

【目的】2017年に筆者らは、細胞を未分化な状態を経ずに目的の細胞へと分化転換させるダイレクトリプログラミング法を利用して、マウス胎仔由来線維芽細胞に4つの転写因子 (*Hnf4a*, *Foxa3*, *Gata6*, *Cdx2*) を組み合わせて導入することで胎仔腸由来の腸前駆細胞 (FIPC) と同様の性質を持つ誘導腸前駆細胞 (iFIPC) の作製に成功した (Miura and Suzuki., *Cell Stem Cell*, 2017)。iFIPC は FIPC と同様に球状の胎仔型オルガノイドを形成して腸幹細胞 (ISC) の性質をもつ誘導腸幹細胞 (iISC) へと成長し、陰窩-絨毛構造を有する成体型オルガノイドを形成した。また、iISC は、生体内と同様に4種類の腸上皮細胞に分化することが可能であり、自己複製能も有していた。さらに、これらのオルガノイドを大腸炎モデルマウスに移植すると、胎仔型オルガノイドは大腸上皮組織を再構築し、成体型オルガノイドは小腸上皮組織を再構築することができた。ヒトの細胞においてもヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に4つの転写因子を導入することで、ヒト iFIPC へとリプログラミングし、ヒト胎児型オルガノイドが形成された。ヒト胎児型オルガノイドは、大腸炎モデルマウスの大腸中でヒト大腸組織を再構築できた。このことから、ヒト iFIPC は、医療応用への利用が期待される細胞である。しかし、実際に医療応用可能な細胞であるかは未だ明らかになっていないという点や、ヒト iFIPC への誘導は可能となったが、マウス iFIPC とは異なり、iISC へと成長させる方法が確立されていないという問題が残されている。そこで本研究では、短腸症への移植に有用な細胞を作製すべく、ヒト iFIPC を iISC へと成長させ、大腸中でヒト小腸組織を構築させることを目的とする。生体由来の細胞を用いる場合、患者の小腸から採取する必要があるため、侵襲性の問題や患者の体への負担が考えられるが、ヒト iISC を患者由来の細胞から作製できるようになれば、低侵襲な方法で大量に細胞の作製が可能であり、細胞移植の新たなソースとして移植医療に貢献できる。

【方法】1. ヒト iFIPC を iISC へと成長させる方法の探索：まず、腸の分化に重要な転写因子に関する情報を収集し、それらをヒト iFIPC に強制発現した。その後、ヒト iFIPC を長期間培養し、形態や遺伝子発現が成体型オルガノイドと類似しているかを解析した。2. ヒト iISC 由来成体型オルガノイドの大腸移植：上記実験で成体型オルガノイドを作製できたため、免疫不全大腸炎モデルマウスの大腸への移植を行い、小腸組織を構築するかを解析した。生着の有無については、ヒトの細胞特異的に反応する CK8/18 抗体を用いた。また、小腸様構造形成の有無については、小腸のマーカである Sucrase-isomaltase や Lysozyme の免疫染色、HE 染色による組織学的解析を行った。

【結果】腸の分化に重要な転写因子をヒト iFIPC に強制発現すると、陰窩-絨毛様構造を有するオルガノイドが形成された。この成体型オルガノイドは腸幹細胞や分化した細胞を含んでおり、長期間培養することができた。また、このオルガノイドを大腸炎モデルマウスに移植すると、小腸組織を構築することが明らかになった。

本研究の概要

