

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22657

研究課題名（和文）オルガノイドを用いた慢性呼吸不全に対する革新的治療法の開発

研究課題名（英文）Innovative therapy for chronic respiratory failure using organoid technique

研究代表者

芳川 豊史（Yoshikawa, Toyofumi）

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00452334

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：肺移植は、末期呼吸器疾患に対する最後の治療として確立したが、脳死ドナー不足は重大な問題である。「肺移植に代替可能な慢性呼吸不全に対する新規治療法」が期待され、本研究では、肺移植に代替可能な慢性呼吸不全に対する新規治療技術の基盤を創出することを目標とし、「オルガノイド」作成技術を利用することを目指す。まず、マウス胎仔肺の同種同所性移植モデルを用いて、形態と機能について検討を行い、胎仔肺が傷害肺に対して肺機能の改善に寄与することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の最終目標は、腎不全における人工透析、重症心不全における人工心臓のように、末期呼吸不全においても、肺移植に代替するような人工臓器を含めた新規治療法の開発を行うことであり、社会的意義は大きい。今回、オルガノイドを使用する前の段階として、マウス胎仔肺を用いた同所性移植を行い、傷害肺の機能が改善されるという結果を得ることができたことは、現在までの進捗としてはある一定の結果を示すことができたという点で、学術的意義がある。今後、どのタイミングでどのようなオルガノイドをどこに移植するのかについては、検討する必要がある。さらに、オルガノイドよりよい代替物があるのかなどの課題を有する。

研究成果の概要（英文）：Lung transplantation has been established as one of the last treatments for end-stage lung diseases, but the donor shortage is a great issue. A new treatment option which can be an alternative for lung transplantation can be expected. In this study, we focused on to create the concept of new treatment option for end-stage lung diseases, which can be an alternative for lung transplantation. We also aimed to use organoid technique for this strategy. First of all, we performed a study using a mouse fetal allogeneic transplantation model, looking at morphological and functional aspects. We found that fetal tissues could alleviate the functions of injured lungs.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：肺移植 慢性呼吸不全 オルガノイド 腸呼吸 液体換気

## 1. 研究開始当初の背景

肺移植は末期呼吸器疾患に対する最後の治療であるが、脳死ドナー不足は世界的に深刻な問題である。脳死ドナーの発生数に依存しない新規治療法の開発が根本的かつ喫緊の課題である。一方、他の臓器移植においては、心臓における人工心臓や腎臓における人工透析器など、種々の人工の代替臓器が存在する。このような現状を鑑み、肺移植医療に代替する何らかの手段があるのではないかという発想から本研究を着想するに至った。そこで、今回、大きな目標として、種々の臓器のオルガノイドを開発してきた共同研究者らとともにヒトiPS由来の肺オルガノイドを用いて肺移植に代替するような慢性呼吸不全に対する新規治療法の開発を旨とする萌芽的な研究を行うに至った。

## 2. 研究の目的

脳死ドナーの発生数に依存しないような、肺移植に代替可能な慢性呼吸不全に対する新規治療法を開発することを最終目的として、本研究を行った。以下、実際の研究に沿って目的を簡潔に述べる。

(1) 「肺オルガノイド」を用いた同所性移植を目指した研究の前段階として、効率的に移植する前段階として、マウス胎仔肺組織を同種同所性移植した場合に、ドナーとなる移植された胎児肺組織が機能するのか、また、レシピエントの肺組織に交通が生じるのかどうか、を検討する。

(2) 研究が先行して進んだ「腸オルガノイド」を将来的に使用する可能性を考慮し、その前段階として、腸を用いた呼吸がどの程度全身の酸素化に寄与するのか、を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 「肺オルガノイド」を用いた同所性移植を目指した研究

まず、胎仔肺 (C57BL/6や C57BL/6-Tg・CAG-EGFPマウス) を同種に同所性移植する。5日後にパラコート投与し傷害肺を作成後、4週観察し評価する。さらに、肺を透明化し、胎仔肺とレシピエント肺の気道のつながりをライトシート顕微鏡で評価する。

### (2) 「肺オルガノイド」を用いた異所性移植

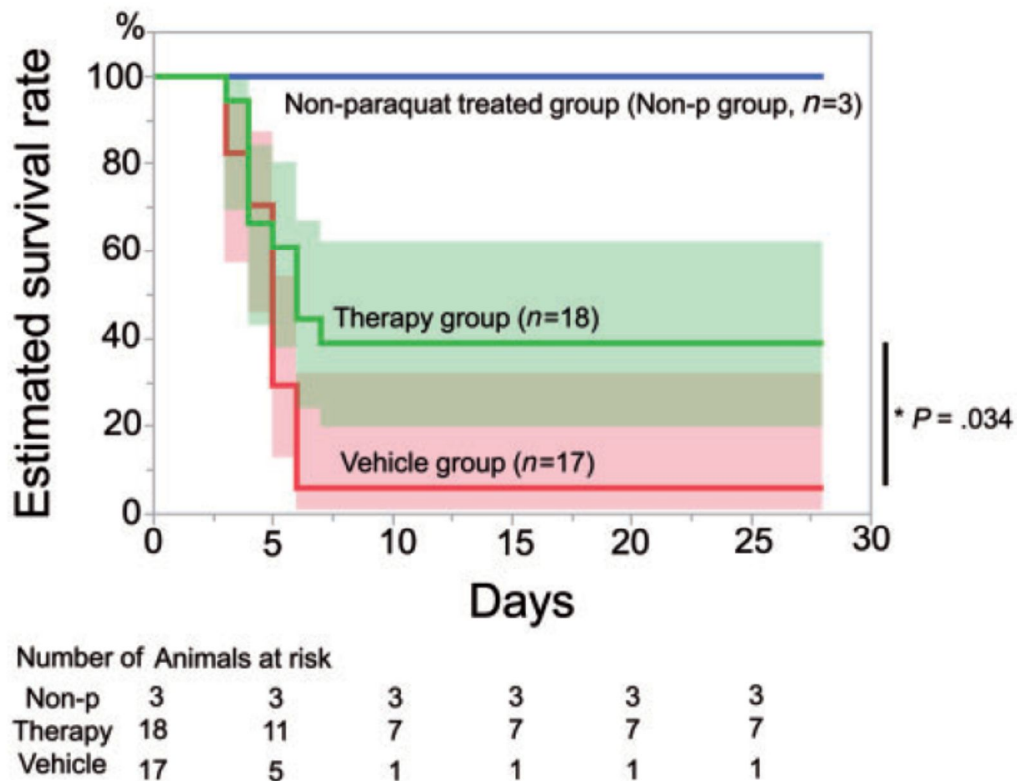
C57BL/6マウスに硫酸デキストラン (DSS)、塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) を投与。3日後に腸に酸素投与し酸素化能を評価する。低酸素probe、病理などで酸素化改善の検証を追加する。

## 4. 研究成果

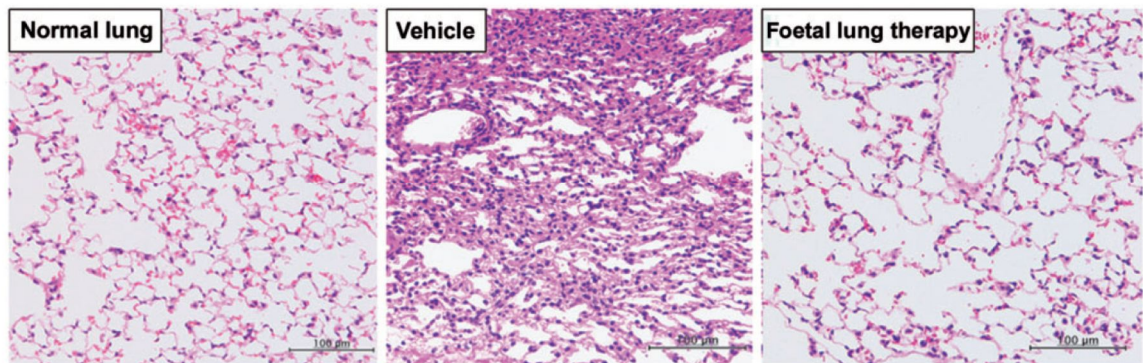
### (1) 「肺オルガノイド」を用いた同所性移植を目指した研究

パラコートで作成した傷害肺に胎児肺を移植した治療群 (Therapy group) は、vehicleのみを投与した非治療群 (Vehicle group) より有意に生存率が高かった (図1)。また、

組織学的にも肺の障害が少ないこと、胎仔肺が生着していることも組織学的に証明された。しかしながら、透明化技術をもって、移植肺を詳細に確認したが、胎仔肺とレシピエント肺の気道が連続する所見を確認することができなかった。



( 図 1 )



( 図 2 )

本研究内容については、呼吸器外科領域でのトップジャーナルである英文誌のEur J Cardiothorac Surgに採択された( 1 )。

次に、免疫不全マウスを用いて、「肺オルガノイド」の同所性移植を計画していたが、共同研究者による「肺オルガノイド」の作成が予定通り進まず、現有する「腸オルガノイド」を用いる腸呼吸の研究を進めた。

## ( 2 ) 「肺オルガノイド」を用いた異所性移植

次に、「肺オルガノイド」の腸への異所性移植での評価をも行い、腸呼吸のみとの比較を行い、より効

率的な酸素化改善が認められるか比較を行う予定であったが、前述のように、「肺オルガノイド」の開発が間に合わなかった。また、別実験としてヒトiPSより作製した「腸オルガノイド」を免疫不全マウスに移植し小腸を作成後、同マウスの腸間膜に「腸オルガノイド」を異所性移植し、生着後の2週間後に腸呼吸だけで酸素化が改善するかも考慮していたが、腸呼吸の結果が前述のように期待できるものであったため、腸呼吸単独の開発を進めることとした。

腸呼吸については、腸呼吸を行うドジョウなどの生物の形態学的な検討を基に、腸の粘膜を擦過して脱落させた状態を作成し、その部位に酸素を投与して全身の酸素化が改善するかを確認した。未だ、Preliminaryなデータではあるが、改善する条件を同定することができ、現在その条件の詳細な検討や酸素化をさらに改善する薬剤の同時投与などの条件検討を行っている。

## 文献

1) Okabe R, Chen-Yoshikawa TF, Yoshizawa A, Hirashima T, Saito M, Date H, Takebe T. Orthotopic fetal lung tissue implantation attenuated paraquat-induced severe lung injury in mice. *Eur J Cardiothorac Surg* 2020 Sep 1;58(3):638-645.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Okabe R, Chen-Yoshikawa TF, Yoshizawa A, Hirashima T, Saito M, Date H, Takebe T	4. 巻 58
2. 論文標題 Orthotopic foetal lung tissue direct injection into lung showed a preventive effect against paraquat-induced acute lung injury in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur J Cardiothorac Surg	6. 最初と最後の頁 638-645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ejcts/ezaa091	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Okabe R, Chen-Yoshikawa TF, Yoshizawa A, Hirashima T, Gochi F, Yamagishi H, Takahagi A, Saito M, Ohsumi A, Nakajima D, Hamaji M, Date H, Takebe T
2. 発表標題 Orthotopic Implantation with Immature Mouse Fetal Lung Did Not Self-Organize Airways Structures, but Improved Prognosis of Mice with Paraquat-Induced Severe Lung Injury
3. 学会等名 SHLT 39th Annual Meeting and Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	武部 貴則 (Takebe Takanori) (20612625)	横浜市立大学・先端医科学研究センター・特別教授  (22701)	
研究分担者	伊達 洋至 (Date Hiroshi) (60252962)	京都大学・医学研究科・教授  (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------