

腸上皮におけるセロトニンシステムの解析

生命科学専攻 細胞高次機能科学分野 消化管生理学研究室 濱田 晃弘

1. はじめに

セロトニン (5-hydroxytryptamine, 5-HT) は, 腸粘膜上皮に存在する腸内分泌細胞の一種である腸クロム親和性 (enterochromaffin, EC) 細胞が産生・分泌する生理活性アミンであり, 消化管運動および水・電解質輸送の調節に機能する。5-HT 利用性は EC 細胞による産生・分泌ならびに 5-HT 輸送体 (serotonin transporter, SERT) を介した各種細胞内への取り込みにより規定され, また 5-HT の認識は各種細胞の細胞膜受容体 (5-HT receptor, HTR) によりなされる。消化管におけるこのような 5-HT システムの全貌は明らかではない。本研究ではそれを解明する一環として, マウスの腸粘膜組織における 5-HT 合成律速酵素 (tryptophan hydroxylase-1, TPH-1), SERT および HTR の発現様式を解析した。

2. 方法

マウスの腸粘膜から総 RNA を分離して RT-PCR により TPH-1, SERT および HTR の mRNA 発現を調べるとともに, それらのタンパクおよび 5-HT の局在を免疫組織染色により観察した。また, 小腸粘膜から陰窩を分離して培養することにより上皮細胞のみから構成されるオルガノイドを作成し, このものについても同様に RT-PCR および免疫組織染色を行った。さらに, オルガノイドによる 5-HT の放出を ELISA により分析した。

3. 結果と考察

小腸粘膜組織において TPH-1, SERT, HTR2A, HTR2B, HTR2C, HTR3A, HTR3B および HTR4 の mRNA 発現が認められ, 結腸粘膜組織ではこれらのうちで HTR2C を除いた全ての mRNA 発現が認められた。また, 上皮細胞のみから構成されるオルガノイドにおいて TPH-1, SERT, HTR2A, HTR2B および HTR4 の mRNA が発現しており, これらの遺伝子は *in vivo* においても腸上皮に発現していると推察した。腸上皮の 5-HT 陽性細胞において HTR2A および HTR4 が発現すること, ペプチド YY (peptide YY, PYY) 陽性細胞において HTR4 が発現することを明らかにした。これらは腸上皮の EC 細胞による 5-HT のオートクライン分泌および腸内分泌細胞の一種である L 細胞に対するパラクライン分泌を示唆する。オルガノイドの 5-HT 陽性細胞に HTR2A が共局在し, オルガノイドにカルシウムイオノフォアを添加すると 5-HT の放出がみられ, オルガノイドが 5-HT の産生, 分泌および認識を行うことが示された。

4. まとめ

腸上皮の EC 細胞が放出する 5-HT のオートクライン・パラクライン作用を新たに見出した。また, 本研究により, 5-HT システムを解析する *in vitro* モデルとしてオルガノイドが有用であることが明らかとなった。