

消化管再生医療の最前線

東京医科歯科大学 消化器病態学

講師 水谷 知裕 先生

腸管上皮幹細胞の革新的な培養技術であるオルガノイド培養法を基盤として、炎症性腸疾患に対する新規再生治療である、患者由来腸管上皮幹細胞を用いた粘膜再生治療に携わるとともに、未来の消化管再生医療を牽引するiPS細胞由来の腸組織作製技術の開発を行っています。

私は、消化器内科医として消化管という身近で複雑な臓器の仕組みとその破綻で起こる病気の原因解明に魅力を感じてきました。その秩序の根幹を成す「腸管上皮幹細胞」の研究を通じて、未来の消化管再生医療の開発を目指しています。

◆体内で絶え間なく入れ替わる腸上皮幹細胞

消化管は体腔内の器官でありながら、生体内最大の表面積で外界と接する臓器です。腸管上皮は、その管腔の表面を覆い、外界との物理的防御壁だけでなく、食物の消化・吸収、さらにはホルモン分泌や免疫応答といった数多くの重要な機能を果たしています。腸管上皮は突出する絨毛と陥凹構造の陰窩で構成されており、陰窩底部に存在する腸管上皮幹細胞が活発に増殖分裂しながら4~5日で組織の更新を繰り返しています。活発に分裂する腸管上皮幹細胞から生み出される前駆細胞は、更に分裂・増殖しながら絨毛方向へ移動して、特定の機能を有する腸管上皮細胞へと分化します。このように、腸管上皮組織は幹細胞、分化細胞およびこれらを取り巻く間質細胞の緻密な協調により維持されています。

◆腸上皮オルガノイドの樹立と移植治療の可能性

腸管上皮幹細胞の体外での培養、増殖は長らく不可能と考えられていましたが、2009年に画期的なマウス小腸上皮幹細胞の三次元培養法が報告されました¹。幹細胞を含む腸管上皮陰窩を単離し、細胞外マトリックスゲル内に包埋し、上皮幹細胞の微小環境を模倣した培養因子を加えると腸管上皮細胞が球状立体構造で組織を模倣することから「オルガノイド」と名付けられました。この腸管上皮オルガノイド培養の確立により、再生医療の基盤となる患者由来の体性上皮幹細胞を体外で増殖させる技術の道が拓けました^{2,3}。これと並行して、我々の研究グループではマウス大腸オルガノイド生育技術を確立し、潰瘍性大腸炎モデルであるDSS腸炎によるマウス直腸の潰瘍部にオルガノイドを移植し生着させることに成功しました⁴。移植されたオルガノイドは被覆した潰瘍の再生を促進し、腸管上皮幹細胞が移植のリソースとなることが明らかとなりました。

◆患者自身の幹細胞を増やす オルガノイド移植療法

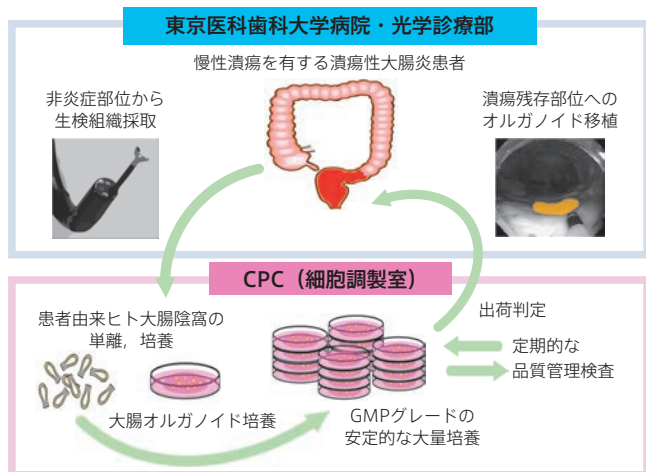
潰瘍性大腸炎は、わが国に22万人を超える患者がいる難病であり、患者数の急増に加え、既存治療に不応な難治例の増加への対応が課題となっています。本疾患の治療法は炎症制御を主眼としてきましたが、現行の免疫調節薬にも不応、もしくは再発する症例が少なからず存在すること、寛解（治癒）の維持には粘膜上皮の再生（粘膜治癒）が重要であることが明らかとなり、腸管上皮の損傷・機能的破綻に対する上皮再生治療が期待されるようになりました。我々は「腸管上皮幹細胞移植による粘膜治癒の可能性」を基盤として、「難治性潰瘍性大腸炎に対する自家腸管上皮幹細胞移植」の開発を行っています。First-in-Humanの達成には、臨床応用で要求される培養条件を確立する必要があるため、臨床グレードのI型コラーゲンを細胞外基質として利用し、細胞の単離、培養で使用する全ての試薬、培養因子をGMPグレードに切り替え、安定した培養を可能としました。

こうして、潰瘍性大腸炎患者自身の大腸非炎症部位から採取した内視鏡生検組織から、病院内の細胞調製室内で腸管上皮オルガノイドを樹立、安全かつ安定的に培養増殖し、患者本人の体内へと戻す自家移植法の手順が確立されました（p.4図参照）。そして2022年7月、我々は潰瘍性大腸炎

略歴

2005年 東京医科歯科大学 医学部医学科卒業、2012年 東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科博士過程（医学）修了。2016年から2020年にオランダへ留学、ヒュブレイト研究所ポストドクトラルフェロー。2020年 東京医科歯科大学 消化器病態学助教を経て2022年より東京医科歯科大学 消化器病態学講師。





図：難治性潰瘍性大腸炎に対する自家腸上皮幹細胞移植の概要

患者由来の自家腸上皮オルガノイドを患者自身の慢性潰瘍病変に移植する First-in-Human 臨床研究を世界で初めて実施しました。現在、同技術を用いた 2 例目以降の移植を進めており、潰瘍性大腸炎に対する自家腸上皮オルガノイド移植の安全性及びその効果を明らかにしていきます。

◆消化管そのものを再生する技術

上述の患者由来腸上皮オルガノイドには、腸組織そのものを再生する能力は期待できません。そこで、我々は現在ヒト iPS 細胞から誘導する腸オルガノイドの開発⁵を通じて、機能を有する腸組織の体外での構築を目指しています。これにより、難治性炎症性腸疾患や小児先天性腸疾患において腸管切除に伴う短腸症候群に対する根治的な腸組織移植技術の発展を期待しています。

参考文献

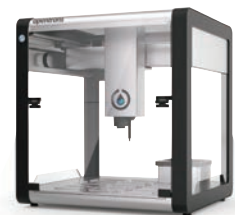
- Sato, T., et al., Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche, *Nature*, **459**, 262~265 (2009). [PMID : 19329995]
- Jung, P., et al., Isolation and *in vitro* expansion of human colonic stem cells, *Nature Medicine*, **17**, 1225~1227 (2011). [PMID : 21892181]
- Sato, T., et al., Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium, *Gastroenterology*, **141**, 1762~1772 (2011). [PMID : 21889923]
- Yui, S., et al., Functional engraftment of colon epithelium expanded *in vitro* from a single adult Lgr5⁺ stem cell, *Nature Medicine*, **18**, 618~623 (2012). [PMID : 22406745]
- Takahashi, J., et al., Suspension culture in a rotating bioreactor for efficient generation of human intestinal organoids, *Cell Reports Methods*, **2**, 100337 (2022). [PMID : 36452871]

オープンソースの自動分注ロボットシステム OT-2 Refresh

ピペットチップ・プレート・チューブラックなど
最大 11 種類を配置して、分注操作を自由にデザイン可能

Web に動画あり

本体サイズ	630 ^W ×570 ^D ×660 ^H mm
外部接続	イーサネット, USB 2.0, WiFi 2.4 GHz
電源	100~240 V AC / 50~60 Hz
質量	48 kg



プロトコルの入手・作成方法

- メーカー Web からダウンロード
- Web 上の専用アプリでプロトコルを作成
- Python プログラミングで自由に作成

[メーカー : OTO]

品名	商品コード	包装	価格(¥)
OT-2 Refresh	999-00111	1 unit	1,610,000

※ご使用には別途 PC (OS : Windows 10 / Mac OS 10.10 以降) が必要です。

※本体 (#999-00111) のみでは使用できません。ご注文の際には、下記の専用電動ピペット (最低 1 本) を併せてご購入下さい。

別売品

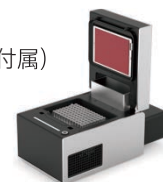
■専用電動ピペット

[メーカー : OTO]

タイプ	吐出範囲	商品コード	包装	価格(¥)
シングルチャンネル	P20	1 µl~20 µl	999-00002	1 piece 310,000
	P300	20 µl~300 µl	999-00003	1 piece 310,000
	P1000	100 µl~1,000 µl	999-00004	1 piece 310,000
8チャンネル	P20	1 µl~20 µl	999-00005	1 unit 495,000
	P300	20 µl~300 µl	999-00006	1 unit 495,000

■オプション (詳細はフナコシ Web をご覧下さい)

- チューブラック
- 温度制御モジュール (アルミブロック 3 種付属)
- 磁気モジュール
- ヒーターシェーカーモジュール
- 専用サーモサイクラー
- HEPA モジュール



専用サーモサイクラー
(#999-00174)



下記の Web ページで、本製品と AIM Biotech 社 organiX Plate (p.5) を用いた、オルガノイドやスフェロイド培養の自動化、スケールアップに関するウェビナーがご覧いただけます。

<https://aimbiotech.com/learn/laboratory-automation>