

## クローン病・潰瘍性大腸炎患者内視鏡検体を用いた 初代培養系の確立とHath1発現解析

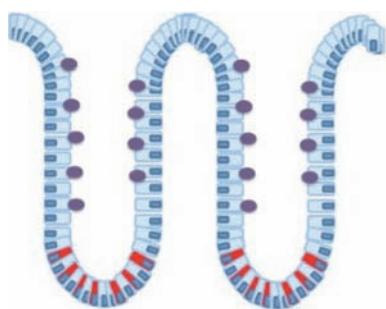


東京医科歯科大学消化器内科 油井 史郎

### 背景

クローン病・潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患は、複雑な病態や患者数の増加などから代表的な難治性疾患のひとつと考えられています。発症には腸管の恒常性維持機構の異常が関与していると考えられており、最近では間質における炎症反応だけではなく、腸管内腔と我々の個体との境界である上皮に関する研究も疾患理解に大事であると考えられています。長期罹患後に発がんを認める点も臨床的に大きな問題であり、癌の発生母地が上皮であることから、この点においても上皮研究は重要なテーマです。

図1



腸管上皮はクリプトと呼ばれる陥凹構造をしています。粘液分泌の機能を有する杯細胞などの複数の種類の細胞からなる単層の上皮で構成されています。これら全ての上皮細胞はクリプトのもっとも深い部分にある特殊な細胞から発生しており、この細胞を幹細胞といいます(図1; 赤-幹細胞・紫-杯細胞)。Atoh1というたんぱく質は、この幹細胞が杯細胞に変化する際に必要な遺伝子群の発現を誘導する役割を持っています。炎症性腸疾患では、杯細胞を含めた分泌系細胞への分化に異常が確認されることが多く、また粘液産生能・増殖活性ともに決して低くはない特異な癌の合併が知られています。この背景にある因果関係は十分に

解明されていないものの、その解明は炎症性腸疾患の上皮研究の大きなテーマの一つです。

基礎生物学の世界での腸管上皮研究は近年大変な進展をしています。上皮幹細胞で発現の高い遺伝子や転写因子が同定され始め、幹細胞の理解が進んでいます。幹細胞を体外で培養する技術も開発されました。東京医科歯科大学消化器内科でも、独自の培養技術を用いて体外で増やしたマウスの培養大腸上皮細胞を用いて個体内で大腸の上皮が再生できることを報告しました。これらの新しい知見・技術を背景として、炎症性腸疾患に対する再生医療の可能性を検証し、また炎症性腸疾患を上皮の側面から再検討する国際的な研究の枠組みが出来つつあります。

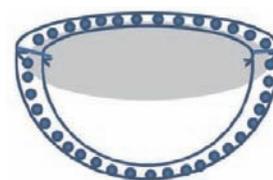
### 成果と展望

#### ① 胎生期を含めたヒトの正常・疾患腸管上皮の体外培養法

昨年東京医科歯科大学消化器内科では、イギリスのケンブリッジ大学・デンマークのコペンハーゲン大学との共同研究において、胎児期の腸管上皮の体外培養法に関する研究を遂行し、胎児期の

マウス腸管上皮が球状体として培養可能なことを示しました。この球状体は上皮細胞が単層に配列することで形成されています（図2）。この実験において、ヒト胎児腸管上皮も同様の球状体として培養できるものの、マウスのそれとは異なる環境での培養が必要であること、すなわちヒトとマウスの胎生期腸管上皮は似ているが異なる部分もあること、が示唆されました。さらに胎児期の腸管上皮細胞にも、個体内で腸管組織を再生する能力があることを示すことができました。東京医科歯科大学消化器内科では、マウス腸管上皮培養技術で得られたノウハウを成人ヒトの腸管上皮細胞の培養に活かして、効率的な培養方法の確立を目指し、その技術を炎症性腸疾患患者さんの腸管上皮の培養法の開発にも応用をする予定でいます。これらの技術は炎症性腸疾患の上皮研究の遂行に当たり大変重要なツールになると考えています。また多様なマテリアルの再生医療への応用可能性の検証も進めていく予定でいます。

図2



## ② Atho1遺伝子、特に癌の悪性化との関連

東京医科歯科大学消化器内科では、以前よりAtho1遺伝子に注目してきました。本研究では大腸癌由来の細胞を用いた分子生物学的な手法を用いて、Atho1遺伝子の変異が癌細胞に与える影響を解析しました。Atho1タンパクが安定化する変異を持った遺伝子を作成する独自の技術を駆使し、変異型タンパクの出現により大腸癌の悪性度を反映する遺伝子であるLgr5という遺伝子の発現が増えること、そして、それはこの遺伝子の発現を調整するプロモーターと呼ばれる領域にAtho1タンパクが作用して生じていることを明らかにすることができました。炎症性腸疾患の長期罹患後に悪性度の決して低くはない癌が出現する機序の全容はまだ不明ですが、今回の発見をその全容の解明に向けて発展させ、将来的にはヒト腸管上皮細胞の培養技術とも組み合わせて、新規の診断法や治療法に結びつくような成果にしていきたいと考えています。

## 結 語

炎症性腸疾患には様々な種類があり、なかなか画一的には理解のできない疾患群です。病態の理解のための研究と、再生医療などの新規治療の開発を並行して行い、最終的に少しでも多くの患者さんに成果を還元できるように、東京医科歯科大学消化器内科ではその独自の技術の普及にも努めながら、今後とも頑張っていく予定でいます。

## 謝 辞

本研究の推進にあたり、東京医科歯科大学消化器内科、渡辺守先生・中村哲也先生・土屋輝一郎先生に多大なるご指導・ご支援を頂きました。御礼を申し上げます。本研究を採択しご支援を頂きました難病医学研究財団にも厚く御礼を申し上げます。