

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 6 年 6 月 2 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名：国立大学法人大阪大学

職 名：教授

研究代表者：鈴木 郁夫

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:2013)

1. 共同研究課題名	ヒト臓器らしさを決定する因子の機能解析			
2. 共同研究目的	生物の各臓器は生命維持に不可欠な固有の機能を有しており、その基本原理は進化的に高度に保存されている。一方で、臓器の形態やサイズ、組織構造は種ごとに緻密に制御されており、動物種間で大きく異なる。しかし、こうした臓器構造の多様性を生む遺伝的メカニズム、特に「ヒトらしさ」を規定する進化の背景については未解明な点が多く残されている。さらに、ヒトの臓器発生研究は、倫理的な制約から実証的なアプローチが極めて困難である。そこで本研究では、ヒトの臓器発生を試験管内で忠実に再現可能な「ヒトオルガノイド培養法」を駆使し、 進化の過程でヒトが独自に獲得した「ヒト固有遺伝子」 の機能解明に挑む。具体的には、遺伝子編集操作技術により、ヒト特異的遺伝子の機能を自在に操作することで、ヒトの臓器発生プロセスを直接的かつ実験的に検証する。本研究は、進化学や発生生物学における学問的問いに答えるだけでなく、ヒト固有の疾患理解(疾患生物学)にも新たな光を当てるものであり、生命科学の重要なマイルストーンとなることが期待される。			
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ~ 令和8年3月31日			
4. 共同研究組織				
	氏 名	所属等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者)	鈴木 郁夫	大阪大学大学院生命機能研究科	教授	研究の総括, ヒト固有遺伝のデータ解析, 細胞生物学的実験
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	粘膜エコシステム制御分野	氏 名	佐々木 伸雄

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

申請者はこれまでヒトにおける大脳皮質の進化の背景にある遺伝的な機構を理解するために、ヒトの進化形等において重複した遺伝子の発現量にもとづくスクリーニングを実施してきた。その結果発見された NOTCH2NLB 遺伝子はヒト以外の生物種に存在せず、ヒトの大脳皮質の前駆細胞において Notch 情報伝達系を活性化するヒト固有の遺伝子であることを明らかにした。申請者はさらに範囲を広げて、この NOTCH2NLB の発現パターンを網羅的に調べたところ、ヒト腸管においても強く発現していることを見出した。そこで本研究では、佐々木教授のもつ腸管オルガノイド培養技術を利用して、ヒト腸管に発現している NOTCH2NLB の機能を明らかにすることを旨とする。特に NOTCH2NLB のノックダウンしたときの表現型や細胞内局在、相互作用するタンパクの解析をおこなう。

本共同研究では、まず NOTCH2NLB が腸管上皮細胞のどの細胞に発現しているのかを検討する。解析手段としては、佐々木教授が保有するヒト正常腸管上皮シングルセル RNA-seq のデータベースを利用する。またヒト腸管上皮に発現する NOTCH2NLB の機能を解析するために、①過剰発現系、②機能阻害系オルガノイドを樹立することで解析を進める。機能阻害系オルガノイドを用いたこれまでの研究で、NOTCH2NLB がヒト固有の腸管細胞の分化に関わっている可能性を見出したので、その分子メカニズムについて今年度は追求していく。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

本研究では、ヒト臓器らしさを規定する分子基盤の解明を目的として、ヒト特異的遺伝子 NOTCH2NLB の機能解析を進めた。特に本年度は、ヒト腸管における本遺伝子の役割に着目し、オルガノイド培養系を用いた解析基盤の確立と初期的な機能評価を中心に研究を遂行した。

当該年度は、NOTCH2NLB の発現細胞種を明らかにするため、既存のヒト正常腸管上皮シングルセル RNA-seq データの再解析を行った。その結果、NOTCH2NLB は腸管上皮における特定の未分化細胞集団および一部の分化過程にある細胞群において発現が認められ、細胞分化や増殖制御に関与する可能性が示唆された。特に、幹細胞様集団において比較的高い発現が見られたことから、本遺伝子が腸管上皮の恒常性維持に関与している可能性が考えられる。

次に、ヒト腸管オルガノイド培養系において NOTCH2NLB の機能解析を行うための実験系構築を進めた。具体的には、遺伝子過剰発現系およびノックダウン系の樹立を試み、ウイルスベクターを用いた導入条件の最適化を行った。その結果、安定的な遺伝子発現操作が可能な条件を確立し、複数のクローンを取得することに成功した。これらのオルガノイドを用いた初期的な表現型解析の結果、NOTCH2NLB の機能阻害により、オルガノイドの増殖速度や形態に変化が生じる傾向が観察された。具体的には、ノックダウン条件においてはオルガノイドのサイズが縮小する傾向が認められ、細胞増殖の低下あるいは分化の促進が起きている可能性が示唆された。一方で、過剰発現系では未分化状態の維持が促進される傾向が見られ、Notch シグナル経路の活性化との関連が考えられた。

さらに、NOTCH2NLB の細胞内局在および相互作用分子の同定に向けた予備的検討も開始した。免疫染色およびタンパク質解析の結果、本タンパク質は細胞膜近傍および細胞内小胞構造に局在する可能性が示唆され、Notch 受容体あるいは関連因子との相互作用が想定される結果が得られつつある。

以上の結果から、NOTCH2NLB はヒト腸管においても細胞増殖および分化制御に関与し、ヒト特有の組織構築に寄与している可能性が示唆された。本年度は主に解析基盤の確立と初期的な表現型評価にとどまったが、今後は詳細な分子メカニズムの解明を目的として、網羅的遺伝子発現解析や相互作用分子の同定を進める予定である。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお, 論文の場合は, PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

メール上での意見交換.

オンサイト(JST 創発的研究)でのディスカッション