主　論　文　要　旨

報告番号	㊙ 乙 第　　号	氏　名	杉　本　真　也

主 論 文 題 名

Reconstruction of the Human Colon Epithelium *In Vivo*
（生体内でのヒト大腸上皮の再構築）

（内 容 の 要 旨）

腸管上皮の構造的および機能的完全性は、陰窩底部に存在する幹細胞によって維持されている。Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5（Lgr5）レポーターマウスを用いた遺伝学的細胞系譜解析により、マウス大腸のLgr5陽性腸管上皮幹細胞（Colon stem cell : CoSC）が急速に増殖することは明らかになっていたが、in vivoでのヒトCoSCの時空間ダイナミクスを検討することは、その実験モデルの欠如から困難であった。今回、正常ヒト大腸オルガノイドを免疫不全マウスの大腸へと同所異種移植する系を確立し、in vivoにおいてヒト大腸上皮を安定的に再構築することに成功した。異種移植されたオルガノイドは、残存するマウス陰窩によって排除される傾向があったが、これはマウス上皮を完全に除去することにより克服することができた。異種移植されたオルガノイドは、マウス腸内においてもヒト起源を反映しており、サイズや粘液産生の性質上も周囲のマウス陰窩とは明らかに異なる陰窩構造を形成したことから細胞内在性プログラムにより規定されていることが示唆された。CRISPR/Cas9システムを用いた遺伝子編集技術によってLGR5遺伝子へCreERT2のノックインを行い、さらにCre依存的に発現するRainbowレポーターを組み込んだヒト正常大腸オルガノイドを作成した。これにより、ヒト腸管上皮のLGR5陽性細胞から産生される子孫細胞のクローンを異なる色で標識することが可能となった。このオルガノイドをマウス腸管へ同所異種移植することにより、ヒトでの遺伝学的細胞系譜解析が可能となり、ヒトLGR5陽性CoSCの自己複製能および多分化能をin vivoにおいてはじめて実証した。また、マウスLgr5陽性CoSCの急速な増殖サイクルとは対照的に、ヒトLGR5陽性CoSCはin vivoでKi67陽性の比率が低く、ゆっくりとサイクルしていた。マウスの組織環境における比較により、ヒトとマウスでCoSCの細胞周期状態が異なることが明らかとなり、in vivoでヒトのCoSCはマウスに比してサイクルが遅いことが明らかとなった。

このオルガノイドを用いた同所異種移植モデルは、in vivoでのヒトCoSCの機能的挙動およびオルガノイドを用いた再生治療という潜在的な可能性に関する洞察を提供するとともに、遺伝子改変オルガノイドとの組み合わせによって、ヒトの腸内における腫瘍形成に関する理解を進展させる可能性をもっている。