

Title	腸管上皮オルガノイドのシングルセル解析による老化メカニズムの解明
Sub Title	Single-cell analysis of intestinal epithelial organoids to elucidate aging mechanisms
Author	齋藤, 義正(Saito, Yoshimasa)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2022
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集(2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>近年、組織幹細胞を3次元で培養することにより、in vitroで各臓器を模倣した組織構造体を培養するオルガノイド培養法が開発された。本研究では、若齢(10週齢前後)および老齢(100週齢前後)のマウスの腸管上皮からオルガノイドを樹立した。若齢マウス由来の腸管上皮オルガノイドは樹立成功率が100%であったのに対し、老齢マウス由来の腸管上皮オルガノイドは樹立成功率が57%と有意に低下していた。また、若齢由来の腸管上皮オルガノイドでは、旺盛な増殖能と共に"budding"と呼ばれる幹細胞を含む腸管陰窩を模倣した突起構造が認められたのに対し、老齢由来の腸管上皮オルガノイドでは腸管陰窩構造が少なく、増殖能も低下していた。さらに、老齢マウス由来の腸管上皮オルガノイドにおいて、幹細胞マーカーであるLgr5の発現が若齢に比べて有意に低下していた。</p> <p>腸管上皮を構成する細胞としては、幹細胞、パネット細胞、内分泌細胞などがあるが、ごくわずかにタフト細胞が含まれていることが明らかになっている。このタフト細胞については、その機能が明らかになっていないが、がん化や老化において重要な役割を果たしているという報告もあるため、このタフト細胞に特に注目して解析を進めた。DCLK1はがん幹細胞およびタフト細胞のマーカーとして知られている。若齢および老齢マウス由来のオルガノイドおよび組織におけるDCLK1陽性細胞の細胞数や局在を観察した。解析の結果、老化に伴いDCLK1などのタフト細胞マーカー遺伝子の発現が増加することが確認された。また全腸管上皮細胞中に占めるDCLK1陽性細胞の細胞数や局在が老化と共に変化することが確認された。腸管上皮における老化に伴う腫瘍化にタフト細胞が重要な役割を果たしていることが示唆されたが、今後の更なる研究が必要である。</p> <p>Recently, an organoid culture method has been developed to culture tissue structures that mimic each organ in vitro by culturing tissue stem cells in three dimensions. In this study, organoids were established from the intestinal epithelium of young (around 10 weeks old) and old (around 100 weeks old) mice. Intestinal epithelial organoids from young mice had a 100% success rate, whereas those from old mice had a significantly lower success rate of 57%. In addition, young intestinal epithelial organoids showed vigorous proliferation and "budding," a protruding structure that mimics the intestinal crypt containing stem cells, whereas old intestinal epithelial organoids showed less intestinal crypt structure and less proliferation. The capacity was also reduced. Furthermore, the expression of Lgr5, a stem cell marker, was significantly decreased in the intestinal epithelial organoids from old mice compared to young mice.</p> <p>The cells that make up the intestinal epithelium include stem cells, paneth cells, and endocrine cells, and it has been shown that a very small number of tuft cells are included in the epithelium. DCLK1 is a known marker of cancer stem cells and tuft cells. We observed the cell number and localization of DCLK1-positive cells in organoids and tissues derived from young and old mice. The analysis confirmed that the expression of DCLK1 and other tuft cell marker genes increases with aging. The number and localization of DCLK1-positive cells in the total intestinal epithelial cells were also observed to change with aging. These findings suggest that tuft cells play an important role in tumorigenesis associated with aging in the intestinal epithelium, but further studies are needed.</p>
Notes	申請種類:福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	教授	補助額	1,500 千円
	氏名	齋藤 義正	氏名（英語）	Yoshimasa Saito		

研究課題（日本語）

腸管上皮オルガノイドのシングルセル解析による老化メカニズムの解明

研究課題（英訳）

Single-cell analysis of intestinal epithelial organoids to elucidate aging mechanisms

研究組織

氏名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
齋藤 義正 (Yoshimasa Saito)	薬学部・教授

1. 研究成果実績の概要

近年、組織幹細胞を3次元で培養することにより、in vitro で各臓器を模倣した組織構造体を培養するオルガノイド培養法が開発された。本研究では、若齢(10週齢前後)および老齢(100週齢前後)のマウスの腸管上皮からオルガノイドを樹立した。若齢マウス由来の腸管上皮オルガノイドは樹立成功率が100%であったのに対し、老齢マウス由来の腸管上皮オルガノイドは樹立成功率が57%と有意に低下していた。また、若齢由来の腸管上皮オルガノイドでは、旺盛な増殖能と共に“budding”と呼ばれる幹細胞を含む腸管陰窩を模倣した突起構造が認められたのに対し、老齢由来の腸管上皮オルガノイドでは腸管陰窩構造が少なく、増殖能も低下していた。さらに、老齢マウス由来の腸管上皮オルガノイドにおいて、幹細胞マーカーである Lgr5 の発現が若齢に比べて有意に低下していた。腸管上皮を構成する細胞としては、幹細胞、パネット細胞、内分泌細胞などがあるが、ごくわずかにタフト細胞が含まれていることが明らかになっている。このタフト細胞については、その機能が明らかになっていないが、がん化や老化において重要な役割を果たしているという報告もあるため、このタフト細胞に特に注目して解析を進めた。DCLK1 はがん幹細胞およびタフト細胞のマーカーとして知られている。若齢および老齢マウス由来のオルガノイドおよび組織における DCLK1 陽性細胞の細胞数や局在を観察した。解析の結果、老化に伴い DCLK1 などのタフト細胞マーカー遺伝子の発現が増加することが確認された。また全腸管上皮細胞中に占める DCLK1 陽性細胞の細胞数や局在が老化と共に変化することが確認された。腸管上皮における老化に伴う腫瘍化にタフト細胞が重要な役割を果たしていることが示唆されたが、今後の更なる研究が必要である。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

Recently, an organoid culture method has been developed to culture tissue structures that mimic each organ in vitro by culturing tissue stem cells in three dimensions. In this study, organoids were established from the intestinal epithelium of young (around 10 weeks old) and old (around 100 weeks old) mice. Intestinal epithelial organoids from young mice had a 100% success rate, whereas those from old mice had a significantly lower success rate of 57%. In addition, young intestinal epithelial organoids showed vigorous proliferation and “budding,” a protruding structure that mimics the intestinal crypt containing stem cells, whereas old intestinal epithelial organoids showed less intestinal crypt structure and less proliferation. The capacity was also reduced. Furthermore, the expression of Lgr5, a stem cell marker, was significantly decreased in the intestinal epithelial organoids from old mice compared to young mice.

The cells that make up the intestinal epithelium include stem cells, paneth cells, and endocrine cells, and it has been shown that a very small number of tuft cells are included in the epithelium. DCLK1 is a known marker of cancer stem cells and tuft cells. We observed the cell number and localization of DCLK1-positive cells in organoids and tissues derived from young and old mice. The analysis confirmed that the expression of DCLK1 and other tuft cell marker genes increases with aging. The number and localization of DCLK1-positive cells in the total intestinal epithelial cells were also observed to change with aging. These findings suggest that tuft cells play an important role in tumorigenesis associated with aging in the intestinal epithelium, but further studies are needed.

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)
齋藤義正	加齢に伴う消化器疾患と新たな抗 加齢物質の開発	日本抗加齢医学会講習会	2021年10月