

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：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拠点
2. 研究開発代表者：渡辺 守（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）
3. 研究開発の成果

培養腸上皮幹細胞を用いた再生医療の臨床研究開始に向け、①安全性の高い移植用腸上皮細胞の単離・培養法の開発、および②消化管内視鏡を用いて移植用腸上皮細胞を目的部位まで安全かつ効率的に送達する手法の開発に大別して研究開発を実施した。各項目の主な成果は以下の通りである。

### ①安全性の高い移植用腸上皮細胞の単離・培養法の開発

本年度までに単離・培養工程の標準化を概ね終了している。従来法では熟練した培養士による手作業が不可欠であった培養開始材料組織の細片化を行う工程について、同作業に特化した自動細断装置を新たに作製し、手作業による工程と同等の効率でより安定した目的細胞の単離が実施可能であることを検証・確認した。また、目的細胞の単離のため実施する組織消化酵素反応工程において、用いる消化酵素の種類・組み合わせ・至適濃度・至適反応時間等について検討を重ねた結果、全ての試薬をGMP 準拠品に置換したプロトコールにおいても、樹立済みの非GMP 試薬を用いた際と同等の単離効率・培養効率を達成することは可能であることを確認した。

培養工程においても、全ての増殖因子及び細胞外マトリックスをGMP 準拠品に置換した培養条件の下で、樹立済みの非GMP 試薬を用いた培養条件と同等の培養効率を達成し得ることを確認した。今後、同培養系については細胞調製室内での実施と出荷を想定した手順書の作製が課題となるが、出荷作業における効率化を図るため、大量培養に適したラージスケールの培養法の開発も進め、培養効率を損なうことなく一定の規模への培養スケールの拡大は実現可能であることも確認した。

従って、細胞調製室内で移植用腸上皮幹細胞を製造するために必要な単離・培養に関する基本的技術については標準化を達成し得ているものと考えられ、今後は安全性を確保し規制に対応した標準作業手順書の作製に向け、製造工程由来不純物試験等の必要性や適切な品質管理項目について検討を進める方針である。

### ②消化管内視鏡を用いて移植用腸上皮細胞を目的部位まで安全かつ効率的に送達する手法の開発

昨年度に引き続き、移植用腸上皮細胞の送達法の開発を進め、同法実施に必要なデバイスを作製するにあたり適切な素材・口径等の選定を進めた。複数の候補品における試験を実施した結果、移植用腸上皮の形態・生存率・培養増殖効率のいずれも大きく損なうことのない候補品を選定し得ている。

また、送達した移植用腸上皮細胞の定着促進に用いる手法の開発を進め、移植用腸上皮細胞を目的部位に送達した後にシート型組織補強剤で被覆し、噴霧型の組織接着剤でこれを固定する手法について重点的に検討を実施した。消化管内視鏡を用いて同法を実施する際の具体的な手順について体外モデルで検証を実施し、安全かつ円滑に遂行可能な手法・時間を決定した。同法の非細胞治療としての安全性を検証するため、炎症性腸疾患の患者を対象とした臨床研究の実施を進め「難治性炎症性腸疾患に対する組織補強材効果に関する研究(治験等審査委員会承認、UMIN000013524)」として10例に対する実施を終了した。いずれの症例においても有害事象の発生は認めず、本研究を通して同法の安全性を示す一定の知見が得られたものと考えられる。

従って本年度までの研究において消化管内視鏡を用いた移植用腸上皮細胞の送達・定着に関する技術については基本要件の確認を終了しているものと考えられ、今後は本年度までに開発した技術を組み合わせることにより、病変部位への集積・定着を促す手順の標準化を更に進める方針とした。