

- protein stabilization. DDW2012. San Diego, 2012年5月19日.
- 60) Fujii T, Naganuma M, Saito E, Nagahori M, Watanabe M: Intravenous tacrolimus therapy can rapidly induce remission in refractory ulcerative colitis. DDW2012. San Diego, 2012年5月19日.
- 61) Murano T, Okamoto R, Shimizu H, Ito G, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Hes1 promotes IL-22-Mediated epithelial regeneration through enhancement of STAT3-Dependent transcription in human intestinal epithelial cells. AGA. San Diego, 2012年5月19日.
- 62) 渡辺 守: IBD診療の進歩と近未来像-治る時代へ-. 第11回市民公開講座プログラム 炎症性腸疾患の治療をめぐる. 名古屋, 2012年12月16日.
- 63) 油井史郎, 中村哲也, 渡辺 守: マウスおよびヒトの正常な腸管上皮初代培養法の確立. 第3回 Japan Gut Forum. 東京, 2012年11月24日.
- 64) 渡辺 守: 腸管幹細胞を用いた消化管上皮再生. 第14回北関東・甲信越「GUTフォーラム」プログラム. 東京, 2012年11月24日.
- 65) 渡辺 守: 腸管幹細胞を用いた消化管上皮再生. 第50回小腸研究会. 京都, 2012年11月10日.
- 66) 渡辺 守: ~はじめに~治療における医師と患者のギャップ調査. JDDW2012. 神戸, 2012年10月13日.
- 67) 渡辺 守: 「消化器疾患治療の最新のトピックス」大腸: 炎症性腸疾患-最近の進歩-. JDDW2012. 神戸, 2012年10月13日.
- 68) 藤井俊光, 長堀正和, 渡辺 守: クロウン病小腸大腸病変の評価および再燃予測におけるMR エンテロコロノグラフィー (MREC) の有用性. JDDW2012. 神戸, 2012年10月12日.
- 69) 渡辺 守: 消化器病学会特別企画1: 日本消化器病学会ガイドライン (大腸ポリープ、機能性消化管障害、NAFLD/NASH) 中間報告. JDDW2012. 神戸, 2012年10月12日.
- 70) 加納嘉人, 土屋輝一郎, 渡辺 守: 新たな「分化度」スケーリングを用いた大腸癌形質制御と個別化医療への可能性. JDDW2012. 神戸, 2012年10月11日.
- 71) 渡辺 守: Go beyond usual standard care in Crohn's disease management. JDDW2012. 神戸, 2012年10月11日.
- 72) 渡辺 守: IBD治療において免疫調節薬を実際にどう使うか. JDDW2012. 神戸, 2012年10月11日.
- 73) 渡辺 守: 新しい消化管再生医療-難病克服に向けて-. 医科学術研究会. 千葉, 2012年10月4日.
- 74) 土屋輝一郎, 加納嘉人, 中村哲也, 渡辺 守: 大腸における幹細胞維持とがん幹細胞発現機構. 第44回日本臨床分子形態学会総会・学術集会. 高知, 2012年9月28日.
- 75) 渡辺 守: 腸管幹細胞を用いた消化管上皮再生. 平成24年度第1回クリニカルサミット. 東京, 2012年9月28日.
- 76) 渡辺 守: 炎症性腸疾患における内視鏡を考え直す. OMC Gastroenterology & Hepatology Research Group カンファレンス. 大阪, 2012年9月27日.
- 77) 渡辺 守: 大腸上皮幹細胞-培養系の確立と移植への応用-. がん若手研究者ワークショップ. 蓼科, 2012年9月6日.
- 78) 藤井俊光, 齊藤詠子, 長堀正和, 長沼 誠, 大塚和朗, 渡辺 守: MR enterocolonography (MREC) の実際とクローン病小腸大腸病変の評価における有用性. 第30回日本大腸検査学会総会. 東京, 2012年9月1日.
- 79) 長堀正和, 藤井俊光, 齊藤詠子, 渡辺 守, 大塚和朗: クロウン病診療における当院でのMREC (MR enterocolonography) の試み-モニタリングとしての有用性. 第30回日本大腸検査学会総会. 東京, 2012年9月1日.
- 80) 加納嘉人, 土屋輝一郎, 渡辺 守: 新たな分化度スケーリングを用いた大腸がん形質制御とバイオマーカーとしての可能性. 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会. 大阪, 2012年7月27日.
- 81) 根本泰宏, 金井隆典, 渡辺 守: 炎症性腸疾患難治性の要因としての腸炎惹起性メモリーCD4+T細胞維持機構の解析. 第49回日本消化器免疫学会総会. 鹿児島, 2012年7月6日.
- 82) 永石宇司, 山地 統, 戸塚輝治, 鬼澤道夫, 柘植直人, 鈴木雅博, 金井隆典, 渡辺 守: 慢性大腸炎モデルにおける腸炎惹起性T細胞の増殖はIL-7

- とNK細胞により制御される. 第49回日本消化器免疫学会総会. 鹿児島, 2012年7月6日.
- 83) 渡辺 守: 新しい時代に入ったIBD~考えておくべきこと~. 名古屋IBDセミナー. 名古屋, 2012年6月29日.
- 84) 長堀正和、藤井俊光、齊藤詠子、森尾純子、長沼誠、渡辺 守: 炎症性腸疾患患者における抗TNF α 受容体拮抗薬の選択に関する研究. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月21日.
- 85) 藤井俊光、齊藤詠子、森尾純子、長堀正和、長沼誠、渡辺 守: 難治性潰瘍性大腸炎に対するTacrolimus 静注療法の有用性と安全性の検討. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月21日.
- 86) 水谷知裕、中村哲也、渡辺 守: 正常小腸上皮培養細胞を用いたMDR1依存性薬剤排出機構の解析. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月20日.
- 87) 渡辺 守: 日本消化器病学会大腸ポリープ診療ガイドラインを目指して. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月20日.
- 88) 本谷 聡、渡辺 守、日比紀文: 日本人クローン病患者に対するアダリムマブ長期継続投与による3年間の寛解維持効果. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月19日.
- 89) 藤井俊光、長沼 誠、渡辺 守: 抗体製剤使用炎症性腸疾患患者における血中濃度測定と中和抗体測定の意義. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月19日.
- 90) 中村哲也、渡辺 守: 単一幹細胞からの大腸上皮大量培養と細胞移植による大腸上皮再生. 第98回日本消化器病学会総会. 東京, 2012年4月19日.
- 91) 渡辺 守: 生物製剤が炎症性腸疾患研究に与えたインパクト. 第6回Tokyo Circulation Seminar. 東京, 2012年2月2日.
- 92) Tsuchiya K, Zheng X, Kano Y, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: Flagellin via TLR5 on basolateral membrane of primary intestinal epithelial cells (IEC) shows the role of IEC in the response to bacteria. UEGW2011. Stockholm, 2011年10月26日.
- 93) Naganuma M, Nagahori M, Fujii T, Akiyama J, Saito E, Watanabe M: Serological test and vaccinations for Measles, Mumps, Rubella, and Varicella Zoster deserve considerations as early as possible after diagnosis of Inflammatory Bowel Disease. UEGW2011. Stockholm, 2011年10月25日.
- 94) Tsuchiya K, Kano Y, Watanabe M: The stabilization of Atoh1 protein in colorectal cancer mimics mucinous adenocarcinoma. 第70回日本癌学会学術総会. Nagoya, 2011年10月4日.
- 95) Yui S, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Nagaishi T, Tsuchiya K, Watanabe M, Nakamura T, Okamoto R, Ichinose S, Sato T, Clevers H: Regeneration of damaged colonic tissue by transplanted colonic epithelial stem cells maintained and expanded in vitro. GI Research Academy 2011. Kyoto, 2011年6月17日.
- 96) Yui S, Nakamura T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sato T, Clevers H, Watanabe M: Regeneration of Damaged Colonic Tissue by Transplantation of Colonic Epithelial Stem Cells Maintained and Expanded In Vitro. DDW2011. Chicago, 2011年5月7日.
- 97) 加納嘉人、土屋輝一郎、鄭 秀、堀田伸勝、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: 新たな「分化度」スクリーニングを用いた大腸がん形質抑制と個別化医療への可能性. 第19回浜名湖シンポジウム. 東京, 2011年12月23日.
- 98) 渡辺 守: 大腸上皮幹細胞一培養系の確立と移植への応用一. 第8回定例基礎棟セミナー. 東京, 2011年12月14日.
- 99) 渡辺 守: 生物製剤が炎症性腸疾患に与えたインパクト. 第54回日本消化器内視鏡学会東海地方会. 浜松, 2011年12月10日.
- 100) 渡辺 守: 新しい時代に入ったクローン病治療を考える. 第2回神奈川Infliximab IBD Strategy Seminar. 横浜, 2011年12月8日.
- 101) 渡辺 守: 新しい時代に入ったクローン病治療を考え直す. 第29回北海道クローン病検討会. 札幌, 2011年12月2日.

- 102) 渡辺 守: 炎症性腸疾患治療の新展開. 第39回内科学の展望/第108回日本内科学会講演会. 横浜, 2011年11月13日.
- 103) 渡辺 守: 新しい時代に入ったIBD治療を考え直す. 第19回日本消化器病学会関東支部教育講演. 東京, 2011年11月13日.
- 104) 土屋輝一郎、鄭 秀、加納嘉人、水谷知裕、油井史郎、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: 小腸上皮細胞初代培養による生理的フラジエリン応答解析. 第49回小腸研究会. 東京, 2011年11月12日.
- 105) 渡辺 守: 新しい時代に入った炎症性腸疾患を考える. 第105回みなとセミナー. 横浜, 2011年10月27日.
- 106) 藤井俊光、長沼 誠、渡辺 守: 重症潰瘍性大腸炎に対するHybrid Tacrolimus療法の試み. JDDW2011. 福岡, 2011年10月23日.
- 107) 加納嘉人、土屋輝一郎、渡辺 守: Atoh1発現大腸癌における悪性形質獲得機構解析. JDDW2011. 福岡, 2011年10月23日.
- 108) 鈴木伸治、荒木昭博、渡辺 守: 原因不明消化管出血(OGIB)症例におけるカプセル内視鏡に対するダブルバルーン内視鏡の有用性の検討. JDDW2011. 福岡, 2011年10月22日.
- 109) 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: 炎症性腸疾患病原性メモリーCD4+T細胞は腸管粘膜から全身血流に再循環する. JDDW2011. 福岡, 2011年10月21日.
- 110) 鄭 秀、土屋輝一郎、岩崎美智子、加納嘉人、水谷知裕、油井史郎、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: 初代培養小腸上皮細胞による生理的フラジエリン応答解析. JDDW2011. 福岡, 2011年10月20日.
- 111) 山地 統、戸塚輝治、鬼澤道夫、柘植直人、鈴木雅博、永石宇司、金井隆典、渡辺 守: マウス腸炎モデルにおける腸炎惹起性CD4+T細胞の増殖はIL-7とNK細胞により制御される. JDDW2011. 福岡, 2011年10月20日.
- 112) 長沼 誠、長堀正和、藤井俊光、秋山純子、齋藤詠子、渡辺 守: IBD患者における風疹・麻疹・水痘・ムンプスに対する抗体価測定の意義. JDDW2011. 福岡, 2011年10月20日.
- 113) 土屋輝一郎、岡本隆一、中村哲也、渡辺 守: IBDにおける消化管上皮の分化制御と免疫応答. 第39回日本臨床免疫学会総会. 東京, 2011年9月17日.
- 114) 渡辺 守: 炎症性腸疾患における内視鏡を考え直す. 山梨IBD講演会2011. 甲府, 2011年9月8日.
- 115) 鈴木康平、秋山純子、藤井俊光、櫻井 幸、福田将義、吉野耕平、竹中健人、東 正新、鈴木伸治、長堀正和、長沼 誠、坂本直哉、渡辺 守、小林宏寿、杉原健一、伊藤栄作、三浦圭子: 術後に判明した空腸異所性痔瘻の一例. 第16回お茶の水消化器セミナー. 東京, 2011年8月27日.
- 116) 渡辺 守: 治りにくい炎症性腸疾患 新しい視点で繙く. 第9回三重IBD研究会. 津, 2011年8月4日.
- 117) 渡辺 守: 新しい時代に入ったクローン病治療を考える. 第5回多摩GI-Endoscopy研究会. 東京, 2011年6月30日.
- 118) 渡辺 守: 抗TNF製剤が炎症性腸疾患治療に与えたインパクト. 第15回日本適応医学学会学術集会. 浜松, 2011年6月25日.
- 119) 渡辺 守: 炎症性腸疾患における腸上皮自然炎症調節機構の破綻. 新学術領域:平成23年度第2回領域班会議. 東京, 2011年6月24日.
- 120) 渡辺 守: 炎症性腸疾患の病態を新しい側面から繙く. 第2回炎症性腸疾患と免疫を語る会. 横浜, 2011年6月22日.
- 121) 渡辺 守: 新しい時代に入った炎症性腸疾患を考える. 第7回静岡県IBD研究会. 静岡, 2011年6月17日.
- 122) 渡辺 守: クローン病. 第140回日本医学会シンポジウム. 東京, 2011年6月9日.
- 123) 渡辺 守: 生物製剤がクローン病治療に与えたインパクト. 第32回日本炎症・再生医学会. 京都, 2011年6月2日.
- 124) 渡辺 守: 炎症性腸疾患の分子標的治療. フォーラム富山「創薬」第33回研究会. 富山, 2011年5月20日.
- 125) 藤井俊光、長沼 誠、渡辺 守: 免疫調整剤/分子生物製剤を用いた難治性潰瘍性大腸炎に対する治療戦略. 第97回日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月15日.

- 126) 渡辺 守: クロウン病に生物学的製剤をどのように使っていくのか〜いつ?誰に?何を?どのように?〜 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月15日.
- 127) 秋山純子、長沼 誠、藤井俊光、玄 世鋒、長堀正和、渡辺 守: チオプリン、タクロリムス不応例潰瘍性大腸炎に対するインフリキシマブ(IFX)の検討. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月15日.
- 128) 渡辺 守: 生物学的製剤がもたらした新しい時代の炎症性腸疾患治療. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月14日.
- 129) 中村哲也、渡辺 守: 再生医療へ向けた腸管上皮研究〜幹細胞体外培養と細胞移植〜. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月14日.
- 130) 渡邊聡明、渡辺 守、日比紀文: 潰瘍性大腸炎合併癌に対する診断および治療に関する現状および今後の展. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月14日.
- 131) 長沼 誠、長堀正和、国崎玲子、木村英明、吉村直樹、酒匂美奈子、河口貴昭、高添正和、山本正二郎、松井敏幸、日比紀文、渡辺 守: 本邦におけるIBD患者の妊娠・出産の転帰に関する検討. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月14日.
- 132) 渡辺 守: 炎症性腸疾患における免疫異常と腸上皮分化・修復・再生障害の接点. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月13日.
- 133) 玄 世鋒、長沼 誠、渡辺 守: MRエンテロコロノグラフィ(MREC)によるクロウン病の小腸大腸病変の同時評価の検討. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月13日.
- 134) 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: CD4+CD45RBhighT細胞移入大腸炎マウスの病態における腸内細菌の役割. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月13日.
- 135) 長沼 誠、藤井俊光、国崎玲子、山本慧恵、吉村直樹、高添正和、竹内義明、渡辺 守: 免疫調節薬・抗体製剤使用IBD患者におけるインフルエンザ感染症の現状. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月13日.
- 136) 渡辺 守、本谷 聡: クロウン病治療 新時代の幕開け. 第97回 日本消化器病学会総会. 東京, 2011年5月13日.
- 137) Fujii T, Kanai T, Tomita T, Nemoto Y, Totsuka T, Naganuma M, Nagahori M, Watanabe M: FTY720 suppresses the Development of Colitis by Modulating the Trafficking of Colitogenic CD4+ T cells in Bone Marrow. 2010 Advances in Inflammatory Bowel Diseases Crohn's & Colitis Foundation's Clinical & Research Conference. Frolida, 2010年12月10日.
- 138) Nakamura T, Watanabe M: A long-term, fully-defined culture system for colonic epithelial cells that allows efficient expansion of stem cell compartment. The 1st JSGE International Topic Conference -Stem Cells in Digestive Organs-. Kamakura, 2010年9月10日.
- 139) Watanabe M: Novel insight into the pathogenesis of inflammatory bowel disease. International Symposium of Advances in Medical and Surgical Treatment of Colorectal disorders 10-13 de august 2010. Chile, 2010年8月12日.
- 140) Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, Iwasaki M, Kano Y, Nakamura T, Watanabe M: Hes1 via Notch signaling directly suppresses Atoh1/Hath1 gene transcription, resulting in the goblet cell depletion of Ulcerative Colitis. DDW2010. New Orleans, 2010年5月3日.
- 141) Watanabe M: Key issues in the pathogenesis of UC: How much do we know? 第96回 日本消化器病学会総会. Niigata, 2010年4月23日.
- 142) 長沼 誠、渡辺 守: 難治性潰瘍性大腸炎に対するタクロリムス初期投与量と血中トラフ値の推移の検討(多施設協同研究). 第52回 日本消化器病学会大会. 横浜, 2010年10月14日.
- 143) 根本泰宏、金井隆典、渡辺 守: 腸炎惹起性メモリーCD4+T細胞再循環経路をターゲットとした炎症性腸疾患の治療戦略. 第52回 日本消化器病学会大会. 横浜, 2010年10月14日.
- 144) 長堀正和、玄 世鋒、渡辺 守: クロウン病における thioprines 併用 infliximab 計画的維持投与

例の検討と、維持困難例でのmethotrexateの有
用性 第52回 日本消化器病学会大会. 横浜,
2010年10月13日.

- 145) 渡辺 守: 難治性炎症性腸管障害に関する調査
研究. 難治性疾患克服研究推進事業研究成果発
表会 難治性疾患克服研究の成果と今後. 東京
, 2010年5月23日.
- 146) 長沼 誠、長堀正和、渡辺 守: Infliximab 時代
における免疫調節剤の有用性. 第96回 日本消化
器病学会総会. 新潟. 2010年4月22日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

渡辺 守、中村哲也: 「大腸上皮幹細胞の単離・
培養技術と、これを用いた大腸上皮移植技術」特
願 2011-236469

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

潰瘍性大腸炎の炎症性発癌過程における microRNAs メチル化の意義

研究協力者 楠 正人 三重大学大学院医学系研究科消化管・小児外科学 教授

研究要旨：潰瘍性大腸炎の炎症性発癌過程における microRNAs メチル化の意義を検討した。潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜において、miR-124,-137 および miR-34b/c の promoter 領域における CpG island の methylation levels は、年齢、部位ならびに悪性新生物依存的変化を認め、"field defect"が確認された。潰瘍性大腸炎患者の直腸粘膜生検組織を用いた miR-137 methylation levels 測定は、colitic cancer, dysplasia を合併している潰瘍性大腸炎患者のふるい分けに有用であると考えられた。

共同研究者：間山裕二、荒木俊光、大北喜基、藤川裕之、奥川喜永、三枝 晋、川村幹雄、近藤哲、北島貴仁、志村匡信、川本 文、廣純一郎、田中光司、井上靖浩、内田恵一、毛利靖彦（三重大学大学院医学系研究科 消化管・小児外科学）

A. 研究目的

miR-124, -137 ならびに-34b/c のプロモーター領域における CpG アイランド methylation ならびにそれらの発現と潰瘍性大腸炎癌化との関連を検討すること。

B. 研究方法

非癌合併、dysplasia 合併、癌合併それぞれの潰瘍性大腸炎大腸全摘患者の切除標本を用い、①大腸粘膜 miR-124, -137 and -34b/c methylation levels の定量。②UC 大腸粘膜の miR-124, -137 and -34b/c 発現の定量を行った。

標本の使用、解析およびデータの管理について三重大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得、患者へのインフォームドコンセントを行って研究を実施した。

C. 研究結果

①Methylation levels は、盲腸から直腸にかけて徐々に高くなり、とりわけ直腸の miR-124 and -137 methylation levels は盲腸に比べ有意に高い。

②直腸非癌部 UC 粘膜における miR-124

methylation levels は診断時、手術時年齢 ならびに病脳期間と有意に相関をみとめた。

③直腸非癌部 UC 粘膜における miR-137 methylation levels は診断時、手術時年齢 ならびに病脳期間と有意に相関をみとめた。

④非癌部 UC 粘膜における miR-34b/c methylation levels は臨床所見との関連を認めなかった。

⑤Dysplasia, Cancer におけるそれぞれの microRNA methylation levels は非癌部 UC 粘膜に比べ有意に高い。

⑥直腸非癌部 UC 粘膜における miR-124, -137 ならびに-34b/c methylation levels は癌合併 UC 患者で有意に高い。特に miR-137 methylation levels は neoplasia (dysplasia, cancer) 合併 UC 患者で有意に高い。

⑦非癌部直腸粘膜における miR-124, -137, -34b/c methylation levels の癌合併 UC 患者診断能はそれぞれ 74%, 79%, 71%であった。

⑧非癌部直腸粘膜における miR-137 methylation 高値群は独立した癌合併潰瘍性大腸炎患者の同定因子であった。

⑨潰瘍性大腸炎粘膜における miR-124, -137 ならびに-34c 発現では、潰瘍性大腸炎癌化に伴い

miR-124, -137 ならびに-34c 発現が低下し,
miR-124 および miR-137 の発現と methylation
levels は逆相関をみとめた.

D. 考察

大腸粘膜における miR-124, -137, -34b/c の高メ
チル化は Field effect と関連があり、これを
用いた潰瘍性大腸炎癌化ハイリスク患者の同
定が期待される。これらの microRNAs の賦活化
は、潰瘍性大腸炎患者の大腸粘膜の炎症により
誘導される aging ならびに癌化抑制に寄与する
可能性があり、現在動物実験モデルにて検証中
である

E. 結論

潰瘍性大腸炎患者の直腸粘膜における miR-137
methylation levels は neoplasia (dysplasia,
cancer) 合併 UC 患者を高率に選別できる。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
1. 論文発表
なし

2. 学会発表
1. Yuji Toiyama et al. The Clinical
Significance of tissue miR-124 Methylation in
Sporadic and Ulcerative Colitis-Associated
Colorectal Cancer. AACR 2013 Chicago.
2. Yuji Toiyama et al. MicroRNA-124, -137 and
-34b/c methylation predict the development of
UC-associated neoplasia. ASCO 2013 Chicago
3. 問山裕二潰瘍性大腸炎癌化における
microRNA-124, -137, -34b/c メチル化の意義 日
本癌治療学会総会 2013 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
申請中
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

MSC による腫瘍イニシエーション抑制機構の解明

研究分担者 今井 浩三 東京大学医科学研究所 病院長

研究分担者 有村 佳昭 札幌医科大学消化器・免疫・リウマチ内科学講座 講師

研究要旨：炎症性腸疾患に対する骨髄間葉系幹細胞(MSC)治療が有望視されるなか、炎症関連発癌における MSC の影響は現時点で明らかではない。本研究では、azoxymethane (AOM) 誘導発癌における MSC の腫瘍イニシエーション抑制機構を明らかにし、その機序を一部解明した。

共同研究者：那須野正尚¹，一色裕之¹，永石歓和²，苗代康可³，篠村恭久¹
所属：札幌医科大学第一内科¹，札幌医科大学第二解剖²，札幌医科大学医療人育成センター³

で、腸上皮培養細胞株 (IEC-6) およびマクロファージ細胞株 (RAW264.7) を各条件の MSC-CM で培養し、増殖因子・サイトカイン発現、細胞増殖・回転、アポトーシス抑制効果、分化形質 (M1/M2) を評価する。

in vivo で、ラット DSS 腸炎およびマウス TNBS 腸炎に対する MSC-CM 治療実験を施行した。さらに MSC-CM の含有成分について、サイトカイン抗体アレイ、WNT PCR array、および 2D-DIGE/MALDI-TOFMS、LC-MS/MS 法を用いて解析する。

SCID マウスにヒト大腸癌細胞株 (COLO320) とラット MSC を 1:1 で混合移植した Xenograft モデルを作成し、生着 MSC の動態を、蛍光免疫染色および FISH 法にて解析する。MSC および腫瘍細胞における分子発現を、Realtime PCR 法および Immuno-PCR 法にて検討した。腫瘍細胞を MSC と共培養した後ソーティングにて単離し、MSC が腫瘍細胞周期、サバイバルシグナルに及ぼす影響を検討する。さらに腫瘍細胞における遺伝子発現の変化を、DNA マイクロアレイにて網羅的に解析する。activation-induced cytidine deaminase (AID)/ten eleven translocation (TET)1-3 を高発現する大腸癌細胞株 COLO320 における AID/TET ノックアウト細胞株を樹立する。パイロシーケンス法により、CXCL12 プロモーター領域のメチル

A. 研究目的

骨髄間葉系幹細胞 (MSC) は、再生医療や遺伝子治療の細胞ソースとして期待されている。これまでに、MSC 治療は、DSS 腸炎の回復を促進し、腸上皮細胞回転を促進およびアポトーシスを抑制することを明らかにした。本研究では、MSC 由来の液性因子 (MSC-GTF) の腸上皮再生に及ぼす影響や、その免疫学的側面を検討する。一方、MSC の腫瘍に対する作用は明らかではない。そこで、大腸癌や炎症発癌モデルに対する MSC の作用を検討する。以上、MSC 治療の分子メカニズムを解明し、炎症性腸疾患における MSC 治療の臨床応用に備えることを目的とした。

B. 研究方法

ラット骨髄から接着法にて単離培養した MSC を、無血清培養した上清を MSC-conditioned medium (以下 MSC-CM) とした。通常酸素濃度下 (norCM)、低酸素濃度下 (hypoCM)、および各種サイトカイン刺激下 (ckCM) にそれぞれ回収した。in vitro

化および CXCL12 の発現変化をリアルタイム PCR 法にて定量的に評価する。

AOM 発癌および acute apoptotic response of genotoxic carcinogen (AARGC) モデル、および MSC-IEC6 共培養モデルを使用する。形成された腫瘍数、サイズを計測し、WNT, TGF β シグナル活性化を、AARGC モデルでは、大腸上皮細胞の増殖、アポトーシス、細胞周期および O6 メチルグアニン定量とこれらに対する MSC の作用を検討した。共培養実験ではこれらの MSC の作用機序解析を試みる。

(倫理面への配慮)

動物実験に関する法律・基準・指針を遵守し、生物の多様性の確保に関する法律に抵触しない。

C. 研究結果

1. in vitro における検討

MSC 由来 gut trophic factor (以下 MSC-GTF) は、上皮細胞の増殖を促進し、HGF, FGF2, TGF β -1 の発現を増強した。hypoCM が最も効果的に細胞増殖・回転を促進し、アポトーシスを抑制した。MSC および MSC-CM は、TNBS 腸炎惹起マウス由来 LPL および ML における IL-2, IFN γ , IL-17A 産生量を抑制し、マクロファージの TNF α , IL-6 の産生を抑制し、一方 IL-10 産生を促進し、免疫抑制性 (M2) マクロファージへの分化を誘導した。

2. in vivo における検討

MSC-CM 治療は、DSS 腸炎回復期に容量依存性の治療効果を認めた。その際、MSC-GTF が上皮の細胞増殖を促進し、上皮バリア機能を間接的に制御した。一方、MSC-CM は TNBS 腸炎に対して急性期に上述したごとく免疫学的機序を介して有効であり、同時に腸上皮再生を促進した。

3. 大腸癌に対する作用

MSC は xenograft の間質に存在し、血管周皮細胞へ分化し、宿主のマウス由来細胞の血管内皮への分化を誘導した (MSC 依存性血管新生)。MSC は、腫瘍細胞の Akt リン酸化を誘導しアポトーシスを抑制した。DNA マイクロアレイ解析では、CXCL12

の発現が最も増強していた。AID/TET1-3 ノックアウト細胞安定株を樹立した。AID/TET の発現レベルと CXCL12 プロモーター領域のメチル化および CXCL12 発現レベルに相関は認められなかった。COL0320 細胞株 (AID 高発現細胞株) における癌関連遺伝子 C to T 変異の頻度は、10,000 塩基対あたり、TP53 12.6, BIRC2 7.8, CCNE1 5.3 の順であり、これらは同時に複数のローカスに変異を認めた。

4. 大腸発癌に対する作用

MSC は AOM 発癌におけるイニシエーションを抑制した。その主要な化学予防効果は、メチルグアニンメチル基転移酵素 (Mgmt) を活性化して DNA 傷害そのものを減じること、およびアポトーシスを免れたイニシエーション細胞に対しては、TGF β を介する G1 期停止をもたらす発癌を抑制するタンデムメカニズムであることを明らかにした。さらに、MSC のもつ抗腫瘍効果は WNT, TGF β シグナルにも広範に作用する可能性が示された。

D. 考察

骨髄間葉系幹細胞 (MSC) 治療は、腸炎の回復を促進する。しかし、腸管組織に engraft される細胞数が少なく、生着した MSC による有効性機序の解析が重要な課題である。MSC-GTF は、腸上皮細胞における増殖因子の発現を誘導し、細胞増殖・回転を促進する一方でアポトーシスを抑制した。また、タイト結合タンパクの発現を調節し、腸炎の回復を促進した。MSC-GTF が腸上皮バリア機能の回復に間接的に寄与した。さらに、MSC-GTF は、多彩な免疫制御能を有し、TNBS 腸炎の回復に寄与した。今後、MSC-GTF の有効成分の同定、およびその分子調節機構の解析を行い、腸炎に対する新規 MSC 治療の開発を目指す。

炎症性腸疾患に対する MSC 治療が有望視されるなか、炎症関連発癌における MSC の影響は現時点で明らかではない。本研究では、VEGF 低発現の大腸癌細胞株と MSC の xenograft を用いて、大腸癌における MSC の動態と役割を検討した。

CXCL12/CXCR4 axis を介して、MSC は腫瘍内の血

管周皮細胞に分化し、腫瘍細胞のサバイバルシグナルを活性化させ、腫瘍生着および生存に寄与するMSC依存性血管新生機構の存在が示された。この系においてAID/TETは、CXCL12プロモーターの脱メチル化酵素として作用せず、CXCL12発現調節機構は今後の検討課題である。

本研究では、azoxymethane (AOM) 誘導発癌におけるMSCの腫瘍イニシエーション抑制機構を明らかにし、その機序を一部解明した。MSCの発癌に対する化学予防は、これまでに報告のない新しい腫瘍イニシエーションの抑制機構である。さらにWNT, TGF β シグナルにも広範に作用する可能性があり、今後の重要な研究課題である。これらは将来、炎症性腸疾患に対するMSC治療に必須な情報である。

E. 結論

MSC-GTFは、多彩な免疫制御能を有するのみならず、腸上皮再生能およびタイト結合タンパクの調節を介したバリア機能の回復に寄与する可能性が示唆された。今後、MSC-GTFの有効成分の同定、およびその分子調節機構の解析を行い、腸炎におけるMSC治療の有効性機序を明らかにし、新規MSC治療の開発を目指す。

MSCは、CXCL12/CXCR4 axisを介するMSC依存性血管新生により大腸癌の増殖を促す可能性が示唆された。しかし、CXCL12発現調節機構に関しては、今後の検討課題である。

azoxymethane (AOM) 誘導発癌におけるMSCの腫瘍イニシエーション抑制機構の一部を解明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nasuno M, Arimura Y, Nagaishi K, Isshiki H, Onodera K, Nakagaki S, Watanabe S, Idogawa M, Yamashita K, Naishiro Y, Adachi Y, Suzuki H, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Mesenchymal stem cells cancel azoxymethane-induced tumor initiation. STEM CELLS 2013 (in press).
- 2) Watanabe S, Arimura Y, Nagaishi K, Isshiki H, Onodera K, Nasuno M, Yamashita K, Idogawa M, Naishiro Y, Murata M, Adachi Y, Fujimiya M,

Imai K, Shinomura Y. Conditioned mesenchymal stem cells produce pleiotropic gut trophic factors. J Gastroenterol 2013 [Epub ahead of print].

3) Yamazaki K, Umeno J, Takahashi A, Hirano A, Johnson TA, Kumasaka N, Morizono T, Hosono N, Kawaguchi T, Takazoe M, Yamada T, Suzuki Y, Tanaka H, Motoya S, Hosokawa M, Arimura Y, Shinomura Y, Matsui T, Matsumoto T, Iida M, Tsunoda T, Nakamura Y, Kamatani N, Kubo M. A Genome-Wide Association Study Identifies 2 Susceptibility Loci for Crohn's Disease in a Japanese Population. Gastroenterology 2013;144:781-8.

4) Arimura Y, Isshiki H, Onodera K, Nagaishi K, Yamashita K, Sonoda T, Matsumoto T, Takahashi A, Takazoe M, Yamazaki K, Kubo M, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Characteristics of Japanese inflammatory bowel disease susceptibility loci. J Gastroenterol 2013 [Epub ahead of print].

5) Arimura Y, Nagaishi K, Naishiro Y, Yamashita K, Shinomura Y, Imai K. Regenerative medicine for inflammatory bowel disease. Inflammation and Regeneration 2012;32:61-6.

6) Yamamoto E, Suzuki H, Yamano H, Maruyama R, Nojima M, Kamimae S, Sawada T, Ashida M, Yoshikawa K, Kimura T, Harada T, Suzuki R, Sato A, Kai M, Sasaki Y, Tokino T, Sugai T, Imai K, Shinomura Y, Toyota M. Molecular dissection of premalignant colorectal lesions reveals early onset of the CpG island methylator phenotype. Am J Pathol 2012;118: 1847-61.

7) Liu Y, Sakamoto H, Adachi M, Zhao S, Ukai W, Hashimoto E, Hareyama M, Ishida T, Imai K, Shinomura Y. Heat stress activates ER stress signals which suppress the heat shock response, an effect occurring preferentially in the cortex in rats. Mol Biol Rep 2012;39: 3987-93.

8) Tanaka H, Arimura Y, Yabana T, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, Yamashita K, Yamamoto H, Sasaki Y, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Myogenic lineage differentiated mesenchymal stem cells enhance recovery from dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. J Gastroenterol 2011;46:143-52.

9) Arimura Y, Nagaishi K, Hosokawa M. Dynamics of claudins expression in colitis and colitis-associated cancer in rat. Methods Mol Biol 2011;762:409-25.

1) 渡邊秀平, 有村佳昭, 今井浩三. 炎症性腸疾患-病因解明と診断・治療の最新知見- 炎症性腸疾患における発癌機序. 2012 ; pp518-22, 日本臨床社, 大阪.

2) 那須野正尚, 有村佳昭, 今井浩三. IBD (炎症性腸疾患)を究める 炎症性腸疾患の病因・病態組織修復・再生. 2011 ; pp51-5, メジカルビュー社, 東京.

3) 那須野正尚, 今井浩三. 炎症性腸疾患 炎症性腸疾患における癌化機序. 2010 ; pp330-2, 医学書院, 東京.

2. 学会発表

- 1) Nagaishi K, Isshiki H, Arimura Y, Naishiro Y, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice by regulating bone marrow niche cells and hematopoietic stem cells. ISSCR Boston Jun 12-15, 2013.
- 2) Isshiki H, Arimura Y, Nasuno M, Nakagaki S, Nagaishi K, Naishiro Y, Yamashita K, Shinomura Y, Imai K. Mesenchymal stem cells partially cancel azoxymethane-induced tumor initiation. DDW2013 Orland Jun 2, 2013.
- 3) Isshiki H, Arimura Y, Nasuno M, Nakagaki S, Nagaishi K, Naishiro Y, Yamashita K, Shinomura Y, Imai K. Mesenchymal stem cells partially cancel azoxymethane-induced tumor initiation. 1st. Asian Organization for Crohn's & Colitis. Jun 13-14, 2013, Tokyo, Japan.
- 4) Arimura Y. Genetic characteristics of Japanese IBD. Asian IBD Symposium Seoul Nov 2, 2012.
- 5) Nagaishi K, Watanabe S, Naishiro Y, Yamashita K, Arimura Y, Fujimiya M, Shinomura Y. Pleiotropic Action of Gut Tropic Factors Derived from Conditioned Mesenchymal Stem Cells. DDW2012 San Diego May 19, 2012.
- 6) Nagaishi K, Watanabe S, Naishiro Y, Yamashita Y, Arimura Y, Fujimiya M, Shinomura Y, Imai K. Pleiotropic Action of Gut Tropic Factors Derived from Conditioned Mesenchymal Stem Cells The 6th Korea-Japan IBD Symposium 東京 Jan 28, 2012.
- 7) Nagaishi K, Arimura Y, Nasuno M, Imai K, Shinomura Y. Reciprocal relation between MSC-dependent angiogenesis and VEGF expression in colorectal cancer. DDW2011, Chicago May 10, 2011.
- 8) Nasuno M, Arimura Y, Nakagaki S, Watanabe S, Nagaishi K, Naishiro Y, Imai K, Shinomura Y. Reciprocal relation tumor angiogenesis with MSC-dependent growth in colorectal cancer cell lines xenograft. The 5th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium ソウル 2010年10月2日
- 9) Tanaka H, Arimura Y, Yabana T, Goto A, Hosakawa M, Nagaishi K, Naishiro Y, Yamashita K, Yamamoto H, Murata M, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Enhancing mucosal reparative response in rat DSS colitis by Mesenchymal Stem Cell therapy The 4th Korea-Japan Inflammatory Bowel Disease Symposium 東京 2010年1月23日
- 1) 一色裕之, 有村佳昭, 永石歆和, 苗代康可, 篠村恭久, 今井浩三. 骨髄間葉系幹細胞依存性の大腸癌細胞増殖の機序. JDDW2013 東京 2013年10月10日.

2) 小野寺馨, 有村佳昭, 一色裕之, 永石歆和, 山下健太郎, 苗代康可, 松本主之, 山崎慶子, 久保充明, 今井浩三, 篠村恭久. 日本人における炎症性腸疾患関連遺伝子のメタアナリシス. 第63回日本体質医学会総会 久留米 2013年10月6日.

3) 一色裕之, 有村佳昭, 小野寺馨, 永石歆和, 苗代康可, 篠村恭久, 今井浩三. 骨髄間葉系幹細胞依存性大腸癌細胞増殖の機序. 第50回日本消化器免疫学会総会 東京 2013年8月2日.

4) 那須野正尚, 有村佳昭, 渡邊秀平, 中垣卓, 永石歆和, 苗代康可, 山下健太郎, 山本博幸, 今井浩三, 篠村恭久. 骨髄間葉系幹細胞は azoxymethane による発癌のイニシエーションを一部解除する. JDDW2012 神戸 2012年11月11日.

5) 那須野正尚, 有村佳昭, 渡邊秀平, 中垣卓, 永石歆和, 苗代康可, 山下健太郎, 山本博幸, 今井浩三, 篠村恭久. 骨髄間葉系幹細胞は azoxymethane による発癌のイニシエーションを一部解除する. 第49回日本消化器免疫学会総会 鹿児島 2012年7月6日.

6) 永石歆和, 有村佳昭, 渡邊秀平, 那須野正尚, 藤宮峯子, 今井浩三, 篠村恭久. 骨髄間葉系幹細胞を用いた炎症性腸疾患の新規治療戦略. 第33回日本炎症・再生医学会 福岡 2012年7月5日.

7) 渡邊秀平, 有村佳昭, 永石歆和, 今井浩三. 骨髄間葉系幹細胞由来 Gut Trophic Factor はラット実験腸炎の回復を促進する. 第53回日本消化器病学会大会 福岡 2011年10月20日.

8) 永石歆和, 渡邊秀平, 那須野正尚, 苗代康可, 有村佳昭, 篠村恭久. MSC 由来 Gut trophic factor のラット DSS 腸炎における役割. 第48回日本消化器免疫学会総会 金沢 2011年7月21日.

9) Nagaishi K, Arimura Y, Suzuki D, Ataka K, Shinomura Y, Fujimiya M. Reciprocal relation between tumor angiogenesis and MSC-dependent growth in colorectal cancer. 第116回日本解剖学会総会 横浜 2011年3月30日.

10) 中垣卓, 有村佳昭, 篠村恭久. 骨髄間葉系幹細胞は大腸癌細胞の増殖を促進させる-腫瘍細胞の VEGF 発現と MSC 依存性増殖の関連-. JDDW2010 横浜 2010年10月14日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
『特願 51101427046』(間葉系幹細胞 (MSC) の培養上清を含む腸炎の予防・治療剤) 2011年7月13日出願

2. 実用新案登録
なし。

3. その他

骨髄間葉系幹細胞による大腸がん予防 北海道医療新聞 2013年12月27日掲載。

炎症性腸疾患における大腸上皮の創傷治癒に対する Wnt5a short peptide の効果に関する検討

研究協力者 内藤 裕二 京都府立医科大学 准教授

研究要旨:大腸 myofibroblast から分泌された Wnt5a の一部である Wnt5a short peptide (36aa) の大腸上皮細胞に対する生理活性作用、特に大腸上皮の創傷治癒に対してその作用を in vitro および in vivo の実験系にて検証し、治療標的としての可能性を検討する。

A. 研究目的

大腸上皮においては crypt の上部にのみ Hsp25 の発現が認められることが分かっており、これまでの我々の検討で myofibroblast から分泌される Wnt5a が大腸上皮細胞の Hsp25 発現を抑制していることが分かっている。さらに、その作用は Wnt5a 蛋白の全長ではなく、36 のアミノ酸からなるペプチド (Wnt5a short peptide : Wnt5a SP) が関与していることも明らかにしてきた。Wnt5a は種をこえて高度に保存されている蛋白であり、様々な生理活性を有していることが多く報告されている。しかしながら、炎症性腸疾患における関与および、粘膜の創傷治癒に関しての報告はない。本研究においてわれわれは、この Wnt5a SP の生理活性、特に炎症性腸疾患の粘膜における大腸上皮創傷治癒作用を検討することを目的とした。

B. 研究方法

Wnt5a SP は人工合成が可能であり、YAMC 細胞 (Young Adult Mouse Colonic epithelial cell) に対するペプチドの作用を検討した。創傷治癒は micro tip による Wound Healing Assay を用いた。100% confluent の YAMC 細胞を 37°C、24 時間で分化させ、12 時間の FBS free 下での培養の後、micro tip を用いて吸引による円形の穴を形成した。その直後より Wnt5a SP を添加 (0, 30, 300, 3000ng/ml) し、経時的に穴の面積を非添加群と比較した。また、実際にヒト大腸粘膜内での Wnt5a

SP の存在を確認するために、大腸癌手術標本の非癌部組織を用いて、10kDa 以下の成分を抽出し、LC-MS によってその分画に含まれるペプチドの構造解析をおこなった。さらに、マウス大腸粘膜における Wnt5a SP の作用を検討するため、DSS 腸炎回復期に Wnt5a SP (10 μ mol/body) を腹腔内投与し、体重の推移、腸管長、大腸粘膜における遺伝子発現を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト大腸癌組織を用いた検討では、京都府立医科大学の IRC の承認 (C-1124) を得ており、患者の同意のもと、検体採取をおこなった。

C. 研究結果

YAMC 細胞における創傷治癒は Wnt5a SP を添加することによって非添加群と比べて有意に促進された。また、ヒト大腸粘膜におけるペプチド解析では Wnt5a SP の配列を一部含んでいるペプチドが同定された。また、マウス DSS 腸炎の回復期において、Wnt5a SP 投与群ではコントロールと比較し、有意に腸管長が長く、体重の回復も早かった。さらに、大腸粘膜における Hsp25 mRNA 発現は有意に低下し、TGF- β の mRNA 発現は有意に増加した。

D. 考察

これまでのわれわれの検討で、Wnt5a SP は butyrate 存在下で YAMC 細胞の増殖を促進することが分かっているが、今回の検討で創傷治癒も促

進することが明らかとなった。また、平成 25 年度の検討ではマウスの実験腸炎モデルの回復期においても有意に腸炎からの回復を促進することが認められた。潰瘍性大腸炎患者、特に治療に良く反応し、良好な予後がえられた患者の大腸粘膜上皮において Wnt5a mRNA 発現が上昇していることも予備検討で分かっており、Wnt5a の作用、とくに大腸粘膜障害時における上皮細胞創傷治癒を促進する作用は治療標的因子として期待できる。これまでの検討で、Wnt5a の全長ではなく、その一部の人工合成可能な Wnt5a SP がその作用を有していることが分かっているため、将来的に創薬も視野に入れた研究が可能であると考えられる。

E. 結論

Wnt5a SP は in vitro の細胞モデルにおいて大腸上皮細胞の創傷治癒を促進し、in vivo のマウス腸炎モデルからの回復も促進した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Uchiyama K, Naito Y, Takagi T, et al.

Serpin B1 protects colonic epithelial cell via blockage of neutrophil elastase activity and its expression is enhanced in patients with ulcerative colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012 May 15;302(10):G1163-70.
2. Uchiyama K, Naito Y, Takagi T, et al. FGF19 protects colonic epithelial cells against hydrogen peroxide. *Digestion.* 2011;83(3):180-3.

2. 学会発表

○内山和彦、高木智久、内藤裕二・大腸筋繊維芽細胞からみた大腸粘膜の潰瘍治癒～Wnt5a の役割～・第 41 回日本潰瘍学会（シンポジウム）・ホテル阪急エキスポパーク・2013 年 12 月 6 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

大腸上皮幹細胞培養とその臨床応用技術開発

研究代表者 渡辺 守 東京医科歯科大学大学院消化器病態学分野 教授

要旨：炎症性腸疾患研究において、腸管上皮の再生機構を解明し、上皮異常の診断や上皮再生治療に利用する技術が期待されている。本研究では、数多くの条件検討の結果、これまで困難とされてきた正常腸管上皮の体外培養技術確立に成功した。また、この独自の先端技術を応用し、培養腸管上皮細胞を用いて傷害大腸上皮を修復する移植治療の技術基盤確立を目指した研究をおこなった。

共同研究者：中村哲也

東京医科歯科大学大学院消化管先端治療学

A. 研究目的

炎症性腸疾患（IBD）の新しい診断・治療法の開発が求められている。中でも腸管上皮が再生する機構を解析し、上皮異常の診断や上皮再生治療に応用することが期待されている。しかしながら、腸管上皮の増殖・分化機構の研究領域では、正常腸管上皮細胞培養技術が未確立であったことが大きな障壁となってきた。本研究プロジェクトでは、正常マウス大腸上皮細胞を効率よく単離し、純度の高いまま、無血清培地中で、しかも継代操作を経て長期にわたり維持できる技術の確立を目指した。また、この独自の先端技術を応用し、異なる培養腸管上皮の移植による大腸上皮再生の可能性につき検討した。

B. 研究方法

マウス大腸上皮細胞を培養する条件を、1) 単離条件、2) 3次元培養に用いる支持基質、3) 無血清培地に加える添加因子について数多くの組み合わせで検討した。培養技術確立の後には、培養細胞の詳細な性状解析を、RT-PCR法、免疫染色法、電子顕微鏡観察、ライブイメージング法を用いおこなった。

つづいて培養上皮が移植可能であるか否かを検証した。すなわち免疫不全マウスをレシピエントとし、これらに大腸炎を惹起し、培養大腸上皮細胞をドナーとして経肛門的に移入した。レシピエント大腸は1ヶ月後に解析した。

また、新規にマウス胎児腸管上皮細胞培養技術を確

立したコペンハーゲン大学・Kim Jensen 研究室との共同研究で、得られた胎児腸管上皮細胞の移植実験を同様の手法でおこなった。

（倫理面への配慮）

遺伝子組換えマウスの使用を含む動物実験は、東京医科歯科大学動物実験ガイドラインにそって実施した。本研究の遂行については、東京医科歯科大学動物実験審査委員会・および組換えDNA実験安全管理委員会により承認を受けた。

C. 研究結果

マウスより大腸陰窩を効率よく単離し、細胞外マトリックスゲルへ3次元的に包埋し、無血清培地に複数の因子を加えることで、正常な大腸上皮細胞が長期に培養できる条件を見出した。培養大腸上皮は細胞が単層で配列する嚢状構造を形成し、大腸の全分化細胞、ならびにKi67陽性の未分化細胞を含んでいた。本法で維持される培養細胞には、Lgr5発現陽性の幹細胞が単に含まれるのみならず、培養過程で著明に増殖することを明らかにした。

次に、培養大腸上皮細胞の移植が可能かを検証した。免疫不全マウスにDSS腸炎を惹起しレシピエントとし、EGFPトランスジェニックマウス由来の培養大腸上皮細胞を経肛門的に移入した。興味深いことに、ドナー細胞は傷害大腸上皮を補填しながら生着し、その後形態的に正常な上皮を再生した。組織学的にもドナー由来EGFP陽性クリプトはすべての分化細胞および増殖細胞を含むことから、培養細胞に含まれていたLgr5陽性幹細胞が、移植後レシピエント組織内で再び上皮幹細胞として機能したことが示唆された。

続いて、ただ一個のLgr5陽性幹細胞を体外で増やし

た細胞群によって大腸再生が可能かを検討した。リニエージトレーシングが可能なマウスより得た培養大腸上皮を移植し解析した結果、一個の幹細胞由来の培養細胞が、複数のマウスに複数のクリプトを再生しうること、およびこのドナー由来上皮が6ヶ月を超える長期にわたり生着しうるということがわかった (Nat Med 2012)。

さらにわれわれは、コペンハーゲン大学・Kim Jensen 研究室と共同し、培養したマウス胎児腸管上皮細胞の大腸への移植をおこない、これら細胞が成体マウス大腸に生着しうること、そしてその際には大腸環境に適応し、胎児小腸由来の上皮が一部大腸形質を獲得することを見いだした (Cell Stem Cell 2013)。

D. 考察

本研究では大腸上皮の体外培養を可能とし、正常なマウスの大腸上皮細胞が、非上皮細胞なしに、無血清培地で、3次元的に、継代操作を経て、1年を超える長期にわたり培養できる技術を確認した。この方法では大腸上皮幹細胞が効率よく増えることから、本法がこれら幹細胞の性状・挙動解析の有用なツールとなりうることを示された。さらにわれわれは、培養大腸上皮幹細胞を用いた移植実験をおこない、体外培養を経たこれらの幹細胞が、傷害を受けた大腸粘膜の修復に寄与しうることを初めて明らかにした。本実験では、ただ一個の幹細胞の培養とこれに続く移植実験にも成功しており、組織再生能を保持する上皮幹細胞を数的に増やし、これを用いる幹細胞移植治療が技術的に可能であることを明らかとした。

また、海外のグループと共同しおこなった胎児腸管上皮細胞の移植実験の成果もあわせ、さまざまな細胞ソースを利用した幹細胞移植治療の可能性も提示した。

E. 結論

大腸上皮幹細胞を *in vitro* で増やしうること、また増やした大腸上皮幹細胞が他個体の大腸上皮においても上皮幹細胞として機能し、正常な陰窩を再生しうることを明確にした。今後、ヒト大腸上皮上皮についても類似の技術を確認することにより、ヒト大腸疾患における上皮障害機構の解析ツールとして高い意義を有すると考える。また本研究は、培養大腸細胞を移植治療に利用する技術の基礎として、消化管疾患における再生医療研究に大きなインパクトを与えるものと考ええる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Esaki M, Matsumoto T, Watanabe K, Arakawa T, Naito Y, Matsuura M, Nakase H, Hibi T, Matsumoto T, Nouda S, Higuchi K, Ohmiya N, Goto H, Kurokawa S, Motoya S, Watanabe M: Use of capsule endoscopy in patients with Crohn's disease in Japan: A multicenter survey. *J Gastroenterol Hepatol.* 29:96-101, 2014.
- 2) Murano T, Okamoto R, Ito G, Nakata T, Hibiya S, Shimizu H, Fujii S, Kano Y, Mizutani T, Yui S, Akiyama-Morio J, Nemoto Y, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Hes1 promotes the IL-22-mediated antimicrobial response by enhancing STAT3-dependent transcription in human intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 443:840-846, 2014.
- 3) Hisabe T, Hirai F, Matsui T, Watanabe M: Evaluation of diagnostic criteria for Crohn's disease in Japan. *J Gastroenterol.* 49:93-99, 2014.
- 4) Suzuki M, Motoya S, Hanai H, Matsumoto T, Hibi T, Robinson AM, Mostafa NM, Chao J, Arora V, Camez A, Thakkar RB, Watanabe M: Efficacy and safety of adalimumab in Japanese patients with moderately to severely active ulcerative colitis. *J Gastroenterol.* (Epub ahead of print), 2013.
- 5) Fordham RP, Yui S, Hannan NRF, Madgwick A, Vallier L, Pedersen RA, Nakamura T, Watanabe M, Jensen KB: Establishment of Fetal Enteric Progenitors as a Source for Transplantation. *Cell Stem Cell.* 13:734-744, 2013.
- 6) Ito G, Okamoto R, Murano T, Shimizu H, Fujii S, Nakata T, Mizutani T, Yui S, Akiyama-Morio J, Nemoto Y, Okada E, Araki A, Ohtsuka K, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Lineage-specific expression of Bestrophin-2 and Bestrophin-4 in human intestinal epithelial cells. *PLoS One.* 8:e79693, 2013.

- 7) Takahara M, Nemoto Y, Oshima S, Matsuzawa Y, Kanai T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Yamamoto K, Watanabe M: IL-7 promotes long-term in vitro survival of unique long-lived memory subset generated from mucosal effector memory CD4+ T cells in chronic colitis mice. *Immunol Lett.* 156:82-93, 2013.
- 8) Fukata N, Okazaki K, Omiya M, Matsushita M, Watanabe M; The Members of the Ministry of Health and Welfare of Japan's Inflammatory Bowel Diseases Study Group.: Hematologic malignancies in the Japanese patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* (Epub ahead of print), 2013.
- 9) Nemoto Y, Kanai T, Takahara M, Oshima S, Okamoto R, Tsuchiya K, Matsumoto S, Watanabe M: Th1/Th17-Mediated Interstitial Pneumonia in Chronic Colitis Mice Independent of Intestinal Microbiota. *J Immunol.* 190: 6616-6625, 2013.
- 10) Watanabe M, Nishino H, Samejima Y, Ota A, Nakamura S, Hibi T: Randomised clinical trial: evaluation of the efficacy of mesalazine suppositories in active ulcerative colitis patients with rectal inflammation - a placebo-controlled study. *Aliment Phar Ther.* 38:264-273, 2013.
- 11) Hibi T, Sakuraba A, Watanabe M, Motoya S, Ito H, Sato N, Yoshinari T, Motegi K, Kinouchi Y, Takazoe M, Suzuki Y, Matsumoto T, Kawakami K, Matsumoto T, Hirata I, Tanaka S, Ashida T, Matsui T: C-reactive protein is an indicator of serum infliximab level in predicting loss of response in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol.* (Epub ahead of print), 2013.
- 12) Watanabe M, Hanai H, Nishino H, Yokoyama T, Terada T, Suzuki Y: Comparison of QD and TID oral mesalazine for maintenance of remission in quiescent ulcerative colitis: a double-blind, double-dummy, randomized multicenter study. *Inflamm Bowel Dis.* 19: 1681-1690, 2012.
- 13) Watanabe K, Sasaki I, Fukushima K, Futami K, Ikeuchi H, Sugita A, Nezu R, Mizushima T, Kameoka S, Kusunoki M, Yoshioka K, Funayama Y, Watanabe T, Fujii H, Watanabe M, for the Surgical Research Group, the Research Committee of Inflammatory Bowel Disease, Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan: Long-term Incidence and Characteristics of Intestinal Failure in Crohn's disease: A Japanese Multicenter Study. *J Gastroenterol.* (Epub ahead of print), 2013.
- 14) Ohyagi M, Ohkubo T, Yagi Y, Ishibashi S, Akiyama J, Nagahori M, Watanabe M, Yokota T, Mizusawa H: Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy in a patient with Crohn's disease. *Intern Med.* 52:125-128, 2013.
- 15) Kano Y, Tsuchiya K, Zheng X, Horita N, Fukushima K, Hibiya S, Yamauchi Y, Nishimura T, Hinohara K, Gotoh N, Suzuki S, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: The acquisition of malignant potential in colon cancer is regulated by the stabilization of Atonal homolog 1 protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 432:175-181, 2013.
- 16) Ueno F, Matsui T, Matsumoto T, Matsuoka K, Watanabe M, Hibi T, on behalf of the guideline project group of intractable Inflammatory Bowel Disease granted by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan and the Guidelines Committee of the Japanese: Evidence-based clinical practice guidelines for Crohn's disease, integrated with formal consensus of experts in Japan. *J Gastroenterol.* 48:31-72, 2013.
- 17) Naganuma M, Nagahori M, Fujii T, Morio J, Saito E, Watanabe M: Poor recall of prior exposure to varicella zoster, rubella, measles, or mumps in patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis.* 19:418-422, 2013.
- 18) Naganuma M, Fujii T, Kunisaki R, Yoshimura N, Takazoe M, Takeuchi Y, Saito E, Nagahori M,

- Asakura K, Takebayashi T, Watanabe M: Incidence and characteristics of the 2009 influenza (H1N1) infections in inflammatory bowel disease patients. *Journal of Crohn's & colitis*. 7:308-313, 2013.
- 19) Kuwahara E, Asakura K, Nishiwaki Y, Inoue N, Watanabe M, Hibi T, Takebayashi T: Reply to the letter by A. M. Bianco et al. regarding 'Effects of family history on IBD characteristics in Japanese patients'. *J Gastroenterol*. 48:145-146, 2013.
- 20) Nemoto Y, Kanai T, Takahara M, Oshima S, Nakamura T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: Bone marrow-mesenchymal stem cells are a major source of interleukin-7 and sustain colitis by forming the niche for colitogenic CD4+ memory T cells. *Gut* 62:1142-1152, 2013.
- 21) Naganuma M, Kunisaki R, Yoshimura N, Takeuchi Y, Watanabe M: A prospective analysis of the incidence and risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*. 48:595-560, 2013.
- 22) Okada E, Araki A, Suzuki S, Morio Akiyama J, Fujii T, Okamoto R, Watanabe M: Histological diagnosis of follicular lymphoma by biopsy of small intestinal normal mucosa. *Dig Endosc*. 5:544-546, 2013.
- 23) Araki A, Suzuki S, Tsuchiya K, Oshima S, Okada E, Watanabe M: Modified single-operator method for double-balloon endoscopy. *Dig Endosc*. 24:470-474, 2012.
- 24) Araki A, Tsuchiya K, Oshima S, Okada E, Suzuki S, Morio-Akiyama J, Fujii T, Okamoto R, Watanabe M: Endoscopic ultrasound with double-balloon endoscopy for the diagnosis of inverted Meckel's diverticulum: a case report. *J Med Case Rep*. 6:328, 2012.
- 25) Fujita K, Naganuma M, Saito E, Suzuki S, Araki A, Negi M, Kawachi H, Watanabe M: Histologically confirmed IgG4-related small intestinal lesions diagnosed via double balloon enteroscopy. *Dig Dis Sci*. 57:3303-3308, 2012.
- 26) Hibi T, Sakuraba A, Watanabe M, Motoya S, Ito H, Motegi K, Kinouchi Y, Takazoe M, Suzuki Y, Matsumoto T, Kawakami K, Matsumoto T, Hirata I, Tanaka S, Ashida T, Matsui T: Retrieval of serum infliximab level by shortening the maintenance infusion interval is correlated with clinical efficacy in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 18:1480-1487, 2012.
- 27) Kuwahara E, Asakura K, Nishiwaki Y, Inoue N, Watanabe M, Hibi T, Takebayashi T: Effects of family history on inflammatory bowel disease characteristics in Japanese patients. *J Gastroenterol*. 47: 961-968, 2012.
- 28) Mizutani T, Nakamura T, Morikawa R, Fukuda M, Mochizuki W, Yamauchi Y, Nozaki K, Yui S, Nemoto Y, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M: Real-time analysis of P-glycoprotein-mediated drug transport across primary intestinal epithelium three-dimensionally cultured in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 419: 238-243, 2012.
- 29) Ono Y, Kanai T, Sujino T, Nemoto Y, Kanai Y, Mikami Y, Hayashi A, Matsumoto A, Takaishi H, Ogata H, Matsuoka K, Hisamatsu T, Watanabe M, Hibi T: T-helper 17 and interleukin-17-producing lymphoid tissue inducer-like cells make different contributions to colitis in mice. *Gastroenterology*. 143: 1288-1297, 2012.
- 30) Watanabe M, Hibi T, Lomax KG, Paulson SK, Chao J, Alam SS, Camez A: Adalimumab for the Induction and Maintenance of Clinical Remission in Japanese Patients With Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 6: 160-173, 2012.
- 31) Watanabe T, Sasaki I, Sugita A, Fukushima K, Futami K, Hibi T, Watanabe M: Interval of less than 5 years between the first and second operation is a risk factor for a third

- operation for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 18: 17-24, 2012.
- 32) Watanabe T, Sasaki I, Sugita A, Fukushima K, Futami K, Hibi T, Watanabe M: Time trend and risk factors for reoperation in Crohn's disease in Japan. *Hepatogastroenterology.* 59: 1081- 1086, 2012.
- 33) Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M: Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. *Nat Med.* 18: 618-623, 2012.
- 34) Yamaji O, Nagaishi T, Totsuka T, Onizawa M, Suzuki M, Tsuge N, Hasegawa A, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Arase H, Kanai T, Watanabe M: The development of colitogenic CD4+ T cells is regulated by IL-7 in collaboration with NK cell function in a murine model of colitis. *J Immunol.* 188: 2524-2536, 2012.
- 35) Nemoto Y, Kanai T, Shinohara T, Ito T, Nakamura T, Okamoto R, Tsuchiya K, Lipp M, Eishi Y, Watanabe M: Luminal CD4+ T cells penetrate gut epithelial monolayers and egress from lamina propria to blood circulation. *Gastroenterology.* 141: 2130-2139, 2011.
- 36) Watanabe T, Ajioka Y, Matsumoto T, Tomotsugu N, Takebayashi T, Inoue E, Iizuka B, Igarashi M, Iwao Y, Ohtsuka K, Kudo SE, Kobayashi K, Sada M, Matsumoto T, Hirata I, Murakami K, Nagahori M, Watanabe K, Hida N, Ueno F, Tanaka S, Watanabe M, Hibi T: Target biopsy or step biopsy? Optimal surveillance for ulcerative colitis: a Japanese nationwide randomized controlled trial. *J Gastroenterol.* 46: 11-16, 2011.
- 37) Watanabe T, Kobunai T, Yamamoto Y, Ikeuchi H, Matsuda K, Ishihara S, Nozawa K, Iinuma H, Kanazawa T, Tanaka T, Yokoyama T, Konishi T, Eshima K, Ajioka Y, Hibi T, Watanabe M, Muto T, Nagawa H: Predicting ulcerative colitis-associated colorectal cancer using reverse-transcription polymerase chain reaction analysis. *Clin Colorectal Cancer.* 10: 134-141, 2011.
- 38) Watanabe T, Kobunai T, Ikeuchi H, Yamamoto Y, Matsuda K, Ishihara S, Nozawa K, Iinuma H, Kanazawa T, Tanaka T, Yokoyama T, Konishi T, Eshima K, Ajioka Y, Hibi T, Watanabe M, Muto T, Nagawa H: RUNX3 copy number predicts the development of UC-associated colorectal cancer. *International Journal of Oncology.* 38: 201-207, 2011.
- 39) Hyun SB, Kitazume Y, Nagahori M, Toriihara A, Fujii T, Tsuchiya K, Suzuki S, Okada E, Araki A, Naganuma M, Watanabe M: MR enterocolonography is useful for simultaneous evaluation of small and large intestinal lesions in Crohn's disease. *Inflam Bowel Dis.* 17: 1063-1072, 2011.
- 40) Watanabe T, Sasaki I, Sugita A, Fukushima K, Futami K, Hibi T, Watanabe M: Interval of less than 5 years between the first and second operation is a risk factor for a third operation for Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 18: 17-24, 2011.
- 41) Naganuma M, Kunisaki R, Yoshimura N, Nagahori M, Yamamoto H, Kimura H, Sako M, Kawaguchi T, Takazoe M, Yamamoto S, Matsui T, Hibi T, Watanabe M: Conception and pregnancy outcome in women with inflammatory bowel disease: A multicentre study from Japan. *Journal of Crohn's and Colitis.* 5: 317-323, 2011.
- 42) Naganuma M, Watanabe M, Hibi T: The use of traditional and newer calcineurin inhibitors in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* 46: 129-137, 2011.
- 43) Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, Iwasaki M, Kano Y, Sakamoto N, Nakamura T, Watanabe M: Suppression of *hath1* gene expression directly regulated by *hes1* via notch signaling is associated with goblet cell depletion in

- ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 11: 2251–2260, 2011.
- 44) D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PD, Vermeire S, Gassull M, Chowers Y, Hanauer SB, Herfarth H, Hommes DW, Kamm M, Löfberg R, Quary A, Sands B, Sood A, Watermayer G, Lashner B, Lémann M, Plevy S, Reinisch W, Schreiber S, Siegel C, Targan S, Watanabe M, Feagan B, Sandborn WJ, Colombel JF, Travis S: The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD With the European Crohn's and Colitis Organization: When to Start, When to Stop, Which Drug to Choose, and How to Predict Response? *Am J Gastroenterol.* 106: 199–212, 2011.
- 45) Naganuma M, Watanabe M, Hibi T: Safety and usefulness of balloon endoscopy in Crohn's disease patients with postoperative ileal lesions. *J Crohns Colitis* 5: 73–74, 2011.
- 46) Iwasaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Zheng X, Kano Y, Okamoto E, Okada E, Araki A, Suzuki S, Sakamoto N, Kitagaki K, Akashi T, Eishi Y, Nakamura T, Watanabe M: Longitudinal cell formation in the entire human small intestine is correlated with the localization of Hath1 and Klf4. *J Gastroenterol.* 46: 191–202, 2011.
- 47) Shinohara S, Nemoto Y, Kanai T, Kameyama K, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Totsuka T, Ikuta K, Watanabe M: Upregulated IL-7R α expression on colitogenic memory CD4⁺ T cells may participate in the development and persistence of chronic colitis. *J Immunol.* 186: 2623–2632, 2011.
- 48) Kameyama K, Nemoto Y, Kanai T, Shinohara T, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Sakamoto N, Totsuka T, Hibi T, Watanabe M: Il-2 is positively involved in the development of colitogenic CD4(+) Il-7Ralpha (high) memory T cells in chronic colitis. *Eur J Immunol* 40: 2423–2436, 2011.
- 49) Akiyama J, Okamoto R, Iwasaki M, Zheng X, Yui S, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Delta-like 1 expression promotes goblet cell differentiation in Notch-inactivated human colonic epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 393: 662–667, 2011.
2. 学会発表
- 1) Okamoto R, Murano T, Shimizu H, Ito G, Fujii S, Nakata T, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: IL-22-mediated antimicrobial response is regulated by hes1 via stat3-dependent transcription in human intestinal epithelial cells. UEGW2013, Berlin, 2013年10月16日.
- 2) Ito G, Okamoto R, Murano T, Shimizu H, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Lineage-specific expression of bestrophin-2 and bestrophin-4 is regulated by notch signaling in human intestinal epithelial cells. UEGW2013, Berlin, 2013年10月14日.
- 3) Shimizu H, Okamoto R, Nakata T, Fujii S, Ito G, Murano T, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Complete conversion of crypt progenitor cells into ATOH1-positive cells by targeted deletion of DLL1 and DLL4 in LFR5-positive intestinal stem cells. UEGW2013, Berlin, 2013年10月14日.
- 4) Takahara M, Nemoto Y, Oshima S, Watanabe M: IL-7 promotes long-term in vitro survival of unique long-lived memory subset generated from mucosal effector memory CD4⁺ T cells in chronic colitis mice. UEGW2013, Berlin, 2013年10月14日.
- 5) Tsuchiya K, Kano Y, Watanabe M: Cancer Stemness In Mucinous Colon Cancer. BIT's 6th Annual World Congress of Regenerative Medicine & Stem Cells-2013. Dairen, 2013年10月13日.
- 6) Watanabe M: JGF Marshal & Warren Lecture: Adult tissue stem cell therapy for gastrointestinal diseases. GASTRO 2013. Shanghai, 2013年9月23日.

- 7) Watanabe M: Colonic Stem Cell Culture and Transplantation-Application in Mucosal Immunology. ICMI 2013, Vancouver, 2013年7月19日.
- 8) Suzuki M, Nagaishi T, Onizawa M, Yamazaki M, Tsuge N, Watanabe M: Myosin Light Chain Kinase is Involved in the Development of an Animal Model of Colitis-Associated Tumor. ICMI 2013, Vancouver, 2013年7月17日.
- 9) Watanabe M: Colonic Stem Cell Culture and Transplantation -Application in Mucosal Immunology-. RCAI-JSI International Symposium. Yokohama, 2013年6月27日.
- 10) Nagahori M, Saito E, Fujii T, Otsuka K, Watanabe M: Analysis of indication and volume of colonoscopy for ulcerative colitis patients in the era of mucosal healing. 1st Annual Meeting of AOCC. Tokyo, 2013年6月14日.
- 11) Watanabe M: Epidemiology of Asian IBD. 1st Annual Meeting of AOCC. Tokyo, 2013年6月13日.
- 12) Watanabe M: State-of-the-Art lecture: Stem cell therapy in IBD? Falk Sympo2013. Stuttgart, 2013年6月8日.
- 13) Ito G, Murano T, Shimizu H, Fujii S, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Notch signaling regulates expression of Bestrophin-4, a novel absorptive cell specific HCO₃⁻/Cl⁻ channel, in human intestinal epithelial cells. DDW2013. Orland, 2013年5月20日.
- 14) Fujii T, Naganuma M, Kitazume Y, Saito E, Nagahori M, Watanabe M: MR enterocolonography can predict clinical recurrence of Crohn's disease. DDW2013. Orland, 2013年5月20日.
- 15) Horita N, Tsuchiya K, Hibiya S, Fukushima K, Kano Y, Xiu Zheng, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: Live imaging of single cell reveals single stem cell dynamics in an organoid derived from murine small intestine. DDW2013. Orland, 2013年5月20日.
- 16) Tsuchiya K, Fukushima K, Kano Y, Hibiya S, Horita N, Zheng X, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M: Stabilization of Atoh1 protein by TNF- α in colitic cancer might acquire the cancer stemness. DDW2013. Orland, 2013年5月20日.
- 17) Shimizu H, Okamoto R, Fujii S, Ito G, Murano T, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M: Complete conversion of crypt progenitor cells into ATOH1-positive cells by targeted deletion of DLL1 and Dll4 in LGR5-positive intestinal stem cells. DDW2013. Orland, 2013年5月20日.
- 18) 高原政宏、根本泰宏、大島 茂、渡辺 守: 炎症性腸疾患マウスモデルにおける腸炎惹起性 memory stem cell. 第41回日本臨床免疫学会総会. 下関, 2013年11月27日.
- 19) 永石字司、渡辺 守: 炎症性腸疾患の病態理解と実験モデル. 第41回日本臨床免疫学会総会. 下関, 2013年11月27日.
- 20) 渡辺 守: 腸からヒト全身を繚く新しい時代に向けて. 第68回日本大腸肛門病学会学術集会. 東京, 2013年11月16日.
- 21) 渡辺 守: 炎症性腸疾患の治療を考え直す. 木曜会特別講演会. 東京, 2013年11月14日.
- 22) 土屋輝一郎、堀田伸勝、林 亮平、日比谷秀爾、福島啓太、加納嘉人、渡辺 守: 全小腸マッピング生検によるクローン病病態解析. 第51回小腸研究会. 名古屋, 2013年11月9日.
- 23) 渡辺 守: 消化管からヒト全身を繚く新しい時代の到来. 第102回日本消化器病学会九州支部例会/第96回日本消化器内視鏡学会九州支部例会, 宮崎, 2013年11月8日.
- 24) 渡辺 守: 炎症性腸疾患の最新治療戦略. 13th APPSPGHAN-40th JSPGHAN 2013. 東京, 2013年11月3日.
- 25) 渡辺 守: IBDにおける治療を考え直す. 多摩腸疾患カンファレンス. 東京, 2013年11月1日.
- 26) 荒木昭博、岡田英理子、渡辺 守: 術後胆道へのアプローチ・ダブルバルーン内視鏡の一人法. JDDW2013. 東京, 2013年10月12日.
- 27) 仁部洋一、金子 俊、竹中健人、後藤文男、岡本英子、加納嘉人、福田将義、新田沙由梨、藤井俊光、齊藤詠子、櫻井 幸、岡田英理子、鈴木伸治、荒木昭博、大塚和朗、朝比奈靖浩、渡辺 守: 抗