と同様である。この第 1 のコンパートメント 4 4 0 および第 2 のコンパートメント 4 5 0 の対は、本体 4 3 0 の長手方向に複数（図示する例では 1 2 個）並んで配置されている。第 1 のコンパートメント 4 4 0 の各々には、インサート 2 9 0（第 3 実施形態参照）が挿入される。

10

【 0 1 0 6 】

図 2 3 および図 2 4 に示すように、第 1 のコンパートメント 4 4 0 と第 2 のコンパートメント 4 5 0 とは、第 2 実施例と同様に、傾斜面 4 6 1 を有する隔壁 4 6 0 によって区画されている。また、第 2 実施例と同様に、第 2 のコンパートメント 4 5 0 の下流端には、壁部 4 5 2 が形成されている。

【 0 1 0 7 】

カバー 4 8 0 は、本体 4 3 0 全体を覆う大きさを有している。カバー 4 8 0 には、第 1 のコンパートメント 4 4 0 および第 2 のコンパートメント 4 5 0 の対と同数のサンプリング穴 4 8 1、化学物質投入口 4 8 2 および入口ポート 4 8 3 が形成されている。サンプリング穴 4 8 1、化学物質投入口 4 8 2 および入口ポート 4 8 3 の機能は、第 1 実施形態におけるサンプリング穴 8 1、化学物質投入口 8 2 および入口ポート 8 3 の機能と同じである。

20

【 0 1 0 8 】

カバー 4 8 0 には、さらに、第 1 のコンパートメント 4 4 0 および第 2 のコンパートメント 4 5 0 の対と同数の出口ポート 4 8 4 が形成されている。出口ポート 4 8 4 は、灌流液を排出するために形成されている。出口ポート 4 8 4 は、本体 4 3 0 のうちの壁部 4 5 2 よりも下流側の領域に対応する位置に配置されている。

【 0 1 0 9 】

かかるデバイス 4 2 0 では、サンプリング穴 4 8 1、化学物質投入口 4 8 2、入口ポート 4 8 3 および出口ポート 4 8 4 にそれぞれ管を挿入することによって、灌流液の循環、化学物質の投入、および、灌流液のサンプリングを自動的に行うことができる。しかも、単一のデバイス 4 2 0 において、第 1 のコンパートメント 4 4 0 および第 2 のコンパートメント 4 5 0 の多数の対をコンパクトにレイアウトすることができる。

30

【 0 1 1 0 】

図 2 5 は、本発明の第 6 実施形態による化学物質評価用のデバイス 5 2 0 の分解斜視図である。図 2 6 は、デバイス 5 2 0 の斜視図であり、本体 5 3 0 にカバー 5 8 0 が装着された状態を示している。図 2 7 は、デバイス 5 2 0 の本体 5 3 0 の斜視図である。以下、デバイス 5 2 0 について、第 1 実施形態と異なる点についてのみ説明する。図 2 5 に示すように、デバイス 5 2 0 のカバー 5 8 0 は、第 1 実施形態と同様に、サンプリング穴 5 8 1 と化学物質投入口 5 8 2 とを有している。入口ポート 5 8 3 は、カバー 5 8 0 の側方からカバー 5 8 0 を貫通するように延在している。デバイス 5 2 0 の本体 5 3 0 は、第 1 実施形態と同様に、壁部 5 4 1、5 5 1 によって形成される第 1 のコンパートメント 5 4 0 および第 2 のコンパートメント 5 5 0 を備えている。また、壁部 5 4 1 には、第 1 実施形態と同様に、スリット 5 4 2 が形成されている。壁部 5 4 1 には、切欠部 5 4 4 が形成されている。切欠部 5 4 4 の位置は、入口ポート 5 8 3 の内部通路が切欠部 5 4 4 の直上で開口するように設定されている。

40

【 0 1 1 1 】

図 2 5 に示すように、第 2 のコンパートメント 5 5 0 の排出口 5 3 1 は、側方（水平方

50

向)に向けて開口している。この排出口531は、内側底面532を備えている。内側底面532は、V字状に形成されている。このため、内側底面532には、V字状溝533が形成されている。かかる構成によれば、排出口531から排出される灌流液の排出箇所をV字状溝533の底部付近に限定することができる。

【0112】

図27に示すように、排出口531は、外側底面535を備えている。外側底面535は、排出口531の下流側の(つまり、最も下流側に位置する)外縁部534のところ下方に向けて突出している。かかる構成によれば、排出口531から排出される灌流液が外側底面535上を伝って第2のコンパートメント550側(本体530の中心側)に向けて進入することを抑制できる。

10

【0113】

図28は、本発明の第7実施形態による化学物質評価用のデバイス620の斜視図であり、デバイス620を組み立てる手順を示している。図29は、デバイス620の断面図である。図28に示すように、デバイス620の本体630は、直列に連通する3つのコンパートメント640, 650, 655と、ベース670と、を備えている。図29に示すように、コンパートメント640, 650, 655は、隔壁660, 665によって区画されている。本体630を形成する壁部には、各コンパートメント640, 650, 655のために、インサート90を支持するためのスリット642がそれぞれ形成されている。入口ポート645が、コンパートメント640, 650, 655のうちの最上流のコンパートメント640に接続されている。コンパートメント640, 650, 655のうちの最下流のコンパートメント655には、壁部667が形成され、その下流側には、出口631が形成されている。出口631には、シール693が取り付けられてもよい。

20

【0114】

カバー680は、本体630に追従した形状を有しており、コンパートメント640, 650, 655を覆う大きさを有している。カバー680には、各コンパートメント640, 650, 655に対応する位置に、化学物質投入口682が形成されている。化学物質投入口682に加えて、または代えて、サンプリング穴が形成されてもよい。

【0115】

かかるデバイス620によれば、3つのコンパートメント640, 650, 655のうちの任意の数の任意の位置のコンパートメント(図示する例では、コンパートメント640, 655)にインサート90を挿入して、所望の評価対象環境をモデル化することができる。また、インサート90の挿入位置を変更することによって、評価対象環境を容易に変更することができるので、汎用性に優れている。コンパートメントの数は、3つに限らず、2以上の任意の数であってもよい。

30

【0116】

上述したデバイスの使用態様において、コンパートメント内の液体には、食物繊維が添加されてもよい。そして、コンパートメント内の食物繊維が添加された液体は攪拌されてもよい。これによって、コンパートメント内の細胞を食物繊維で刺激することができる。

【0117】

図30および図31は、第1のコンパートメント40内に配置されたインサート90内を攪拌する様子を示す断面図である。図30および図31では、第1実施例のデバイス20が例示的に使用されている。培地液98には、食物繊維が予め添加されている。図30では、インサート90内に、多数の孔部を有する容器790(例えば、メッシュであってもよい)が配置されている。容器790内には、回転子795が挿入されている。この例では、スターラ(図示せず)によって回転子795を容器790内で回転させることによって、培地液98を攪拌することができる。図31では、容器790および回転子795に代えて、スポイド890が使用される。スポイド890は、化学物質投入口82を介して挿入される。スポイド890によって、培地液98を吸入し、その後、戻す(排出する)動作を繰り返すことによって、培地液98を攪拌することができる。

40

【0118】

50

以上説明した本発明の種々の実施形態によれば、デバイスは、複数の領域（複数のコンパートメント）を備えており、各領域が液相（液体）で連通することができる連通部（流路）が形成される。これらの各領域では、細胞培養が可能である。各領域の細胞培養は、単一細胞種の培養であってもよく、あるいは、複数種細胞の共培養であってもよい。各領域は、細胞培養可能な表面処理（表面親水化、細胞接着因子塗布等）がなされていてもよい。表面処理の種類は、各領域間で同じであってもよく、あるいは、異なってもよい。各領域、または、連通部の一部は、細胞透過不可、かつ、液性因子透過可能である。細胞透過不可、かつ、液性因子透過可能である領域は、細胞培養面（細胞接着面）として使用することができる。

【0119】

また、連通部には、一方向の液体の流れが形成される。液体の流れは、重力によって発生されてもよく（そのための勾配が形成されていてもよい）、あるいは、送液デバイスによって発生されてもよい。液体の流れは環流であってもよい。液体は培養液である事が好ましい。

【0120】

上述のデバイスによれば、複数種の細胞を同じ培養系において、同時かつ細胞同士を分離し培養することができる。また、複数種の細胞が生体の物質の流れに関わる順に並ぶように、各コンパートメントに細胞を播種することができる。例えば、液体が流れる方向の上流側から見て、腸管細胞、肝細胞の順、血液脳関門、神経細胞の順、肝細胞、尿管細胞の順、に各コンパートメントに播種してもよい。さらに、これらの組合せにおいて、中間に血管内皮細胞の領域を設けることも可能である。

【0121】

以上、本発明の実施形態について説明してきたが、上記した実施形態は、本発明の理解を容易にするためのものであり、本発明を限定するものではない。本発明は、その趣旨を逸脱することなく、変更、改良され得るとともに、本発明にはその等価物が含まれる。また、上述した課題の少なくとも一部を解決できる範囲、又は、効果の少なくとも一部を奏する範囲において、特許請求の範囲および明細書に記載された各構成要素の任意の組み合わせ、又は、省略が可能である。

【産業上の利用可能性】

【0122】

本発明の諸実施形態によるデバイスおよびデバイス用いた方法は、化学物質の体内動態、効果、毒性などの生体への影響をインビトロでより正確に評価することを可能にするものであり、化学物質の吸収・排泄、代謝、安全性、薬理作用および製剤（DDS）などの研究に有用である。また、医薬品以外にも、例えば化粧品に関し動物実験を用いて実験したものは販売できない地域・国（欧州等）もある。さらに、農薬や食物添加物では、ヒトに対する毒性実験（安全性試験）ができない。このような場合にも、ヒトや動物を模倣したモデル系のニーズがある。本発明の諸実施形態によるデバイスおよび方法は、（１）安価で簡便である、（２）利便性、操作性に優れている、（３）汎用性が高く、応用性に優れている、（４）培養条件が異なる細胞での評価ができる、（５）細胞のコンタミネーションが発生し難い、などの特徴がある。

【符号の説明】

【0123】

20, 120, 220, 320, 420, 520, 620 ... デバイス
 30, 230, 330, 430, 530, 630 ... 本体
 31, 631 ... 出口
 40, 140, 240, 340, 440, 540 ... 第1のコンパートメント
 41, 141, 341, 541 ... 壁部
 42, 142, 542, 642 ... スリット
 44, 544 ... 切欠部
 50, 150, 250, 350, 450, 550 ... 第2のコンパートメント

10

20

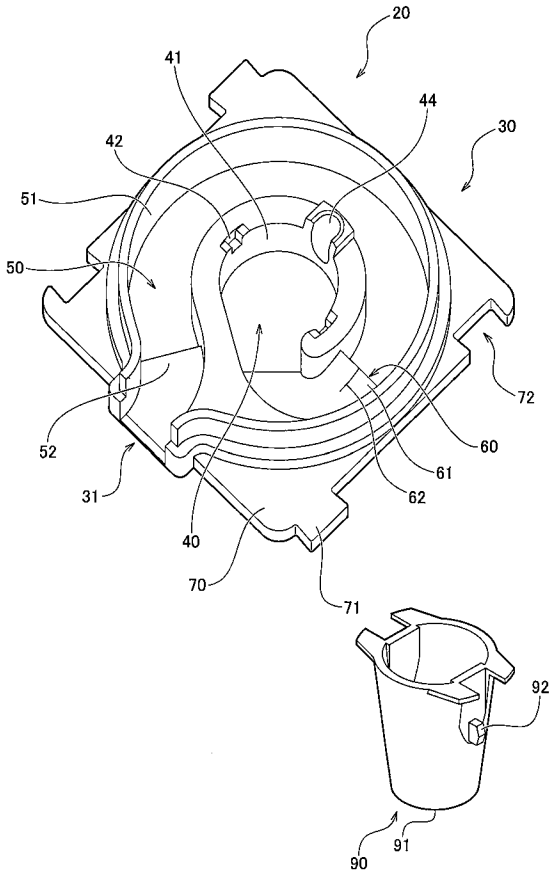
30

40

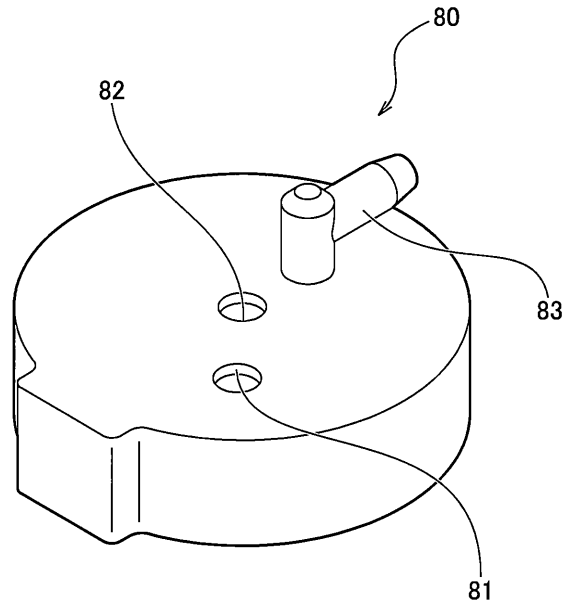
50

5 1 , 5 2 , 1 5 1 , 1 5 2 , 3 5 1 , 3 5 6 , 4 5 2 ... 壁部	
6 0 , 1 6 0 , 3 6 0 , 4 6 0 , 6 6 0 , 6 6 5 ... 隔壁	
6 1 , 1 6 1 , 4 6 1 ... 傾斜面	
6 2 ... 溝	
7 0 , 1 7 0 , 6 7 0 ... ベース	
7 1 , 1 7 1 ... 凸部	
7 2 , 1 7 2 ... 凹部	
8 0 , 3 8 0 , 4 8 0 , 5 8 0 , 6 8 0 ... カバー	
8 1 , 4 8 1 , 5 8 1 ... サンプルング穴	
8 2 , 4 8 2 , 5 8 2 , 6 8 2 ... 化学物質投入口	10
8 3 , 4 8 3 , 5 8 3 , 6 4 5 ... 入口ポート	
9 0 , 2 9 0 ... インサート	
9 1 ... 底部	
9 2 ... 突出部	
9 3 , 6 9 3 ... シール	
9 5 ... 灌流液	
9 6 ... 小腸細胞	
9 7 ... 肝臓細胞	
9 8 ... 培地液	
1 0 0 ... ケース	20
1 0 1 ... パーティション	
1 0 2 ... 底部	
1 0 3 ... 壁部	
1 0 5 , 2 0 5 ... キット	
1 4 5 , 2 4 5 , 3 4 5 ... 入口ポート	
3 4 6 ... 連通穴	
3 5 2 ... 仕切壁	
3 5 3 ... 排出口	
3 5 4 ... 循環入口ポート	
3 5 5 ... 循環出口ポート	30
4 8 4 ... 出口ポート	
5 3 1 ... 排出口	
5 3 2 ... 内側底面	
5 3 3 ... V字状溝	
5 3 4 ... 外縁部	
5 3 5 ... 外側底面	
6 4 0 , 6 5 0 , 6 5 5 ... コンパートメント	
6 6 7 ... 壁部	
7 9 0 ... 容器	
7 9 5 ... 回転子	40
8 9 0 ... スポイド	

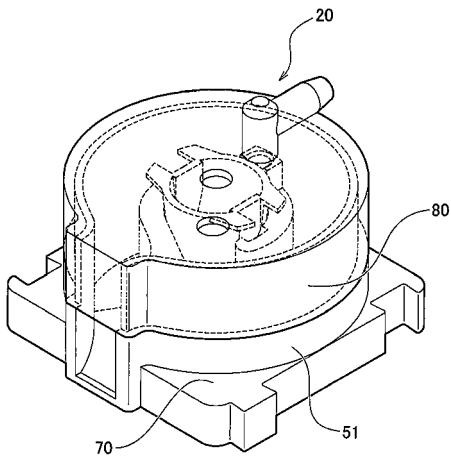
【 図 1 】



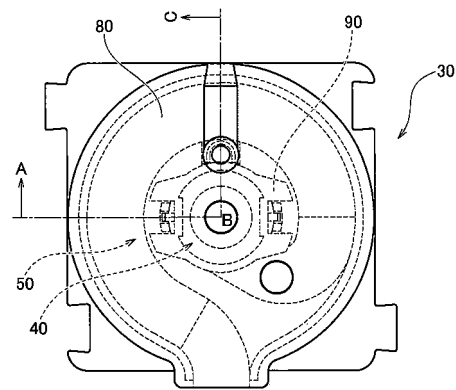
【 図 2 】



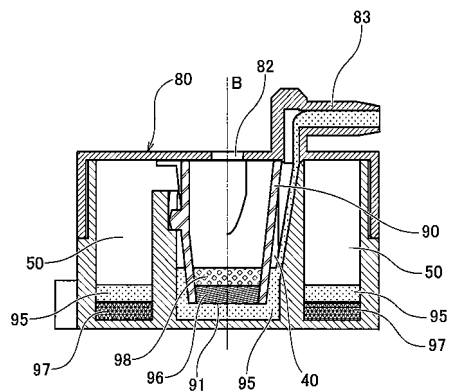
【 図 3 】



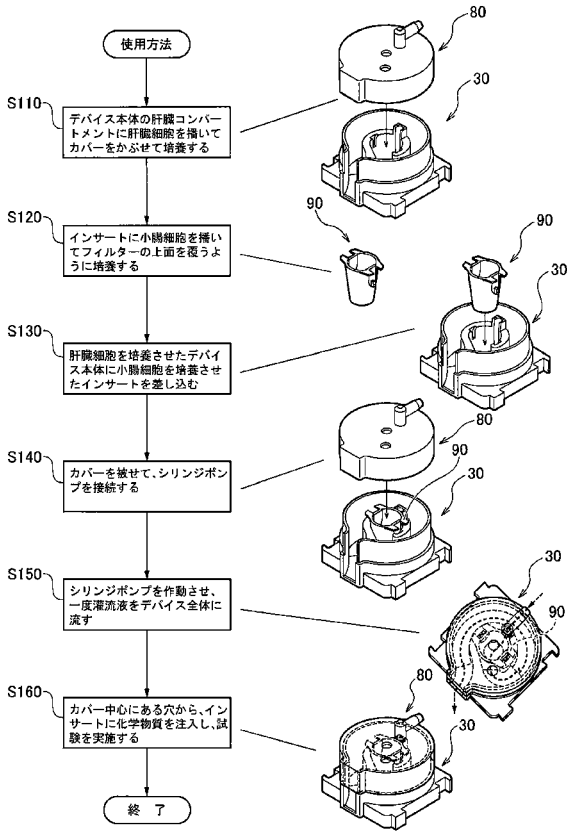
【 図 4 A 】



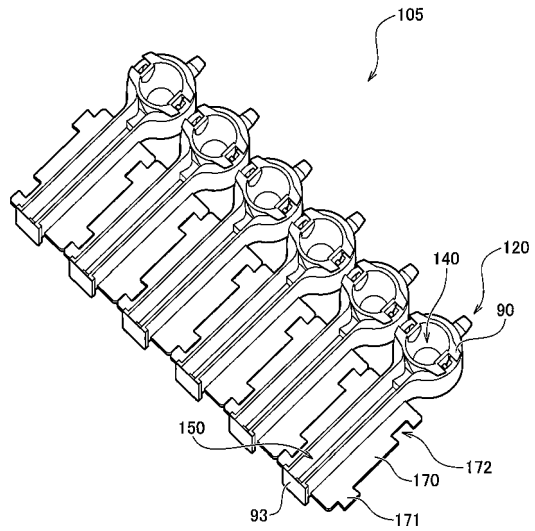
【 図 4 B 】



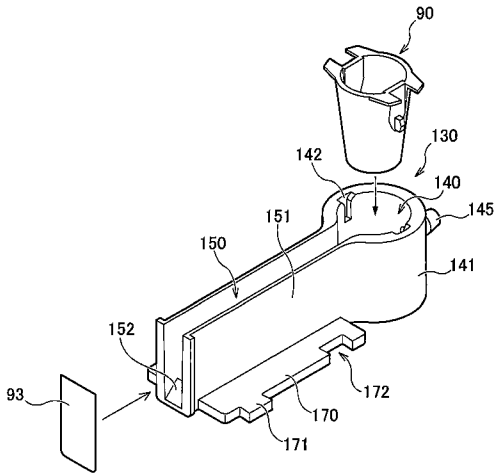
【 図 5 】



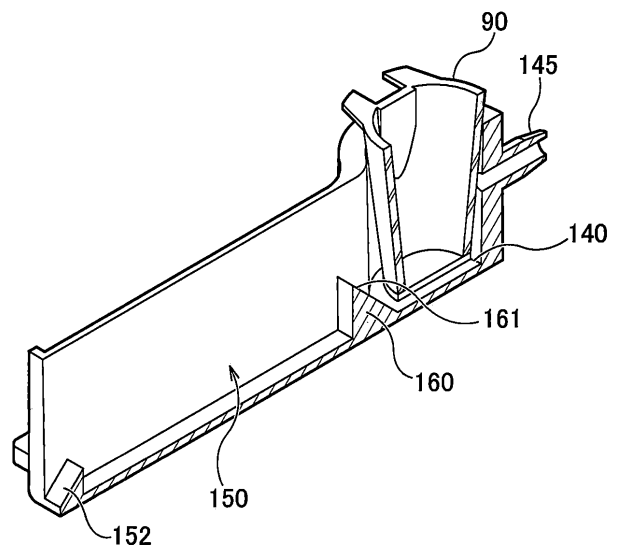
【 図 6 】



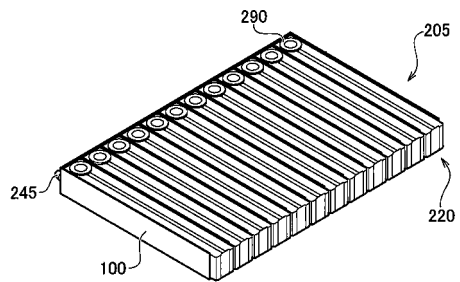
【 図 7 】



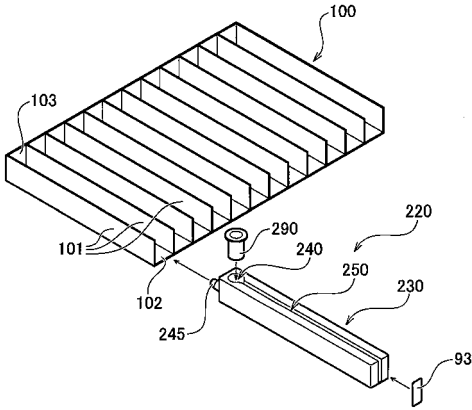
【 図 8 】



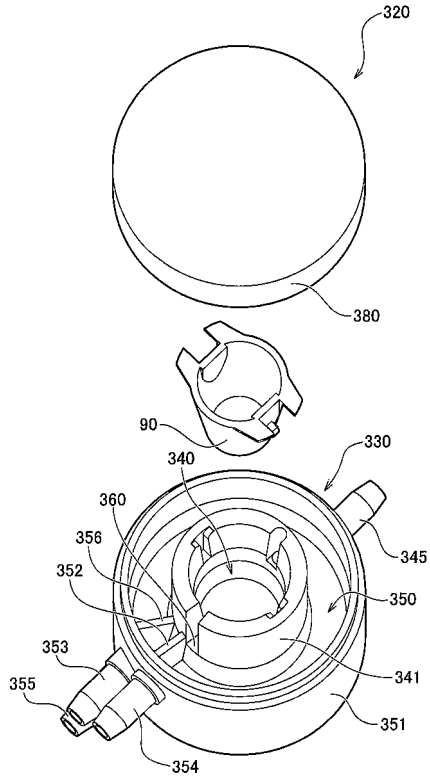
【 図 9 】



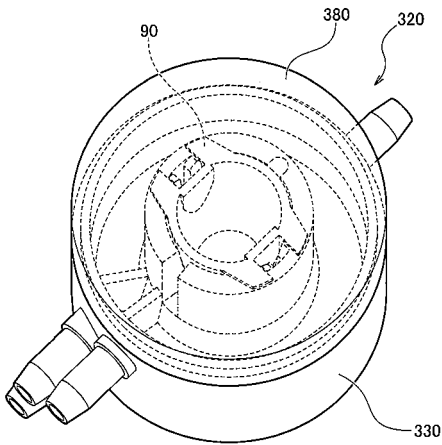
【図10】



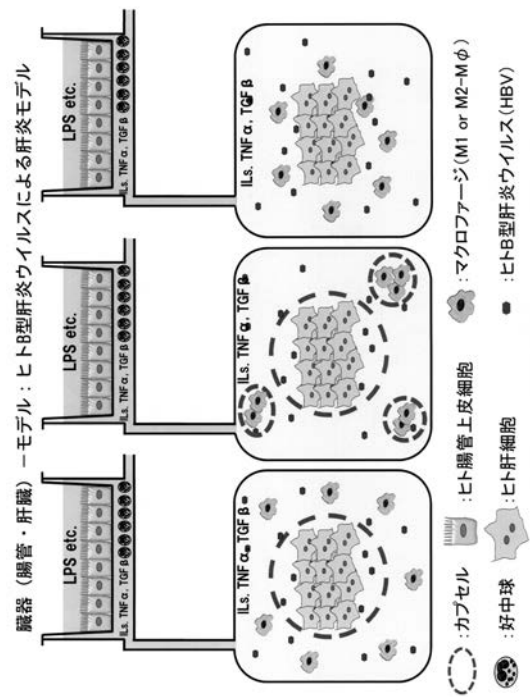
【図11】



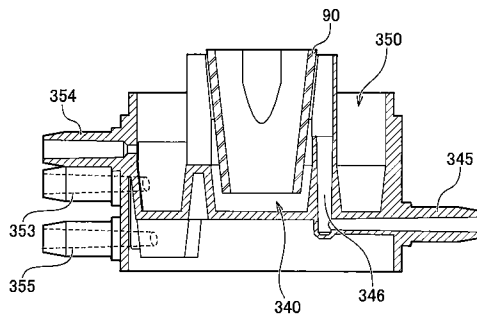
【図12】



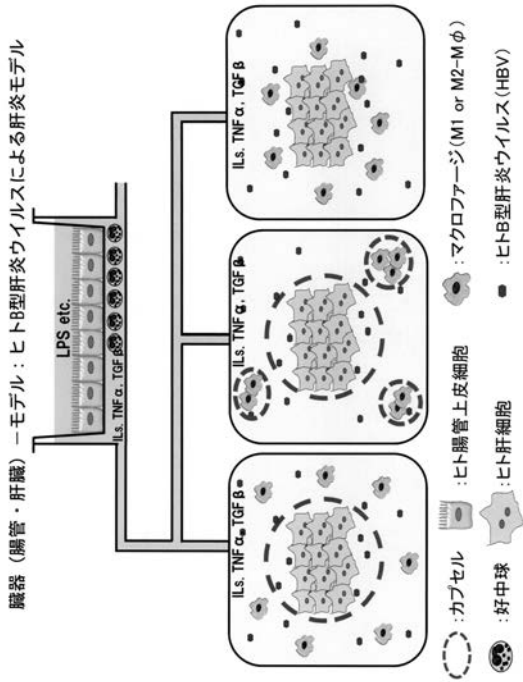
【図14A】



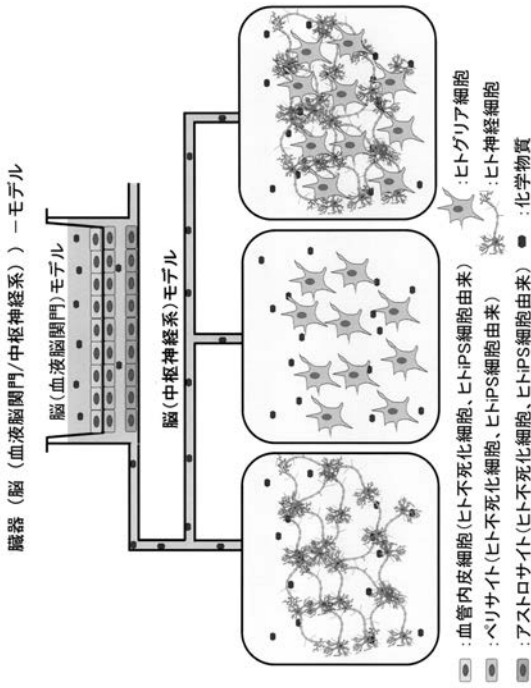
【図13】



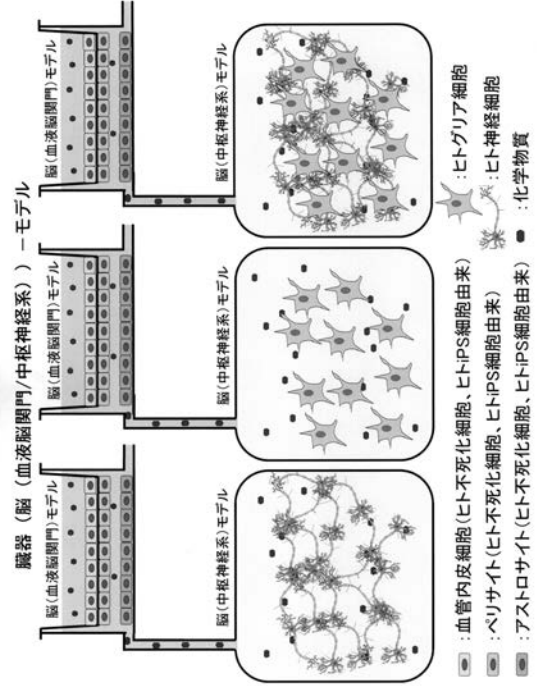
【 図 1 4 B 】



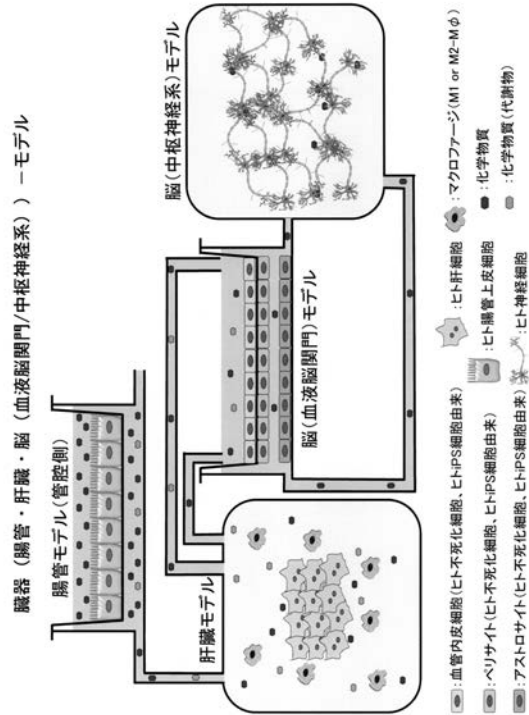
【 図 1 5 B 】



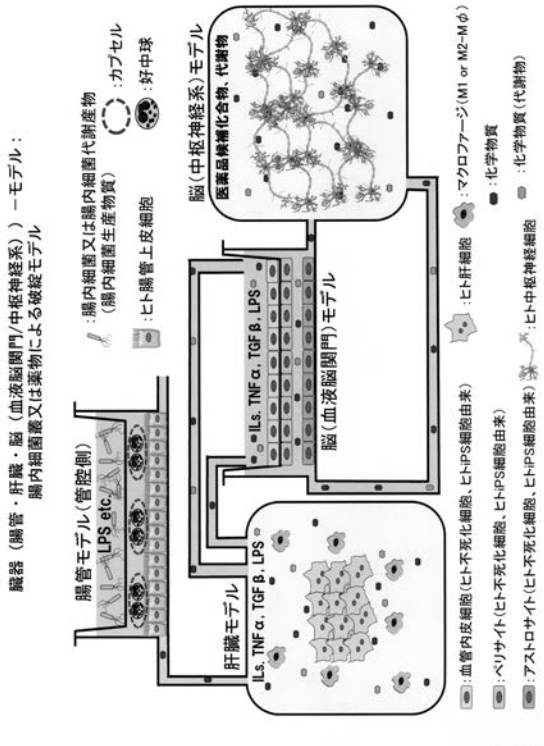
【 図 1 5 A 】



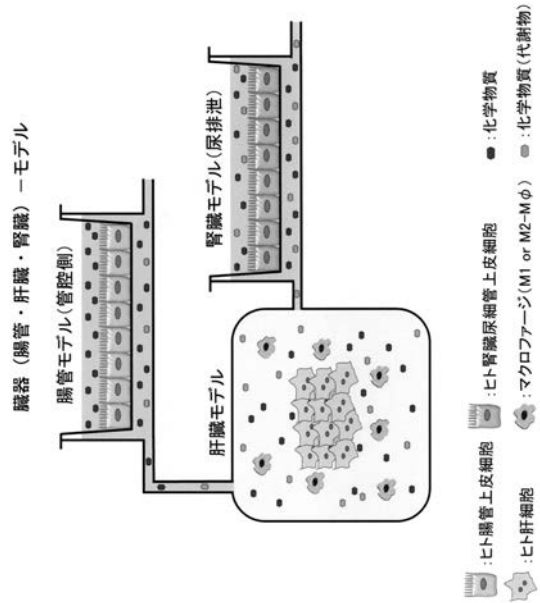
【 図 1 6 】



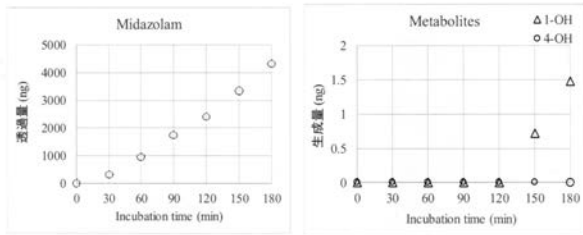
【 図 1 7 】



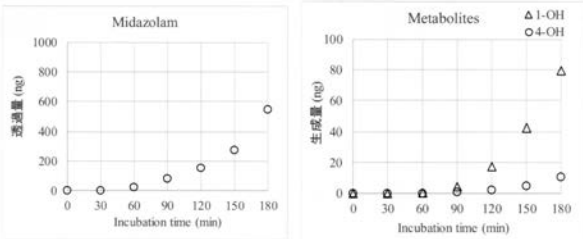
【 図 1 8 】



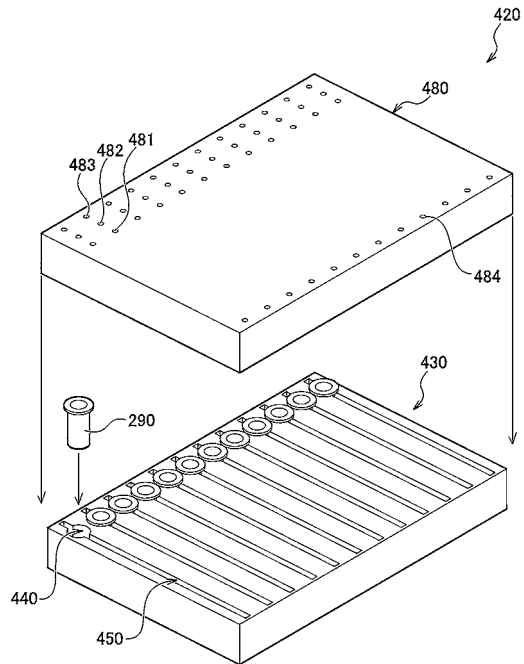
【 図 1 9 】



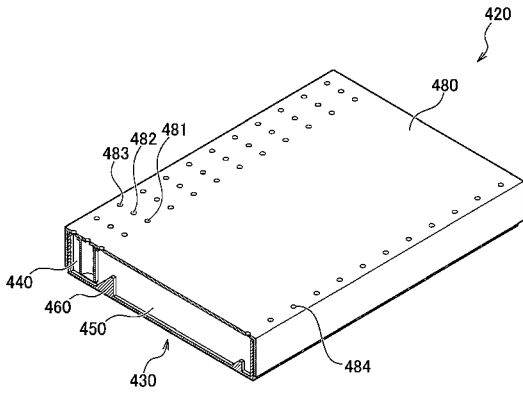
【 図 2 0 】



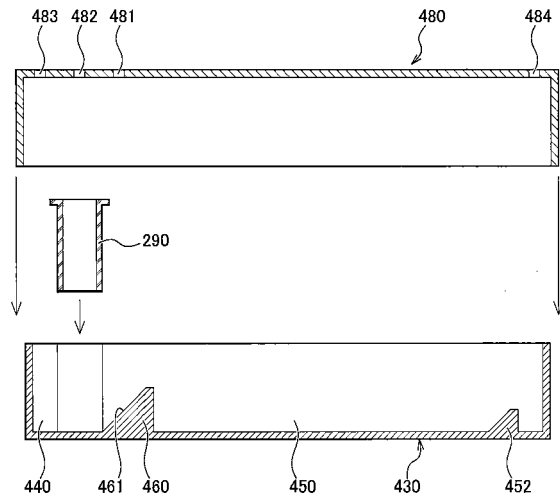
【 図 2 1 】



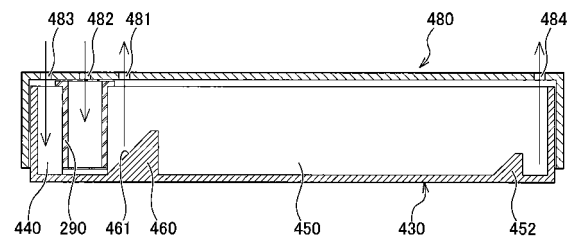
【 図 2 2 】



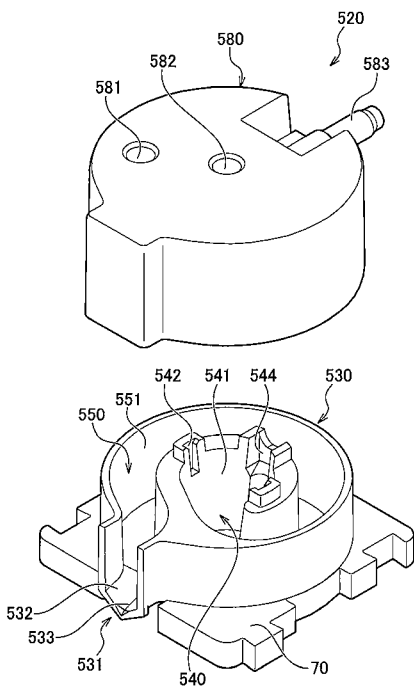
【 図 2 3 】



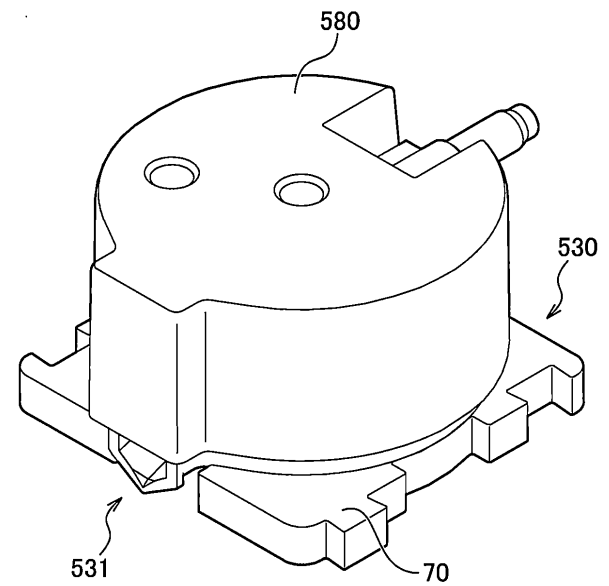
【 図 2 4 】



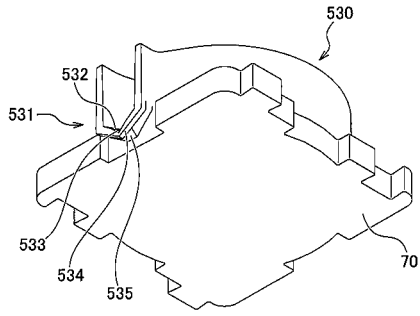
【 図 2 5 】



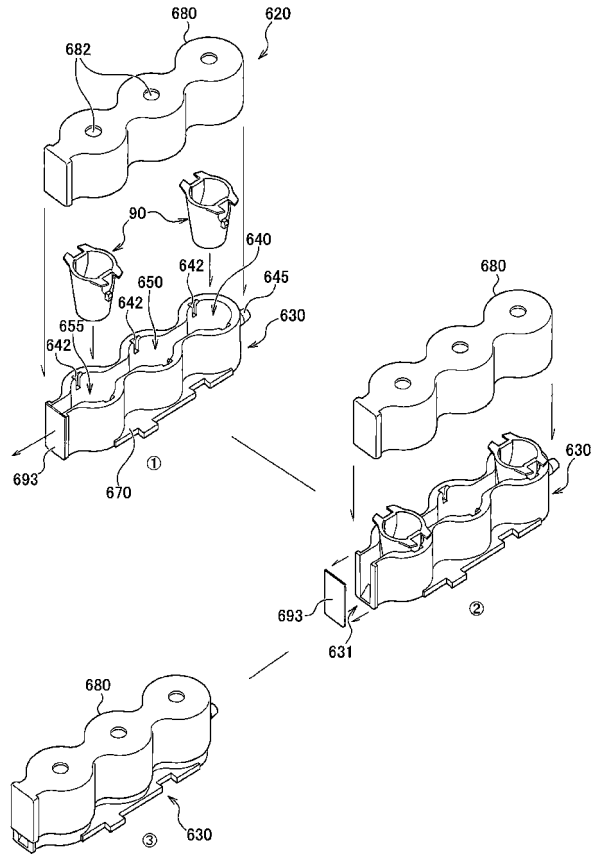
【 図 2 6 】



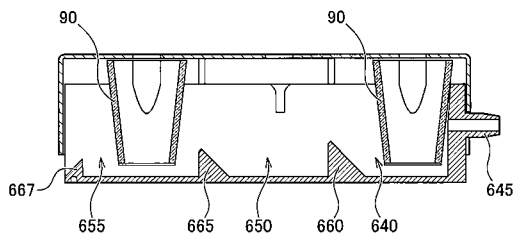
【 図 2 7 】



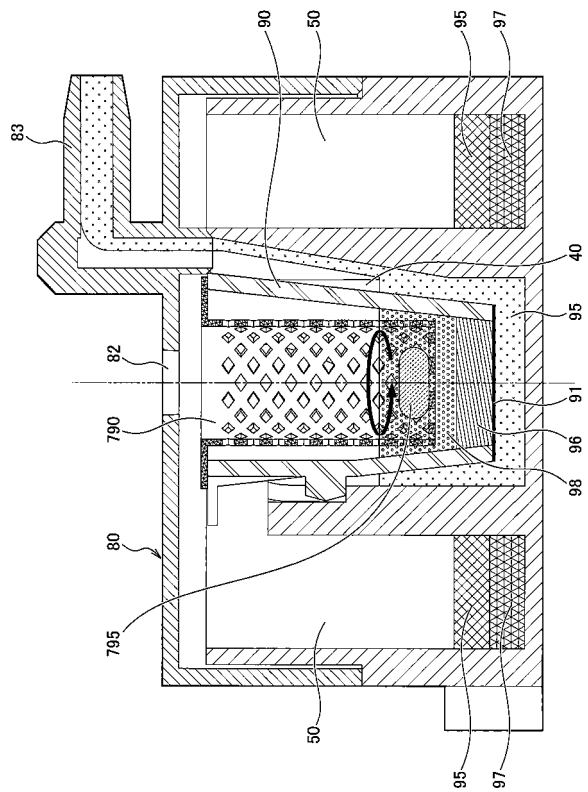
【 図 2 8 】



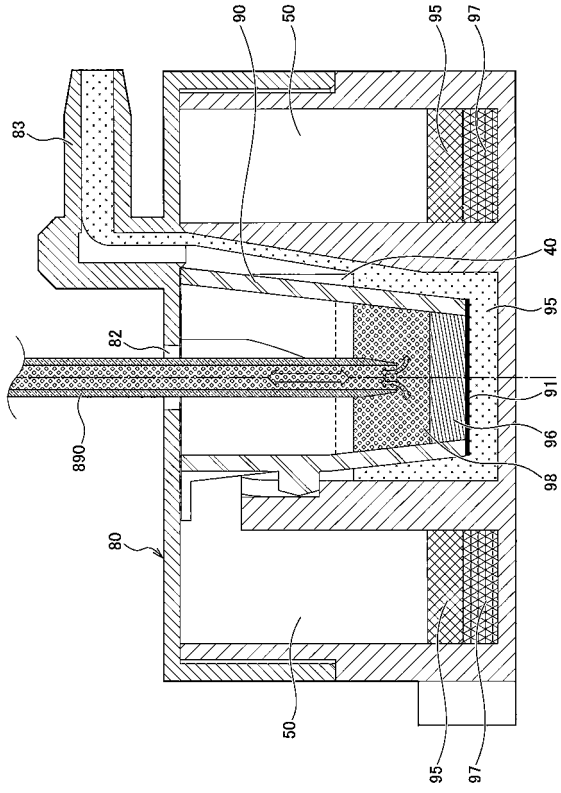
【 図 2 9 】



【 図 3 0 】



【 図 3 1 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2018/001356
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. C12M1/34 (2006.01) i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. C12M1/00-3/10 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2018 Registered utility model specifications of Japan 1996-2018 Published registered utility model applications of Japan 1994-2018 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), PubMed		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2003-210157 A (FOUNDATION FOR THE PROMOTION OF INDUSTRIAL SCIENCE) 29 July 2003, claims 1, 2, 9, 10, paragraphs [0017], [0029], [0031], fig. 1, 2	1, 9, 12, 14, 19-21, 23-26, 28
Y	(Family: none)	29 2-8, 17, 18, 22, 27
A		10, 11, 13, 15, 16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28.03.2018		Date of mailing of the international search report 10.04.2018
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/001356

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2007-510429 A (ADVANCED PHARMACEUTICAL SCIENCES, INC.) 26 April 2007, paragraphs [0003], [0004], [0007], [0020], [0021], fig. 2-5 & US 2005/0101010 A1, paragraphs [0004], [0006], [0011]-[0014], [0052], [0053], fig. 1-5 & WO 2005/047464 A2 & EP 1685235 A1 & KR 10-2006-0117945 A & CN 1875093 A	1, 2, 8-10, 13, 14, 19, 23-26, 28, 29 3-7, 11, 12, 15-18, 20-22, 27
X Y A	WO 2010/110754 A1 (AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 30 September 2010, paragraphs [0004], [0008], [0029], [0030], [0036], [0070], [0072], fig. 3B, 3C & US 2012/0107926 A1 & EP 2411501 A1 & CN 102449135 A	1, 2, 6, 8, 9, 12, 14, 15, 19-21, 23-26, 28, 29 2-8, 22 10, 11, 13, 16-18, 27
Y A	JP 2014-233275 A (DAI NIPPON PRINTING CO., LTD.) 15 December 2014, fig. 6-15 (Family: none)	17 11, 16
Y A	WO 2016/121886 A1 (KABUSHIKI KAISHA DNAFORM) 04 August 2016, fig. 5, 7, etc. & US 2017/0197216 A1, fig. 5, 7, etc. & EP 3144380 A1	18 11, 16
Y A	青江 誠一郎, 上部消化管機能と食物繊維, 日本食物繊維学会誌, 2006, vol. 10, no. 2, pp. 53-63, pp. 53, 54, 「1. はじめに」, p. 60, 「6. まとめ」 (AOE, Seiichiro, Effects of dietary fiber on the function of the upper gastrointestinal tract, Journal of Japanese Association for Dietary Fiber Research), non-official translation ("1. Introduction", "6. Summary")	27 11, 16

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 8 / 0 0 1 3 5 6	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/34(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12M1/00-3/10			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2018年 日本国実用新案登録公報 1996-2018年 日本国登録実用新案公報 1994-2018年			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), PubMed			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
X	JP 2003-210157 A (財団法人生産技術研究奨励会) 2003.07.29, 請求項1、2、9、及び10、[0017]、[0029]、[0031]、 図1、及び図2	1, 9, 12, 14, 19 -21, 23-26, 28 29	
Y	(ファミリーなし)	2-8, 17, 18, 22 , 27	
A		10, 11, 13, 15, 16	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願			
国際調査を完了した日 28.03.2018		国際調査報告の発送日 10.04.2018	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 鈴木 崇之 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	
		4B	4152

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2018/001356
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	JP 2007-510429 A (アドヴァンスド ファーマスーティカル サイエンス インコーポレイテッド) 2007.04.26, [0003]、[0004]、[0007]、[0020]、[0021]、 及び図2-図5 & US 2005/0101010 A1, [0004], [0006], [0011]-[0014], [0052], [0053], and Figs. 1-5 & WO 2005/047464 A2 & EP 1685235 A1 & KR 10-2006-0117945 A & CN 1875093 A	1, 2, 8-10, 13, 14, 19, 23-26, 28, 29 3-7, 11, 12, 15 -18, 20-22, 27
X Y A	WO 2010/110754 A1 (AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 2010.09.30, [0004], [0008], [0029], [0030], [0036], [0070], [0072], Fig. 3B 及び3C & US 2012/0107926 A1 & EP 2411501 A1 & CN 102449135 A	1, 2, 6, 8, 9, 12 , 14, 15, 19-21 , 23-26, 28, 29 2-8, 22 10, 11, 13, 16- 18, 27
Y A	JP 2014-233275 A (大日本印刷株式会社) 2014.12.15, 図6-図15 (ファミリーなし)	17 11, 16
Y A	WO 2016/121886 A1 (株式会社ダイナフォーム) 2016.08.04, 図5、図7等 & US 2017/0197216 A1, Fig. 5, Fig. 7等 & EP 3144380 A1	18 11, 16
Y A	青江 誠一郎, 上部消化管機能と食物繊維, 日本食物繊維学会誌, 2006, Vol. 10, No. 2, pp. 53-63, 第53-54頁「1. はじめに」、第60頁「6. まとめ」	27 11, 16

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(72)発明者 松永 民秀

愛知県名古屋市瑞穂区田辺通3丁目1番地 公立大学法人名古屋市立大学大学院薬学研究科内

(72)発明者 岩尾 岳洋

愛知県名古屋市瑞穂区田辺通3丁目1番地 公立大学法人名古屋市立大学大学院薬学研究科内

(72)発明者 近藤 聡志

愛知県名古屋市瑞穂区田辺通3丁目1番地 公立大学法人名古屋市立大学大学院薬学研究科内

(72)発明者 土井 淳史

石川県金沢市藤江南2丁目4番地 伸晃化学株式会社内

(72)発明者 西東 勲

石川県金沢市藤江南2丁目4番地 伸晃化学株式会社内

Fターム(参考) 4B029 AA07 BB11 CC02 CC08 DG06 FA09 FA12 GB04 GB09

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。