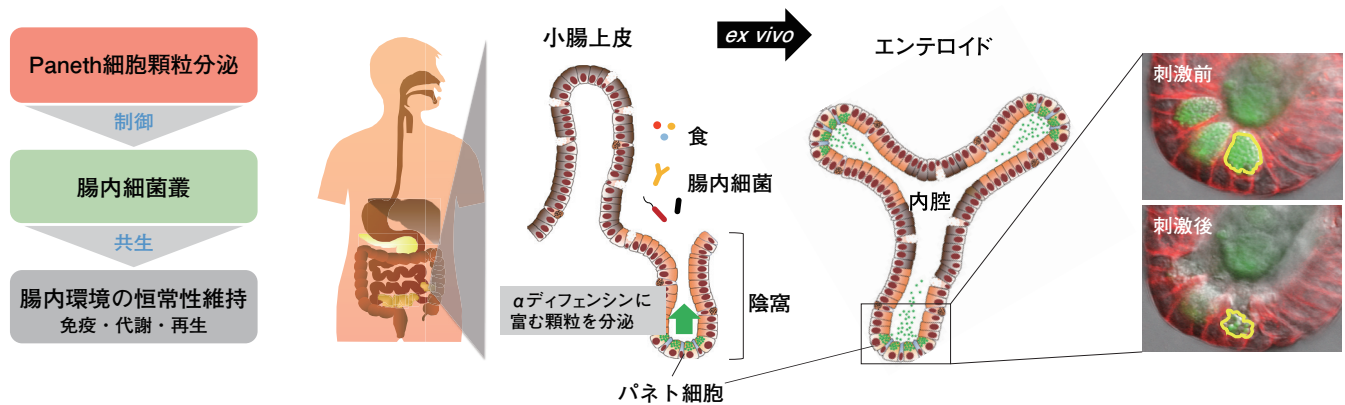


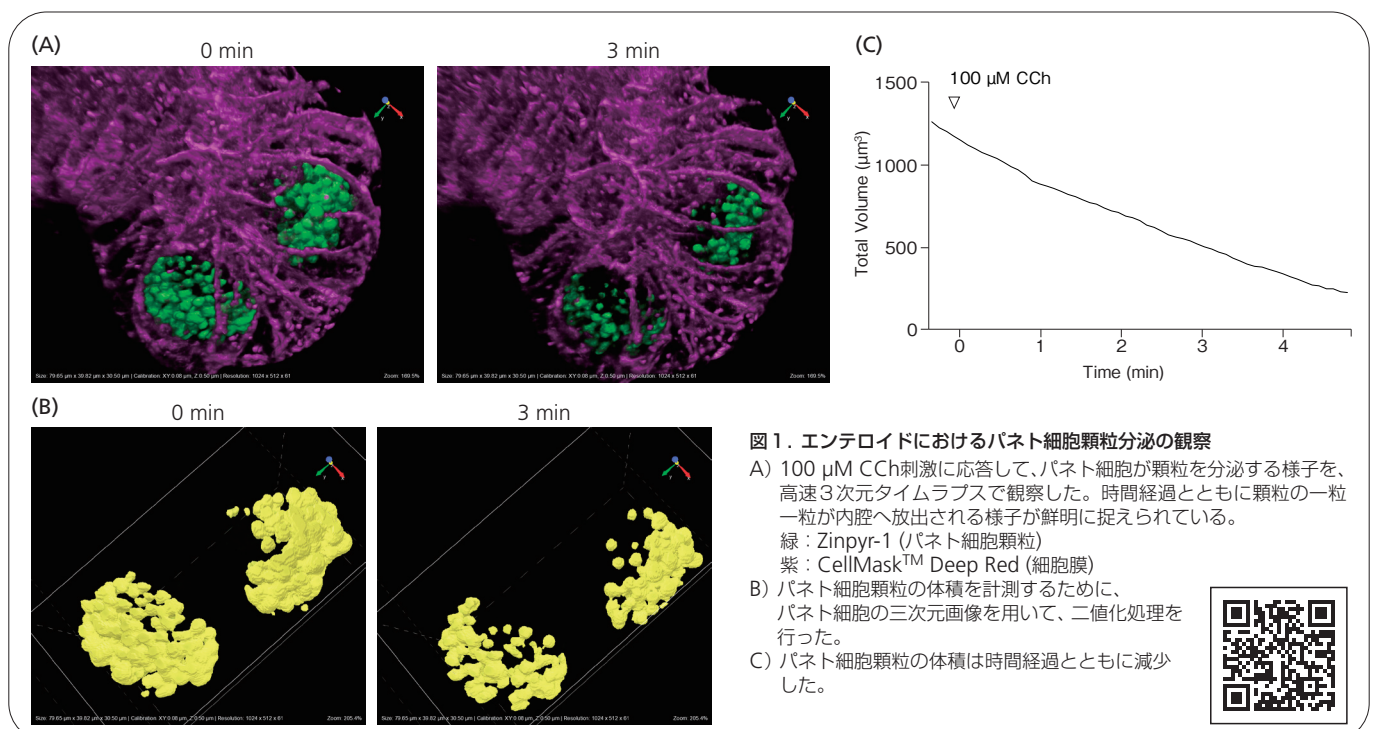
# 小腸上皮細胞三次元培養系を用いた、パネト細胞による自然免疫応答のライブイメージング

小腸上皮細胞であるパネト細胞 (Paneth cell) は、自然免疫のエフェクターである抗菌ペプチド $\alpha$ ディフェンシン ( $\alpha$ -defensin) を豊富に含む顆粒を、コリン作動性刺激や細菌刺激などに応答して分泌することで、病原体を排除し、常在菌とは共生して腸内細菌叢を制御している。本研究では、小腸上皮細胞三次元培養系であるエンテロイド (enteroid) を用いて、パネト細胞の顆粒分泌応答を *ex vivo* ではじめて可視化・定量化し、 $\alpha$ ディフェンシン分泌メカニズムを明らかにした。



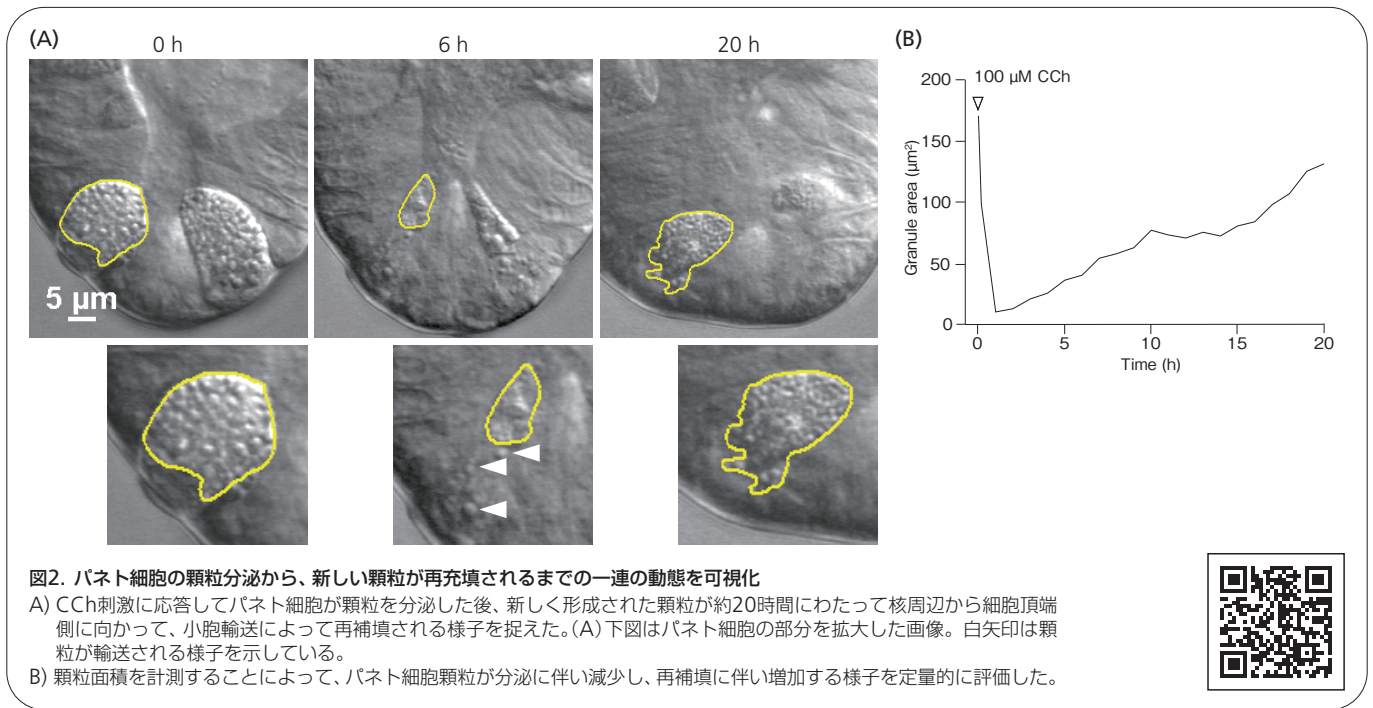
## パネト細胞顆粒分泌の三次元タイムラプス解析

エンテロイドにコリン作動薬であるカルバコール (CCh) を添加し、パネト細胞の免疫応答を観察した。高速レゾナンスキャナーとピエゾZステージを組み合わせた高速3次元タイムラプスイメージングにより、パネト細胞がエンテロイド内腔側に向かって顆粒を分泌する様子を捉え、これを定量化評価した (図1)。



## 分泌応答後におけるパネト細胞顆粒再形成の長時間追跡

長時間の微分干渉タイムラプス観察により、パネト細胞が顆粒分泌後から20時間の間に顆粒を再充填する様子を捉えた(図2(A))。さらに、顆粒の面積を計測することによって、パネト細胞の顆粒分泌から新しい顆粒の再充填までに至る自然免疫応答の一部始終を、定量的に評価した(図2(B))。



## まとめ

本研究は、コリン作動性刺激によるパネト細胞の顆粒分泌から、新しく形成された顆粒が約20時間以内に小胞輸送により細胞頂端側に再充填されるまでに至る、一連の顆粒動態をはじめて可視化した。これにより、パネト細胞の自然免疫応答が明らかになった。

今後は、*ex vivo*で、さらには*in vivo*で三次元カルシウムイメージングなどを行うことにより、パネト細胞顆粒分泌の分子メカニズムを明らかにしたい。

## 謝辞

画像やデータをご提供いただきました、北海道大学大学院 先端生命科学研究院 細胞生物科学分野 自然免疫研究室の横井友樹先生、中村公則先生、ならびに綾部時芳先生に深謝致します。

本研究は、北海道大学と株式会社ニコン システム開発部が共同で進めました。

## 参考文献

Yokoi Y, Nakamura K, Yoneda T, Kikuchi M, Sugimoto R, Shimizu Y, Ayabe T. *Scientific Reports* 9, 2710 (2019).

## 製品情報

### 共焦点レーザー顕微鏡システム A1R HD25

最速毎秒720フレームの高速取得が可能なレゾナントスキャナー。生細胞への光毒性が低く、ピエゾステージと組み合わせることで、高速三次元イメージングを実現。画像統合ソフトウェアNIS-Elementsは、画像取得から画像解析までを、トータルでサポートします。



ピエゾステージ



### CFI アポクロマート LWD Lambda S 20XC WI

長作動距離と高開口数を両立した対物レンズ。可視域から赤外域にわたる広い波長範囲の色収差を補正し、さらに高い透過率を実現するナノクリスタルコートを採用しています。

三次元培養系や組織切片など、厚みのある生体標本において、深部まで明るく鮮明なイメージングを実現します。

