

2017年3月31日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

大腸がん幹細胞標的治療モデルの開発に成功 ーがんの根治治療の開発に期待ー

このたび慶應義塾大学医学部内科学（消化器）佐藤俊朗准教授らは、大腸がんの増殖を司る“がん幹細胞”の詳細な機能の解析と、がん幹細胞を標的とした治療モデルの開発に成功しました。

“がん幹細胞”は、がん組織の中に少数存在し、再発や転移の原動力となると考えられ、臨床的意義の大きさから長年研究の対象とされてきました。しかしその詳細な機能は未だ解明されていません。佐藤准教授らは、これまでにヒトの大腸がんを培養し、マウス生体内でがんを再構築する技術を開発しています。本研究ではこの技術にゲノム編集技術を応用し、特定のヒト大腸がん細胞の動態をマウス生体内で観察する技術を開発しました。これにより、大腸がんの幹細胞の同定とその生体内での機能解析に成功しました。また、大腸がん幹細胞を標的とした治療モデルを開発し、既存のがん治療薬と組み合わせた場合にのみ、腫瘍が著明に縮小することをマウス実験で確認しました。この成果は、今後の大腸がんの根治を目指したがん幹細胞機能の解明と、新規創薬への確かな道筋となります。

この研究成果は、2017年3月30日英国科学誌「Nature」に掲載されました。

1. 研究の背景と概要

1) 背景

国内の大腸がんによる死亡者数は増加の一途にあり、2015年度で女性は1位、2020年には男性でも2位に上昇すると予測され、大きな社会問題となっています。病気の進行により手術による切除ができない状態の大腸がんは根本的な治療法が確立されておらず、新しい治療薬開発が精力的に行われてきました。しかし、現在のがん治療薬は、大部分のがん細胞に対して殺傷作用を持つ一方、わずかに残ったがん細胞による再発の克服が課題となっています。再発の原因として、治療後のがん組織に残存する“がん幹細胞”（注1）が有力視されています。がん幹細胞は、たった1つの細胞からでも腫瘍を形成する能力を持つ細胞であり、その存在と機能の解明は、がんの根治に結びつくと期待されています。

ヒトがん幹細胞の機能のこれまでの研究は、がん組織をバラバラな1つの細胞にし、移植した実験動物において腫瘍を形成するかどうかにより解析されてきました。しかしながら、大腸がんなどの固まりを作る固形腫瘍では、組織をバラバラにする間に細胞が死んでしまうため検証が困難でした。マウスでは、組織をバラバラにせず特定の細胞の生体内での挙動を調べる「細胞系譜解析」（注2）技術が開発され、幹細胞の同定が可能になっています。し

かし、この技術に必要な遺伝子改変技術は、ヒトの組織細胞ではこれまで実現できず、ヒトがん組織の細胞系譜解析は困難でした。

正常の大腸上皮の組織には幹細胞が存在し、自分自身と同じ幹細胞を永続的に産み出す（自己複製）とともに、寿命が短く自己複製できない分化した細胞を次々と産み出すことで組織構造を作ります。幹細胞だけが発現する遺伝子として **LGR5** が考えられており、分化細胞は **KRT20** という遺伝子を発現します。大腸がんも、正常な組織と同様に **LGR5** を頂点とするヒエラルキー構造を持ち、**LGR5** を発現するがん細胞と **KRT20** を発現するがん細胞から構成されていることがわかっています。しかし、がん幹細胞が存在するか、大腸がん組織内の全てのがん細胞ががん幹細胞だけから産み出されるか、がん幹細胞を全て殺傷しさえすれば大腸がんを根絶することができるかは不明でした。

2) 研究の概要

佐藤准教授らの研究グループは、先行研究において、患者から採取した大腸がん細胞を効率的に培養するオルガノイド技術（注3）を開発しました。本研究では、このオルガノイド培養技術にゲノム編集技術（注4）を応用することで、**LGR5** の遺伝子領域に緑色蛍光タンパク質（GFP）を組み込んだ遺伝子改変オルガノイドを作製しました。この遺伝子改変オルガノイドは、**LGR5** を発現する際に **GFP** も発現するため、**LGR5** 遺伝子発現を“見える化”（可視化）することができます。**LGR5** を可視化したオルガノイドをマウスに移植して再形成したヒト大腸がん組織は、患者由来と同様の **LGR5** のヒエラルキー構造を示すことがわかりました（図1）。これによりヒト大腸がんの特定の細胞の生体内の動態を観察することが可能になりました。

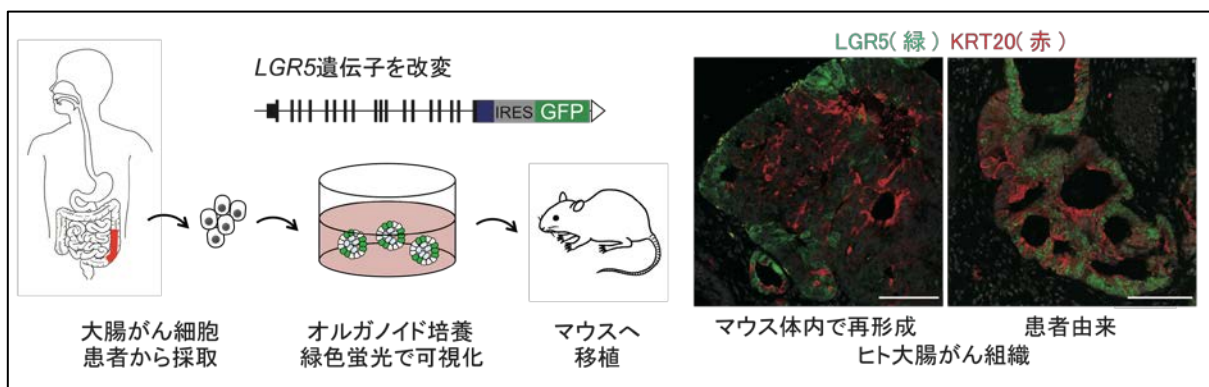


図1: **LGR5** を発現するヒト大腸がん細胞の可視化に成功した

研究グループは、この **LGR5** 発現がん細胞が、がん幹細胞であるかを調べるため、細胞系譜解析により **LGR5** 発現がん細胞の子孫細胞を蛍光タンパク質で可視化しました。この手法は組織を壊すことなく、特定の細胞の子孫の系譜を追跡することができます。この解析によって、たった1つの **LGR5** 発現がん細胞が、自分自身を産生するとともに、分化した子孫細胞を増やしながらかん組織を増大させる様子を捉えました（図2）。この観察結果によって、ヒト大腸がん組織内にがん幹細胞が存在することを裏付けました。

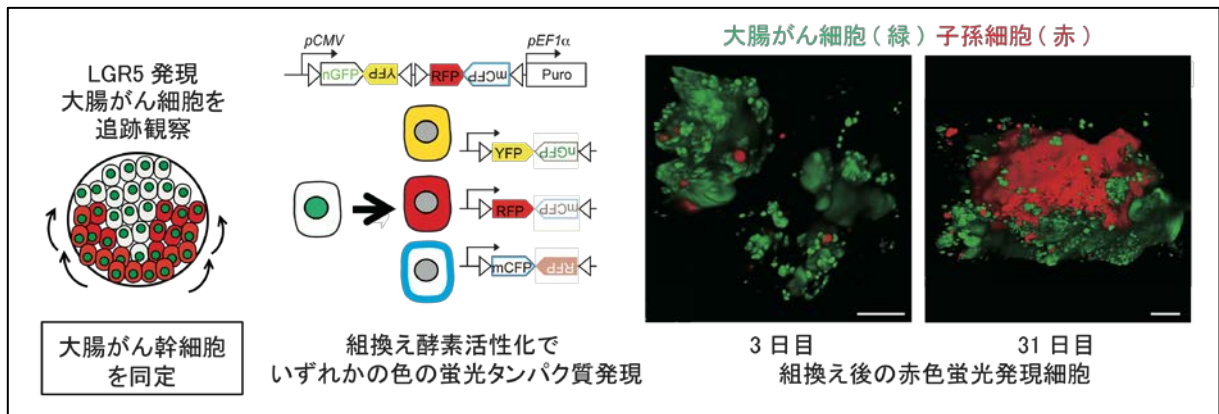


図 2: LGR5 発現がん細胞の子孫細胞を追跡観察した

移植したヒト大腸がん細胞（緑）の中から、赤くマークされた細胞が出現する（中央模式図）。この赤い細胞は LGR5 発現がん細胞の子孫細胞であり、3 日目から 31 日目にかけて増えていくことを生体内で捉えた（右写真）。およそ 3 日目に赤くマークされたがん幹細胞の 6.5%の細胞が、31 日目に大きな腫瘍を形成することがわかった。

さらに、研究グループは、がん幹細胞を特異的に殺傷することが、がんの根治に繋がるかどうかを検証しました。LGR5 に自殺遺伝子を組み込む遺伝子改変を行い、特殊な薬剤により LGR5 発現大腸がん幹細胞だけを殺傷する治療モデルを開発しました。このがん幹細胞標的治療は腫瘍の増大を止めることができましたが、治療を中止すると再度増大していきました。再増殖する腫瘍の中には、殺傷したはずの LGR5 発現がん幹細胞が再度出現しており、がん幹細胞を殺傷するだけでは根源的治療が難しいことが確認されました。

がん幹細胞が殺傷された後に腫瘍が再増殖してしまう原因を追求するため、KRT20 を発現する分化がん細胞に対して細胞系譜解析を行いました。LGR5 発現がん幹細胞とは対照的に、ほとんどの KRT20 発現分化がん細胞は、追跡とともにがん組織から失われていき、KRT20 発現がん細胞は腫瘍の増大にはあまり寄与しないと考えられました。しかし、LGR5 幹細胞を殺傷した後に KRT20 発現がん細胞の系譜解析を行うと、LGR5 発現がん幹細胞への”先祖返り”（脱分化）が観察され、腫瘍増大に寄与することがわかりました。これらの結果から、完全にごん幹細胞を除去しても、分化がん細胞が次から次へと新しいがん幹細胞へ復活するために、がん幹細胞治療のみによるがんの根治は難しいことがわかりました。

これらの結果を踏まえて、既存のがん治療薬とがん幹細胞標的治療を組み合わせた場合の治療効果を検証しました。がんオルガノイドを移植したマウスに、臨床で使用されているがん治療薬セツキシマブを投与すると、がんは縮小するものの、根治には至りませんでした。これは、セツキシマブ投与による治療ではがん幹細胞が残存し、治療の中止後にごんが再発するためと考えられました。一方、セツキシマブ投与の後にごん幹細胞標的治療を行うと、腫瘍の著しい縮小が確認されました（図 3）。既存のがん治療薬とがん幹細胞標的治療を組み合わせただけの場合によってのみ、根本的治療の開発への道筋が示されました。

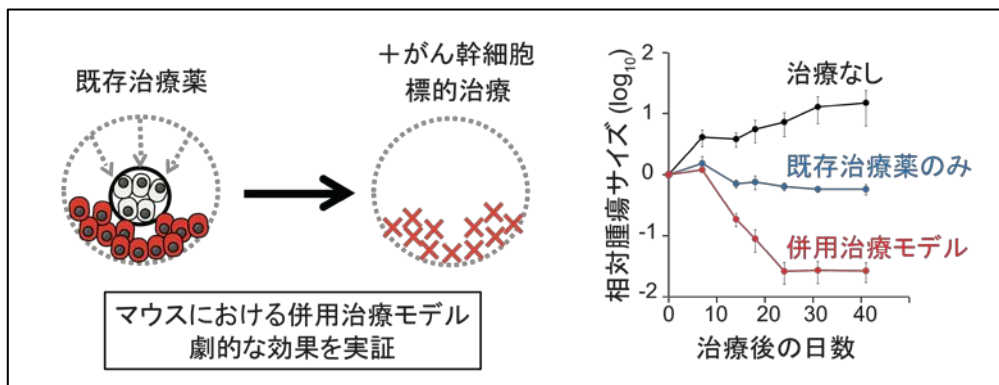


図3 既存治療薬とがん幹細胞標的治療の併用治療モデルでは劇的な効果を実証した

既存治療薬による治療の後に、がん幹細胞標的治療を行うと、がんの著明な縮小を認めた（右グラフ）。グラフはlog表示のため、併用治療によって95%以上のがんが死滅したことを示す。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

がん幹細胞を標的とした治療は夢の治療のように考えられてきましたが、がん幹細胞の殺傷だけでは治療効果は限定的であることがわかりました。この原因として、分化したがん細胞ががん幹細胞に先祖返りする、脱分化能力を有することが明らかになりました。一方で、分化がん細胞を標的とするがん治療薬と組み合わせることにより、がんの根絶が可能であることも示されました。

今回の成果によって、今後、臨床で使用できるがん幹細胞標的治療薬の開発や、分化がん細胞のがん幹細胞への脱分化を抑制して再発を予防する治療法の開発といった、新しいがんの根源的治療法の開発が期待されます。

3. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の次世代がん医療創生研究事業、JSPS 科研費 JP26115007, JP26293177 の支援によって行われました。

4. 論文

英文タイトル：

“Visualization and Targeting of LGR5+ Human Colon Cancer Stem Cells”

タイトル和訳：LGR5 陽性ヒト大腸がん幹細胞の可視化とその標的治療

著者名：下川真理子、太田悠木、錦織伸吾、股野麻未、高野愛、藤井正幸、伊達昌一、杉本真也、金井隆典、佐藤俊朗

掲載誌：Nature

【用語解説】

(注1) がん幹細胞：がん組織に含まれる細胞のなかで、自分自身の複製を無限に繰り返すとともに、分化細胞も生み出す能力を持つ細胞を指す。たった1つのがん幹細胞から、がん組織を再構築できるため、がんの再発や転移などの能力が高いと考えられている。ヒトの大腸がんにおいて、がん幹細胞の存在が示唆されてきたが、その機能的な実証はされていなかった。

(注2) 細胞系譜解析：細胞は分裂すると1つの親細胞から2つの娘細胞が産まれる。娘細胞は

さらに分裂し、孫細胞が産まれる。このような細胞の分裂の繰り返しにより、細胞は家系のように系譜図を描くことができる。特定の細胞とその子孫細胞を観察可能なタンパク質（蛍光タンパク質など）で追跡できるように遺伝子を改変（＝ゲノム編集技術：注4）することで、細胞系譜解析は可能となる。

（注3）オルガノイド技術：従来の細胞培養技術では、多くの細胞はシート状に培養されている。オルガノイドは細胞の増殖の足場となるジェルと増殖因子と呼ばれる栄養により、3次元構造として育てられた培養細胞を指す。オルガノイド培養により、たった1つの幹細胞から生体内の組織に似た構造を培養皿の中で作り出すことが可能となった。つまり、オルガノイド技術によって、胃、小腸、大腸、肝臓などのさまざまな組織の幹細胞を無限に増やすことが可能である。最近、さまざまなヒトのがんでも応用されるようになり、がんの研究でも非常に注目を集めている技術である。

（注4）ゲノム編集技術：細胞の遺伝子の機能を破壊したり、別の遺伝子に置き換えたりする技術を遺伝子改変技術と呼ぶ。本研究では、CRISPR-Cas9と呼ばれる最新のゲノム編集技術で、遺伝子改変が行われた。CRISPR-Cas9は遺伝子配列特異的に結合するRNAとその領域を切断するハサミとなる蛋白質から構成されており、効率よくヒトの細胞の遺伝子改変を行うことが可能になっている。本研究では、患者由来のがん細胞の特定の遺伝子領域をハサミ蛋白で切断し、蛍光蛋白質などのマーカーになる遺伝子を挿入している。このような、マーカー遺伝子の挿入は遺伝子ノックインと呼ばれる技術で、特定の遺伝子を発現する細胞を光らせたり、殺傷したりすることを可能にしている。本研究ではヒトの組織幹細胞に対して、世界で初めて遺伝子ノックイン技術を成功させた。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部内科学（消化器）
准教授 佐藤 俊朗（さとう としろう）
TEL：03-5363-3063 FAX：03-3353-6247
E-mail: t.sato@keio.jp

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学
信濃町キャンパス総務課:鈴木・吉岡
〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35
TEL：03-5363-3611 FAX：03-5363-3612
E-mail:med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.med.keio.ac.jp/>
※本リリースのカラー版をご希望の方は上記までご連絡ください。