

講演番号：3B07p01

講演日時：3月17日 14:00～ 共通講義棟南 B07 会場

新規霊長類消化管オルガノイド構築と機能解析

Generation and characterization of new intestinal organoids from primates

○熊木 竣佑¹、稲葉 明彦²、木下 和弥²、齊藤 万佐子²、中村 倫果²、今井 啓雄³、栗飯原 永太郎⁴、山根 拓実^{1,2}、大石 祐一^{1,2}、岩槻 健^{1,2} (¹東農大院農、²東農大応生、³京大霊長研ゲノム進化、⁴シンシナティ大医)

○Shunsuke KUMAKI¹, Akihiko INABA², Kazuya KINOSHITA², Masako SAITO², Michika NAKAMURA², Hiroo IMAI³, Eitaro AIHARA⁴, Takumi YAMANE^{1,2}, Yuichi OISHI^{1,2}, Ken IWATSUKI^{1,2} (¹Graduate School of Tokyo Univ. of Agriculture, ²Tokyo Univ. of Agriculture, ³Kyoto Univ., ⁴Univ. of Cincinnati)

【目的】消化管上皮には食事中の栄養素に応答してホルモンを分泌する内分泌細胞と、寄生虫感染時に2型自然免疫系を惹起する Tuft 細胞という二種類の味細胞様細胞が存在する。いずれも口腔内の味細胞が発現する味覚受容関連分子を発現し、齧歯類の消化管内腔におけるケモセンサーだと推測されている。しかしながら、味細胞様細胞は消化管上皮において1%前後と少なく、リガンドや細胞内シグナル伝達物質などの知見は乏しい。ましてや、霊長類での味細胞様細胞に関わる研究は進んでいない。そこで我々は、味細胞様細胞に特異的な受容体および伝達物質を探索し、霊長類特有の味細胞様細胞機能の解明するために、霊長類の消化管オルガノイド作製と味細胞様細胞の解析系構築を目指した。

【方法】我々はまず、これまで作製例のない旧世界ザルの消化管からオルガノイドを作製し、霊長類の味細胞様細胞に関する新たな知見を得ようと試みた。旧世界ザルの十二指腸・空腸・回腸・盲腸・大腸それぞれを採取後、2% sorbitol, 1% sucrose, 1% BSA, 2 mM EDTA / PBS において15分間インキュベートした。ピンセットを用いて上皮細胞層を剥離させ、セルストレイナーでクリプトを単離した。得られたクリプトの沈殿をマトリゲルに包埋し、Wnt3a, R-spondin, Noggin, hEGF, A-83-01, Nicotinamide 等を添加した培地を用いて培養した。この時、Dibenzazepine (DBZ: Notch シグナル阻害剤) や IL-4 といったサイトカインを用いた味細胞様細胞への分化誘導を試みた。味細胞様細胞の性質と機能解析には IHC (免疫組織化学染色)、RT-PCR、Ca アッセイ等を用いた。

【結果および考察】培養を開始して6時間後にはクリプトは球体構造を取り増殖を開始し、2日後には、直径約100 μmの大きさに成長した。遺伝子・タンパクレベルでの DCLK1、CHGA (共に味細胞様細胞マーカー) の発現および Ca アッセイによる味物質への応答確認より、サル消化管オルガノイドは *in vivo* を反映していることが明らかとなった。また、DBZ により味細胞様細胞へ、IL-4 により Tuft 細胞へそれぞれ分化誘導できることを確認した。以上のことから、我々は世界に先駆けてサル消化管よりオルガノイド作製に成功したと判断した。最近になり、齧歯類と霊長類では味覚感受性に多くの差異があることが報告されているため、本霊長類オルガノイドはヒト研究への橋渡しとして最適なツールであると考えられる。今後、本培養系を用いたヒトの消化管ホルモン分泌や免疫系を制御する食品機能性成分の探索が進み、齧歯類中心の研究から脱却した“ヒトを対象とした新しい食の科学”へのパラダイムシフトが期待される。

Organoids, Primates, Taste like cells

発表責任者：岩槻健 (ki204886@nodai.ac.jp)