

はじめに

食品科学研究が解決すべき大きな課題の一つは、食品素材もしくは栄養素を含む機能性食品成分の生理機能を適切に評価し、ヒト体内における生理機能を正確に予測することである。従来、このアプローチとしては、マウスやラットなどの実験動物、もしくはがん組織などから樹立された株化細胞を用いた方法が一般的であった。しかし、げっ歯類とヒトでは栄養素の代謝機構に種差が存在することに加え、近年、多くの食品系企業において動物実験が廃止され、実施不可となってきた。また、正常細胞でない株化細胞はヒト体内の生理イベントを十分に反映できないことが知られている。そこで本研究では、新たな食品科学研究のアプローチとして、研究生体組織由来もしくは多能性幹細胞由来の脂肪細胞、小腸オルガノイド、肝臓オルガノイドといった、従来のモデルよりも生理的な実験材料に着目した。本材料を用いて、様々な生理現象の解明、技術開発およびそれらを活用した生理機能評価を目指した。

脂肪細胞を用いた研究

肥満は様々な生活習慣病、ひいては致死性の冠動脈疾患の発症に繋がるため、その制御は重要である。肥満は分化・成熟した脂肪細胞が細胞内に余剰エネルギーを脂肪滴の形で過度に蓄積した状態を指す。肥大化した脂肪細胞からは炎症性サイトカインの分泌亢進が起こることが示されている。そのため、脂肪細胞分化、脂肪滴形成の分子機構の解明は疾患治療、予防法の開発に貢献することが期待される。

脂肪細胞分化は、核内受容体であるPeroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) が活性化することで進行する。また、脂肪滴形成には、脂肪酸合成酵素群の転写を包括的に担うSterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1が重要な役割を果たす。我々は、小胞体ストレス誘導分子Tribbles homolog 3、核内受容体RAR-related orphan receptor α がそれぞれPPAR γ の転写活性を抑制する因子であることを見出した^{1,2}。また、SREBP-1は脂肪細胞分化とは独立して活性化すること、脂肪酸合成酵素群の発現を一様に誘導することで脂肪滴形成をさらに促進することを明らかにした³。また、脂肪滴局在タンパク質Perilipin 2は肝細胞などにおいて脂質分解酵素から脂肪滴が分解されるのを防ぐ役割を果たすが、脂肪細胞においては脂質分解誘導刺激後に脂肪滴上で安定化し、脂質分解酵素による脂質分解を促進することを示した⁴。

オルガノイドを用いた研究

オルガノイドは複数種の分化した細胞が極性を持って分布する、体外で培養可能なミニ臓器である。従来のモデル細胞よりも生理的な性質を示すことから、ヒトオルガノイドはヒトにおける食品成分の有効性、安全性を検証するための実験材料として有用であると考えられる。我々は栄養素が第一に吸収、代謝を受ける場である小腸、および吸収された栄養素が門脈を通じて直接運ばれる肝臓に着目し、小腸および肝臓オルガノイドを用いた研究を目指した。ただし、オルガノイドは培養コストが高い、扱い方が煩雑であるといった課題があり、我々はまずこれらの解決に取り組んだ。その結果、ヒト小腸オルガノイドの培養コストを約1/100に削減し、高効率で簡便な遺伝子導入法を確立することに成功した^{5,6}。また、小腸オルガノイドは内側の領域が小腸の管腔側に相当するため、小腸オルガノイドを用いて管腔側から被験物質の吸収・透過を評価することは困難である。この課題解決のため、我々は三次元培養したオルガノイドを敢えて二次元培

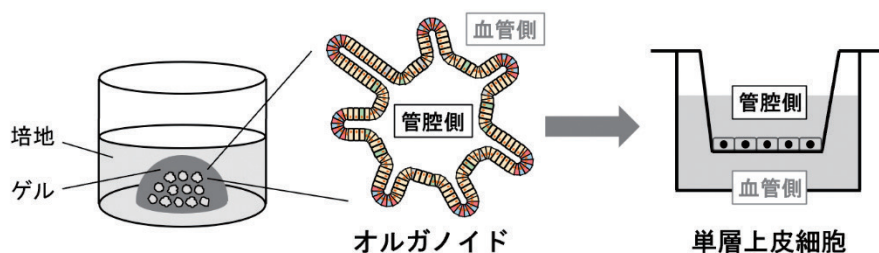


図. ヒト小腸オルガノイドと単層上皮細胞の模式図

養することで上側が露出した管腔側に相当する単層上皮細胞を得ることに成功した(図)⁷。さらに本細胞は、刺激に応じた異物代謝酵素の誘導、輸送体依存的な糖輸送、カイロミクロン分泌など、従来のヒト小腸上皮モデルであるCaco-2細胞では十分に再現できないヒト小腸上皮の生理機能を示すことを明らかにした⁸。これらの結果を基にして、ヒト肝臓オルガノイドにおいても同様の研究を展開した。その結果、肝臓オルガノイドにおける培養のコストダウンおよび高効率な遺伝子導入法を確立し、従来モデルでは十分に評価できない肝細胞機能を評価可能であることを明らかにした⁹。

今後の展望

小腸、肝臓、脂肪組織は糖や脂質などの栄養素の代謝活性が高く、食品・栄養科学研究の対象として非常に重要な臓器である。しかし、マウスなどの実験動物では栄養素の代謝機構に大きな種差があり、従来の株化された多くの肝細胞、腸上皮細胞では脂質や異物の代謝酵素の発現が極めて低いといった問題点がある。我々は、これら代謝に関わる主要な酵素の発現量はヒト小腸、肝臓オルガノイドにおいて正常な臓器と同等レベルで高いことを見出している。そのため今後、オルガノイドを活用することで、栄養素や食品成分のヒト細胞における正確な代謝評価や新たな生理機能の発見が可能となることが期待される。さらにこれら材料を組み合わせることで、将来、小腸-肝臓-脂肪組織(脂肪細胞)の臓器連関評価といった、より高次かつ生理的な評価も可能になることが期待できる。

謝 辞

本研究は、主に東京大学大学院農学生命科学研究科、および東京大学医科学研究所にて行われたものです。東京大学特任教授の佐藤隆一郎先生、千葉大学卓越教授の清野宏先生をはじめ、本研究を遂行するにあたりご支援、ご協力をいただきました先生方、関係者の皆様に改めて心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Takahashi, Y., et al. *Journal of Lipid Research* 49: 880-892. (2008)
2. Ohoka, N., et al. *Molecular Endocrinology* 23: 759-771. (2009)
3. Takahashi, Y., et al. *PLoS One* 8: e64605. (2013)
4. Takahashi, Y., et al. *Scientific Reports* 6: 20975. (2016)
5. Takahashi, Y., et al. *Stem Cell Reports* 10: 314-328. (2018)
6. Takahashi, Y., et al. *Scientific Reports* 13: 5407. (2023)
7. Takahashi, Y., et al. *EBioMedicine* 23: 34-45 (2017)
8. Takahashi, Y., et al. *iScience* 25: 104542. (2022)
9. Kuboyama-Sasaki, A., et al. *Biotechnology Journal* 19: e2300365. (2024)

略 歴

2005年 3月 東京大学農学部 生物生産科学課程 生命化学専修 卒業
2010年 3月 東京大学大学院農学生命科学研究科 博士課程修了 博士(農学)
2010年 4月 日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 生物研究所 研究員
2014年 8月 東京大学医科学研究所 炎症免疫学分野 共同研究員(～2016年10月)
2018年 9月 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任講師
2019年 8月 東京大学大学院農学生命科学研究科 助教

Establishment of Food Science Research Platform Using Physiologically Relevant Culture Models Focusing on Metabolizing Enzymes for Nutrients and Xenobiotics

Yu Takahashi, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

Introduction

In food science research, the accurate prediction of the physiological functions of food ingredients and nutrients in the human body is desired. Experimental animals such as mice and rats, or cell lines established from cancer tissues, have been commonly used; however, in addition to species differences in nutrient metabolism between rodents and humans, many food companies have recently discontinued animal testing. Furthermore, established cell lines cannot properly reflect physiological functions *in vivo*. Thus, this study focused on tools with more physiological properties than conventional models, such as primary adipocytes, pluripotent stem cells, small intestinal organoids, and liver organoids. Using these materials, we aimed to elucidate various physiological phenomena, develop new technologies, and evaluate their physiological functions.

Adipocyte research

Obesity is a condition in which mature adipocytes excessively accumulate excess energy within the cells as lipid droplets, which can increase the secretion of inflammatory cytokines, ultimately leading to fatal coronary artery disease. Therefore, elucidation of the molecular mechanisms of adipocyte differentiation and lipid droplet formation would contribute to the development of disease prevention and treatment. Adipocyte differentiation proceeds through activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ). Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1 also plays an important role in lipid droplet formation. We found that the endoplasmic reticulum stress-inducing molecule *tribbles* homolog 3 and retinoic acid receptor-related orphan receptor α repress PPAR γ activity^{1,2}. We also found that SREBP-1 is activated independently of adipocyte differentiation and induces the expression of enzymes involved in fatty acid synthesis, further promoting lipid droplet formation³. Moreover, we found that perilipin 2 plays a role in accelerating lipolysis by localizing on lipid droplets upon lipolytic stimuli⁴.

Organoid research

Organoids are mini-organs that can be cultured *in vitro*, in which several types of differentiated cells are polarized. As they exhibit more physiological properties than conventional cells, they can be useful as experimental tools to predict the efficacy and safety of biomolecules in humans. I focused on the small intestine, where nutrient absorption occurs, and the liver, where absorbed nutrients are directly transported through the portal vein, and conducted research using the small intestine and liver organoids. First, I established methods to greatly reduce the culture cost of human small intestinal organoids and to efficiently transduce exogenous genes^{5,6}. I have also developed monolayer epithelial cells from human small intestinal organoids, which enable the absorption and permeation of biomolecules in a more

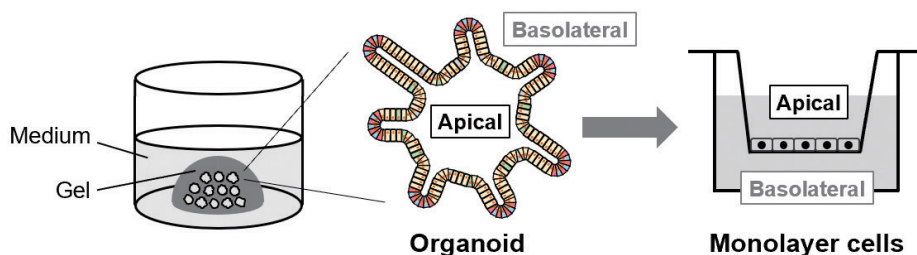


Figure. Schematic illustration of intestinal organoids and monolayer cells

convenient manner⁷. These cells were found to exhibit physiological functions of the human small intestinal epithelium, such as xenobiotic enzyme induction, transporter-dependent glucose transport, and chylomicron secretion, which cannot be fully replicated using Caco-2 cells, a conventional human small intestinal epithelial model⁸. These methods have also been applied to human liver organoids, that is, cost-effective culture and highly efficient gene transfer systems have been successfully developed⁹.

Future perspectives

The small intestine, liver, and adipose tissue play important roles in nutrient and xenobiotic metabolism. However, there are species differences between humans and mice in the mechanisms of metabolic function, and conventional culture cell lines express metabolic enzymes at significantly low levels. I found that the expression levels of key enzymes involved in these metabolic pathways are as high in human organoids as in normal organs. Therefore, it is expected that the use of organoids will enable the accurate metabolic evaluation of nutrients and food ingredients in human cells and the discovery of new physiological functions. Furthermore, the combination of these materials is expected to enable higher-order physiological evaluations in the future, such as the evaluation of organ connections in the small intestine-liver-adipose tissue axis.

Acknowledgement

We would like to thank Prof. Ryuichiro Sato at the University of Tokyo, Prof. Hiroshi Kiyono at Chiba University, and all others for their support and collaboration in carrying out this research.

References

1. Takahashi, Y., et al. *Journal of Lipid Research* **49**: 880-892. (2008)
2. Ohoka, N., et al. *Molecular Endocrinology* **23**: 759-771. (2009)
3. Takahashi, Y., et al. *PLoS One* **8**: e64605. (2013)
4. Takahashi, Y., et al. *Scientific Reports* **6**: 20975. (2016)
5. Takahashi, Y., et al. *Stem Cell Reports* **10**: 314-328. (2018)
6. Takahashi, Y., et al. *Scientific Reports* **13**: 5407. (2023)
7. Takahashi, Y., et al. *EBioMedicine* **23**: 34-45 (2017)
8. Takahashi, Y., et al. *iScience* **25**: 104542. (2022)
9. Kuboyama-Sasaki, A., et al. *Biotechnology Journal* **19**: e2300365. (2024)

Brief Biography

March	2005	B.S in Department of Applied Biological Chemistry, The University of Tokyo
March	2007	M.S in Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo
March	2010	Ph.D in Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo
April	2010	Research Scientist, Central Pharmaceutical Research Institute, Japan Tobacco, Inc.
August	2014	Collaborative Researcher, Institute of Medical Science, The University of Tokyo
September	2018	Project Lecturer, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo
August	2019	Assistant Professor, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo