

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19540

研究課題名（和文）短腸症候群モデルを用いた新規移植療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel transplantation therapy using a short bowel syndrome model

研究代表者

杉本 真也（SUGIMOTO, Shinya）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：20626387

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）：これまで細胞移植の対象としてきた短腸症候群モデルラットの切除腸管長や部位の変更、周術期管理の改善によって、移植組織解析効率の上昇へとつながった。小動物レベルにおける移植先組織の移植前処置の条件の改変し、その結果を大動物へと応用した。同様にex vivo、in vivoでの課題抽出によって、従来は困難であった大動物レベルでの上皮剥離効率向上へとつながった。本研究によって、ヒトへの応用へ向けた研究基盤が構築された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでにない新しいコンセプトでの腸管への小腸由来細胞移植の研究開発を行う上で、短腸症候群モデル動物における知見の創出は重要である。また、短腸症候群に対する免疫抑制を要さない新規移植療法の開発を目指す上で、ヒトへの応用を見据えた挑戦的な研究展開に欠かせない大動物実験の研究基盤が構築されたことは、今後の小腸由来細胞移植の大動物コンセプト確認や安全性の検証のために重要な意義をもつ。今後の研究への活用が期待される。

研究成果の概要（英文）：Modification of the length and site of the resected intestine and improvement of perioperative management of the short bowel syndrome rat model, which has been the subject of cell transplantation, led to an increase in the efficiency of transplant tissue analysis. The conditions of pre-treatment of the recipient tissue at the small animal level were modified and the results were applied to large animals. The extraction of issues ex vivo and in vivo as well as at the small animal level has led to improved epithelial removal efficiency at the large animal level, which has previously been difficult to achieve. This research has established a basic foundation for research aimed at human application.

研究分野：消化器病学

キーワード：短腸症候群 小腸移植 幹細胞 腸管不全 GLP-2アナログ

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

重症の短腸症候群に対する唯一の根治療法となりうる小腸移植は、小腸の他の臓器に比して強い拒絶反応のため移植後の管理に難渋することが多く、実施例はごく少数に限られているのが現状である。近年、移植後の免疫抑制剤の開発によって治療成績は改善したとはいえ、5年生存率は6割に届いていない。また、治療に成功しても生涯免疫抑制剤の内服が必要となり、免疫抑制剤による腫瘍や感染といったリスクを抱えていく必要がある上に、慢性拒絶が起り移植グラフトを切除することになってしまう可能性もある。十分な治療法がなく、予後不良である重症の短腸症候群をはじめとする小腸の難治性疾患に対する新規治療法開発へのニーズは大きい。自己の小腸由来細胞を用いた移植治療であれば、免疫抑制剤を用いる必要がなく、移植治療において問題となる拒絶反応を克服できる可能性があると考え、本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究では、自己の小腸由来細胞を移植細胞として用いることによって、生涯の免疫抑制を要さない新規移植療法の開発を目指すための、短腸症候群モデル動物における知見の創出とヒトへの応用へ向けた研究基盤の構築を目的とする。

3. 研究の方法

これまでに、ラットにおいて確立してきた自己を想定した小腸細胞を移植細胞として用いて、免疫抑制剤を用いずに小腸の機能をもつ組織を再構築するコンセプトをさらに発展させ、ヒトへの応用を目指した研究基盤の構築を目指す。

これまで、細胞を移植したラットについては、生存期間を明確なエンドポイントとした解析を行うために、Treitz 靱帯から回腸末端までの全小腸切除を行った長期生存しえない短腸症候群モデルとしてきた。しかし、動物への負担も大きく、組織を得られない可能性もあり、効率的な解析をすすめることが難しいデメリットがある状況となっていた。細胞移植の小動物コンセプトは確認されたことから、小腸グラフトの移植効果、移植粘膜組織の評価をより効率化するため、残存させる小腸の長さ/部位（空腸、回腸）や、移植細胞の培養条件、臨床で短腸症候群に用いられる GLP-2 製剤や経腸栄養剤の併用など、移植手法を含むプロトコルの最適化をはかる。これらの検討結果、大動物実験への足掛かりとして活用する。

ラットにおける実験から、手術時に栄養血管の遮断を行うことで効率的な移植先腸管の粘膜剥離が可能となることを見出している。ヒトの腸管はラットとはサイズが大きく異なるため、手術手技を含め、ラットにおける手法をすべてにおいてスケールアップさせる必要がある。ラットにおいて確立した手法を大動物へと応用し、その問題点や、施行可能性を検証する。

4. 研究成果

これまでに開発してきた致死的な短腸症候群モデルラットの切除する腸管長について、残存させる空腸または回腸の長さを変更し、より緩やかな体重減少を示すモデルへと変更した。残存回腸長は残存空腸長に比して、生存に大きく寄与することが確認できたが、空腸の残存長を延長させることによって体重減少を緩徐とすることが可能になった。これにより、長期の解析が可能となるとともに、比較的長期にわたる一定期間経過後に移植組織を得られる確率を高めることに成功し、効率的な解析基盤の構築へとつながった。また、臨床においても用いられている経腸栄養剤を併用することで、禁食期間短縮によって周術期の体重減少を予防することが可能となった。周術期管理の改善へとつながり、結果的に解析の効率が改善した。また、teduglutide など

の GLP-2 アナログ製剤の効果を検証し、絨毛伸長への有効性を確認できた。

小動物レベルから大動物レベルへの移行に先立って、小動物レベルにおける移植先組織の移植前処置の条件検討を *ex vivo*, *in vivo* で行った結果、組織障害を低減しつつ効率的な処置が可能となり、これまでに比して、手術関連処置に伴う合併症リスクを低減するプロトコル策定へとつながった。この手法を大動物へと応用し、同様に *ex vivo*, *in vivo* での課題抽出から、従来は困難であった大動物レベルでの上皮剥離効率の向上へとつながった。中心静脈カテーテルによる中心静脈栄養を含めた周術期管理により、大動物における腸管切除を含む手術についても、生存実験として実施可能となり、本研究によって、ヒトへの応用へ向けた研究基盤が構築された。短腸症候群に対する免疫抑制を要さない新規移植療法の開発を目指す上で、ヒトへの応用を見据えた挑戦的な研究展開に欠かせない大動物実験の研究基盤が構築されたことは、今後の小腸由来細胞移植の大動物コンセプト確認や安全性の検証のために重要な意義をもつ。世界的にも存在しない重要な基盤データの取得に成功しており、今後の研究への活用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Sugimoto Shinya, Kobayashi Eiji, Kanai Takanori, Sato Toshiro	4. 巻 71
2. 論文標題 In Vivo Intestinal Research Using Organoid Transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Keio Journal of Medicine	6. 最初と最後の頁 73 ~ 81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2302/kjm.2022-0019-IR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ishikawa Keiko, Sugimoto Shinya, Oda Mayumi, Fujii Masayuki, Takahashi Sirirat, Ohta Yuki, Takano Ai, Ishimaru Kazuhiro, Matano Mami, Yoshida Kosuke, Hanyu Hikaru, Toshimitsu Kohta, Sawada Kazuaki, Shimokawa Mariko, Saito Megumu, Kawasaki Kenta, Ishii Ryota, Taniguchi Koji, Imamura Takeshi, Kanai Takanori, Sato Toshiro	4. 巻 163
2. 論文標題 Identification of Quiescent LGR5+ Stem Cells in the Human Colon	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1391 ~ 1406.e24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2022.07.081	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sugimoto Shinya, Iwao Yasushi, Shimoda Masayuki, Takabayashi Kaoru, Sato Toshiro, Kanai Takanori, Keio IBD Collaborators	4. 巻 162
2. 論文標題 Epithelium Replacement Contributes to Field Expansion of Squamous Epithelium and Ulcerative Colitis-Associated Neoplasia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 334 ~ 337.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2021.09.051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sugimoto Shinya, Sato Toshiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Organoid vs In Vivo Mouse Model: Which is Better Research Tool to Understand the Biologic Mechanisms of Intestinal Epithelium?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 195 ~ 197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2021.06.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Shinya, Sato Toshiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Rebuttal to: In Vivo Studies Should Take Priority When Defining Mechanisms of Intestinal Crypt Morphogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2021.09.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wakisaka Yusuke, Sugimoto Shinya, Sato Toshiro	4. 巻 40
2. 論文標題 Organoid Medicine for Inflammatory Bowel Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cells	6. 最初と最後の頁 123 ~ 132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/stmcls/sxab020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 杉本 真也	4. 巻 6
2. 論文標題 腸管上皮オルガノイド	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 消化器病学サイエンス	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 杉本 真也	4. 巻 21
2. 論文標題 オルガノイドを用いた臓器転用アプローチによる短腸症候群治療	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 再生医療	6. 最初と最後の頁 38 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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35件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 16件）

1. 発表者名 Shinya Sugimoto, Takanori Kanai, Toshiro Sato
2. 発表標題 Intestinal research with replacement of colonic epithelium by organoid transplantation
3. 学会等名 The 108th General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉本 真也, 金井 隆典, 佐藤 俊朗
2. 発表標題 液流動による細胞分化誘導と小腸絨毛形成への応用
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinya Sugimoto
2. 発表標題 Generation of Functional Small Intestine Tissue by Organoid Transplantation
3. 学会等名 The 10th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉本 真也
2. 発表標題 消化管オルガノイド移植の新潮流
3. 学会等名 第43回日本炎症・再生医学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉本 真也
2. 発表標題 小腸移植と再生医療のクロストーク
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shinya Sugimoto, Eiji Kobayashi, Toshiro Sato
2. 発表標題 Proof-of-principle investigation for organoid-based hybrid intestine in a rat short bowel syndrome model
3. 学会等名 17th Congress of the Intestinal Rehabilitation & Transplant Association (CIRTA 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 真也
2. 発表標題 小腸上皮オルガノイドによる再生研究
3. 学会等名 第42回日本炎症・再生医学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinya Sugimoto, Eiji Kobayashi, Masayuki Fujii, Yuki Ohta, Keiko Ishikawa, Kosaku Nanki, Yoji Hakamata, Takanori Kanai, Toshiro Sato
2. 発表標題 Development of a treatment for short bowel syndrome using small intestinal organoids
3. 学会等名 The 16th Congress of European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 真也、金井 隆典、佐藤 俊朗
2. 発表標題 小腸領域におけるオルガノイドを用いた再生医療開発
3. 学会等名 第63回 日本消化器病学会大会 (JDDW 2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 真也
2. 発表標題 オルガノイドを用いた短腸症候群治療のコンセプト検証
3. 学会等名 第12回日本炎症性腸疾患学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------