

## 培養腸上皮幹細胞を用いた炎症性腸疾患に対する粘膜再生治療の開発

研究協力者（顧問） 渡辺 守 東京医科歯科大学 消化器病態学 教授

研究要旨：本拠点では培養腸上皮幹細胞を用いた炎症性腸疾患に対する粘膜再生治療の開発研究を進めている。当該研究の基盤となっている腸上皮幹細胞の体外培養技術を、本邦が世界的に高い技術を誇る内視鏡治療技術と結びつけ、炎症性腸疾患における損傷粘膜の修復促進を可能とする新たな治療を開発することを目的としている。本年度は) 移植用腸上皮の供給・品質評価体制の確立、2) 潰瘍性大腸炎・クローン病患者に対する腸上皮幹細胞移植の実施と安全性の検証、3) 移植用細胞の安全性評価の各項目について研究開発を行い、必要な開発並びに検証の進展が得られた。今後は倫理審査・特定認定再生医療等委員会等の規制対応が課題と考えられる。

### 共同研究者

岡本隆一

（東京医科歯科大学再生医療研究センター）

中村哲也

（東京医科歯科大学消化管先端治療学）

土屋輝一郎

（東京医科歯科大学消化器内科）

佐藤俊朗

（慶應義塾大学消化器内科）

ガノイド培養法を細胞調製室（本学・細胞治療センター）において実施するため、臨床グレードのヒト腸上皮オルガノイドを製造するための単離・培養・出荷法の策定を行った。単離・培養工程に於いて用いる材料に関する規制対応（GMP グレード製品への置換・残留濃度試験の要否に関する検証等）は概ね終了しており、標準作業手順書の策定を実施している。移植用ヒト腸上皮オルガノイドの製造出荷に際し出荷判定の必要となる検査項目・実施時期についても、現在想定される培養期間・目標細胞数を考慮し策定を行っている。感染症等に関する評価項目については技術開発個別課題「iPS 細胞・体性幹細胞由来再生医療製剤の新規品質評価技術法の開発」が開発した新規技術を用い、当該オルガノイドを用いた評価が実施可能であることを検証済みである。

2) 潰瘍性大腸炎・クローン病患者に対する腸上皮幹細胞移植の実施と安全性の検証：

臨床研究の実施に向け、出荷された移植用腸上皮オルガノイドを消化管内視鏡を用いて病変局所に送達し、定着を促す手法の開発と標準化を行った。本年度の開発研究により、内視鏡的移植に適した出荷形態に調製された移植用腸上皮オルガ

### A. 研究目的

本拠点では培養腸上皮幹細胞を用いた炎症性腸疾患に対する粘膜再生治療の開発研究を進めている。当該研究の基盤となっている腸上皮幹細胞の体外培養技術を、本邦が世界的に高い技術を誇る内視鏡治療技術と結びつけ、炎症性腸疾患における損傷粘膜の修復促進を可能とする新たな治療を開発することを目的としている。このため以下の研究開発項目に従い、本年度の研究開発を実施した。

### B. 研究方法・結果

1) 移植用腸上皮の供給・品質評価体制の確立：  
研究室グレードで確立済みのヒト腸上皮オル

ノイドを送達する際に用いる周辺器具の選定・送達及び定着を促す手技・手順について、ブタ腸管モデル等を用いた検証により標準品・標準法の策定を実施した。臨床研究におけるエントリー基準・除外基準・主要評価項目および副次評価項目についても策定を行い、特定認定再生医療等委員会への申請・承認に向けた計画の立案・改訂を進めている。

3) 移植用細胞の安全性評価：移植用腸上皮オルガノイドの安全性評価について、主に非がん化の観点から検証を実施している。非腫瘍組織由来のヒト腸上皮オルガノイドを長期に培養し Copy Number Variation 等の解析を実施した結果から、これらオルガノイドは一定期間の培養のみでは造腫瘍性を容易に獲得し得ないことを検証している。

(倫理面への配慮)

以上の研究の施行に当たっては、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」などに準じて、倫理審査委員会で研究の適否などを議論・審査し承認を得て実施した。

#### C. 考察

いずれの項目においても予定の研究計画に沿い、必要な開発並びに検証の進展が得られた。今後は倫理審査・特定認定再生医療等委員会等の規制対応が課題と考えられる。

#### D. 結論

培養腸上皮オルガノイドを用いた再生医療の実施に向け、各項目の開発が順調に進展した。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Fumiaki Ishibashi, Hiromichi Shimizu, Toru Nakata, Satoru Fujii, Kohei Suzuki, Ami Kawamoto, Sho Anzai, Reiko Kuno, Sayaka

Nagata, Go Ito, Tatsuro Murano, Tomohiro Mizutani, Shigeru Oshima, Kiichiro Tsuchiya, Tetsuya Nakamura, Mamoru Watanabe, Ryuichi Okamoto. Contribution of ATOH1+ Cells to the Homeostasis, Repair, and Tumorigenesis of the Colonic Epithelium. Stem Cell Reports. 2018 Jan 9;10(1):27-42

2. Shiro Yui, Luca Azzolin, Martti Maimets, Marianne Terndrup Pedersen, Robert P Fordham, Stine L Hansen, Hjalte L Larsen, Jordi Guiu, Mariana R P Alves, Carsten F Rundsten, Jens V Johansen, Yuan Li, Chris D Madsen, Tetsuya Nakamura, Mamoru Watanabe, Ole H Nielsen, Pawel J Schweiger, Stefano Piccolo, Kim B Jensen. YAP/TAZ-Dependent Reprogramming of Colonic Epithelium Links ECM Remodeling to Tissue Regeneration. Cell Stem Cell. 2018 Jan 4;22(1):35-49.e7

#### 2. 学会発表

1. F. Ishibashi H. Shimizu A. Kawamoto G. Ito T. Nakata S. Fujii K. Suzuki R. Kuno S. Anzai K. Kuwabara M. Kawai J. Takahashi M. Hama S. Nagata K. Tsuchiya T. Nakamura R. Okamoto M. Watanabe. Reprogrammed Atoh1+ intestinal epithelial cells contribute to regenerate damaged colonic mucosa in DSS-induced colitis. UEGW2017, 2017/11/01, Barcelona(Spain)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし