

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。本邦研究者によって確立された腸上皮幹細胞体外培養技術と世界的に高度かつ先進な技術を有する内視鏡治療技術とを結びつけ、炎症性腸疾患における難治性潰瘍に対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1) 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前年度に引き続き研究開発を行い、臨床研究開始に必要な準備を完了した。今後はFIH試験開始と同試験より得られる各指標の解析を一層進める必要がある。

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器病態学）

土屋輝一郎

（東京医科歯科大学消化器内科）

佐藤俊朗

（慶應義塾大学オルガノイド医学講座）

学・輸血細胞治療センター)において実施するための単離・培養・出荷法に関する手順の策定を行い、標準作業手順書(SOP)を定めた。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・残留濃度試験が必要な低分子化合物に関する検証)も終了している。また、本年度までに安定供給が可能な R-Spondin1 へのプロトコールの変更、新旧プロトコール間における培養オルガノイドの同等性について検証を収量している。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工程内管理項目・規格試験項目についても、現在想定される培養期間・目標細胞数を考慮し策定を完了した。特に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、評価項目の一つとして組み入れている。

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：

FIH試験の開始に向け、移植用腸上皮オルガノイドを経内視鏡的に病変局所に送達し、定着を促す手法の標準化を完了した。ミニプタモデル等を用いた検討により、内視鏡的移植に適した出荷形態に加え、移植面積あたりの適切な投与細胞数等を

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。本邦研究者によって確立された腸上皮幹細胞体外培養技術と世界的に高度かつ先進な技術を有する内視鏡治療技術とを結びつけ、炎症性腸疾患における難治性潰瘍に対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：研究室で確立済みのヒト腸上皮オルガノイド培養法を本学医学部附属病院の細胞調製室(本

定めた。更に内視鏡的に送達する際に用いる周辺器具を選定し、送達する際の手技・手順について、コールドラン等を通じて検証を行った。FIH 試験実施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、策定を完了した。本年度は臨床研究法施行に伴う省令改正にも対応するため、特定認定再生医療等委員会への変更申請を行い、jRCT への登録・公開も完了している。

3) 移植用細胞の安全性評価：移植用腸上皮オルガノイドについて、主に非がん化の観点から安全性評価を引き続き実施した。長期に培養した移植用腸上皮オルガノイドについて、核型(Q-Band)や Copy Number Variation 等の解析を実施した結果、これらオルガノイドは想定される培養期間には造腫瘍性を容易に獲得し得ないことを確認している。

(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」等の該当する規則・指針に則り、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。倫理委員会・特定認定再生医療等委員会等の審査も完了しており、今後は FIH 試験開始に向けたコールドラン等を踏まえた院内体制の検証が必要と考えられる。

D. 結論

培養腸上皮オルガノイドを用いた再生医療(FIH 試験)の実施に向けた各項目の開発が完了し、試験開始の準備が整った。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Anzai S, Kawamoto A, Nagata S, Takahashi J, Kawai M, Kuno R, Kobayashi S, Watanabe S, Suzuki K, Shimizu H, Hiraguri Y, Takeoka S, Sugihara HY, Yui S, Oshima S, Watanabe M, Okamoto R. TGF- promotes fetal gene expression and cell migration velocity in a wound repair model of untransformed intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Jan 31. pii:S0006-291X(20)30183-2.
2. Okamoto R, Shimizu H, Suzuki K, Kawamoto A, Takahashi J, Kawai M, Nagata S, Hiraguri Y, Takeoka S, Sugihara HY, Yui S, Watanabe M. Organoid-based regenerative medicine for inflammatory bowel disease. *Regen Ther.* 2020 Jan 13;13:1-6.
3. Shimizu H, Suzuki K, Watanabe M, Okamoto R. Stem cell-based therapy for inflammatory bowel disease. *Intest Res.* 2019 Jul;17(3):311-316.

2. 学会発表

1. 岡本隆一、清水寛路、渡辺 守. 【消化器疾患と再生医療】炎症性腸疾患に対する再生医療の開発. JDDW2019, 2019/11/23,
2. Okamoto R, Watanabe M. 【Focus Session: Cutting Edge Regenerative Medicine Using Stem Cells】Intestinal Epithelial Stem Cell Organoids and IBD. ISSCR2019, 2019/6/26, Los Angeles (USA)

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