

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03657

研究課題名(和文)原腸由来臓器の上皮細胞可塑性と互換性の検証

研究課題名(英文)Epithelial cell plasticity and reversibility of primitive endodermal tissues

研究代表者

油井 史郎(Yui, Shiro)

東京医科歯科大学・統合研究機構・准教授

研究者番号：00383886

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は、今までマウス腸をモデルとして、I型コラーゲンと上皮細胞の接触により上皮細胞が成体の性質から胎児期の性質へ変化することを示してきました。この胎児化は成体の腸上皮が傷害を受けた際に駆動する再生反応として注目されています。研究代表者が開発したI型コラーゲンによる腸上皮培養で形成される球状オルガノイドは胎児細胞の性質へ誘導された上皮細胞の集簇であることがわかっておりませんが、その機序は不明でした。本課題では、キー転写因子の同定のほか、ヒト腸でもコラーゲンにより胎児化が生じることも明らかにしています。本課題ではさらに、腸上皮と肝細胞の互換性を部分的に確認しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、炎症性腸疾患などの難治性腸疾患における上皮細胞に特有の炎症特性をすべからく理解するための演繹手法として非常に有用です。すなわち、本研究課題で提示した分子的スキームを当てはめることにより、従来の網羅的発現遺伝子解析やゲノムワイド解析などの結果を体系的に理解し、細部に渡るまで論理的に理解することができるようになりました。これは腸研究における極めて重大な研究成果です。さらに本課題では、その機序を人為的に利用して、細胞特性を遺伝子操作によらない手法で互換させるという全く新しい細胞工学的手法を提唱した点で社会的インパクトがあります。

研究成果の概要(英文)：I formally presented the scheme that the interaction of Type I Collagen and epithelial cells induce the reprogramming of cellular character from adult mature phenotype towards fetal primitive one by using murine intestine as a model. This fetal induction is now recognized as one of the important regenerative responses of intestinal epithelial cells to drive a quick restoration of tissue homeostasis. The spherical intestinal organoids organized in purified Type I Collagen is already revealed to be an enriched population of these reprogrammed epithelial cells, the mechanisms are not well defined yet. This study clearly identified not only the key transcriptional factors governing the process, but also the similar regenerative reaction in human samples. Furthermore, this study illustrates how to adapt the mechanisms to artificially induce the compatible signature between intestine and liver, both of which developed from the same primitive gut tube.

研究分野：消化器内科学

キーワード：細胞外基質依存性上皮細胞可塑性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

当該研究の開始の時期は、研究代表者による炎症・再生に際する腸上皮細胞の胎児化の報告と Sca1 陽性細胞の出現に関する報告(Yui S et al, Cell Stem Cell, 2018)を皮切りに、この新しい細胞分画に関する研究が世界的に注目 (Nusse YM et al, Nature, 2018; Ayyaz Aet al, Nature, 2019) され始めた時期である。このような特殊な幼若化した上皮細胞が炎症に際して出現するというエビデンスの構築に合わせて、学術的にはこのような特殊な幼若化した細胞がどのように出現するのかという機序が重要であることが認識されていた。この機序に転写因子である YAP/TAZ が関与していることは概ね了解されていたが、より詳細な全体像の把握、すなわち何がトリガーとなり、それがどのように媒介・伝達され、そのことによって実際にもたらされる変化の分子的ネットワークなどに関する研究遂行の重要性が認識されていた。それとともに、胎児化という現象を細胞機能の側面から実証する必要性も認識されていた。すなわち、当時了承されていたことは、Sca1(Yui S et al, Cell Stem Cell, 2018; Nusse YM et al, Nature, 2018)や Clusterin (Ayyaz Aet al, Nature, 2019) あるいは Tacsted2 (Wang Y et al, Cell, 2019) などの胎児上皮特有のマーカー陽性の細胞が成体腸の上皮細胞から出現することがあるという点と、その細胞の遺伝子発現のパターンが、実際に胎児上皮細胞に類似しているということに留り、その細胞が胎児細胞と同様の機能を有しているのかは不明であった。このことは ES 細胞や iPS 細胞の Pluripotency の証明が、その細胞に由来する個体の存在であったことに依拠する学術的要請であり、胎児化したとするには、ある細胞が同一原基由来の別系統の細胞へ変化することを示すことが重要であると認識されていた。

### 2. 研究の目的

当該研究においては、これらの背景に基づき、胎児型特殊腸上皮が出現する現象の全体像の把握に努めるとともに、人工的に胎児化した細胞が、実際に胎児期の細胞機能を発揮しうる(= 互換性の獲得)可能性の検証も目的とした。なお、後者の検証はいくつかの段階に分けて考える必要がある。iPS 細胞を例にとると、最初の段階として由来する組織固有の性質の消失、次の段階として Naive 状態への遷移、最後の段階として別系統の細胞への分化・成熟となることから、まず本課題では、胎児型特殊腸上皮における腸固有の形質の喪失の有無を検証した。

### 3. 研究の方法

胎児型特殊腸上皮が出現する現象の全体像の把握においては、まずはマウス・ヒトの腸上皮細胞を用いて In Vitro の検証を行った。特に、トリガーとして I 型コラーゲンによる経路に注目して実験を行うこととし、東京医科歯科大学で開発された I 型コラーゲンに腸上皮を包埋して培養することによって形成されるコラーゲンスフェア (Yui S & Nakamura T et al, Nature Medicine, 2012) の発現遺伝子解析やエピゲノム解析を行った。得られたデータに関しては、ヒト大腸の炎症組織を用いて検証した。胎児型特殊腸上皮における腸固有の形質の喪失に関しては、一連の網羅的データの包括的解釈に加えて、特異的転写因子の発現傾向の変容を解析した。

### 4. 研究成果

胎児型特殊腸上皮が出現する現象の全体像の把握においては、マウスのコラーゲンスフェアの発現遺伝子解析やエピゲノム解析を行い、この全容の解明を行うことができた (Sakurako Kobayashi, Nobuhiko Ogasawara et al, 2022, Inflammation and Regeneration)。具体的には I 型コラーゲンを起点とする化学的レセプター-Integrin の上昇を認めるとともに、エピゲノム解析に基づく統計的な活動転写因子の推定手法 (= Motif 解析)を用いて、YAP/TAZ に加えて FRA1 や RUNX2 などの複数の転写因子の同期的・同調的な活動を確認した。またこれらの上流の変化に伴い、炎症に特徴的な複数のサイトカイン(IL33 など)が上皮細胞に誘導されることや、さらには PTGS2 などの炎症関連分子の活性も上皮細胞に誘導されることが明らかとなり、当該現象が炎症と関連の高い性質のものであることが確認された。これらの結果は、同時期に異なる研究グループによって独立して行われた成体腸上皮と胎児長上皮の比較研究 (Pikkupeura LM et al, BioRxiv) でもほぼ同様の結果が報告されており、その点からもコラーゲンスフェアが胎児腸上皮と高い相同性を有していると考えられることは、極めて妥当性の高い科学的推論であると考えられる。またヒトのコラーゲンスフェアも同様の傾向を示し、本課題では炎症性腸疾患の今後の病態理解に有用な遺伝子セットの同定に成功した。具体的には補体である C4BPB や細胞骨格分子である KRT80、あるいは IL18 などである。本課題で抽出した遺伝子セットには、現在炎症との関連の不明な実に多くの遺伝子が含まれており、今後の IBD 研究における新しい課題創出に有用な成果であると考えている。

胎児型特殊腸上皮における腸固有の形質の喪失においては、複数の腸特有の転写因子の減弱を認めるとともに、胎児化によって誘導される細胞の転写特性が、腸上皮の中でも吸収上皮系の性質を有する特殊細胞であることが明らかとなった。これらの転写因子の変容や、網羅的遺伝子発現パターンは、成体組織の中では肝細胞に類似していることが示唆され、最終的な目標である同

一原基由来の別系統の細胞への変化を検証するにあたり重要なターゲットを提示することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Watanabe Satoshi, Ogasawara Nobuhiko, Kobayashi Sakurako, Kirino Sakura, Inoue Masami, Hiraguri Yui, Nagata Sayaka, Shimizu Hiromichi, Ito Go, Mizutani Tomohiro, Nemoto Yasuhiro, Tsuchiya Kiichiro, Okamoto Ryuichi, Watanabe Mamoru, Yui Shiro	4. 巻 58
2. 論文標題 Organoids transplantation as a new modality to design epithelial signature to create a membrane-protective sulfomucin-enriched segment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 379 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-023-01959-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Sakurako, Yui Shiro et al	4. 巻 42
2. 論文標題 Collagen type I-mediated mechanotransduction controls epithelial cell fate conversion during intestinal inflammation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41232-022-00237-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Satoshi, Kobayashi Sakurako, Ogasawara Nobuhiko, Okamoto Ryuichi, Nakamura Tetsuya, Watanabe Mamoru, Jensen Kim B., Yui Shiro	4. 巻 17
2. 論文標題 Transplantation of intestinal organoids into a mouse model of colitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Protocols	6. 最初と最後の頁 649 ~ 671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41596-021-00658-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Go Ito, Shiro Yui, Ryuichi Okamoto	4. 巻 12
2. 論文標題 A Cellular "Hub" Function to Resolve Colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CMGH	6. 最初と最後の頁 789,790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2021.04.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuno Reiko, Ito Go, Kawamoto Ami, Hiraguri Yui, Sugihara Hady Yuki, Takeoka Sayaka, Nagata Sayaka, Takahashi Junichi, Tsuchiya Mao, Anzai Sho, Mizutani Tomohiro, Shimizu Hiromichi, Yui Shiro, Oshima Shigeru, Tsuchiya Kiichiro, Watanabe Mamoru, Okamoto Ryuichi	4. 巻 25
2. 論文標題 Notch and TNF- signaling promote cytoplasmic accumulation of OLFM4 in intestinal epithelium cells and exhibit a cell protective role in the inflamed mucosa of IBD patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 1, 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2020.100906	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mao Tsuchiya, Golto, Minami Hama, Sayaka Nagata, Ami Kawamoto, Kohei Suzuki, Hiromichi Shimizu, Sho Anzai, Junichi Takahashi, Reiko Kuno, Sayaka Takeoka, Yui Hiraguri, Hady Yuki Sugihara, Tomohiro Mizutani, Shiro Yui, Shigeru Oshima, Kiichiro Tsuchiya, Mamoru Watanabe, Ryuichi Okamoto	4. 巻 26
2. 論文標題 Functional analysis of isoflavones using patient-derived human colonic organoids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BBRC	6. 最初と最後の頁 40, 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.01.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 油井史郎
2. 発表標題 腸上皮細胞の時相調整における ECM-Niche の役割解明
3. 学会等名 第22回日本再生医療学会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 小笠原暢彦, 岡本隆一, 油井史郎
2. 発表標題 大腸癌浸潤に伴う細胞外基質変化による細胞可塑性誘導機構の解明
3. 学会等名 日本再生医療学会科学シンポジウム
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名	Watanabe, Satoshi ; Ogasawara, Nobuhiko ; Kobayashi, Sakurako ; Ito, Go ; Kano, Yoshito ; Mizutani, Tomohiro ; Shimizu, Hiromichi ; Watanabe, Mamoru ; Okamoto, Ryuichi ; Yui, Shiro.
2. 発表標題	APPLICATION OF DSS-GRAFTING ASSAY TO EVALUATE THE POTENTIAL OF CECUM ORGANOIDS AS A USEFUL CELLULAR SOURCE FOR THE TREATMENT OF COLITIS
3. 学会等名	Digestive Disease Week, 2022 ( 国際学会 )
4. 発表年	2022年 ~ 2023年

1. 発表者名	Sakurako Kobayashi, Nobuhiko Ogasawara, Satoshi Watanabe, Go Ito, Yoshito Kano, Tomohiro Mizutani, Hiromichi, Shimizu Hiromichi, MamoruWatanabe, Ryuichi Okamoto, Shiro Yui
2. 発表標題	DISSECTION OF INFLAMMATORY AND REGENERATIVE SIGNATURE OF INTESTINAL EPITHELIUM VIA IN VITRO CULTURE RECAPITULATING THE REPAIR PROCESS
3. 学会等名	Digestive Disease Week, 2022 ( 国際学会 )
4. 発表年	2022年 ~ 2023年

1. 発表者名	Ogasawara, Nobuhiko; Kano, Yoshito; Yamauchi, Shinichi; Kobayashi, Sakurako; Watanabe, Satoshi; Ito, Go; Mizutani, Tomohiro; Shimizu, Hiromichi; Watanabe, Mamoru; Kinugasa, Yusuke; Okamoto, Ryuichi; Yui, Shiro
2. 発表標題	DISSECTION OF CANCER CELL PLASTICITY IN A NOVEL DEFINED CULTURE SYSTEM FOR HUMAN COLORECTAL CANCER
3. 学会等名	Digestive Disease Week, 2022 ( 国際学会 )
4. 発表年	2022年 ~ 2023年

1. 発表者名	油井 史郎、岡本隆一、渡辺守
2. 発表標題	12. ヒト腸管上皮細胞における発生・炎症・発癌オーバーラップに関する基礎研究
3. 学会等名	第107回日本消化器病学会
4. 発表年	2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Sakurako Kobayashi, Satoshi Watanabe, Nobuhiko Ogasawara, Yosuke Yoneyama, Kousuke Tanimoto, Ryu Nishimura, Sayaka Nagata, Masami Inoue, Kouhei Suzuki, Kiichiro Tsuchiya, Ryuichi Okamoto, Mamoru Watanabe, Takanori Takebe, Shiro Yui
2. 発表標題 Conceptual basis of lineage shift between intestinal epithelium and hepatocytes.
3. 学会等名 第18回幹細胞シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 油井史郎、小林桜子、渡辺諭、小笠原暢彦、井上正美、大島茂、柿沼晴、土屋輝一郎、岡本隆一、渡辺守
2. 発表標題 14. 炎症・再生に関与する胎児化機構の同定とヒト腸への応用
3. 学会等名 第42回日本炎症再生医学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Shiro Yui, Ryuichi Okamoto, Mamoru Watanabe
2. 発表標題 The art of intestinal organoids in basic research and its potential for clinical applications
3. 学会等名 ISSCR/JSRM International Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 渡辺諭、高橋純一、小林桜子、土屋輝一郎、岡本隆一、Gunnar Hansson、Kim Jensen、渡辺守、油井史郎
2. 発表標題 腸炎細胞治療におけるオルガノイド特性の最適化
3. 学会等名 第106回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Shiro Yui
2. 発表標題 Development of hyper plastic cellular materials by utilizing the injury associated reprogramming
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 油井史郎
2. 発表標題 腸上皮細胞の胎児化機構の同定とヒト腸への応用
3. 学会等名 第20回日本再生医療学会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 渡辺諭、油井史郎	4. 発行年 2022年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 1
3. 書名 腸管上皮幹細胞	

1. 著者名 小笠原暢彦、油井史郎、渡辺守	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 5
3. 書名 腸上皮の老化に関わるストレス応答の2方向性	

〔産業財産権〕



〔その他〕

東京医科歯科大学創生医学コンソーシアム 幹細胞・オルガノイドユニット  
<https://www.tmd.ac.jp/cmn/amr/neog/organoid.html>  
東京医科歯科大学創生医学コンソーシアム 消化器創生ユニット  
<https://www.tmd.ac.jp/cmn/amr/neog/digestive.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	武部 貴則  (Takebe Takanori)  (20612625)	東京医科歯科大学・統合研究機構・教授   (12602)	
研究分担者	柿沼 晴  (Kakinuma Sei)  (30372444)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授   (12602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------