腸管再生やがん化に重要な新たな幹細胞の発見

－がんの新規治療開発や再生医療への応用に期待－

ポイント

① 高度な組織修復力を持つ腸管上皮は臓器の再生を研究するための有用なモデルとして注目されていたが、再生の詳細なメカニズムは不明であった。

② 本研究では腸管上皮の再生に必要な新しい幹細胞を発見し、腸管の再生やがん化の過程において「胎児返り」と「胃上皮様変化」という 2 つの現象が重要であることを見出した。

③ これらの知見を基に、今後がんの新規治療法の開発や再生医療などへの応用が期待される。

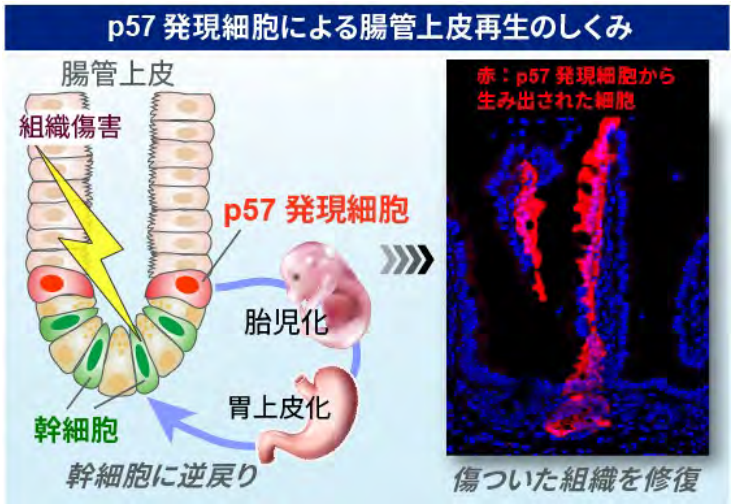
概要

九州大学生体防御医学研究所の中山 敬一 主幹教授、比嘉 綱己 研究員らの研究グループは、腸管上皮の再生に必要な組織幹細胞（※1）を新たに発見しました。また、腸管の再生やがん化の過程に「胎児返り」と「胃上皮様変化」（※2）という 2 つの現象が重要であることを明らかにしました。

腸管上皮は大きな組織傷害を受けた後でも高度な再生力を示すため、臓器の維持や再生機構を研究するための有用なモデルとして注目されていますが、再生を司る細胞の実体やメカニズムは不明でした。

本研究グループは、造血幹細胞や神経幹細胞の細胞周期（※3）停止に重要な p57 遺伝子（※4）が、腸管上皮においても稀少な細胞集団に特異的に発現していることを発見しました。そこで p57 の系統追跡（※5）マウスを作製し、p57 発現細胞の挙動を解析しました。その結果、p57 発現細胞は通常の状態では分化細胞（※6）の一種として存在していますが、組織がダメージを受けると脱分化（※6）して幹細胞となり、腸管の再生に重要な役割を果たすことがわかりました。さらに再生途中の腸管上皮を 1 細胞 RNA-seq 法（※7）によって解析したところ、p57 発現細胞は「胎児返り」と「胃上皮様変化」という細胞アイデンティティの大規模な再構築を経て、幹細胞の状態へと逆戻りしていることが明らかとなりました。このような変化は、臨床的にはがんや炎症などの病態でしばしば認められます。これらは正常の組織に本来備わっている再生システムが、病態下で利用されたり誤作動した結果なのかもしれません。事実、私たちは上記と同様の現象が腸管腫瘍でも起こっていることを明らかにしました。

本研究により、正常腸管上皮および腸管腫瘍の組織再生メカニズムの重要な一端が明らかとなりました。その知見は、今後がんの新規治療開発や再生医療などへの応用が期待されます。本研究成果は英国の雑誌「Nature Communications」に 2022 年 3 月 21 日（月）(日本時間)に掲載されました。



(参考図) p57 発現細胞による腸管上皮の再生
腸管陰窩に存在する p57 発現細胞は、組織傷害を受けると「胎児返り」と「胃上皮様変化」を介して幹細胞へと脱分化し、傷害後の腸管上皮を再生させるのに重要な役割を果たします。

【研究の背景と経緯】

哺乳類の腸管上皮には Lgr5 発現細胞という幹細胞が存在しており、定常状態（＝組織傷害などのない“普通”の状態）における組織の維持を担っています。一方で、Lgr5 発現細胞は化学物質や放射線などの組織傷害によって一時的にほぼ完全に失われてしまいますが、腸管上皮は問題なく維持されます。この事実は、Lgr5 発現細胞以外に、腸管の傷害後再生に重要な幹細胞集団が存在することを強く示唆していますが、そのような幹細胞の実体や再生のメカニズムは不明でした。私たちは以前、細胞周期の静止状態を維持する p57 遺伝子が、造血幹細胞や神経幹細胞といった代表的な組織幹細胞に特異的に発現することを発見していました。そこでこの p57 の発現を指標とすることで、腸管においても新たな幹細胞集団を同定できるのではないかと考えました。

【研究の内容と成果】

私たちはまず、免疫染色を用いて小腸における p57 の発現を調べました。小腸上皮は絨毛と陰窩という基本構造の繰り返しからなる組織ですが、p57 は幹細胞が存在すると言われている陰窩において、稀少な細胞集団に発現していることを見出しました（図 1）。これら p57 発現細胞は Lgr5 発現細胞とは独立した細胞集団で、かつ細胞増殖のマーカーである Ki67 が陰性であることから、少なくとも定常状態においては造血幹細胞などと同様に、細胞周期を停止した状態にあることがわかりました。

次に私たちは、遺伝子改変技術を用いて p57 の系統追跡マウスを作製しました（図 2）。このマウスにタモキシフェンという薬剤を投与すると、まず p57 発現細胞が tdTomato という赤色蛍光タンパク質で標識され、さらにこの蛍光標識が p57 発現細胞の子孫細胞にも次々伝わっていく仕組みになっています。実際に p57 系統追跡マウスにタモキシフェンを投与すると、腸管陰窩の p57 発現細胞が tdTomato で標識されました。しかしながら、定常状態ではこの蛍光標識は他の細胞に伝わることはなく、また p57 発現細胞は内分泌細胞のマーカーを発現していることがわかりました（図 3）。一方、このマウスに抗がん剤や放射線で傷害を与えると、最初は p57 発現細胞だけに限局していた tdTomato 標識が、2 週間後には陰窩～絨毛までのすべての細胞に伝わることがわかりました（図 3）。これらの結果から、p57 発現細胞は定常状態では内分泌細胞として存在しているものの、組織が傷害されると脱分化して幹細胞となり、ピンチヒッターとして組織修復に寄与することが明らかとなりました。

さらに、蛍光標識した p57 陽性細胞を含む腸管上皮細胞を正常および傷害後のマウスから単離し、1 細胞 RNA-seq 解析によって個々の細胞の全遺伝子の発現プロファイルを調べました。その結果、再生途上の p57 発現細胞では、本来成体腸管には発現していないはずの胎児腸管の遺伝子群や胃上皮の遺伝子群が高発現していることがわかり、幹細胞性獲得の過程において通常の成体腸管とはまったく異なった細胞状態を経ていることが明らかとなりました（図 4）。つまり腸管の傷害後再生においては、分化した細胞の遺伝子発現プロファイルをダイナミックに作り変える（＝リプログラミングする）ことで脱分化を引き起こし、新たな幹細胞集団を作り出していると考えられます。p57 発現細胞はまた、Apc 変異マウス（※8）の腸管腫瘍においてもがん幹細胞として機能しており、かつ腫瘍内でも上記と同様のリプログラミング現象が起こっていることがわかりました（図 5）。これらの結果は、正常腸管上皮に備わっている再生システムが、腫瘍においても利用されていることを示唆するものです。

【今後の展開】

本研究により、腸管の再生や発がんの過程では胎児返りや胃上皮化生様の変化を伴う大規模なリプログラミングを経て幹細胞を生み出していることがわかりました。今後この現象の分子メカニズムを解明することで、生体の組織維持機構の基本原理を明らかにするとともに、再生医療に用いる組織幹細胞の誘導・制御や、より根治的ながん治療のための戦略開発などに役立てていきたいと考えています。

【参考図】

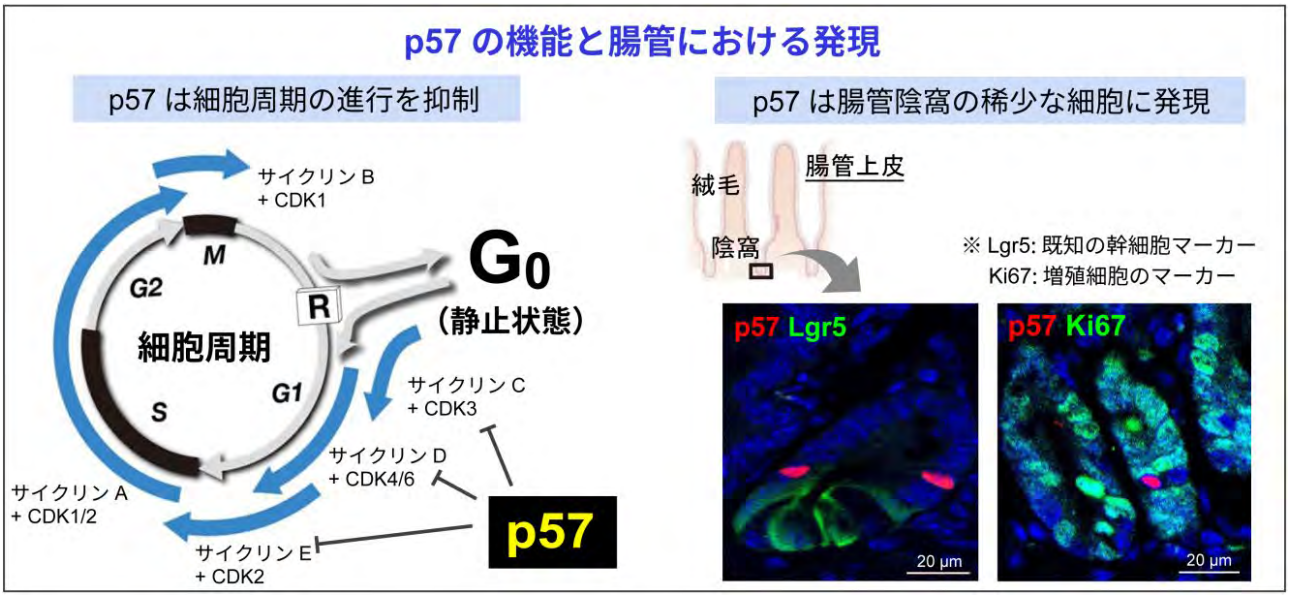


図 1: 細胞周期抑制因子である p57 は腸管陰窩の稀少な細胞に発現している

p57 はサイクリン/CDK という細胞周期のアクセル因子を抑制することで、細胞を静止状態（＝長期の細胞周期停止）に維持する遺伝子です（左）。p57 は腸管陰窩において、Lgr5 を発現する腸管幹細胞とは異なる稀少な細胞に発現しています。これら p57 発現細胞は増殖マーカーの Ki67 が陰性であることから、定常状態では細胞分裂を停止した細胞であることがわかります（右）。

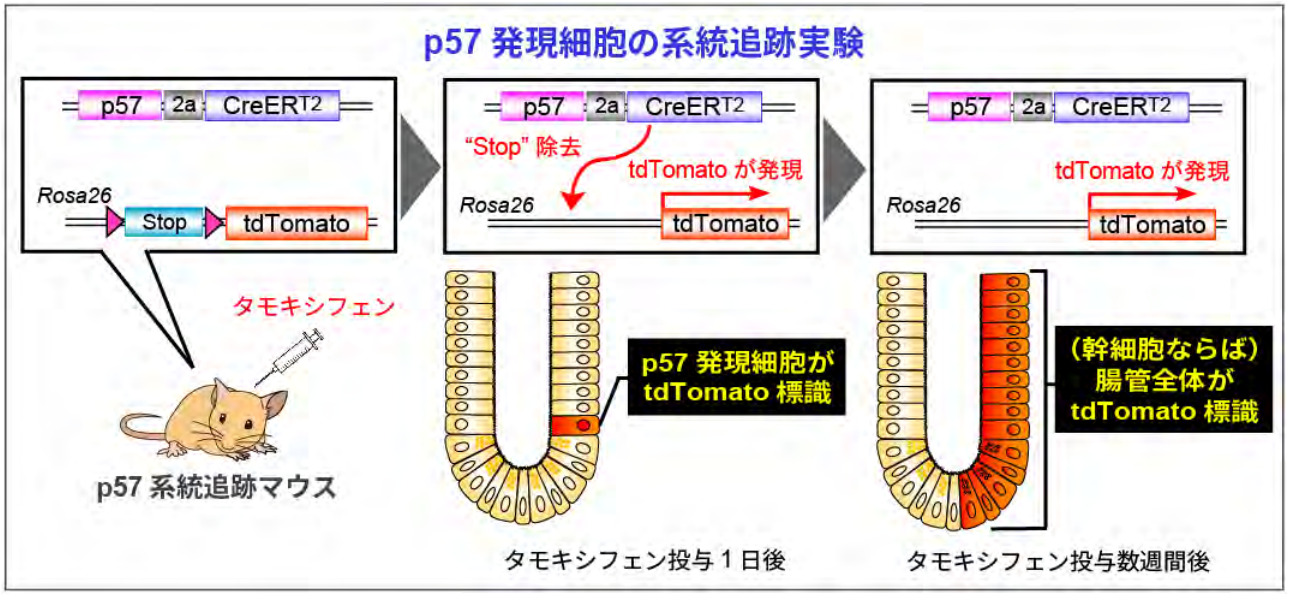


図 2: p57 発現細胞の系統追跡実験とそのしくみ

p57 系統追跡マウスは、p57 遺伝子と一緒に CreER^{T2} という遺伝子（『はさみ』のように DNA を切り取る）を発現します。このマウスにタモキシフェンを投与すると CreER^{T2} が活性化し、tdTomato 遺伝子（蛍光タンパク質）の上流にある Stop 配列（発現阻害配列）を除去するので、まず p57 発現細胞が tdTomato で標識されます。さらにこれはゲノム DNA 上の変化なので、p57 発現細胞の子孫細胞にも脈々と受け継がれていきます。すなわち、もし p57 発現細胞が幹細胞であるならば、数週間経つと組織の中の全種類の細胞が tdTomato で標識されることになります。

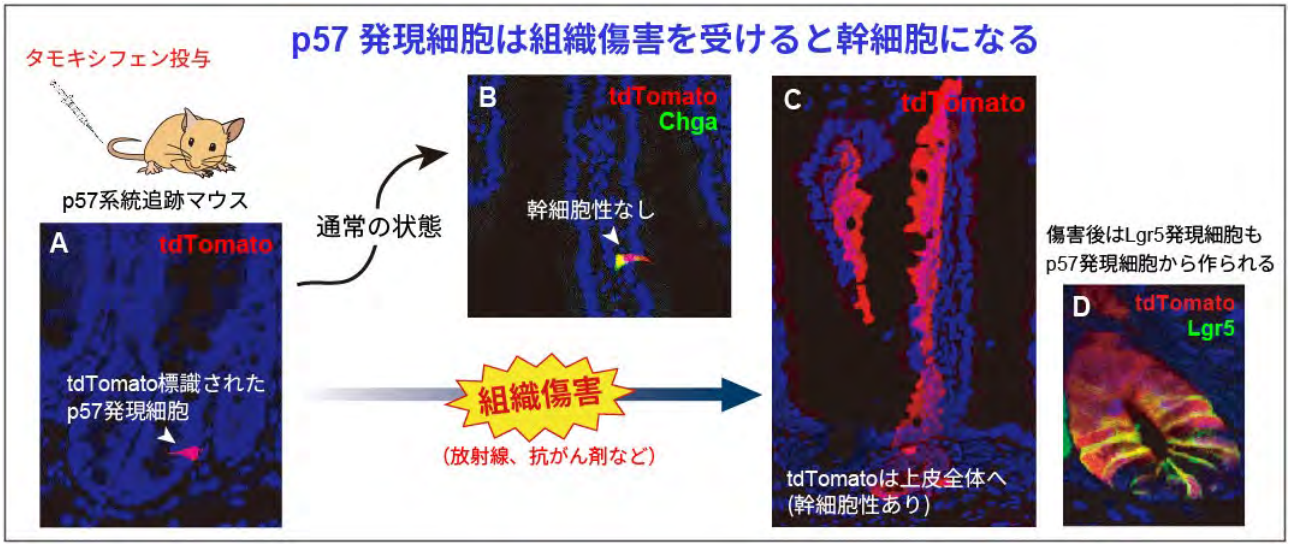


図 3: p57 発現細胞は組織傷害を受けると幹細胞へと“脱分化”する

p57 系統追跡マウスにタモキシフェンを投与すると、腸管陰窩の p57 発現細胞が tdTomato で標識されます（A)。この p57 発現細胞は内分泌細胞のマーカーを発現しており、定常状態では標識が他の細胞へ伝わることはありませんでした（B)。しかし放射線や抗がん剤で組織傷害を与えると、tdTomato 標識は陰窩～絨毛まで上皮全体に伝播しました（C)。このことから、p57 陽性細胞は傷害に応答して幹細胞性を獲得し、Lgr5 発現細胞（D）を含むすべての上皮細胞を産生することがわかりました。

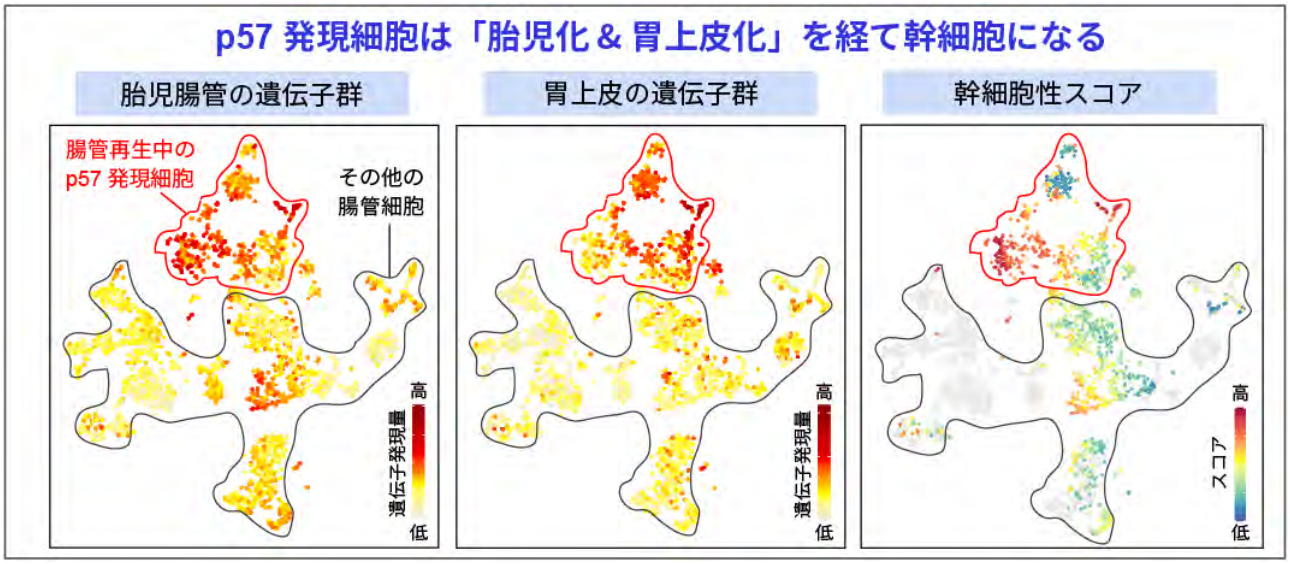


図 4: 再生中の p57 発現細胞では「胎児返り」と「胃上皮様変化」が起こっている

正常腸管および傷害後再生中の腸管に対して 1 細胞 RNA-seq 解析を行いました。すると再生中の p57 発現細胞で特異的に、胎児腸管の遺伝子群（左）や胃上皮の遺伝子群（中）が活性化していました。また CytoTRACE 解析から、p57 発現細胞は幹細胞性スコア（右）も高いことがわかりました。

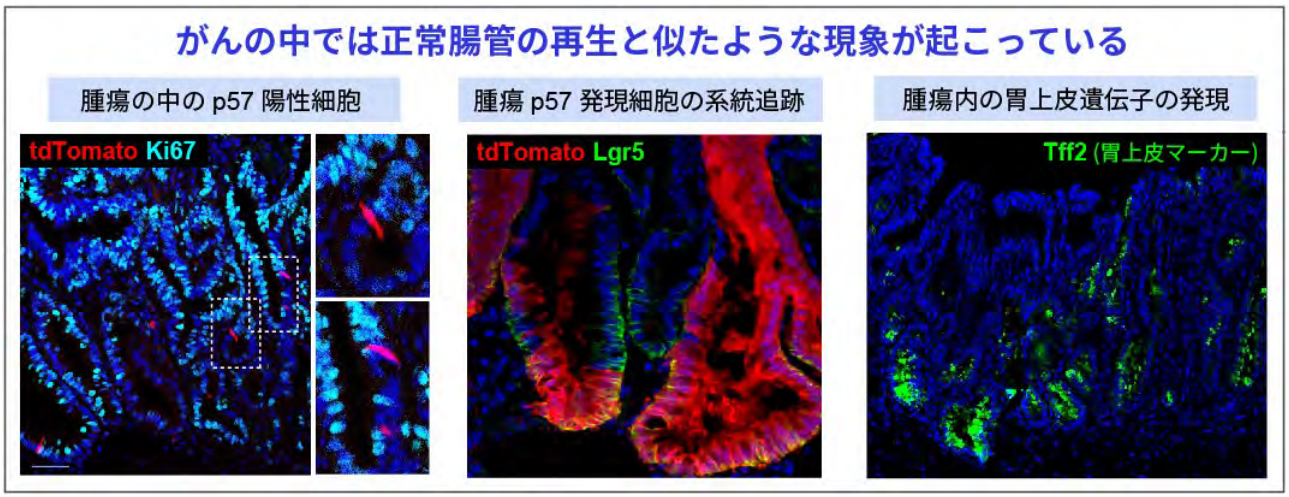


図 5: 腸管腫瘍における p57 発現細胞の系統追跡実験と胃上皮遺伝子の発現

Apc 変異マウスの腸管腫瘍を調べたところ、腫瘍にも p57 発現細胞が存在しており（左）、系統追跡実験により腫瘍内 p57 発現細胞はがん幹細胞として機能することがわかりました（中）。また再生中の腸管同様、腸管腫瘍の中では至るところで胃上皮遺伝子の活性化が認められました（右）。

【用語解説】

(※1) 組織幹細胞

生体内の個々の臓器や組織において、その組織のすべての細胞を生み出す源となっている細胞のことです。たとえば血液の細胞を生み出す幹細胞は造血幹細胞、神経を生み出す幹細胞は神経幹細胞と呼ばれ、臓器ごとにそれぞれ固有の組織幹細胞を持っていると考えられています。

(※2) 胃上皮様変化(化生)

化生とは、ある組織の細胞が、別の組織の細胞に置き換わってしまう現象です。たとえば胃がんなどでは、胃の細胞が腸の細胞に置き換わってしまうことがあり、これを「胃の腸上皮化生」と呼びます。腸管に慢性炎症を起こすクローン病などでは、逆に「腸の胃上皮化生」が起こることが知られています。

(※3) 細胞周期

細胞は分裂しながら増殖していきますが、その過程で分裂と休止を繰り返しています。この細胞分裂と休止のサイクルを細胞周期とよびます。

(※4) p57

細胞周期を抑制することで、増殖のブレーキとして機能する遺伝子のひとつです。とくに p57 は造血幹細胞などにおいて、「静止状態」とよばれる長期間の細胞周期停止に重要なことがわかっています。

(※5) 系統追跡

特定の細胞（例: p57 発現細胞）に、遺伝学的な仕掛けによって子孫まで受け継がれる目印（蛍光タンパク質など）を導入することで、その細胞の運命や産生される子孫細胞を追跡する実験のことです。

(※6) 分化・脱分化

いろいろな細胞になれる幹細胞の状態から、特定の種類の細胞になることを「分化」といいます。逆に特定の細胞種が幹細胞へと逆戻りすることを「脱分化」といいます。

(※7) 1 細胞 RNA-seq 法

1 個の細胞において、その中に発現しているすべての遺伝子の RNA 量を調べる手法です。これを数千～数万個の細胞に対して行うことで、ある組織の中にどんな細胞が存在しているのか、また条件の違いによって各遺伝子の発現状態が細胞ごとにどう変わるのかなどを調べることが可能です。

(※8) Apc 変異マウス
細胞増殖の抑制因子の一つである Apc 遺伝子の機能を欠失したマウス。腸管に多くの腫瘍を自然発生するため、大腸がんの研究に盛んに使用され、その治療法開発などに貢献しています。

【謝辞】
本研究は、JSPS 科研費（JP18H05215, JP19K16716)、AMED P-CREATE (JP21cm0106105)の助成を受けたものです。

【論文情報】
掲載誌：Nature Communications
タイトル：Spatiotemporal reprogramming of differentiated cells underlies regeneration and neoplasia in the intestinal epithelium
著者名：Tsunaki Higa, Yasutaka Okita, Akinobu Matsumoto, Shogo Nakayama, Takeru Oka, Osamu Sugahara, Daisuke Koga, Shoichiro Takeishi, Hirokazu Nakatsumi, Naoki Hosen, Sylvie Robine, Makoto Taketo, Toshiro Sato & Keiichi I. Nakayama
ＤＯＩ：10.1038/s41467-022-29165-z

【お問合せ先】
＜研究に関すること＞
九州大学 生体防御医学研究所　主幹教授
中山 敬一（なかやま けいいち）
TEL：092-642-6815　FAX：092-642-6819　携帯電話：090-3608-4654（24 時間対応可能）
Mail：nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp

＜報道に関すること＞
九州大学　広報室
ＴＥＬ：092-802-2130　ＦＡＸ：092-802-2139
Mail：koho@jimu.kyushu-u.ac.jp