

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590805

研究課題名（和文） 大腸上皮におけるWnt/Notchシグナルクロストーク機構の解明

研究課題名（英文） Crosstalk between Wnt and Notch signaling in colonic epithelium.

研究代表者

鈴木 伸治（SUZUKI SHINJI）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：10456212

研究成果の概要（和文）：腸管上皮恒常性維持には Wnt・Notch シグナルが重要である。本研究ではこの両シグナル間クロストーク機構を解析した。癌細胞株の解析で、Notch 下流で機能する転写因子 Hath1 が Wnt シグナル依存性蛋白分解をうけることを示した。また本機構が癌細胞における抗癌剤耐性獲得や癌細胞分化度に関わる可能性を示した。一方非癌組織での Wnt/Notch シグナル解析のため、正常大腸上皮の培養技術を確立した。本法では、Lgr5 陽性幹細胞を長期間維持可能となり、かつ移植によりレシピエントの傷害大腸上皮を修復可能であった。本成果は大腸癌と大腸上皮再生研究に重要な意義を有すると考える。

研究成果の概要（英文）：Wnt and Notch pathways are known to function together to regulate proliferation and differentiation of intestinal epithelium; however, the molecular mechanism of their functional interplay remains unclear. In this study, we aimed at investigating the signaling crosstalk between these two pathways in colonic epithelium. First, by using several human colon cancer-derived cell lines, we have demonstrated that the expression of Hath1, a bHLH transcription factor known to be involved in Notch signaling, is regulated by the proteasome-mediated protein degradation that is under the control of Wnt signaling. We also showed that this post-translational regulation of Hath1 by Wnt/Notch signals is important for cell fate determination of colonic cells. Second, in order to investigate the crosstalk between Wnt/Notch signals, we have established a novel method to isolate and culture normal colonic epithelium in vitro. By this method, colonic cells continuously grow and the Lgr5+ colonic stem cells preferentially expand as a result of Wnt/Notch activation. We also showed for the first time that the cultured colonic cells are able to regenerate damaged epithelium in recipient mice when transplanted. These data would built a basis for the future study to elucidate molecular mechanism that govern the interplay of Wnt/Notch signals to regulate the regenerative properties and/or malignant transformation of colonic epithelial cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：大腸上皮幹細胞・Wnt シグナル・Notch シグナル/初代培養/細胞移植治療

1. 研究開始当初の背景

腸管上皮組織は、幹細胞を由来とする細胞群の秩序正しい「増殖」と「分化」の調和のもと、短い細胞回転で再生を繰り返す。一方この制御機構の破綻が、増殖・分化障害による重篤な組織再生不全、あるいは異常増殖能獲得による細胞癌化と密接に関わっている。これら「増殖」・「分化」制御には、Wnt および Notch シグナルが重要な役割を担うことが知られるが、その詳細は明らかではない。申請者らのグループは、腸管上皮細胞においては、Wnt シグナルが Notch シグナル構成分子である bHLH 型転写因子 Hath-1 の翻訳後修飾を誘導し、その蛋白安定性の変容を介して転写機能を制御するとの新規の分子機構を見いだした (Gastroenterology 2007、BBRC 2008)。また代表申請者は、消化管ホルモン受容体研究に従事し (Pancreas 1999、Pancreas 2002)、CCK-A が腸管上皮内分泌細胞におけるセクレチン分泌能に及ぼす機能を明らかにするなど (Pancreas 2000、Jpn J Physiol 2001)、モデル動物を用いた in vivo 解析および分子生物学的研究手法を用いた腸管上皮細胞解析もおこなってきた。

本申請研究ではこれらを背景とし、Wnt と Notch シグナル間新規クロストーク機構を生化学的および細胞生物学的手法を用いて詳細に解析し、大腸上皮細胞の増殖・分化が正確に連動し制御される分子機構を明らかにすることとした。さらに、ここで得られる知見が正常の大腸組織でも機能する機構か否かを検証するために、正常大腸上皮細胞の新しい体外培養技術を独自に開発することとした。

2. 研究の目的

Wnt シグナルと Notch シグナルの細胞内クロストーク機構、特に Wnt シグナルが Notch シグナル構成分子である転写因子 Hath-1 発現・機能を調節する機構を明らかにし、Hath-1 分子機能制御の詳細を明らかにすることを目的とした。また、申請者らのグループが確立した大腸上皮細胞培養技術を利用し、正常腸管上皮細胞の増殖・分化に関わる Wnt および Notch シグナルの作用を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

1) Notch シグナル制御因子 Hath1 分子機能制御の解析

a) Notch シグナルを負に制御する bHLH 型転写因子 Hath1 の発現解析

i) ヒト大腸サンプルを用い、大腸健常部と癌部の Hath1 遺伝子の発現を解析した。また、

蛋白レベルでの解析は免疫染色法でおこなった。

ii) Hath1 発現機構を解析するため、大腸癌細胞株への Hath1 遺伝子を強制発現し、蛋白発現レベルを解析した。

iii) Hath1 蛋白の翻訳後の分解による発現量調節機構を知るため、種々の蛋白分解阻害剤を投与し、Hath1 蛋白の発現量に与える影響を調べた。

iv) Hath1 蛋白のユビキチン化とその後のプロテアソームによる蛋白分解を調べるため、Hath1 蛋白のユビキチン化を免疫沈降法で解析した。

v) 蛋白分解に必須な Hath1 分子内アミノ酸を特定するため、種々の Hath1 変異体を作成し解析した。

b) Hath1 分子機能におよぼす Wnt シグナル下流の GSK3b 機能の解析

i) 大腸癌細胞における Hath1 蛋白分解機構に、GSK-3b 活性に関わるか否かを検討するため、293T 細胞に Wnt1 を共発現させ Hath1 蛋白の変化、あるいは大腸癌細胞株に野生型 APC を導入して Wnt シグナルを不活化して Hath1 蛋白発現量を調べた。

c) Hath1 蛋白可視化システムの確立

Hath1 蛋白発現の経時変化をモニターするため、野生型あるいは蛋白分解抵抗性 Hath1 変異体を作成し、これらと蛍光蛋白

(mCherry) の融合蛋白を安定発現するヒト大腸癌細胞株を樹立した。

d) Hath1 強制発現による細胞分化の変化
上記野生型および変異型 Hath1 の発現による細胞分化度の変化を解析した。また、これらの種々の Hath1 発現時において、5-FU、シスプラチン、オキサリプラチン、CPT11 などによる細胞増殖抑制効果を比較した。

2) 正常培養大腸上皮細胞を用いた増殖・分化機構の解析

a) 正常大腸上皮細胞の増殖・分化におよぼす Wnt と Notch シグナルの解析のため、マウス大腸陰窩を培養する条件を検討した。

b) a) で培養可能となった正常大腸上皮細胞の性状解析を、RT-PCR および免疫細胞染色法、および透過電子顕微鏡観察をおこなった。

c) 培養大腸上皮幹細胞の in vitro における分化能を検討するため、Notch シグナル阻害剤を培地中へ添加し、幹細胞マーカーあるいは分化細胞マーカー発現の経時変化を、mRNA および蛋白レベルで解析した。

d) 大腸上皮幹細胞の増殖プロセスのリアルタイム可視化のため、単離直後の大腸陰窩が 3 次元的構造をとりながら増殖していく全プロセスを、微分干渉法 (DIC) を用いてタイ

ムラブス観察をおこなった。また、幹細胞マーカーである *Lgr5* のプロモーター下流に **EGFP** を組み込んだノックインマウス

(*Lgr5-EGFP-ires-CreERT2*) から得た大腸上皮を培養し、上皮細胞増殖過程における幹細胞の挙動を長時間にわたり観察した。

e) 培養正常大腸上皮細胞の移植によって傷害大腸上皮を修復することを試みた。このために、**EGFP** トランスジェニックマウスより単離し培養した上皮をドナー細胞とし、大腸炎を惹起したマウスをレシピエントとした移植実験をおこなった。

f) ただ 1 個の大腸上皮幹細胞を単離し、これを体外で培養し大量に増やした後に、大腸上皮傷害をもつレシピエントマウスに移植する実験を構築した。このために、*Rosa26* 座に **Cre** リコンビナーゼによる組換え依存性に蛍光タンパクを発現するマウスと、これを上記 *Lgr5-EGFP-ires-CreERT2* マウスを交配したマウスを利用した。すなわち、これにタモキシフェンを投与し **Cre** による組換えを誘導したのちに、大腸上皮を単離した。この中で、**EGFP** 陽性かつ **RFP** 陽性の幹細胞を単離し、限界希釈法によって 1 個の幹細胞に由来する上皮細胞を増やした。これを利用し、ふたたび **DSS** 経口投与で大腸炎を惹起したマウスをレシピエントとした移植をおこなった。

4. 研究成果

1) Wnt/Notch シグナルのクロストークの分子機構

- キー分子 *Hath1* の制御機構解析 -

a) *Hath1* 分子の翻訳後調節による分解制御機構の解明

ヒト検体の解析の結果、大腸正常部と癌部の *Hath1* 遺伝子発現には有意差を認めないものの、蛋白レベルでは、癌部での *Hath1* 発現低下を認めた。大腸癌細胞株へ *Hath1* 遺伝子を強制発現させ解析した結果、この現象が *Hath1* の翻訳後分解によるものとわかった。

種々の蛋白分解阻害剤の作用を調べた結果、*Hath1* がプロテアソーム依存性分解を受けること、そして実際に *Hath1* 蛋白がポリユビキチン化をうけることがわかった。興味深いことに、蛋白分解に必須な *Hath1* 分子内アミノ酸配列は、GSK-3b によるリン酸化配列と一致し、実際このセリンをアラニンに置換した *Hath1* 変異体は蛋白分解抵抗性となった。

恒常的には Wnt シグナルが Off である 293T 細胞株に Wnt1 と *Hath1* を共発現させると、b カテニン蛋白の増加を認める一方で *Hath1* 蛋白の減少を認めた。また逆に恒常的に Wnt シグナルが活性化されている大腸癌細胞株に野生型 APC を導入し Wnt シグナルを不活化すると、*Hath1* 蛋白発現量が増加した。以上よ

り Wnt シグナルが、下流の GSK3b を介して *Hath1* 発現量を調節する機構の存在が確認され、Notch シグナルと Wnt シグナルのクロストークが明らかとなった。

b) *Hath1* による大腸上皮増殖・分化調節機構

次に *Hath1* 機能が細胞増殖・分化に与える作用を解析した。野生型あるいは蛋白分解抵抗型変異体の *Hath1* と蛍光蛋白 mCherry の融合蛋白を発現する大腸癌細胞株を作成した。

本実験システムを利用し、野生型 *Hath1* 細胞に GSK3 阻害剤を加え *Hath1* 蛋白を安定化させると、*Mucin2* 遺伝子の発現上昇を認め、分泌型大腸上皮への分化が誘導できた。同様に各種の蛋白因子や薬剤の *Hath1* 蛋白分解への作用をスクリーニングしたところ、興味深いことに、抗癌剤である 5-FU、シスプラチン、オキサリプラチン、CPT11 が *Hath1* 蛋白安定化に寄与し、*Mucin2* 遺伝子の発現上昇を介して分泌型細胞分化を促進することを発見した。

また、*Hath1* 蛋白機能の増強により誘導される遺伝子群の探索により、大腸上皮幹細胞のマーカー遺伝子として知られる *Lgr5* の増強を認めた。

2) 正常培養大腸上皮細胞を用いた増殖・分化機構の解析

a) Wnt、Notch シグナルが大腸上皮細胞増殖・分化になう役割を、正常な大腸上皮細胞において解析するため、マウスの正常な大腸上皮細胞を体外で培養する技術の検討をおこなった。その結果、マウス大腸上皮をコラーゲンゲルに包埋し、Wnt シグナル活性化因子 (*Wnt3a* および *Rspo1*)、BMP シグナル阻害因子 (*Noggin*)、EGF、HGF および牛血清アルブミン (以下 BSA) を含む無血清培地で培養すると、球状構造として培養可能であることを見出した。オルガノイドの回収・分散後に同一条件で培養すると球状オルガノイドの再形成が見られ、この継代操作により 1 年を超す長期培養が可能であった。

b) 培養大腸上皮細胞の性状解析

培養可能となったオルガノイドは、単層上皮細胞から形成され、アルシアンブルー陽性杯細胞、CgA 陽性神経内分泌細胞、CAII 陽性吸収上皮細胞、COX1 陽性タフト細胞、KI67 陽性未分化細胞を含んでいた。透過型電子顕微鏡観察により、これらオルガノイドが上皮細胞に特徴的な微絨毛・密着結合に加え、内腔に粘液顆粒を有する杯細胞、基底膜側に電子密度の高い分泌顆粒を有する神経内分泌細胞、および分裂期染色体を示す増殖細胞を含むことが示された。

c) 本培養技術による *Lgr5*+ 上皮幹細胞の挙動解析

発現遺伝子解析により、幹細胞マーカー

Lgr5 が維持されることが示された。

Lgr5-EGFP-ires-CreERT2 マウスの大腸上皮を単離しリアルタイムで観察した結果、Lgr5+細胞数が培養過程、特に培養開始後数日間に著増することが明らかになり、本培養法が上皮幹細胞を体外で増加させるものであることがわかった。

さらに詳細な解析により、Lgr5 遺伝子発現増加には Wnt・Notch・BMP シグナルが関与することが明らかになるとともに、 γ セクレターゼ阻害剤による Notch シグナル阻害により幹細胞から杯細胞への分化が促進されることも示された。

d) 培養大腸上皮幹細胞移植による傷害上皮の修復

EGFP トランスジェニックマウス由来培養大腸上皮細胞がレシピエントマウス大腸の上皮欠損部位に生着する移植条件を見いだした。ドナー細胞は、移植1週間後には主として潰瘍部を平坦な面として被覆し、欠損上皮を補充することが明らかとなった。さらに移植1ヶ月後にも移植片がレシピエント内に存在しうること、しかもこの中には全ての分化細胞と増殖細胞を含んだ正常クリプト構造を有する大腸上皮が構築されることを明らかにした。

また、移植成功群 (N=6) と偽移植群 (N=6) の比較の結果、移植成功群では移植後の体重増加が速やかであることから、急性腸炎モデルマウスに対する培養細胞移植が臨床的有用性をもつ可能性が示唆された。

e) ただ1個のLgr5+幹細胞に由来する細胞移植と大腸上皮再生

R26R-confetti/Lgr5-EGFP-ires-CreERT2 より得た単一の Lgr5+大腸幹細胞から大腸上皮細胞を大量に増やすことが可能であった。これらを体外で培養し、得られた培養細胞を用いて移植実験をおこなった結果、全ての分化細胞と増殖細胞を含む組織学的に正常な大腸上皮が再生した。さらに、移植後半年を経過したレシピエントマウスにおいても、増殖細胞および全ての分化細胞を含むクリプトが複数認められることから、本培養技術において、正常の組織構築能を維持し長期にわたって幹細胞性を維持する細胞が数的増大を伴いつつ維持できることが明瞭となった。

5. 結論

大腸上皮における Wnt/Notch シグナルのクロストーク機構を明らかにするために、1) 細胞株を用いた分子生物学的検討、および 2) 正常大腸上皮細胞の独自の培養技術を用いた検討を柱として研究を展開した。

1) のプロジェクトにおいては、Notch シグナル下流ではたらく転写因子 Hath1 の制御機構を解析し、この分子発現と機能が Wnt シグナルの作用をうけるという、両シグナルの新

しいクロストーク機構の一端を明らかにすることができた。しかも、癌細胞において Hath1 分子機能が強くなることによって、抗癌剤耐性を獲得したり、癌形質の変化を来す可能性があるとの新しい知見を与えることができた。Wnt シグナルと Notch シグナルのクロストークに重要な機能をもつ Hath1 のさらなる解析により、大腸癌の薬剤耐性・分化形質の変化の詳細がさらに明らかにできると期待される。

2) のプロジェクトにおいては、マウス大腸上皮細胞を長期に培養する独自の技術確立し、この培養細胞の移植によって傷害大腸上皮の再生が可能であることを提示した。この成果は2つの意義をもつと考える。第一に、腸管上皮幹細胞の *in vitro* 操作を可能にした点にある。本培養技術は、大腸上皮幹細胞研究の新しいツールとして、分子生物学および生化学的解析の進展に大きく寄与するであろう。第二には、培養大腸上皮細胞を用いた同種間上皮移植に世界で初めて成功し、移植上皮が別の個体内で機能的大腸上皮を再生すること、上皮移植が急性腸炎の回復に一定の治療効果を有すること、更にはただ一個の幹細胞であってもこれを体外で増やし移植することで同様の機能的大腸上皮の再生が可能であることを示した点にある。これら一連の結果は、培養腸管上皮幹細胞を利用した再生医療の可能性を示した結果であると同時に、微小な検体から増やした培養幹細胞であっても、腸管上皮再生に利用しうるとの重要かつ画期的な知見を供与するものであり、意義の高いものであったと考える。

6. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, and Watanabe M: Functional engraftment of colon epithelium expanded *in vitro* from a single adult Lgr5+ stem cell. *Nature Medicine*. 2012 doi: 10.1038/nm.2695

2. Mizutani T, Nakamura T, Morikawa R, Fukuda M, Mochizuki W, Yamauchi Y, Nozaki K, Yui S, Nemoto Y, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, and Watanabe M: Real-time analysis of P-glycoprotein-mediated drug transport across primary intestinal epithelium three-dimensionally cultured *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun*. 419(2): 238-243: 2012

3. Hyun SB, Kitazume Y, Nagahori M, Toriihara A, Fujii T, Tsuchiya K, Suzuki S,

Okada E, Araki A, Naganuma M, Watanabe M: MR enterocolonography is useful for simultaneous evaluation of small and large intestinal lesions in Crohn's disease. *Inflam Bowel Dis*. 17(5):1063-1072, 2011

4. Iwasaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, Zheng X, Kano Y, Okamoto E, Okada E, Araki A, Suzuki S, Sakamoto N, Kitagaki K, Akashi T, Eishi Y, Nakamura T, Watanabe M: Longitudinal cell formation in the entire human small intestine is correlated with the localization of Hath1 and Klf4. *J Gastroenterol*. 46(2):191-202, 2011

5. Zhao R, Nakamura T, Fu Y, Lazar Z, and Spector DL: Gene bookmarking accelerates the kinetics of post-mitotic transcriptional activation. *Nature Cell Biology*. 13(11): 1295-1304: 2011

6. Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, Iwasaki M, Kano Y, Sakamoto N, Nakamura T, Watanabe M: Suppression of Hath1 gene expression directly regulated by Hes1 via Notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis. *Inflam Bowel Dis*. 17(11): 2251-2260: 2011

7. Prasanth KV, Camiolo M, Chan G, Tripathi V, Denis L, Nakamura T, Hubner M, and Spector DL: Nuclear organization and dynamics of 7SK RNA in regulating gene expression. *Mol Biol Cell*. 21(23): 4184-4196: 2010

8. Bernard D, Prasanth KV, Tripathi V, Colasse S, Nakamura T, Xuan Z, Zhang MQ, Sedel F, Jourdain L, Couplier F, Triller A, Spector DL, and Bessis A: A long nuclear retained non-coding RNA regulates synaptogenesis by modulating gene expression. *EMBO J*. 29(18): 3082-3093: 2010

9. Akiyama J, Okamoto R, Iwasaki M, Zheng X, Yui S, Tsuchiya K, Nakamura T, and Watanabe M: Delta-like 1 expression promotes goblet cell differentiation in Notch-inactivated human colonic epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 393(4): 662-667: 2010

10. Onizawa M, Nagaishi T, Kanai T, Nagano KI, Oshima S, Nemoto Y, Yoshioka A, Totsuka T, Okamoto R, Nakamura T, Sakamoto N, Tsuchiya K, Aoki K, Ohya K, Yagita H, Watanabe M: Signaling pathway via TNF- α /NF- κ B in intestinal epithelial cells may be directly involved in colitis-associated carcinogenesis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 296(4): G850-859: 2009

11. Okamoto R, Tsuchiya K, Nemoto Y, Akiyama J, Nakamura T, Kanai T, Watanabe M: Requirement of Notch activation during

regeneration of the intestinal epithelia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 296(1): G23-35: 2009

[学会発表] (計 13 件)

1. Tetsuya Nakamura (Invited Speaker) : Epithelial regeneration by cultured colonic cells expanded from a single adult LGR5+ stem cell. The 6th Korea-Japan IBD Symposium. Jan 28, 2012, Tokyo, Japan

2. Shiro Yui, Tetsuya Nakamura, Toshiro Sato, Yasuhiro Nemoto, Tomohiro Mizutani, Xiu Zheng, Shizuko Ichinose, Takashi Nagaishi, Ryuichi Okamoto, Kiichiro Tsuchiya, Hans Clevers, and Mamoru Watanabe: Regeneration of damaged colon epithelium by transplanted colon Lgr5+ stem cells maintained and expanded in vitro. The 5th Japan & US Collaboration Conference in Gastroenterology. Nov 10, 2011, Tokyo, Japan

3. Tsuchiya K, Zheng X, Kano Y, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M : Flagellin via TLR5 on basolateral membrane of primary intestinal epithelial cells(IEC) shows the role of IEC in the response to bacteria. United European Gastroenterology Week 2011, Oct 26, 2011, Stockholm, Sweden

4. Yui S, Nakamura T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Nagaishi T, Tsuchiya K, Watanabe M, Okamoto R, Ichinose S, Sato T, Clevers H : Regeneration of damaged colonic tissue by transplanted colonic epithelial stem cells maintained and expanded in vitro. GI Research Academy 2011 Jun 17, 2011, Kyoto, Japan

5. Shiro Yui, Tetsuya Nakamura, Yasuhiro Nemoto, Tomohiro Mizutani, Xiu Zheng, Shizuko Ichinose, Takashi Nagaishi, Ryuichi Okamoto, Kiichiro Tsuchiya, Toshiro Sato, Hans Clevers, and Mamoru Watanabe: Regeneration of Damaged Colonic Tissue by Transplantation of Colonic Epithelial Stem Cells Maintained and Expanded In Vitro. Basic Science Plenary Symposium, Digestive Disease Week 2011, May 7- 10, 2011, Chicago, USA

6. Yui S, Nakamura T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M : A well-defined culture system for colonic epithelial cells that allows efficient enrichment of LGR5+ stem cells. The 1st JSGE International Topic Conference -Stem Cells in Digestive Organs- Sep 26, 2010, Kamakura, Japan

7. Akiyama J, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M : Up-regulation of DELTA1 expression is required for goblet cell differentiation in human intestinal epithelial cells. The 1st JSGE International Topic Conference -Stem Cells in Digestive Organs- Sep 26, 2010, Kamakura, Japan

8. Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, Okamoto E, Iwasaki M, Kano Yoshihito, Nakamura T, Watanabe M : HES1 via notch signaling directly suppresses ATOH1/HATH1 gene transcription, resulting in the undifferentiated state of intestinal epithelial cells. The 1st JSGE International Topic Conference -Stem Cells in Digestive Organs- Sep 26, 2010, Kamakura, Japan

9. Murano T, Okamoto R, Shimizu H, Akiyama J, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M : TNF- α and notch signaling synergistically up-regulate OLFM4 expression in human intestinal epithelial cells. The 1st JSGE International Topic Conference -Stem Cells in Digestive Organs- Sep 26, 2010, Kamakura, Japan

10. Tetsuya Nakamura, Watanabe M : A long-term, fully-defined culture system for colonic epithelial cells that allows efficient expansion of stem cell compartment. The 1st JSGE International Topic Conference -Stem Cells in Digestive Organs- Sep 25, 2010, Kamakura, Japan

11. Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, Iwasaki M, Kano Y, Nakamura T, Watanabe M : Hes1 via Notch signaling directly suppresses Atoh1/Hath1 gene transcription, resulting in the goblet cell depletion of Ulcerative Colitis. Digestive Disease Week 2010, May 3, 2010, New Orleans, USA

12. Tetsuya Nakamura, Shiro Yui, Tomohiro Mizutani, Yasuhiro Nemoto, Ryuichi Okamoto, Kiichiro Tsuchiya, Shizuko Ichinose, and Mamoru Watanabe: A long-term, mesenchyme-free in vitro culture system of colonic epithelial cells retaining stem cell compartment with proliferation/differentiation properties. Digestive Disease Week 2010, May 1- 5, 2010, New Orleans, USA

13. Tsuchiya K, Okamoto R, Nakamura T, Watanabe M : GSK3 inhibitor induces the intestinal differentiation by the protein stabilization of Atoh1. Digestive Disease Week 2009, Jun 2, 2009, Chicago, USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称：大腸上皮幹細胞の単離・培養技術とこれを用いた大腸上皮移植技術

発明者：渡辺守・中村哲也

権利者：国立大学法人東京医科歯科大学

種類：特願

番号：2011-236469

出願年月日：平成23年10月27日

国内外の別：国内

○取得状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 伸治 (SUZUKI SHINJI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：10456212

(2) 研究分担者

中村 哲也 (NAKAMURA TETSUYA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・寄附講座教員

研究者番号：10456212

渡辺 守 (WATANABE MAMORU)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：10175127

(3) 連携研究者

荒木 昭博 (ARAKI AKIHIRO)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80361690

長堀 正和 (NAGAHORI MASAKAZU)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60420254