

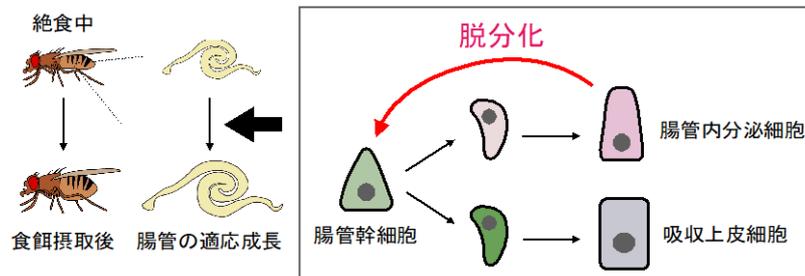
東京大学
東北大学

栄養環境に応答した脱分化現象の同定

——絶食後の再摂食は腸管内分泌細胞を幹細胞へとリプログラミングする——

発表のポイント

- ◆ショウジョウバエ個体が絶食から回復した際に、腸管上皮における内分泌細胞が腸管幹細胞へと脱分化を起こし、腸管サイズの適応成長を促進することを明らかにしました。
- ◆これまで、脱分化は損傷再生時やがん病変において起こることが知られていました。本研究では、脱分化が栄養環境の変化によっても誘導され、組織の環境適応に重要な役割を果たしていることを見出し、細胞運命の可塑性に関する理解を前進させました。
- ◆昆虫と同様に、哺乳類などにおいても腸管の適応成長が起こることを考えますと、本研究で見出した栄養依存的な脱分化現象が生物種に広く保存され、腸管機能の制御に寄与していることが期待されます。



栄養環境の変動に応じた腸管内分泌細胞の脱分化モデル図

発表概要

東京大学大学院薬学系研究科の長井広樹博士研究員、三浦正幸教授、中嶋悠一郎講師らによる研究グループは、同大学定量生命科学研究所、北海道大学、東北大学、大阪大学と共同で、栄養環境に応じた腸管サイズ増大において、分化した腸管内分泌細胞が腸管幹細胞へと脱分化（注1）を起こすことを明らかにしました。これまで、脱分化は、組織損傷によって幹細胞が失われた際や、組織がん化の際に起こることが知られていましたが、生理的な条件下で脱分化が起こりうるかは不明でした。本研究グループは、ショウジョウバエ成虫の腸管において、蛹から羽化した直後の食餌摂取、あるいは絶食後の再摂食時に腸管幹細胞が増加することに着目し、このとき腸管内分泌細胞が栄養摂取に応答して脱分化を起こしていることを見出しました。また、脱分化由来の幹細胞を腸管から除去する実験系を構築し、脱分化が栄養摂取に応じた幹細胞数の増加と、それに続く腸管サイズの増大に必須であることを示しました。さらに、この栄養依存的な脱分化現象を誘導するメカニズムとして、食餌中のグルコースとアミノ酸量に反応して JAK-STAT シグナル（注2）が腸管内分泌細胞で活性化することの重要性を解き明かしました。

食事摂取量に対する腸管サイズの適応反応は多様な生物種で観察されており、JAK-STAT シグナルは哺乳類において損傷再生時の脱分化誘導を担っています。こうした知見から、本研究で発見した栄養依存的な脱分化現象は、ショウジョウバエのみならず、哺乳類を含む進化的に保存された機構であることが期待されます。また、細胞運命の可塑性は、腫瘍化や化生（注3）と

いった病態とも関連があり、本研究成果が栄養環境と疾患を結ぶ手がかりとなる可能性があります。

発表内容

〈研究の背景〉

成熟した成体内の組織は、環境変動に応じて細胞の振る舞いを変化させることで組織構造を柔軟にリモデリングし、環境変化に対して個体のフィットネスを向上させます。例えば、損傷や放射線照射などによって組織幹細胞が失われると、分化した細胞が幹細胞へと脱分化することで損傷再生を促進します。こうした脱分化現象は、19世紀にイモリの水晶体再生において報告されて以来、哺乳類を含む多様な生物種の組織再生時やがん化の際に誘導されることが理解されています。とりわけ、生体内の内なる外とも呼ばれ、感染などの外的な刺激に日々晒されている腸管上皮は高い脱分化能を有しており、近年の精力的な研究から、ほぼ全ての分化系列から脱分化が起こりうるということが明らかになりつつあります。一方で、それらの脱分化研究においては、脱分化を誘導する際に90%以上もの腸管幹細胞が除去される実験条件で解析が行われてきました。そのため、生物が自然界で生きていく中で起こりうる生理的な環境変動に対して脱分化が起こるかは不明でした。

食物の消化吸收を担う腸管のサイズは、絶食時には縮小する一方で、再摂食すると迅速に元のサイズまで回復します（適応成長）。腸管のサイズを増大させる上で、腸管幹細胞の細胞数を増加させ、より多くの細胞を生み出せるようにすることが重要となります。これまで、再摂食時には幹細胞自身が分裂を活発化することで幹細胞数を増加させることが知られていましたが、幹細胞分裂のみで幹細胞数の増加を説明できるのか、そして適応成長に脱分化が寄与しているかは不明でした。

〈研究の内容〉

ショウジョウバエ成虫の中腸（哺乳類の小腸に相当）では、蛹から羽化した直後の食餌摂取によって腸管幹細胞（Intestinal Stem Cell, ISC）の細胞数が増加し、腸管サイズも増大します（図1）。羽化後のISC数の増加度合いとISC分裂活性を解析したところ、中腸の口側（anterior側）と肛門側（posterior側）でISC数が同程度に増加したにも関わらず、anterior側のISC分裂活性はposterior側よりも低く、ISC分裂だけでISC数の増加を説明することはできないと考えられました。

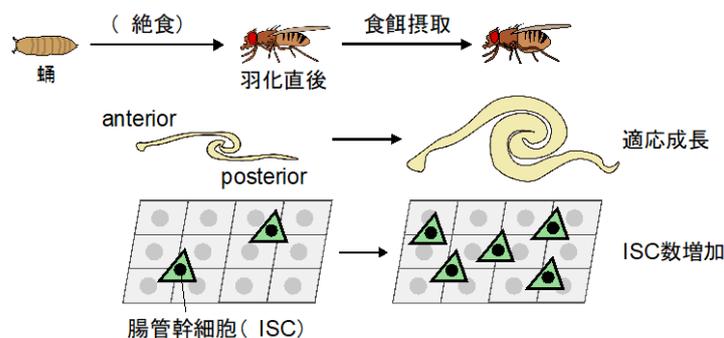


図1:羽化後の食餌摂取に応じた腸管の適応成長とISC数増加

ショウジョウバエの発生過程において、蛹の期間は外部から栄養を摂取しない絶食状態であり、羽化直後の食餌摂取に応じて中腸のサイズが増大します（適応成長）。この時、腸管上皮では腸管幹細胞（ISC）の細胞数が増加することで、より多くの腸上皮細胞を生み出せるようになり、適応成長が促進されます。

中腸において ISC は2種類の分化細胞、消化吸収性の吸収上皮細胞と分泌性の内分泌細胞 (enteroendocrine cell, EE) を生み出します。興味深いことに、羽化後、anterior 領域では ISC 数の増加に伴って EE 数が減少していくことを見出し、lineage tracing 実験 (注4) から、食餌摂取に応答して一部の EE が機能的な ISC へと脱分化していることを発見しました。さらに、single-cell RNA sequencing 解析 (注5) から脱分化を起こす EE の亜群 (AstC⁺EE) を同定しました。

栄養依存的な EE 脱分化の生理的意義に迫るため、EE の脱分化に由来する ISC を選択的に細胞死させる遺伝学的な実験系を確立しました。この系を用いて、脱分化が栄養摂取時の ISC 数増加と腸管の適応成長に重要であることを示しました。また、腸管上皮の細胞数変化を再現する数理モデルを構築して脱分化率をシミュレーション上で変化させたところ、EE の脱分化を駆使することで、ISC 増加に加えて効率的に吸収上皮細胞を新生できる利点があることが示唆されました。

続いて、EE が栄養環境に反応して脱分化するメカニズムを調べ、anterior 領域ではグルコースとアミノ酸の欠乏によって IL-6 様サイトカインである *upd2* および *upd3* の発現が上昇し、EE で JAK-STAT シグナルが活性化することを明らかにしました。さらに、lineage tracing 実験を行い、JAK-STAT シグナルの活性化が再摂食時の脱分化誘導に必須であることを証明しました。

最後に、ショウジョウバエは蛹の期間、外部から栄養を摂取しないことを踏まえて、EE の脱分化が羽化直後だけではなく、栄養環境の変動によって成熟した成虫でも起きるかどうかを検証しました。成熟した個体に絶食と再摂食を与えた結果、羽化直後と同様に、絶食によって AstC⁺EE で JAK-STAT シグナルが活性化することで、再摂食に応じた脱分化が誘導されました。以上から、EE の脱分化は栄養環境の変動に対して誘導される普遍的な現象であることが明らかになりました (図2)。

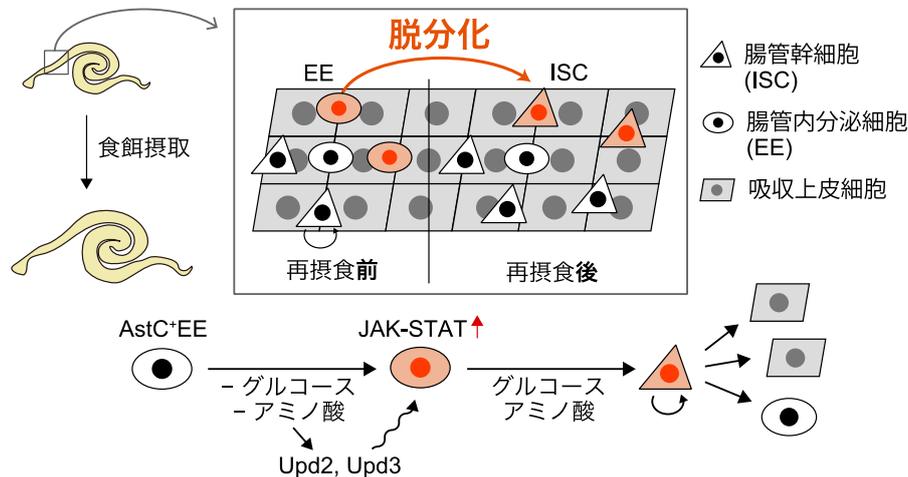


図2: 栄養依存的な EE の脱分化とメカニズム

羽化直後の食餌摂取、あるいは成熟個体における絶食と再摂食に応じて、特に中腸の anterior 領域において腸管内分泌細胞 (EE) が ISC へと脱分化を起こし、適応成長を促します。EE の中でも、特に AstC という神経ペプチドを発現する亜群が脱分化を起こします。EE の脱分化に由来する ISC は吸収上皮細胞と EE の両方を新たに生み出すことができ、機能的な ISC として振る舞います。こうした栄養依存的な脱分化のメカニズムとして、(1) 食餌中のグルコースとアミノ酸の欠乏に応じた IL-6 様サイトカイン *upd2*, *upd3* の発現上昇、(2) Upd2/3 による EE での JAK-STAT シグナルの活性化、(3) 再摂食で得られるグルコースとアミノ酸が JAK-STAT シグナルと協調して脱分化を誘導、という一連の流れも解き明かしました。

〈今後の展望〉

栄養環境に応答した腸管の適応成長はマウスやラットなどの哺乳類でも報告されており、脱分化を様々な動物モデルで検証することで、種を越えた保存性を示すことが期待されます。また、がん化や化生といった細胞の運命転換が関与する病態には栄養環境が影響することが理解されつつあり、栄養依存的な脱分化の制御破綻が疾患の発症原因を探る手がかりとなる可能性があります。さらに、腸管をはじめ、生体内の組織・器官は栄養以外にも生殖、温度、光、運動など多様な生理的刺激を受けてリモデリングを起こし、個体機能を環境に適応させます。本研究の発見から、こうした組織・器官レベルの可塑性を制御する仕組みとして、細胞レベルの分化可塑性が関与している可能性が考えられます。今後、生理的条件下における細胞の運命可塑性の検証を進めることで、未知の細胞の振る舞いを解き明かすことが期待されます。

発表者

東京大学

大学院薬学系研究科

長井 広樹（特別研究員 PD（日本学術振興会特別研究員））

三浦 正幸（教授）

中嶋 悠一郎（講師）

定量生命科学研究所

ルイス アウグスト エイジ ナガイ（助教）

中戸 隆一郎（准教授）

北海道大学大学院理学研究院

田崎 創平（准教授）

大阪大学大学院理学研究科

梅津 大輝（講師）

東北大学大学院生命科学研究科

倉永 英里奈（教授）

論文情報

〈雑誌〉 Developmental Cell

〈題名〉 Nutrient-driven dedifferentiation of enteroendocrine cells promotes adaptive intestinal growth in *Drosophila*

〈著者〉 Hiroki Nagai*, Luis Augusto Eijy Nagai, Sohei Tasaki, Ryuichiro Nakato, Daiki Umetsu, Erina Kuranaga, Masayuki Miura, and Yu-ichiro Nakajima*

〈DOI〉 10.1016/j.devcel.2023.08.022

〈URL〉 [https://cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807\(23\)00437-9](https://cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807(23)00437-9)

研究助成

本研究は、日本学術振興会・特別研究員奨励費「栄養応答型の新規脱分化現象に基づく腸管適応成長と分化可塑性の新機軸（課題番号：22J01430、長井広樹）」、文部科学省・新学術領域研究「細胞間相互作用による細胞ダイバーシティ形成機構の解明と疾患治療への応用（課題番号：17H06327、田崎創平）」、「エピゲノム・シングルセル大規模統合解析システムの構築（課題番号：17H06331、中戸隆一郎）」、「表皮組織のバリア機能を維持する細胞競合因子の同定と作用機序の解明（課題番号：26114003、倉永英里奈）」、「ショウジョウバエを用いた細胞ダイバーシティの個体レベルでの解析と検証（課題番号：17H06332、中嶋悠一郎）」、学術変革領域研究(A)「クロススケール細胞内分子構造動態解析が解明する体軸形成と恒常性維持（課題番号：21H05255、倉永英里奈）」、学術変革領域研究(B)「筋細胞群知能：昆虫変態時の筋肉リモデリングにおける相転移的動態の理解（課題番号：21H05105、梅津大輝）」、基盤研究(A)「個体ごとの表現型を決める非細胞死カスパーゼ活性化機構の解明（課題番号：21H04774、三浦正幸）」、基盤研究(B)「多細胞システムを構築する集団細胞移動の動作原理（課題番号：16H04800、倉永英里奈）」、「栄養依存的な腸管上皮の脱分化機構の分子基盤と生理的意義の解明（課題番号：22H02762、中嶋悠一郎）」、基盤研究(C)「細菌集団の自己組織化予測のためのマルチレベルモデルの創成（課題番号：19K03645、田崎創平）」、挑戦的萌芽研究「遺伝情報を拡大する翻訳時のタンパク質多様性産生のメカニズムと生理機能（課題番号：21K19206、三浦正幸）」、「腫瘍-宿主間コミュニケーションを制御する宿主因子の網羅的同定と機能解析（課題番号：19K22550、中嶋悠一郎）」、若手研究(A)「細胞社会における集団細胞移動の動的理解と制御メカニズム（課題番号：24687027、倉永英里奈）」、JST-CREST「オールオプティカルメカノバイオロジーの創出に向けた技術開発と発生生物学への応用（課題番号：JPMJCR1852、倉永英里奈）」、JST-FOREST「筋組織リモデリングにおける細胞の若返り現象の解明（J210000474、梅津大輝）」、AMED-Aging（JP21gm5010001、三浦正幸）、AMED-PRIME（JP22gm6310012、中戸隆一郎；JP22gm6110025、中嶋悠一郎）、武田科学財団助成（梅津大輝）、東京大学薬学系研究科・Ban 平井（大越）貞子基金（長井広樹）の支援により実施されました。

用語解説

（注1）脱分化

分化した細胞が幹細胞へと戻る現象。生体内の組織には各組織の機能に特化した多様な分化細胞が存在しており（例：腸管上皮における吸収上皮細胞と内分泌細胞）、それらの細胞種は組織幹細胞（例：腸管幹細胞）によって日々生み出されています。定常時において、組織幹細胞から分化した細胞は他の細胞種に変化することはなく、最終的には細胞死を起こして組織から除去されると考えられています。しかし、損傷などで組織から幹細胞が失われると、分化細胞が再び幹細胞へと戻る（幹細胞へのリプログラミング、脱分化する）ことで損傷再生を可能にします。脱分化は動植物に共通した細胞の振る舞いであり、哺乳類においても、腸管、肝臓、膵臓、脳など多くの器官で損傷時や病態下における脱分化が報告されています。

（注2）JAK-STAT シグナル

生体内の組織において、細胞と細胞の間で行われる情報交換（シグナル伝達）の様式の1つ。ショウジョウバエでは、一方の細胞がIL-6様サイトカインであるUpd分子（Upd1, Upd2, Upd3）を分泌し、他方の細胞では受容体Domelessでそれらの分子を受容します。その結果、受け手側の細胞内では最終的に転写因子Stat92Eが活性化し、ターゲット遺伝子の発現を誘導します。

JAK-STAT シグナルは生物種を越えて広く保存されており、細胞増殖、分化、炎症反応など様々な細胞応答を制御しています。

（注3）化生

組織を構成する細胞種が構造的あるいは機能的に異なる別の細胞種へと変化することで、組織機能が損なわれる病態。代表的なものに、食道の上皮細胞が胃の上皮細胞様に変化するバレット食道や、ピロリ菌感染時の炎症などによって胃粘膜上皮が腸粘膜上皮に転換する腸上皮化生が挙げられます。

（注4）lineage tracing 実験

対象の細胞種がどのような運命を辿るのかを追跡する実験系。遺伝子組換え技術を利用し、組換えが起こった細胞を永続的に蛍光標識することで、たとえ元の細胞としての性質を失ったとしても標識した細胞の運命を追跡することができます。本研究では、絶食中に EE を永続的に標識し、再摂食後に標識した EE 系列が ISC 様の遺伝子発現や振る舞いを示すかどうかを解析しました。

（注5）single-cell RNA sequence 解析

1つ1つの細胞における遺伝子発現を網羅的に解析する手法。従来の RNA sequence 解析では細胞集団の遺伝子発現の総和を解析していましたが、single-cell RNA sequence では細胞集団の中の個々の細胞の違いを比較することができます。これにより、ある細胞種の中のサブポピュレーションの同定や、個々の細胞がどのような分化の方向性（分化軌道）を持つかを予測することが可能です。本研究では、single-cell RNA sequence 解析から EE の中でも AstC 陽性のサブポピュレーションが ISC への脱分化軌道を示すことを見出しました。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学大学院薬学系研究科

講師 中嶋 悠一郎（なかじま ゆういちろう）

Tel : 03-5841-4863 E-mail : nakaji97@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

〈報道に関する問合せ〉

東京大学大学院薬学系研究科 庶務チーム

Tel : 03-5841-4702 E-mail : shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp