

公益財団法人 お酒の科学財団
2024 年度研究助成 最終報告書

代表研究者	氏 名	濱田 晋	
	現所属機関 現役職	東北大学大学院 医学系研究科 消化器病態学分野 講師 (助成開始時：東北大学病院 消化器内科 病院講師)	
研究領域 臨床・内科学領域			
研究課題名 カルシウムチャネル TRPV6 変異はアルコール関連消化器疾患発症リスクを変えるか			
助成期間		2024 年 4 月～2026 年 3 月	
共同研究者			
氏 名		所属機関および役職	担当分野
菊田 和宏		東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学分野 非常勤講師	膵臓病学
滝川 哲也		東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学分野 助教	膵臓病学・胆膵内視鏡
松本 諒太郎		東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学分野 非常勤講師	膵臓病学・胆膵内視鏡

研究実績の概要

【研究目的】

アルコールは膵炎の大きな成因の一つである(Masamune, Pancreatology 2020)。しかしながら大酒家のうち膵炎を発症するものは一部であり、同じくアルコールを原因とする肝障害・肝硬変と慢性膵炎の併発はまれである。このようなアルコール関連消化器疾患の表現型を規定する因子として、栄養状態や嗜好など様々な要因が考えられるがその全容は未解明である。近年の技術の進歩は網羅的な遺伝子変異解析を可能としてきており、これまで知られていなかった新たな疾患の原因遺伝子が同定されている。カルシウムチャネルをコードする TRPV6 チャネルの変異はその好例である (Masamune, Gastroenterology 2020)。本研究ではアルコールが膵炎発症過程において果たす役割を明らかにし、膵管上皮機能がどのように障害されるか、TRPV6 の機能障害がどのように病態に寄与するかの解明を目的とする。

【研究方法】

研究期間を通して、ヒト膵手術検体及び膵液検体からのオルガノイド作成を実施した。検体採取および利用は本学倫理委員会の承認のもと、インフォームドコンセントを得て実施した。オルガノイド培養は既報に従い、ヒト膵組織コラゲナーゼ処理検体をマトリゲル中に包埋し、R-spondin、Wnt3a、Gastrin、EGF、Noggin、FGF10 を添加した培地中で実施した。通常培養・エタノール 100mM (血中濃度 0.46% (w/v) 換算、泥酔期血中エタノール濃度に類似) 処理 24 時間後の発現遺伝子の評価をリアルタイム RT-PCR にて実施した。測定対象は導管細胞マーカーとして *CFTR*, *SLC26A6*, *SLC4A4*, *SLC9A1*, 腺房細胞マーカーとして *PRSS1*, *CPA1*, 細胞増殖・生存関連分子として *CDKN1A*, *BIRC5*, *SLC7A11*, *TFRC*, *GPX4* を選定した。発現変動遺伝子の網羅的解析のため、通常培養・エタノール 100mM 及び TRPV6 阻害剤である 2-APB 50 μ M 処理 24 時間後のオルガノイドから RNA を抽出し、RNA sequence を実施した。発現変動遺伝子のデータをもとに Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) を実施し、細胞機能変化を解析した。蛋白レベルでの発現変動は正常ヒト膵導管細胞株である HPDE を用いて、各種薬剤刺激 24 時間後の標的分子発現レベルをウェスタンブロットで評価した。細胞増殖への影響は HPDE およびヒト膵癌細胞株 AsPC-1 を用いて、BrdU アッセイにて評価した。iPS 細胞からの膵 progenitor 細胞の分化誘導についても試行した。

【研究結果】

膵切除検体から得られたオルガノイドについて通常培養・エタノール 100mM 存在下で 24 時間培養後に RNA を抽出し、発現遺伝子につき比較した。この条件のエタノール処理では細胞死やオルガノイドの崩壊などの明らかな形態変化は観察されなかった。リアルタイム RT-PCR による発現遺伝子評価では、膵オルガノイドにおいてはクロライド

チャネルである *CFTR*、膵管上皮に高発現するイオン交換輸送体をコードする *SLC26A6*、*SLC4A4*、*SLC9A1* 発現がみられたが、これらの発現に比べ腺房細胞で発現する消化酵素であるカルボキシペプチダーゼをコードする *CPA1* 発現は低値であった。エタノール処理を行ったオルガノイドでは、細胞周期の抑制因子である *CDKN1A* の発現増加が確認された。フェロトーシス関連分子の発現についても評価したが、細胞死抑制的に働く *GPX4* 発現はむしろ増加していた。

正常ヒト膵管上皮細胞株である HPDE について、通常培養及びエタノール 50、100、200mM 存在下で 24 時間培養後の *CDKN1A* 発現をウェスタンブロットで評価したところ、容量依存性に発現増加を認めた。Adherent junction を形成する因子である E-cadherin、tight junction を形成する ZO-1 発現について評価したところ、E-cadherin 発現レベルには変化を認めなかったが、エタノール濃度の増加とともに ZO-1 発現の低下がみられた。TRPV6 阻害剤である 2-APB 処理により、HPDE の細胞増殖は用量依存的に抑制された。ヒト膵癌細胞株である AsPC-1 に比べ、より低濃度の処理でも増殖抑制がみられるとの結果であった。細胞周期の抑制因子である *CDKN1A* の発現増加も確認され、TRPV6 の阻害はエタノールと同様に膵管上皮細胞の増殖を抑制すると考えられた。

エタノール 100mM 処理 24 時間後の膵オルガノイドにおいては、GSEA 解析の結果細胞周期に関するもの、細胞間接着に関するもの、DNA ダメージレスポンスに関わるもの、ストレス応答に関するものが抽出された。エタノール処理により膵管上皮の増殖抑制に加えて上皮機能への影響がみられるとの結果であった。2-APB 処理後のオルガノイドはコントロール処理に比べて径の縮小・構造の変化がみられ、上皮機能の低下が示唆される結果であった。

【研究結果の学術的意義・社会的重要性】

本研究の実施により、泥酔期血中濃度に匹敵するエタノールへの暴露により、膵管上皮細胞の増殖能の低下や導管機能への影響が起こることがオルガノイドモデルで実証された。以上の結果については第 45 回アルコール医学生物学研究会学術集会にて発表を行い、優秀演題賞を受賞した。さらに、膵炎関連遺伝子として新たに同定された *TRPV6* について、機能阻害が正常ヒト膵管上皮細胞株・ヒト膵オルガノイドに対して増殖抑制および形態の維持を困難にすることを見出した。エタノールおよび TRPV6 阻害による増殖抑制には *CDKN1A* 発現増加を介したシグナル伝達機構が寄与することが示唆され、上流の制御分子である p53 の関与や細胞老化誘導機構との関連が考えられる。

エタノールによる膵炎発症は個人差が大きく、予測は困難である。オルガノイドを用いて増殖能や上皮機能の評価が可能となれば、エタノールによる膵疾患の予防薬探索などへの道が開ける。本研究を契機として、ヒト検体からのオルガノイド樹立のさらなる効率化に加え、大量作成が可能で遺伝子改変も容易な iPS 細胞を用いた膵オルガノイド作成も進めることとした。膵疾患細胞モデルの臨床応用に向けて今後も解析を継続する。

本文

1. 研究開始当初の背景

アルコールは膵炎の大きな成因の一つである(Masamune, Pancreatology 2020)。しかしながら大酒家のうち膵炎を発症するものは一部であり、同じくアルコールを原因とする肝障害・肝硬変と慢性膵炎の併発はまれである。アルコール関連消化器疾患の表現型を規定する因子として、栄養状態や嗜好など様々な要因が考えられるがその全容は未解明である。近年の技術の進歩は網羅的な遺伝子変異解析を可能とし、新たな疾患原因遺伝子が明らかになっている。我々の教室では世界で初めてカルシウムチャネルをコードする遺伝子、TRPV6 の変異を若年発症慢性膵炎患者で同定した(Masamune, Gastroenterology 2020)。

TRPV6 変異の一部はアルコール関連膵炎患者でも高頻度である。また、最近の報告ではアルコールによる腸管のバリア機能低下は上皮細胞の TRPV6 依存的であることが判明しており(Meena, Cell Rep. 2022)、肝障害の病態をむしろ増悪させる可能性が示唆されている。TRPV6 変異は膵炎には促進的に、肝障害には抑制的に働く可能性が高い。本研究計画の核心をなす学術的「問い」は、「TRPV6 変異はアルコール関連消化器疾患の発症リスクをどう変えるか」である。

2. 研究の目的

本研究ではアルコールが膵炎発症過程において果たす役割を明らかにし、膵管上皮機能がどのように障害されるか、TRPV6 の機能障害がどのように病態に寄与するかの解明を目的とする。

3. 研究の方法

膵管オルガノイド作成

検体採取および利用は本学倫理委員会の承認のもと、インフォームドコンセントを得て実施した。オルガノイド培養は既報¹⁾に従い、膵切除検体正常部からの摘出膵組織コラゲナーゼ処理検体及び膵液中浮遊上皮細胞をマトリゲル中に包埋し、R-spondin、Wnt3a、Gastrin、EGF、Noggin、FGF10 を添加した培地中で実施した。

定量的 RT-PCR による発現遺伝子解析

通常培養・エタノール 100mM (血中濃度 0.46% (w/v) 換算、泥酔期血中エタノール濃度に類似) 処理 24 時間後の発現遺伝子の評価をリアルタイム RT-PCR にて実施した。測定対象は導管細胞マーカーとして *CFTR*, *SLC26A6*, *SLC4A4*, *SLC9A1*, 腺房細胞マーカーとして *PRSS1*, *CPA1*, 細胞増殖・生存関連分子として *CDKN1A*, *BIRC5*, *SLC7A11*, *TFRC*, *GPX4* を選定した。

RNA sequence による網羅的解析

発現変動遺伝子の網羅的解析のため、通常培養・エタノール 100mM 及び TRPV6 阻害剤である 2-APB 50 μ M 処理 24 時間後のオルガノイドから RNA を抽出し、RNA sequence を実施した。DNBSEQ-G400RS FAST シーケンサーを用いて paired end (150bp) で解析を行い、発現変動遺伝子を同定した。遺伝子リスト、log (fold change) リストをもとに Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) を実施し、細胞機能変化を解析した。

正常ヒト膵導管細胞株による検証

エタノール及び TRPV6 阻害剤処理後の蛋白レベルでの発現分子の変化について、正常ヒト膵導管細胞株である HPDE を用いて、各種薬剤刺激 24 時間後の発現レベルをウエスタンブロットで評価した。

細胞増殖能の検討

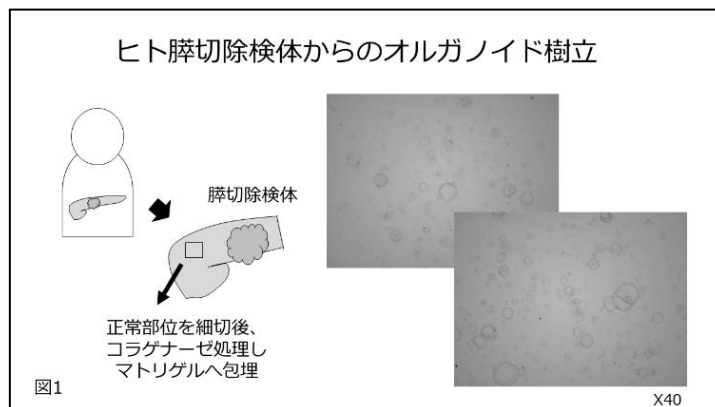
細胞増殖への 2-APB の影響は HPDE およびヒト膵癌細胞株 AsPC-1 を用いて、BrdU アッセイにて評価した。

iPS 細胞からの膵 progenitor 細胞分化誘導

iPS 細胞は理研 BRC より入手し、laminin511 および StemFit AK02N 培地を用いて維持培養を行った。PDX-1 陽性膵 progenitor 細胞への分化誘導は Activin A 100 ng/ml+Wnt3a 25 ng/ml 含有 RPMI; 1day, Activin A 100 ng/ml+0.2% FBS 含有 RPMI; 2 days, 12.5% serum replacement 含有 knockout DMEM; 7 days にて行い、PDX-1 発現は定量的 RT-PCR にて確認した。

4. 研究成果

ヒト膵オルガノイド樹立は、ヒト膵手術検体及び膵液検体を用いて実施した。ヒト膵手術検体は、正常部位を細切後、コラゲナーゼ処理しマトリゲルへ包埋した。既報に従い、ヒト膵組織コラゲナーゼ処理検体をマトリゲル中に包埋し、R-spondin、Wnt3a、Gastrin、EGF、Noggin、FGF10 を添加した培地での培養により中空構造を有するオルガノイドが形成される (図 1)。本法では摘出膵の状態に



より樹立効率が左右されるため、膵液検体からの樹立も併施した（図2）。内視鏡的膵管胆管造影検査（ERCP）初回施行時の膵液採取は蛋白栓などの夾雑物が多いため **contamination** の頻度が高いことが判明していたため²⁾、膵炎再発予防のためのステント再留置時に膵管擦過細胞診を施行直後、膵液サンプルを取得しオルガノイドを樹立することとした。本法で樹立した膵オルガノイドも、膵組織から樹立したオルガノイドと同様の構造を示すことを確認した（図3）。

ヒト膵オルガノイドを通常培養またはエタノール 100mM（血中濃度 0.46%（w/v）換算、泥酔期血中エタノール濃度に類似）存在下で培養したところ、球状構造の破綻や変形など明らかな形態変化や細胞死は観察されなかった（図4）。

定量的 RT-PCR による解析では、エタノール刺激はオルガノイドにおける導管系マーカー遺伝子（嚢胞線維症の原因遺伝子である *CFTR*、膵管上皮に発現するイオン交換輸送体をコードする *SLC4A4*、*SLC9A1* および *SLC26A6*）の発現には有意な影響を与えなかった（図5）。

ヒト膵液検体からのオルガノイド樹立

- 初回ERCP施行時の膵液サンプルでは蛋白栓などの夾雑物が多く、contamination頻度が高い
- ENBDチューブからの流出膵液では膵管上皮が少なくオルガノイド形成数が少ない

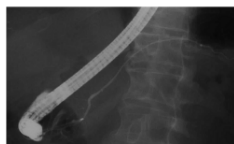


図2

膵炎再発予防のためのステント再留置時に膵管擦過細胞診を施行直後、膵液サンプルを取得しオルガノイドを樹立

ヒト膵液検体からのオルガノイド樹立

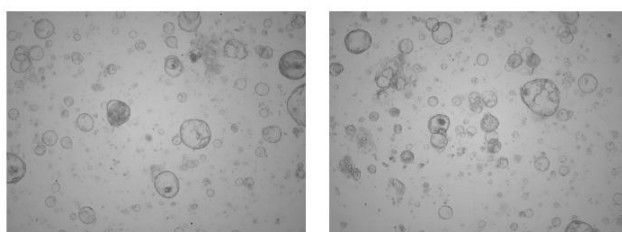


図3

X40

ヒト膵切除検体オルガノイドのエタノール刺激

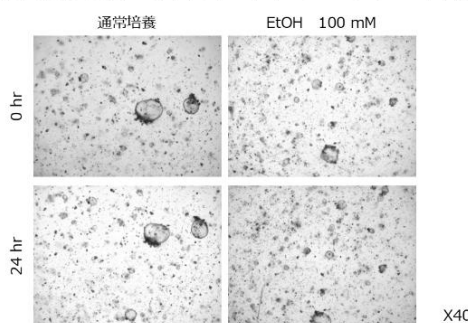


図4

X40

導管及び腺房細胞マーカー発現への効果

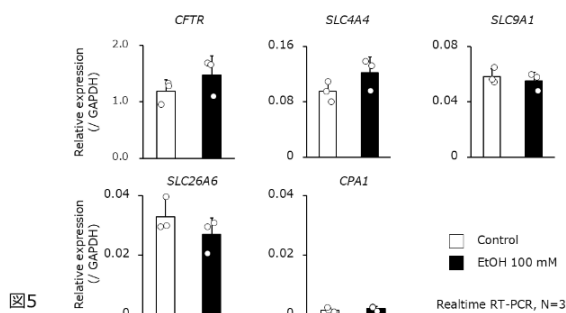


図5

腺房細胞マーカーである *CPA1* 発現は低値のままであった。細胞周期の抑制因子である p21 をコードする *CDKN1A*、アポトーシス抑制因子であるサバイビンをコードする *BIRC5* について発現を比較したところ、*CDKN1A* の発現増加がみとめられた (図 6)。マウス膵炎モデルにおいて活性化する細胞死メカニズム、フェロトーシス³⁾ 関連遺伝子についても検討したが、フェロトーシス抑制に働く *GPX4* はむしろ増加していたものの、その他の関連遺伝子の有意な発現変動は見られなかった。

エタノール刺激を行ったヒト膵オルガノイドを p21 蛍光免疫染色に供したところ、コントロール処理に比べ p21 陽性を示す細胞の増加がみとめられた (図 7)。

正常ヒト膵管上皮細胞株である HPDE について、通常培養及びエタノール 50、100、200mM 存在下で 24 時間培養後の p21 発現をウェスタンブロットで評価したところ、容量依存性に発現増加を認めた。Adherent junction を形成する因子である E-cadherin、tight junction を形成する ZO-1 発現について評価したところ、

細胞増殖・フェロトーシス関連遺伝子発現への効果

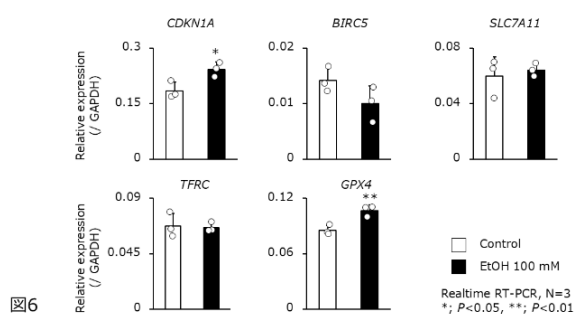


図6

エタノール刺激によるp21発現誘導

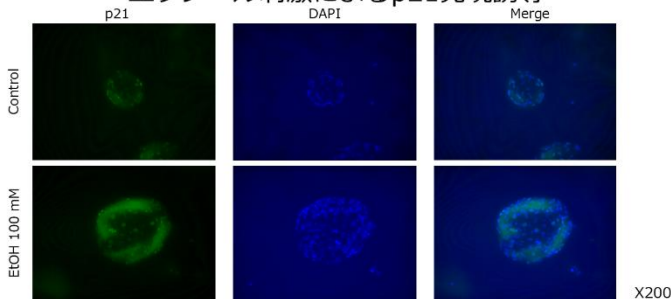


図7

ヒト膵管上皮細胞株HPDEにおけるp21誘導の確認

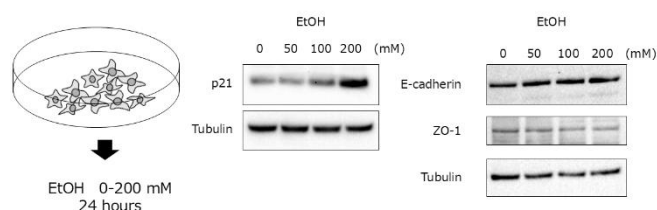


図8

ヒト膵液由来オルガノイドのエタノール処理

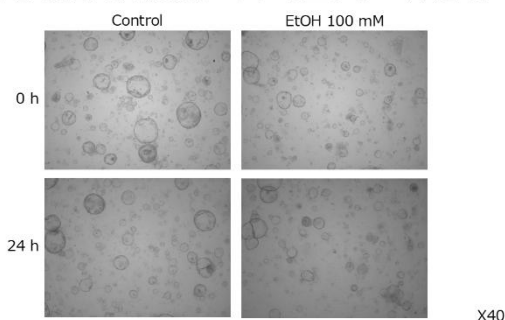


図9

E-cadherin 発現レベルには変化を認めなかったが、エタノール濃度の増加とともに ZO-1 発現の低下がみられた (図 8)。

膵液検体から樹立したヒト膵オルガノイドについてもエタノール 100mM、24 時間刺激を実施した。膵組織由来オルガノイドと同様に、球状構造の破綻や変形など明らかな形態変化や細胞死は観察されなかった (図 9)。エタノール処理を行ったオルガノイドから RNA を抽出し、網羅的な発現遺伝子解析を行った。DNBSEQ-G400RS FAST シーケンサーを用いて paired end (150bp) で解析を行い、468 個の発現変動遺伝子を同定した (図 10)。遺伝子リスト、log (fold change) リストから実施した GSEA 解析では細胞周期に関するもの、細胞間接着に関するもの、DNA ダメージレスポンスに関わるもの、ストレス応答に関するものが抽出された。エタノールによる膵オルガノイドにおける細胞増殖、上皮機能への影響を推測させる結果であった (図 11, 12)。

オルガノイドの発現遺伝子のうち導管細胞マーカーと腺房細胞マーカーについて確認したところ、*CFTR*、*SLC26A6*、

SLC4A4、*SLC9A1* およびカルシウムチャネルをコードする膵炎原因遺伝子、*TRPV6* の発現が認められた。トリプシンをコードする *PRSS1* 発現はこれら導管発現遺伝子に比べ

RNAseqによる発現変動遺伝子解析

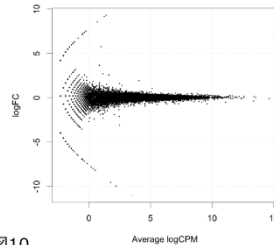


図10

- ヒト膵液オルガノイドから得られたRNAサンプルについて、DNBSEQ-G400RS FASTシーケンサーを用いてpaired end (150bp)で解析を行った
- 468個の発現変動遺伝子を同定した
- 遺伝子リスト、log (fold change)リストからGSEA解析を実施した

GSEA解析

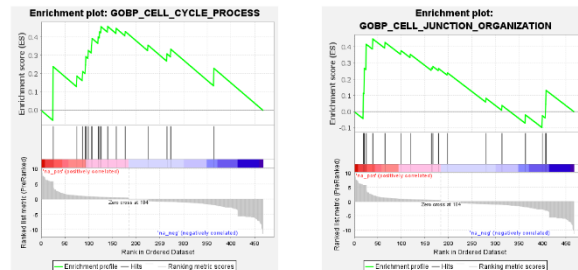


図11

GSEA解析

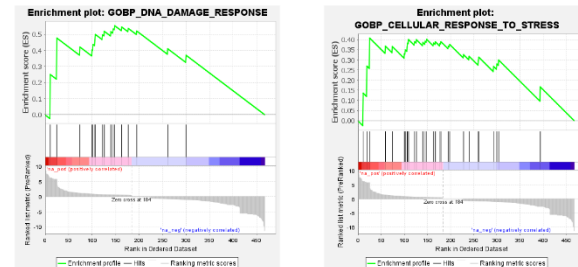


図12

RNAseqによるヒト膵オルガノイド発現遺伝子解析

GeneSymbol	comp1_logFC	comp1_PValue	hORG_control	hORG_ETOH
CFTR	0.408762366	0.050334217	148.0282286	196.5171084
SLC26A6	-0.135614179	0.580597085	22.01864853	20.04242968
SLC4A4	-0.004612197	0.98437108	183.5726183	182.9866595
SLC9A1	-0.064643982	0.763107344	101.097052	96.66673667
TRPV6	0.19135257	0.35891199	174.5135172	199.2666114
PRSS1	-0.708522805	0.356672497	1.069477214	0.651198076

図13

低値であった(図13)。膵に高発現する炭酸脱水酵素、CA2 発現はエタノール処理により低下した(図14)。また、ナトリウム・プロトン交換輸送体をコードする *SLC9A2*、*SLC9A4* についてはエタノール処理により発現が低下した(図15)。

既報では膵癌において *TRPV6* が高発現しており、予後との相関がみられることが明らかになっている⁴⁾。当院における膵癌切除検体でも、免疫染色にて癌腺管に一致した *TRPV6* の発現を確認した(図16)。ヒト膵オルガノイドも *TRPV6* を発現しており、その機能阻害がオルガノイド機能に影響するかを検討することとした。2-APB は *TRPV6* の膜貫通ドメインに結合し、*TRPV6* 蛋白と膜脂質の相互作用を変化させることでチャネルを閉鎖する *TRPV6* 阻害剤である⁵⁾。ヒト膵癌細胞株 AsPC-1 を 2-APB で処理したところ、100 μ M の高濃度でのみ有意な増殖能の抑制をみとめた(図17)。一方、正常ヒト膵管上皮細胞株 HPDE では 12.5 μ M から増殖能の低下がみとめられた。

エタノールによる発現変動遺伝子

GeneSymbol	comp1_logFC	comp1_PValue	hORG_control	hORG_ETOH
C7orf55-LUC7L2	-2.125993365	1.02623E-09	8.555817715	1.953594229
C8orf44-SGK3	-1.374599818	0.007594563	2.264775278	0.868264102
C9orf142	-0.663720674	0.045614707	5.850669467	3.690122433
CA2	-0.838901573	0.001916608	13.33700997	7.452600208
CA9	-0.815098461	0.001859042	15.66469567	8.899707044
CALHM2	-2.663427864	0.043331447	0.503283395	0.072355342
CAPN12	-0.55520405	0.037486264	13.39992039	9.116773069
CAPN8	-0.625343029	0.006206629	36.61386699	23.73255212
CAPN9	-0.912109853	0.000423534	16.48253119	8.75499636

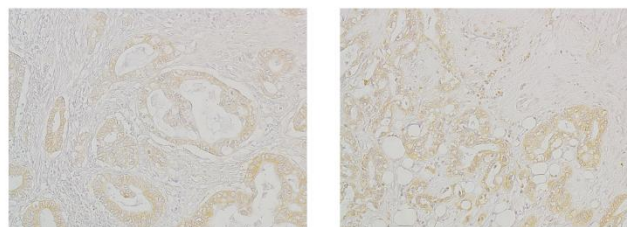
図14

エタノールによる発現変動遺伝子

GeneSymbol	comp1_logFC	comp1_PValue	hORG_control	hORG_ETOH
SLC15A3	1.137146278	0.03830181	0.817835517	1.808883546
SLC23A3	-1.207961635	0.008781508	3.01970037	1.302396153
SLC25A22	0.596187153	0.011667892	16.79708331	25.39672498
SLC2A10	-0.475485615	0.031580697	52.21565223	37.5524224
SLC2A3	1.973644154	0.025042572	0.251641698	1.012974785
SLC3A1	0.581263141	0.022764764	10.44313045	15.62875383
SLC7A5P1	-5.519389542	0.03361661	0.377462546	0
SLC8A1	0.762936919	0.037542281	2.768058673	4.703097218
SLC9A2	-0.456539333	0.038364042	53.22221902	38.78246322
SLC9A4	-0.531155769	0.036694987	16.41962076	11.35978867
SLC9A5	-1.22160913	0.043957484	1.698581458	0.723553418

図15

ヒト膵癌組織におけるTRPV6発現



TRPV6 IHC, X200

図16

2-APBによる細胞増殖の低下

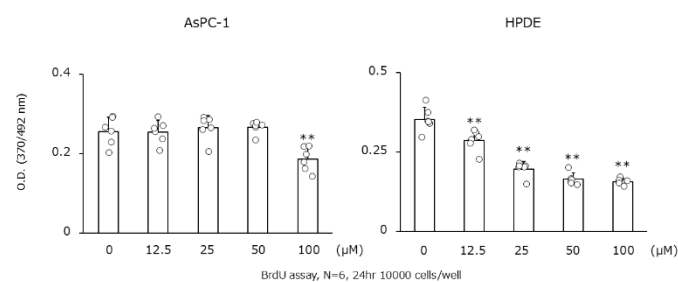


図17

正常膵導管細胞は TRPV6 阻害に対する感受性が高いと考え、HPDE 細胞株を 2-APB 50 μ M で 24 時間刺激したのちに p21 発現を確認したところ、増加がみられた (図 18)。ヒト膵オルガノイドを 2-APB 50 μ M で 24 時間刺激し、形態変化を確認した。エタノール刺激とは異なり、2-APB 処理後のオルガノイドはサイズの縮小や球状構造の崩壊が一部にみられるとの結果であった (図 19)。本処理後のオルガノイドから RNA 抽出を行い、RNA sequence による網羅的発現遺伝子の解析を実施中である (報告書作成時結果未着)。

ヒト膵手術検体及び膵液検体からのオルガノイド樹立は検体の状態によって樹立効率に差があり、必ずしも樹立可能とは限らない。検体からの樹立では contamination の確立

も高く、遺伝子改変も困難であるため iPS 細胞からの膵外分泌系諸細胞誘導を試行することとした。Embryonic stem cell を用いた誘導に関しては既報があるため⁶⁾、iPS 細胞を用いて膵 progenitor 細胞である PDX-1 陽性細胞の分化誘導を行った。未分化な状態を維持する培養条件下では iPS 細胞における PDX-1 発現は未分化マーカー NANOG、SOX2 に比べ低いことを確認した (図 20)。

所定の分化誘導過程に従って 10 日間培養を行った細胞は、iPS 細胞に比べて細胞が大型化し、上皮様の発育形態を示した。PDX-1 発現をリアルタイム PCR で確認したとこ

ヒト膵管上皮細胞株HPDEにおけるTRPV6阻害の効果

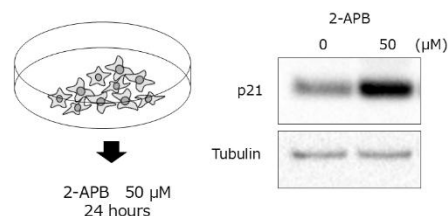


図18

ヒトオルガノイドにおける2-APBの効果

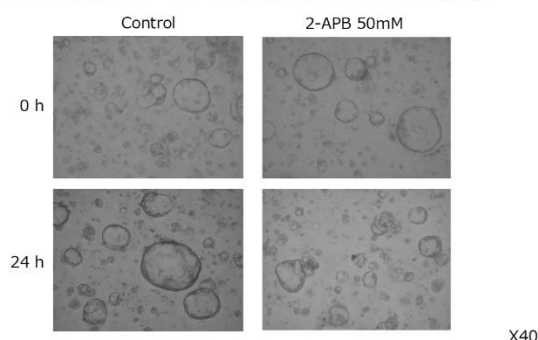


図19

iPS細胞からのPDX-1陽性細胞誘導

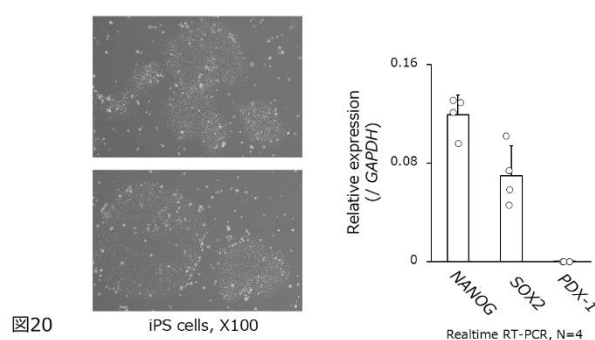
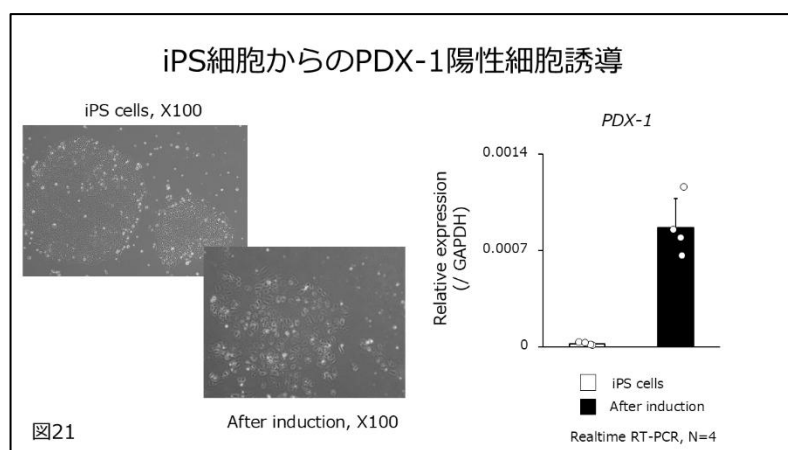


図20

ろ、分化誘導処理によって発現が増加しており、iPS 細胞からも膵前駆細胞の分化誘導が可能であることを確認した (図 21)。誘導後の細胞をマトリゲルに包埋し培養継続が可能か、また検体由来オルガノイドと同様の組織構築を示すか検証中である。



5. 結果に対する考察・結論

本研究の実施により、泥酔期血中濃度に匹敵するエタノールへの暴露により、膵管上皮細胞の増殖能の低下や導管機能への影響が起こることがオルガノイドモデルで実証された。以上の結果については第 45 回アルコール医学生物学研究会学術集会にて発表を行い、優秀演題賞を受賞した。さらに、膵炎関連遺伝子として新たに同定された *TRPV6* について、機能阻害が正常ヒト膵管上皮細胞株・ヒト膵オルガノイドに対して増殖抑制および形態の維持を困難にすることを見出した。エタノールおよび *TRPV6* 阻害による増殖抑制には *CDKN1A* 発現増加を介したシグナル伝達機構が寄与することが示唆され、上流の制御分子である *p53* の関与や細胞老化誘導機構との関連が考えられる。

エタノールによる膵炎発症は個人差が大きく、予測は困難である。オルガノイドを用いて増殖能や上皮機能の評価が可能となれば、エタノールによる膵疾患の予防薬探索などへの道が開ける。本研究を契機として、ヒト検体からのオルガノイド樹立のさらなる効率化に加え、大量作成が可能で遺伝子改変も容易な iPS 細胞を用いた膵オルガノイド作成を進めることとした。膵疾患細胞モデルの臨床応用に向けて今後も解析を継続する。

6. 今後の展望

エタノールは膵導管上皮細胞に対し、直接的な増殖抑制効果を示す。同定された発現変動分子は細胞老化と密接に関連しており、エタノールによる膵炎発症と細胞老化の関連につきさらに解析が必要である。細胞老化は膵癌進展との関連も知られており、膵炎による膵癌促進作用には本研究で同定した細胞機能の変化が寄与することも推測される。ヒト膵炎・膵癌検体、膵炎および膵癌モデルマウスを用いた検討、iPS 技術を取り入れた疾患細胞モデルの構築により、エタノールによる膵疾患の病態解明がなされることが期待される。

引用文献

1. Broutier L, Andersson-Rolf A, Hindley CJ, et al. Culture and establishment of self-renewing human and mouse adult liver and pancreas 3D organoids and their genetic manipulation. *Nat Protoc* 2016;11(9):1724-43. doi: 10.1038/nprot.2016.097 [published Online First: 20160825]
2. Levink IJM, Nesteruk K, Visser DI, et al. Optimization of Pancreatic Juice Collection: A First Step Toward Biomarker Discovery and Early Detection of Pancreatic Cancer. *Am J Gastroenterol* 2020;115(12):2103-08. doi: 10.14309/ajg.0000000000000939
3. Liu K, Liu J, Zou B, et al. Trypsin-Mediated Sensitization to Ferroptosis Increases the Severity of Pancreatitis in Mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2022;13(2):483-500. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.09.008 [published Online First: 20210923]
4. Mesquita G, Haustrate A, Mihalache A, et al. TRPV6 Channel Is Involved in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Aggressiveness and Resistance to Chemotherapeutics. *Cancers (Basel)* 2023;15(24) doi: 10.3390/cancers15245769 [published Online First: 20231208]
5. Singh AK, Saotome K, McGoldrick LL, et al. Structural bases of TRP channel TRPV6 allosteric modulation by 2-APB. *Nat Commun* 2018;9(1):2465. doi: 10.1038/s41467-018-04828-y [published Online First: 20180625]
6. Ameri J, Stahlberg A, Pedersen J, et al. FGF2 specifies hESC-derived definitive endoderm into foregut/midgut cell lineages in a concentration-dependent manner. *Stem Cells* 2010;28(1):45-56. doi: 10.1002/stem.249

<u>特記事項</u> ＜論文発表＞ なし
＜学会発表＞ 第 45 回アルコール医学生物学研究会学術集会 一般演題 ヒト臍オルガノイドに対するエタノールの作用の解析 優秀演題賞 受賞
＜図書発表＞ なし
＜産業財産権＞ なし