

[最近のトピックス]

オルガノイド研究の発展～唾液腺オルガノイドの紹介～

堀江尚弘, 志茂 剛

北海道医療大学 歯学部 生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野

再生医療におけるホットトピックとして“オルガノイド”を紹介したい。

そもそもオルガノイドとは「人為的に創出された器官に類似した組織体」と定義づけられており[参考文献1], 所謂, 人工的に作製した臓器のことを指す。近年, オルガノイド研究の発表論文数は間葉系幹細胞・ES細胞・iPS細胞等の幹細胞技術の発達と相まって急激に増加している。こうした論文では各種細胞からオルガノイドの作製および, 作製したオルガノイドの移植治療への応用や, 疾患の病態・創薬研究への応用が試みられており, 肝臓や大脳皮質オルガノイド等, 全身の臓器が再現されている[参考文献2]。

口腔領域における同分野の先行研究として, 2018年に田中らが「唾液腺オルガノイド」を樹立した報告がある。田中らの研究グループは, マウス由来ES細胞から三次元構造をもち, 臓器として機能する, 唾液腺オルガノイドの樹立に成功した[参考文献3]。

先行報告では最初に, マウスの顎下腺の発生過程において転写因子Sox9, Foxc1およびFGFR2関連遺伝子群が発現していることを明らかにし, これらの因子の段階的発現を模倣した, ES細胞の分化誘導系を確立している[図1: ES細胞の唾液腺への分化誘導法]。ES細胞を胚体内胚葉, 非神経外胚葉, 口腔外胚葉, 唾液腺原基へと分化誘導させており, 分化誘導Day 1の段階で培地中にマトリゲルを添加し, Day 3にBMP-4とTGFβインヒビター, Day 5でBMPのインヒビターとFGF2を添加して, Day 8にはSox9, Foxc1発現アデノウイルスを導入した後, 上皮細胞マーカーであるpan-cytokeratinが発現している外層を切除, 残った口腔外胚葉細胞をFGF7, FGF10を含む成熟培地にて培養すると, Day 23において唾液腺原基に類似した上皮蕾が形成されている。形成された組織にはK18・AQP5・SMA(それぞれ管腔細胞マーカー, 腺房細胞マーカー, 筋上皮細胞マーカー)が発現しており, 胎生期の顎下腺組織と類似していた。

更に, Day 23の顎下腺分化誘導組織を突出部で切断・単離し(induced salivary gland primordium: iSG), iSGからRNAを抽出して, RNAシーケンスにて解析したところ, 胎生15.5週, 胎生18.5週の顎下腺組織の遺伝子発現パターンと類似していた。また, iSGにコリン作動薬

であるカルバコールを添加すると細胞内へのカルシウムイオン導入を増加し, 同実験系にムスカリン受容体アンタゴニストであるアトロピンを添加すると, カルバコールによる細胞内カルシウムイオン上昇が抑制された。以上よりiSGは唾液腺と同様の組織として機能する事が分かり, その後の検討として, 先行報告では耳下腺欠損マウスへのiSGの移植を試みている。

iSG単独あるいは, 胎生13.5週の顎下腺由来の間葉系組織と共培養したものを腺管の方向に誘導するモノフィラメントを介して耳下腺欠損マウスへと移植したところ[図2: iSGの耳下腺欠損マウスへの移植], 移植後30日時点で, 移植したiSGはレシピエントに定着しており, 唾液腺マーカータンパク質の発現および, 神経線維の同組織への分布も確認されている。

移植後30日のiSG組織のRNAシーケンス解析においても, 胎生18週マウスおよび6週齢マウスの顎下腺の遺伝子発現と類似していた事に加え, iSGを移植した耳下腺欠損マウスにおいて, ピロカルピン(ムスカリンアゴニスト)刺激による唾液が分泌されること。更に, クエン酸添加により唾液分泌量が増加され, 分泌された唾液中に含まれるタンパク質についても, 全唾液中に含まれるタンパク質組成と類似しており, iSGは移植した場合にも唾液腺として生理的に機能することが実証されている。

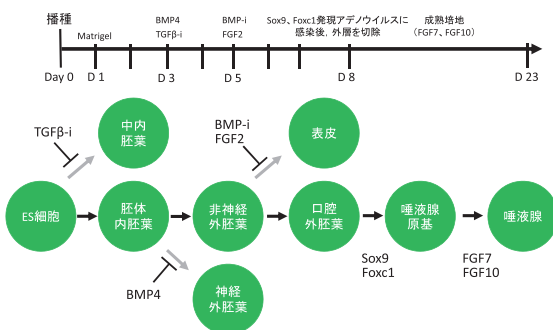
このように先行研究では, iSGの移植治療への応用の可能性が示されており, シェーグレン症候群等でみられる, 唾液腺の機能不全に起因する口腔乾燥症の未来の治療法として, 唾液腺オルガノイド移植技術の確立が期待される。

参考文献リスト

[1] 武部貴則/企画. オルガノイド4.0時代小さな臓器が拓く次世代研究のデザイン. 実験医学. 2017. 10月号. 35(16). ISBN978-4-7581-2500-0.

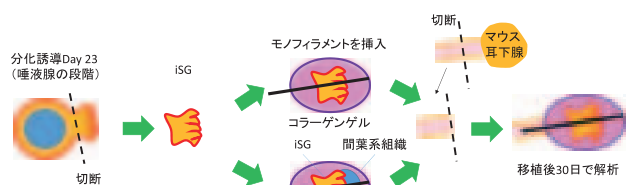
[2] Willyard C. The boom in mini stomachs, brains, breasts, kidneys and more. Nature. 2015 Jul 30; 523(7562): 520-2. doi: 10.1038/523520a.

[3] Tanaka J, Ogawa M, Hojo H, Kawashima Y, Mabuchi Y, Hata K, Nakamura S, Yasuhara R, Takamatsu K, Irié T, Fukada T, Sakai T, Inoue T, Nishimura R, Ohara O, Saito I, Ohba S, Tsuji T, Mishima K. Generation of orthotopically functional salivary gland from embryonic stem cells. Nat Commun. 2018 Oct 11; 9(1): 4216. doi: 10.1038/s41467-018-06469-7.



Tanaka J et al. Nat Commun. 2018 Oct 11;9(1):4216. の図を改変。

図1: ES細胞の唾液腺への分化誘導法



Tanaka J et al. Nat Commun. 2018 Oct 11;9(1):4216. の図を改変。

図2: iSGの耳下腺欠損マウスへの移植