

【基盤研究(S)】

生物系 (医歯薬学Ⅱ)



研究課題名 独自の培養技術を用いた大腸上皮細胞機能解析と臨床応用技術開発

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

わたなべ まもる
渡辺 守

研究分野：医歯薬学

キーワード：下部消化管学 (小腸、大腸)

【研究の背景・目的】

腸管上皮再生機構を解明し、新しい上皮再生治療へ応用することが期待されている。しかしながら腸管上皮を体外で維持し、操作し、解析することが困難であったこと、すなわち正常腸管上皮細胞培養技術が未確立であったことが本研究領域の進展の障壁となってきた。本研究では我々が独自に開発した正常大腸上皮培養技術を応用し、上皮幹細胞の性状解析や上皮による生体防御機能解明を目指した「大腸上皮細胞機能解析」をおこなうこと、およびヒト大腸疾患の診断・治療ツールとなすべく「培養大腸上皮の臨床応用技術開発」をおこなうことを目的とする。

【研究の方法】

われわれは独自の単離技術、細胞外基質、および蛋白因子添加培地の組み合わせにより、マウス大腸上皮細胞がきわめて純度の高いまま数ヶ月にわたり、しかも無血清培地中で培養可能であることをすでに見出した。本申請研究ではこれら細胞を用いて以下の解析をおこなう。

1) 大腸上皮細胞機能解析

a) 幹細胞単離・培養技術の確立と性状解析

- ・大腸上皮幹細胞のみを選択的に増やす培養技術開発
- ・大腸上皮幹細胞の増殖促進・抑制因子および分化誘導因子の探索とその作用の解明

b) 大腸上皮による生体防御機構解析

- ・大腸上皮におけるオートファジー機能の解析
- ・サイトカイン産生能・抗原提示機能の解析
- ・微生物・食餌成分に対する正常大腸上皮細胞の免疫応答機能解析

2) 培養大腸上皮細胞の臨床応用技術開発

a) 培養大腸上皮細胞を用いた細胞治療の基礎検討

EGFP トランスジェニックマウス大腸上皮を培養し、これを腸炎モデルマウスへ移入し、レシピエント腸管への生着、生存、増殖能を評価する。細胞移入経路、量、回数、時期、腸炎改善効果などによる移植効率を解析する。

b) ヒト大腸上皮細胞培養技術確立

内視鏡検体よりヒト大腸上皮細胞を長期培養しう

る条件を明らかにする。血清など動物由来因子の排除を最優先し、低分子化合物の添加を中心とした培養条件を探索する。

c) バイオマテリアルとしての応用技術

- ・上皮シート作成技術の開発と物質輸送 (吸収・排出) 評価システムの構築

d) 診断・治療ツールとしての応用技術

- ・上皮機能障害評価システムの構築
- ・薬剤感受性試験への利用

【期待される成果と意義】

本研究で得られる成果は、これまで不可能であった大腸上皮幹細胞の *in vitro* 操作を可能とし、正常大腸上皮の増殖・分化機構の解明に寄与するとともに、ヒト疾患における上皮障害機構にも大きな知見を提供するであろう。さらに培養大腸上皮細胞を移植治療のリソースとして利用する技術、あるいは異なる個人から得られる培養細胞を利用し薬剤感受性試験や腸管上皮機能を個別に評価する技術開発が見込まれ、ヒト消化管疾患領域における再生医療およびオーダーメイド医療の進展にも大きなインパクトを与えるであろう。本研究は、新しく確立した大腸上皮細胞培養技術を加える独創的かつ先駆的研究であり、申請者のグループのみ遂行可能で、ヒト消化管疾患の診断・治療への臨床応用にも高い意義を有する成果が期待されるものと考えられる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1) Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, Ikeda Y, Hibi T, Inazawa J, Watanabe M: Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nature Med.* 8: 1011-1017, 2002.

2) Tsuchiya K, Nakamura T, Okamoto R, Kanai T, Watanabe M: Reciprocal targeting of *Hath1* and β -catenin by *Wnt*-glycogen synthase kinase 3 β in human colon cancer. *Gastroenterology.* 132: 208-220, 2007.

【研究期間と研究経費】

平成22年度－26年度

166,900千円

【ホームページ等】