

	研究代表者	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授 佐藤 俊朗（さとう としろう）	研究者番号:70365245
	研究課題 情報	課題番号：22H04995 キーワード：幹細胞、オルガノイド、消化器腫瘍、疾患生物学	研究期間：2022年度～2026年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

● 研究の全体像

消化器は、外界との境界の最前線として、上皮細胞が層を作り、異物の侵入を防いでいる。個人間で食事・嗜好、ウイルス、細菌などの環境は大きく異なり、個体ごとに様々な異物と上皮細胞のせめぎあいが続く。こうした長い年月をかけたせめぎあいの結果、消化器は慢性的にダメージを受けたり、遺伝子変異によって腫瘍細胞を生じることがある。消化器上皮は、外的環境だけではなく、細胞分裂や加齢自体によっても一定の速度で遺伝子変異を蓄積し、発がんの一因となることがわかってきた。我々は、慢性的な消化管の炎症を特徴とする潰瘍性大腸炎の上皮細胞において、遺伝子変異が入る速度が加速することを見出した。さらに、炎症に暴露された上皮細胞は炎症に耐えるための遺伝子変異を獲得し、選択的に子孫細胞を増幅させることを発見した (Nanki et al Nature 2020)。興味深いことに、このような変異細胞の蓄積は炎症に耐えるだけではなく、腸管の免疫反応や腸内細菌叢の制御機構を変化させるため、腸内環境を変えることが示唆された。つまり、腸内環境が特定の変異をもつ上皮細胞を増幅させ、変異上皮細胞が新しい腸内環境を作り出し、環境→変異→環境→変異という悪循環を繰り返すと考えた。他の研究グループは、飲酒などの嗜好や糖尿病などの代謝異常に伴い、組織にユニークな遺伝子変異が蓄積することを報告している。こうした変異の中にも組織環境の変化を惹起する可能性がある。従って、これまで単純に考えられた、一方的な環境→変異という図式ではなく、変異自体が新しい環境を作り出し、連鎖的な反応を生み出すと考えた。

上述のような環境変化、遺伝子変異、疾患発症のシークエンスは、生物学における生態環境、分子遺伝学的な進化、種分化の連関を想起させる。さらに、生態学では、ビーバーやアリなどが、生物進化と新しい環境構築をつなぐ“ニッチ構築”という概念がある。これらの生物種は自らがより繁殖しやすい環境を作る能力を進化とともに獲得しており、我々の観察してきた、組織内の変異と環境変化の連関と似ている。そこで、本研究では、消化器疾患組織において、マイクロ進化と環境変化、さらには疾患の発症・進展がどのようにつながるかを解析し、新しい疾患生物学の洞察を得たい（図1）。

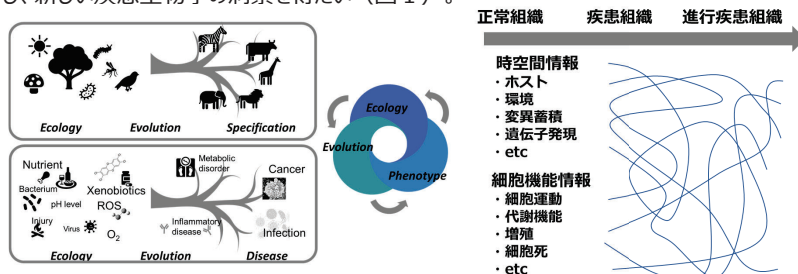
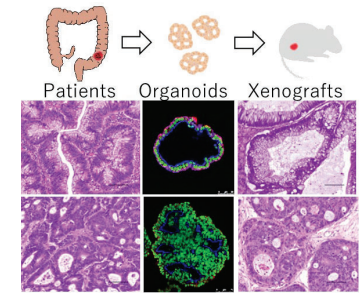


図1 生物学（生態環境-生物進化-種分化）と疾患生物学（微小環境-マイクロ進化-疾患発症・進展）の類似性。環境変化、遺伝子変異、細胞機能などの様々な情報の変化が複雑に絡み合い、疾患が発症・進展する様子を描いた。本研究ではこうした絡み合いを解きほぐし、病気の理解を深める

従来の研究手法では、体内に存在する組織環境や生物学的な振る舞いを解析する精度が悪く、特にヒトの疾患組織を対象とする研究はほとんど進んでいなかった。我々は、組織細胞を抽出し、培養皿の中でまるで本物の疾患組織のような組織構造を再構築する“オルガノイド技術”を開発し、研究応用してきた (Sato et al Nature 2009, 2011, Shimokawa et al Nature 2017, Nanki et al Cell 2018, Kawasaki et al Cell 2020, Sugimoto et al Nature 2021)(図2)。本研究では、このオルガノイド技術を駆使し、我々の体内に潜む環境→変異→環境を繰り返す“ニッチ構築”の本態を浮き彫りにしていく。

本研究計画では、様々なヒト消化器疾患組織を採取し、遺伝子解析によってどのような遺伝子変異や遺伝子の発現の変化をしているかを調べる。また、オルガノイドを用いて疾患組織がどのような生物学的な変化を示すかを解析する。さらに、オルガノイドを動物に移植してヒトの疾患組織を生体内 (in vivo) で再現し、より疾患に近い状態での生物学的解析を行う。疾患組織、オルガノイド、生体内移植組織 (in vivo) のサンプルを用いて遺伝子発現や生物学的な特徴、エネルギーの代謝状態などを細かく解析し、疾患に関連する特徴を炙り出す。また、正常組織細胞に、こうした特徴（遺伝子変異や遺伝子発現変化）を付与し、正常から人工的に疾患が再現できるかを検証する。さらに、オルガノイド、生体内移植組織、人工疾患再現モデルを通じ、疾患組織がどのように、疾患をかたちつくる環境ニッチを形成するか、その機序の解明を行う。



Fujii et al *Cell Stem Cell* 2016

図2 オルガノイドによる疾患組織、組織環境、組織形態を実験モデルに落とし込んだ。患者組織（左）、組織由来オルガノイド（中）、オルガノイドを移植した生体組織（右）。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

本研究では、消化器疾患組織における遺伝子変異蓄積と疾患組織環境構築の理解を最終目標とする。我々は、本最終目標を達成するためには4つのボトルネックとなる研究リソースおよび技術課題をクリアする必要があると考える。従って、下記の4つに要素還元した課題に取り組み、それぞれの課題の達成と成果の連携により、これまで不明瞭であった疾患組織環境構築（ニッチ構築）の全体像を明らかにしていく。

I. 患者疾患組織の採取・解析とオルガノイドバイオバンクの確立

様々な消化器疾患組織を採取し、その解析を進めるとともに、組織からオルガノイドを樹立し、培養疾患モデルを作る。作成された疾患組織オルガノイドはバイオバンクとして、国内外の研究者への分譲を行い、国際的な疾患組織研究の推進に資する。

II. オルガノイドを用いた生体モデル系の開発と疾患環境形成の解析

これまでのオルガノイドモデルは、増殖効率を指標として最適化されており、生体内の様々な形態や機能を反映するような最適化は不十分である。そこで、消化器上皮の消化・吸収・代謝も含め、生物学的形質を幅広く模倣するモデル性能を高めていく。こうした改善により、疾患環境を総合的に解析できるモデル構築を行う。

III. 先進的なオルガノイド解析基盤の確立

作られた疾患環境モデルを解析するための、遺伝子情報解析、組織形態イメージング解析、エネルギー代謝解析などの計測技術基盤をオルガノイド研究に最適化し、精度の高いデータ出力を行う。

IV. 人工疾患再現モデルの開発

究極的な疾患の理解は、正常な組織から疾患組織を人工的に再現することだと考える。オルガノイド、ゲノム編集、光・化学操作技術など、最先端技術を駆使し、新しい人工疾患再現モデルを構築する。

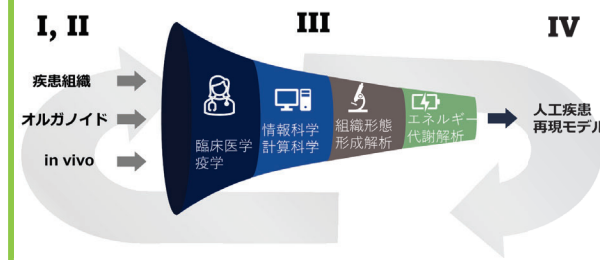


図3 本研究における4つの研究課題
疾患組織、オルガノイド、生体内移植組織 (in vivo) などのサンプル採取から生体モデル作成 (I, II)、臨床データやモデル解析データ (III)、正常組織から人工的に疾患組織を再構築する研究 (IV)を行い、I-IVの研究サイクルを繰り返すことにより、疾患生物学の新しい理解を得る。