

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650619

研究課題名(和文) 大腸癌悪性化におけるホメオボックス転写因子CDX1の役割の解析

研究課題名(英文) The role of CDX1 in malignant progression of intestinal tumorigenesis

研究代表者

青木 耕史 (Aoki, Koji)

福井大学・医学部・教授

研究者番号：40402862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題の解析から、腸管上皮細胞に特異的なホメオボックス蛋白質CDX1/CDX2が大腸癌悪性化の抑制因子であることや、大腸癌幹細胞の幹細胞性の維持の負の制御因子である可能性を見出しました。大腸癌幹細胞の負の制御機序はこれまで明らかになっておらず、大腸癌の幹細胞性を抑制する初めての機構になると考えています。

今後の引き続きの解析により、大腸癌幹細胞の幹細胞性の制御機序の解明と大腸癌幹細胞を標的にした分子治療標的の同定が期待されます。

研究成果の概要(英文)：I found that CDX1 and CDX2, intestine-specific transcription factors, suppressed malignant progression of intestinal tumorigenesis. Importantly, CDX1 and CDX2 appeared to inhibit stemness of intestinal tumors, suggesting they were novel suppressors of stemness of colon cancer cells.

We are going to reveal the mechanisms of controlling stemness of colon cancer cells, aiming to identify therapeutic targets to kill colon cancer stem cells.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍生物学

キーワード：大腸癌 悪性化 幹細胞性

1. 研究開始当初の背景

*Caudal-type homeobox gene (CDX)*は、ハエのホメオボックス転写因子 *caudal* の哺乳類ホモログであり、哺乳類 CDX は CDX1、CDX2 と CDX4 からなるファミリーを形成しています(Beck F., *et al.*, *Biochem. Soc. Trans.* 38 353-7 2010)。CDX1 と CDX2 は、成体では腸管の上皮細胞に特異的に発現しています。とくに CDX2 は腸管上皮細胞の発生、分化、恒常性の維持に必須のホメオボックス転写因子です。これまでの解析から、CDX2 が大腸癌の腫瘍形成の発生初期段階を抑制することや、CDX2 が大腸癌細胞の増殖や生存を抑制することが分かりました(Aoki K. *et al.*, *Nat. Genet.* 35 323-, 2003; Fujishita T., Aoki K. *et al.*, *PNAS* 105 13544-, 2008; Kakizaki F., Aoki K. *et al.*, *Gastroenterology* 138 627-, 2010; Aoki K. *et al.*, *Cancer Res.* 71 593-, 2011)。

一方で、CDX1 の大腸腫瘍形成における役割は不明な点が多く、国際的にも解析は進んでいませんでした。そこで、本申請課題では CDX1 の大腸腫瘍形成における役割の解明を目的として研究を進めました。

2. 研究の目的

これまでの解析から、腸管上皮細胞に特異的に発現するホメオボックス転写因子 CDX2 が大腸腫瘍形成の発生初期段階を抑制することを明らかにしました。一方で、そのファミリー因子である CDX1 の大腸腫瘍形成における役割については分かりませんでした。予備実験から、CDX1 を抑制するとマウスの腸腫瘍が悪性化して腸癌が発生することや、CDX1 の発現がヒト大腸癌組織で低下していることが分かりました。これらの予備実験結果は、CDX1 が大腸癌悪性化進展の抑制因子であることを示唆しています。そこで本申請課題では、まず、CDX1

の大腸腫瘍形成における役割を遺伝子変異マウスを用いて遺伝学的に明らかにします。次に、CDX1 の発現低下による大腸癌悪性化の機序を解析することにより、大腸腫瘍形成における CDX1 の役割を明らかにすると同時に大腸腫瘍の悪性化の機序の解明を目的にしました。

3. 研究の方法

マウスの遺伝学的手法を用いた方法；腸腫瘍モデルの *Apc* 変異マウスに *Cdx1* 遺伝子の変異を導入して *ApcCdx1* 複合変異マウスを作成し、腸管に発生する腫瘍を病理組織学的に解析し、腫瘍の悪制度などを解析しました。

また、それらの遺伝子変異マウスから蛋白質や RNA を回収して生化学的解析を行い腫瘍における遺伝子や蛋白質の発現解析を行いました。

さらに、発現誘導性の Tet 大腸癌細胞株を作成して、CDX1 や CDX2 の発現を誘導し、遺伝子発現の制御などを細胞生物学的に解析しました。遺伝子の発現解析では cDNA マイクロアレイ法を使用しました。

4. 研究成果

□CDX1/CDX2 は大腸癌悪性化の抑制因子であることを発見。

良性の腸腫瘍モデルである *Apc* 変異マウスに *Cdx1* または *Cdx1/Cdx2* 両遺伝子変異を導入した複合変異マウスを作成しました。その結果、*Cdx1* または *Cdx1/Cdx2* 両遺伝子変異の導入により腫瘍上皮細胞が強い浸潤を示すことが分かりました。コントロールの *Apc* 変異マウスでは、浸潤が観察されることはありませんでした。これらの結果から、*Cdx1* または *Cdx1/Cdx2* 遺伝子の抑制により、腸管腫瘍が悪性に進展することが分かりました。

□大腸癌幹細胞の初めての強力な負の制御機構の解明。

そこで、CDX1 や CDX2 による腸管腫瘍の悪性化の抑制機序を解析するために、CDX1, CDX2 によって調節される遺伝子群の同定を進めました。その結果、CDX1, CDX2 が大腸癌幹細胞に特異的な多くの機能的遺伝子 (LGR5, ASCL2 等、他多数省略) やマーカー分子 (CD44 や CD133) の発現を負に制御していることが分かりました。これらの結果から「CDX1/CDX2 は大腸癌幹細胞の強力な負の制御因子として働く」と考えています。

国内外の研究から Wnt 経路や Notch 経路が大腸癌幹細胞性を正に制御することが明らかになってきましたが、大腸癌幹細胞を負に制御する機序は未解明となっています。従って、CDX1, CDX2 による大腸癌幹細胞の幹細胞性の負の制御機序の解明は新しく重要な発見だと考えています。

また、CDX1/CDX2 は、大腸癌幹細胞の幹細胞性を負に抑制することにより、大腸癌の悪性化を抑制しているのではないかと考えています。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Nambu Y, Hayashi T, Jang KJ, Aoki K, Mano H, Nakano K, Osato M, Takahashi K, Itoh K, Teramukai S, Komori T, Fujita J, Ito Y, Shimizu A, Sugai M.

In situ differentiation of CD8 $\alpha\alpha$ T cells from CD4 T cells in peripheral lymphoid tissues (査読有り).

Scientific Reports, 2012; 2: 642.

[学会発表](計1件)

Aoki K, Iemura S, Okawa K, Tanida I,

Kobayashi T, Mimuro H, Takahito S, Sasakawa C, Natume T, Sugai M, Taketo MM. ST-CREST International Symposium, Frontiers in Immunology and Inflammation: From Molecules to Disease, Tokyo.2013-02-13.

Roles of intestine-specific homeoprotein CDX2 in the intestinal epithelial barrier.

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称:ATG7 変異体を用いたオートファジーの抑制方法

発明者:青木耕史、谷田以誠

権利者:青木耕史、谷田以誠

番号:2012-280082

出願年月日:2012年12月21日

国内外の別:国内

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

<http://yakuri.med.lab.u-fukui.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

青木耕史 (AOKI, Koji)

福井大学・医学部医学科・教授

研究者番号：40402862

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：