

論文審査の要旨(甲)

申請者領域・分野 氏名	腫瘍制御科学領域 消化器外科学教育研究分野 氏名 鶴田 覚
指導教授氏名	袴田 健一
論文審査担当者	主 査 藤井 穂高 副 査 伊東 健 副 査 黒瀬 顕
<p>(論文題目) Development of human gut organoids with resident tissue macrophages as a model of intestinal immune responses (腸管免疫応答モデルとしての組織マクロファージ内在ヒト腸管オルガノイドの開発)</p>	
<p>(論文審査の要旨) 900 字程度 本研究では、腸管免疫制御において司令塔となる組織マクロファージ (Mφ) に着目し、人工多能性幹細胞 (iPSC) から単球系細胞 (pMC) を作製後、腸管オルガノイド (IO) の嚢胞内に直接注入し、Mφ コロニー刺激因子存在下で腸管 Mφ 様細胞 (pGMAC) への誘導を行った。pGMAC は IOs 内部に均一に分散し、免疫染色の 3 次元画像解析および電子顕微鏡により間質組織内に樹状突起を持つ pGMAC が確認された。pGMACs の免疫染色では ionized calcium-binding adapter molecule 1 は検出されていたが CD14 は検出されず、シングルセル・ソーティングに基づく PCR 解析では腫瘍壊死因子等の Mφ 極性マーカーの発現を認め、既報の腸管 Mφ の特徴を有していた。pGMAC を内在した IO (MC-XF-HIO) は蠕動様運動伴う嚢胞状構造を示し、区画化された上清と内用液を有するという特徴を生かしてサイトカイン・ケモカイン産生・分泌能の網羅的解析を行った。潜在的な炎症刺激としてリポポリサッカライド (LPS) を用いたが、インターロイキン 4 (IL-4) 以外の炎症性サイトカインは LPS 曝露後に統計的に有意な変化を示さなかった。一方で、分化誘導前の pMCs は LPS に強い反応性を示した。MC-XF-HIOs で観察された LPS に対する低反応性は、IO 上皮における Toll 様受容体 4 の低発現や CD14 陰性 pGMAC の寄与が示唆された。MC-XF-HIO 上皮上の外来抗原に対する pGMAC の貪食能は pH 感受性蛍光色素を用いた検出系により観察可能であった。また、健常 PSC に加え炎症性腸疾患 (IBD) の 1 つであるクローン病患者由来の疾患 iPSC からも同様に MC-XF-HIO の作製が可能であった。こうした結果から、<i>in vivo</i> 腸管免疫の再現および研究ツールとしての応用可能性が示唆された。また、MC-XF-HIO の重要な特徴の一つは、IO と Mφ の両方が同一の PSC 株から誘導可能な点である。疾患 iPSC 由来高機能 IO は、いまだ原因不明の IBD 疾患研究において遺伝的素因や環境因子によるエピジェネティック機構などの発症・病態メカニズムの解明や新薬開発の革新的なプラットフォームとなると考えられる。本研究は、PSC の分化誘導により腸管組織と Mφ からなる革新的な <i>in vitro</i> ヒト腸管モデルを開発したものであり、今後、腸管免疫系や腸管炎症性疾患のメカニズムや腸内物質や薬剤の影響の検証系への発展的な応用が期待され学位授与に値する。</p>	
公表雑誌等名	Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology