

大腸癌発生と腸の幹細胞の制御に必要な重要分子を発見

東京医科大学（分子病理学分野 仲矢丈雄兼任助教（現杏林大）、黒田雅彦主任教授）と自治医科大学（学長 永井良三）の共同研究チームは、腸の幹細胞において腫瘍を発生させるときに、KLF5 という分子だけをなくすことで、幹細胞から全く腫瘍が発生しなくなることを発見し、KLF5 が幹細胞からの大腸癌の発生に必要な分子であることを初めて明らかにしました。この研究成果は、アメリカがん学会誌 *Cancer Research*（キャンサーリサーチ）5月15日号に発表されました。

概 要

仲矢兼任助教、黒田教授を中心とする研究チームでは、マウスの実験系で、腸の幹細胞から腫瘍を発生させるようにしたときに、同時に幹細胞の中でKLF5という分子のみをなくすようにするだけで、腫瘍が全くできなくなることを発見しました。これは、KLF5が腸の幹細胞から腫瘍が発生するのに必要なスイッチの役割をする分子であることを示した結果です（図）。

また、ヒトの大腸癌患者でKLF5の量が癌でない正常部分に比べて増えていること、一部の大腸癌でKLF5の遺伝子の数が異常に増えていることも明らかにし、マウスのみならずヒトの大腸癌でKLF5が重要であることも示しました。さらに、KLF5が、正常な腸の幹細胞の維持と増殖、生存を制御していることも明らかにしました。

本研究は、大腸癌の幹細胞からの発生と、腸の幹細胞の制御が、同一分子によって相互に密接に関わりあいながら行われていることを、分子レベルで世界に先駆けて解明した重要な研究成果であり、今後の大腸癌におけるがん幹細胞を標的とした新しい治療法の開発への発展が期待されます。

背 景

大腸癌は亡くなる患者の数が非常に多い癌であり、近年日本でも年々増加しています。その解決、撲滅は日本のみならず世界で急務となっております。

腸の（上皮）細胞は、幹細胞という全ての腸の細胞のもととなる細胞から生み出され、分化し、やがて死んだり剥がれたりしていくというライフサイクル、新陳代謝を繰り返して維持されています。さらに、ほとんどの腸の腫瘍（大腸癌、腺腫）が幹細胞から発生すること、腸の腫瘍（大腸癌）の中に幹細胞が存在し腫瘍の源になっていることが近年明らかにされてきていました。現在臨床現場で大腸癌治療に用いられる抗癌剤は、活発に増殖している細胞を抑制したり殺したりするものですが、癌の中の幹細胞は癌の中の幹細胞以外の細胞に比べ増殖が遅いため抗癌剤が効きにくく癌幹細胞が残存してしまい、それが癌の再発や癌死を招く大きな原因となっております。これらのことから、

腸の幹細胞のコントロールと発癌が相互に強く結びついていると推察されていました。

また、最近、すべての細胞に分化させることのできる人工的な未分化幹細胞である iPS 細胞などを用いて人工的に臓器を再生する再生医療研究が活発になっています。細胞に KLF4、Oct4、Sox2、c-Myc という 4 つの分子を細胞内で多く出るようにすることで iPS 細胞を作成できます（山中の 4 因子）。このとき、KLF4 のかわりに KLF5 という分子を多く出るようにしても iPS 細胞を作ることができます。このように、KLF5 は、KLF4 と共に iPS 細胞を作ったり、人工的幹細胞が幹細胞の性質を維持していくのに必要であることが今まで明らかにされてきました。

腸のような体内にある正常な幹細胞の維持・増殖と、幹細胞からの発がんが細胞内でのどのような分子により、どのようにコントロールされているかについてその本質を解明することは、がんのほとんどが体内の幹細胞から発生することを鑑みても、極めて重要な課題です。これらの解明は、大腸癌の幹細胞を抑制死滅させる新しい治療法の開発につながる可能性が高いと考えられます。にもかかわらず、体内の幹細胞の制御と体内の幹細胞からの発癌についての研究は、iPS 細胞のような人工的幹細胞に比べ、今まで、科学的、技術的なハードルによりほとんど進んでいませんでした。

iPS 細胞等の人工的幹細胞の制御、作成に KLF5 が重要であること、腸においては幹細胞が存在する腸のくぼみ（陰窩）の底で KLF4 でなく KLF5 の蛋白が多く出ていることから、私達は、KLF5 が腸の幹細胞や幹細胞に近い細胞のコントロールに重要なのではないかと推察し、研究を進めました。

詳細経緯

●KLF5 が正常な腸の幹細胞の維持と増殖、生存を制御

Lgr5 という分子を表面に発現する細胞が、腸上皮の幹細胞であることが明らかになっています。そこで、私達は、薬剤を投与することにより Lgr5 を発現する幹細胞だけで KLF5 を欠損させることのできるマウスを作成しました。Lgr5+幹細胞で KLF5 を欠損させることにより、KLF5 を欠損させた幹細胞および幹細胞から一歩増殖した未分化な細胞は、KLF5 の欠損していない細胞に比べ、増殖が著しく抑制されることを見出しました。また、幹細胞を含む陰窩の底部において死んでいるような細胞は正常では認めないのですが、幹細胞で KLF5 を欠損させることにより、幹細胞および KLF5 欠損幹細胞からできる細胞の一部が死ぬという異常が起こることを見出しました。さらには、KLF5 を欠損させた幹細胞は、幹細胞が維持される過程で、幹細胞同士の生存競争に生き残れず長期に生存できないことも明らかにしました。これらから、私達は、正常の腸の幹細胞の増殖、維持、生存に KLF5 が必要であることをはじめて示しました。

●KLF5 が幹細胞からの大腸癌の発生に必要な分子

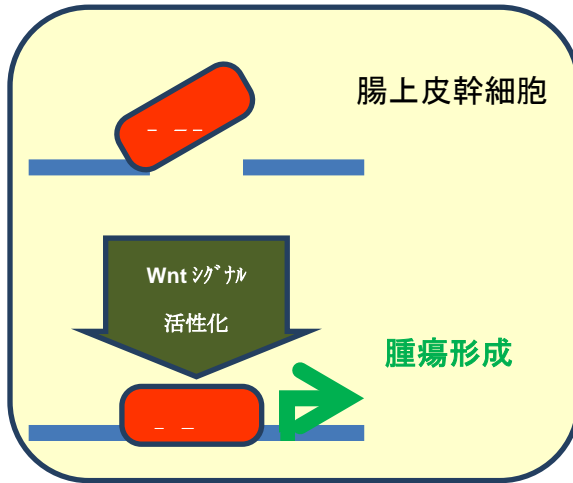
次に、私達は、大腸癌にどのように KLF5 が関わるかについて研究を進めました。ヒ

トのの大腸癌の手術切除検体において、大腸癌の部分では癌でない正常の部分に比べて KLF5 の量が増えていること、一部の癌で KLF5 遺伝子が異常に増幅していることを見出しました。

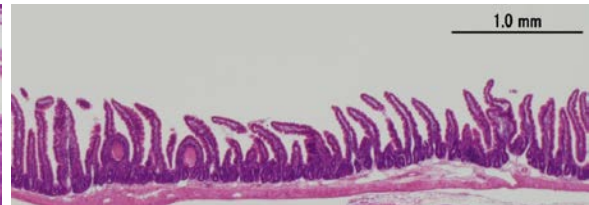
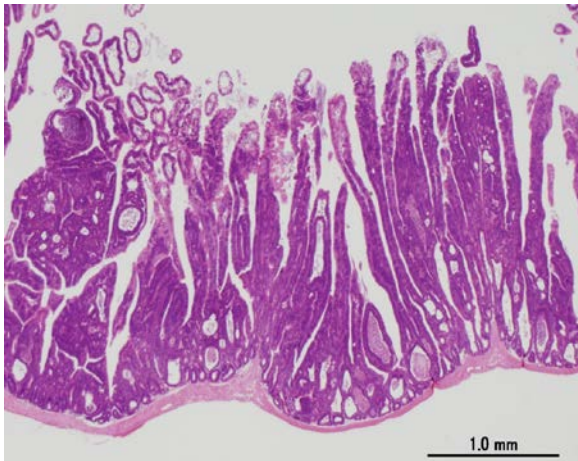
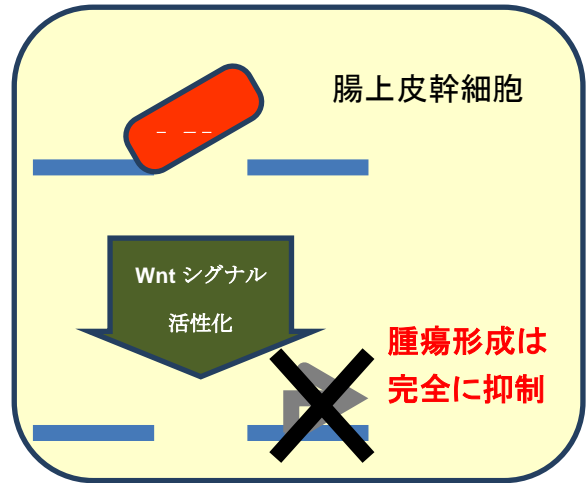
ほとんどの大腸癌で遺伝子の傷（変異）や、異常な活性化が認められ（ヒトの大腸癌の 92–97% 程度）、大腸癌の発生に最も重要な Wnt シグナルという分子経路を、腸の Lgr5+幹細胞で活性化すると幹細胞以外の細胞で Wnt シグナルを活性化するより、はるかに進行と増殖の早い腫瘍形成が起こることから、幹細胞が腸の腫瘍の源として重要であることがマウスの実験系で明らかにされてきました。そこで、私達は、幹細胞からの発癌に KLF5 がどのような働きをするかについて研究を進めました。薬剤投与により変異活性化型 β -カテニン分子を腸の Lgr5+幹細胞だけで発現させ Wnt シグナルを活性化するマウスを作成したところ、腸に腫瘍が発生して急速に増殖し、マウスは腫瘍の増大により Lgr5+幹細胞で Wnt シグナルを活性化させてから 50 日以内に 70% 以上のマウスが死亡しました。しかし、Lgr5+幹細胞で Wnt シグナルの活性化させると同時に KLF5 遺伝子だけを欠損させるようにすることにより、全く腫瘍が形成されなくなり、マウスは死ななくなりました（図）。これらの結果から、私達は KLF5 が幹細胞からの腸の腫瘍の発生に必要なスイッチの働きをしていることを解き明かしました。

私達は、KLF5 が腸の幹細胞において発癌と正常状態の維持の両方を制御する重要な分子であることを明らかにしました。これは、正常の腸の幹細胞の制御と大腸癌の発癌が根幹において同一分子で制御され密接に関わり合っていることを世界に先駆けて分子レベルで解明した重要な研究成果です。

KLF5 を欠損させない



**Wnt シグナル活性化と同時に
KLF5 を欠損させる**



**KLF5 は大腸癌発生に
必要なスイッチである**

Nakaya et al. Cancer Research 2014 in press

<ご参考>

◆幹細胞

ある種類の細胞の中で、その種類の細胞全てを生み出す源となる細胞を「幹細胞」といいます。体の組織の中には、腸の上皮細胞をはじめ多くの幹細胞が存在し維持されています。腸の上皮は、幹細胞が腸のくぼみ（陰窩）の底に存在して維持されており、幹細胞から全ての上皮が生み出され、分化しながら陰窩の底から内腔側、絨毛側に移動していき、内腔側、絨毛の先で剥がれるあるいは死滅するというライフサイクルを持っています。さらに、腸では、幹細胞からほとんどの腫瘍・癌が発生することがマウスの実験系で示されており、ここから幹細胞の制御が発癌と密接にかかわることが予想されてきましたが、今までその具体的な分子メカニズムはほとんど解明されていませんでした。

◆大腸癌

大腸の粘膜上皮から発生する癌です。患者数が非常に多く（生涯に大腸癌にかかる人は全人口の 7%程度と言われています）、この癌により死亡する患者数も非常に多い、極めて重要ながんの一つです。近年日本でも患者数、死亡者数が増加しており、その解決、撲滅が急務となっています。

◆KLF5

KLF5 は、転写因子（遺伝子から蛋白が作られる過程で、まず遺伝子から mRNA が作られますが、その遺伝子から mRNA が作られる過程や量を調節する蛋白）の一つです。KLF5 は、血管の動脈硬化を促進させる重要なスイッチの働きを持つことが明らかにされており、さらに心臓、腎臓、代謝などの病気や正常な状態をコントロールする重要な働きを持つことも、今までの研究で明らかにされています。また、分化した細胞からどんな方向にも分化させることのできる未分化な幹細胞である iPS 細胞を作成するには、4 つの因子が細胞内で多く出るようにしますが、その 4 つの因子の一つが KLF5 と仲間の分子である KLF4 です。この KLF4 の代わりに KLF5 を多く発現させても iPS 細胞を作ることができるなど、KLF5 が人工的幹細胞の維持や作成に重要であることが今までの研究で明らかにされてきました。

【本件に関するお問い合わせ】

東京医科大学

経営企画・広報室 広報担当

日高・田崎

03-3351-6141（代表）