

2015年2月24日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

## 体外で人工的に大腸がんの作製に成功 大腸がんの発がんメカニズム解明に期待

慶應義塾大学医学部内科学（消化器）教室の佐藤俊朗特任准教授らは、ヒトの大腸幹細胞（注1）に体外で遺伝子変異を導入し、がん化過程を人工的に再現することに世界で初めて成功し、正常な大腸上皮からの発がんには、より多くの遺伝学的な変化が必要であり、既に発育した大腸ポリープはがん化しやすく、その切除が効率的な発がん予防につながることを裏付けました。

これまでは、5つの遺伝子変異により進行大腸がん（注2）に進展すると考えられていましたが、正常な大腸幹細胞に、佐藤特任准教授らが開発したヒトの大腸幹細胞の培養技術を利用し作成した、5つの遺伝子変異を組み込んだ遺伝子改変大腸幹細胞を導入しても、進行大腸がんには進展しないこと、一方、体内で発育した大腸腺腫（注2）は3つの遺伝子変異を組み込むことで転移を認め、進行大腸がんになっていることが分かりました。

本研究成果は米国科学誌「Nature Medicine」オンライン版に2015年2月23日（米国東部時間）に掲載されます。

### 1. 研究の背景

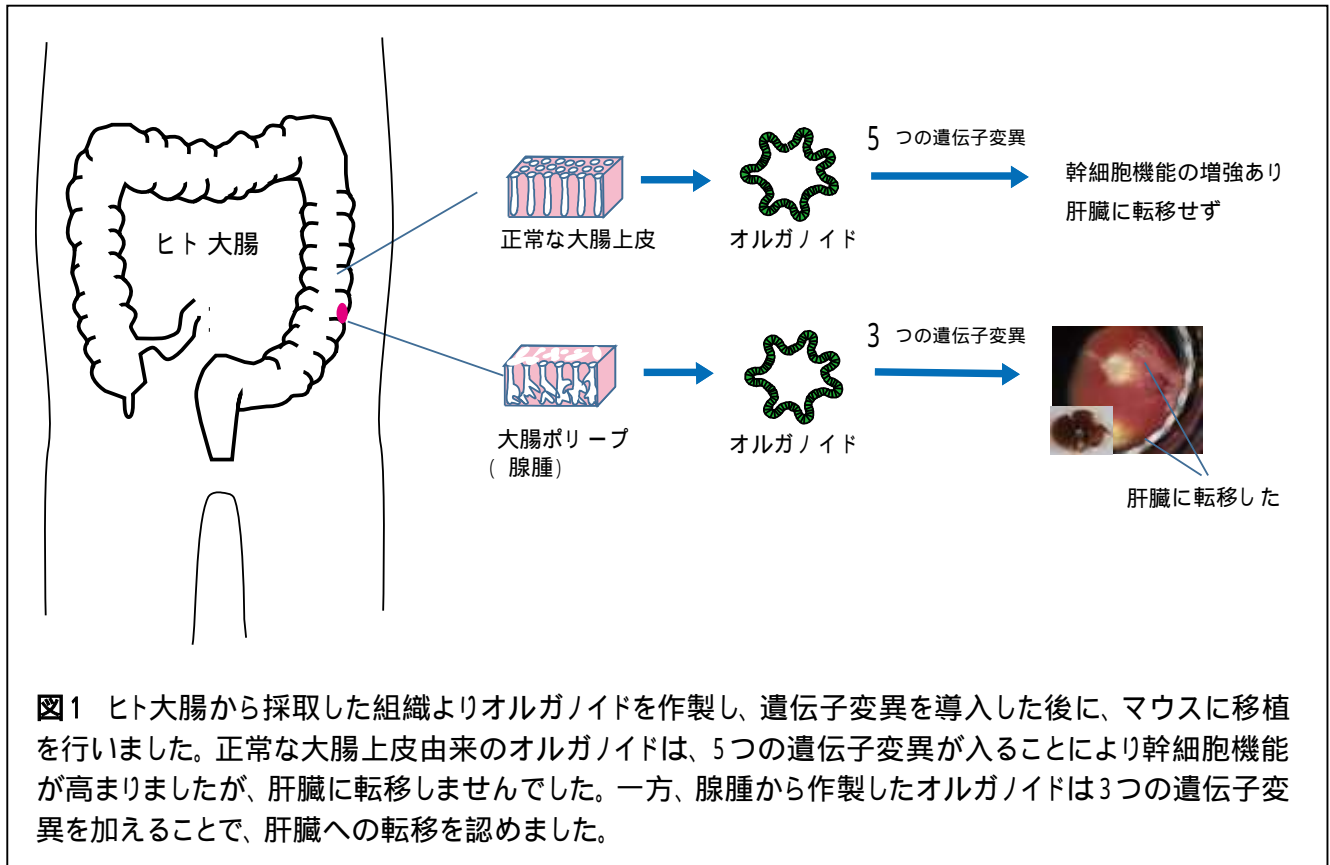
大腸がんは日本において、女性のがん死亡原因の1位を占め、2020年には男性でも2位に上昇すると予想されています。大腸の上皮は遺伝子変異により、大腸腺腫と呼ばれる良性の大腸ポリープを形成し、さらに複数の遺伝子変異が蓄積することにより、進行大腸がんへ悪性転化すると考えられています。大腸がんの遺伝子変異解析技術の進歩とともに、5つの遺伝子変異が大腸がんを高頻度に認められることが分かってきました。しかし、本当にこうした遺伝子変異のみで、ヒトの正常な大腸の発がんに結びつくかどうかは全く不明でした。

佐藤特任准教授らは、2009年に世界で初めてマウスの小腸幹細胞から“オルガノイド（注3）”と呼ばれる生体内の組織に似た構造を体外で形成させる技術を開発し、大きな注目を集めました。さらに、2011年にはヒトの大腸幹細胞の培養に成功し、ヒトの正常な大腸幹細胞の増殖には特定の“増殖因子（注3）”と呼ばれる栄養が必要であることを報告しました。今回、ヒトの大腸オルガノイドに対し、5つの遺伝子変異を組み込んだ遺伝子改変大腸幹細胞を人工的に導入する技術を確立し、大腸細胞が発がんするしくみの解明を目指しました。

## 2. 研究の概要と成果

慶應義塾大学医学部消化器内科と東京大学医学部大腸肛門外科の共同研究グループは、培養されたヒト大腸幹細胞に CRISPR(注4)と呼ばれる遺伝子変異導入技術を応用することに成功しました。この技術により、大腸がんで高頻度に認められる APC, KRAS, SMAD4, TP53, PIK3CA という5つの遺伝子変異をヒトの正常な大腸幹細胞に組み込んだ、“人工変異オルガノイド”を作製しました。正常なヒトの大腸幹細胞は、適切な増殖因子の存在する腸管粘膜でしか生きることができません。対して、人工変異オルガノイドは、増殖因子がなくても増える“スーパー幹細胞”能力を獲得し、移植したマウスの体内でも腫瘍を形成できることが確認されました。しかし、人工変異オルガノイドは転移が認められず、5つの遺伝子変異ではがんの悪性化の最終ステップには進展しないことが分かりました。これに対し、体内で既に形成された大腸腺腫から作製した人工変異腺腫オルガノイドでは、遺伝子変異による幹細胞機能(注1)の強化により、転移能力を持つ進行大腸がんが悪性転化することを見出しました(図1)。

これらの研究成果から、大腸がんで高頻度に認められる5つの遺伝子変異は幹細胞機能を制御しており、それらの変異により、大腸幹細胞が大腸とは異なる環境でも増殖できるようになることが分かりました。また、従来まで考えられていた5つの遺伝子変異では大腸の発がんには至らず、より多くの遺伝子変異、または遺伝子変異以外の遺伝学的変化が必要であることが示されました。さらに、大腸腺腫に進行した段階では、がん化一歩手前までの状態にあり、遺伝子変異による幹細胞機能の増強により、転移を示す進行大腸がんが悪性転化することが分かりました。



### 3. 今後の意義・今後の展開

本研究により、発育した大腸腺腫は、少数の遺伝子変異が加わることにより、容易に発がんすることが実証されました。従って、1 cm 以上の大腸腺腫は経時的に大腸がんに行進しやすいという臨床的なデータと合致し、大腸がん予防として大腸腺腫の内視鏡的切除治療が有効であることが科学的に裏付けられました。

大腸がんで高頻度に認められる変異は、幹細胞機能を強化する変異であることを見出し、また、それ以外の遺伝子変異、染色体異常、遺伝子の数の増加、エピゲノム変化などの複合的な変化が、大腸がんへの悪性転化に必要なこととも分かりました。今後の研究により、どのような遺伝子異常が、がん化の最後の引き金になるか、その解明と治療への応用が期待されます。

### 4. 特記事項

本成果は以下の研究事業によって得られました。

文部科学省 科学技術試験研究委託事業 次世代がん研究戦略推進プロジェクト

「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」(大腸がん幹細胞を標的とした創薬スクリーニング)

文部科学省科研費 26115007

### 5. 論文について

タイトル(和訳): “Modelling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids”

(CRISPR-Cas9 遺伝子改変を用いたヒト腸管上皮の人工的な大腸発がんモデル)

著者名: 股野麻未、伊達昌一、下川真理子、高野愛、藤井正幸、太田悠木、渡邊聡明、金井隆典、佐藤俊朗

掲載誌: Nature Medicine オンライン版

#### 【用語解説】

(注1) 大腸幹細胞と幹細胞機能について

大腸は水分吸収や粘液の産生、大腸内の細菌から体を守る働きをしていますが、これらの機能は様々な種類の大腸上皮細胞により発揮されています。大腸幹細胞は様々な大腸上皮細胞を作るとともに、永続的に増殖することで自分自身を複製しています。このように、いくつかの機能を持った細胞を産み出すとともに、自分自身を複製する能力は幹細胞機能と呼ばれています。

(注2) 大腸腺腫と進行大腸がんについて

大腸上皮に増殖を司る変異が入ると大腸腺腫となり、大腸ポリープという“いぼ”のような隆起となります。大腸腺腫は長い年月を経てがん化する恐れがあるため、1cm を超えた大きさのものは切除治療が勧められています。

大腸腺腫にさらに遺伝子変異が入ると、早期大腸がんとなります。さらに遺伝子変異が加わることで進行大腸がんに進展していきます。進行大腸がんは転移すると、著しく予後の悪いがんとなります。

(注3) オルガノイドと増殖因子について

大腸幹細胞はいくつかの増殖因子と呼ばれる栄養により体内で維持され、増殖することが可能です。しかし、大腸幹細胞を体外で増やすことは長い間不可能と考えられてきました。2009年に開発されたオルガノイド培養技術は、幹細胞に必要な増殖因子を培養液に入れ、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技術です。こうしてできた組織様構造をオルガノイドと呼んでいます。オルガノイド技術により、胃、小腸、大腸、肝臓などの様々な組織の幹細胞を無限に増やすことが可能になり、世界中から注目されています。

(注4) CRISPR

(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat : クリスパー)

2013年に開発されたゲノム編集技術であり、CRISPRと呼ばれる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います。この技術により、効率良くヒトの細胞の遺伝子機能を破壊したり、遺伝子変異を導入することが可能になりました。

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)教室  
佐藤 俊朗(さとう としろう) 特任准教授  
TEL:03-5363-3063  
E-mail:t.sato@a7.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:吉岡、三船  
〒160-8582 東京都新宿区信濃町3-5  
TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612  
E-mail:med-koho@adst.keio.ac.jp  
<http://www.med.keio.ac.jp/>