

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	石 渡 景 子
主 論 文 題 名				
Identification of Quiescent LGR5 ⁺ Stem Cells in the Human Colon (ヒト大腸における静止期LGR5 ⁺ 幹細胞の同定)				
(内容の要旨)				
<p>腸管組織は3～5日毎にターンオーバーを繰り返すダイナミックな臓器で、腸管上皮の増殖を司るのは陰窩最底部に存在するLgr5⁺腸管上皮幹細胞である。マウス腸管上皮幹細胞は活発に増殖し、上皮傷害で容易に死滅し、再生過程では分化細胞が幹細胞に脱分化することで幹細胞の機能を代替する。一方、ヒト腸管上皮幹細胞の増殖程度及び、定常時や傷害再生時の挙動については、生体内で観察する手段がなく不明であった。本研究では、遺伝子編集を組み合わせたオルガノイド技術、大腸同所移植を用いて、生体内に近いモデルでヒトLGR5⁺幹細胞の挙動を解明することを目的とした。</p> <p>ヒトとマウスの大腸組織において1細胞RNAシーケンス解析を比較し、ヒト大腸にはマウスと比較し休止期幹細胞が多く存在することを確認した。組織解析でも同様の結果であり、ヒト休止期幹細胞はp27というマーカーで標識することができ、約7日に1回分裂する増殖が遅い細胞であることを観察した。また、ヒト幹細胞はマウスよりTGF-βシグナルに感受性が高く、休止期はTGF-βにより制御されていることを生体内で実証した。</p> <p>次に、休止期LGR5⁺細胞が幹細胞であるかを調べるため、細胞系譜解析により休止期幹細胞子孫細胞を蛍光タンパク質で可視化し追跡した。定常時に休止期幹細胞はゆっくり増殖するが、抗癌剤による上皮傷害に耐性があり、再生時に増殖が速くなることを実証した。</p> <p>最後に、大腸上皮の再生にLGR5⁺幹細胞が必須であるかを検証するため、LGR5⁺細胞を殺傷するモデルを作製した。LGR5⁺細胞を殺傷しても大腸上皮の再生は問題なく行われていた。そこで、LGR5⁺幹細胞と相反する分化細胞をKRT20で標識し、定常時、LGR5⁺細胞殺傷時、抗癌剤による上皮傷害時のKRT20⁺細胞の細胞系譜解析を比較した。定常時ではKRT20⁺細胞子孫細胞は分化し消失したが、LGR5⁺細胞を殺傷するとKRT20⁺細胞は脱分化しクローン増殖したことから、陰窩最底部のニッチが空くと、KRT20⁺細胞はLGR5⁺細胞に脱分化する能力を保持していることを示した。一方、抗癌剤による上皮傷害時にはKRT20⁺細胞はほぼクローン増殖を示さず、脱分化は起こりにくいことを示した。以上より、ヒト大腸上皮では脱分化を起こす能力は保持するが、上皮傷害再生時には休止期幹細胞が生き残りニッチを占有するので、脱分化が起こりにくいことを実証した。</p> <p>本研究はヒト大腸休止期幹細胞の機能、LGR5⁺細胞の可塑性を実証した初めての解析であり、傷害再生時の休止期幹細胞の重要性も明らかにした成果である。</p>				