

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 10 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860266

研究課題名(和文) 腸管の幹細胞と腫瘍形成の根幹を制御する転写ネットワークの解明とその大腸癌治療応用

研究課題名(英文) Revealing the transcriptional network of the oncogenicity of intestinal stem cells and the development of new colorectal cancer therapy

研究代表者

仲矢 丈雄(Nakaya, Takeo)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：80512277

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、転写因子KLF5が腸上皮幹細胞からの腫瘍形成に必須であることを明らかにしていた。これは、KLF5が大腸癌を癌幹細胞から抑制する治療標的であることを示す。研究代表者は、この研究成果に基づき、KLF5の癌を促進する病的機能のみ選択的に阻害することにより、正常細胞をできるだけ傷害せず大腸癌細胞のみ選択的に抑制することができる考えた。現在この研究を進めており、Preliminaryではあるが、既に良い結果を得ている。今後この研究を発展させて行く予定である。

研究成果の概要(英文)：We discovered that transcriptional factor KLF5 is essential for the oncogenicity of intestinal stem cells. We speculated that selective suppression of the pathogenic function of KLF5 may enable the selective suppression of colorectal cancers without damaging normal cells. We have already obtained the preliminary favorable results. We will promote the research and development.

研究分野：病理学

キーワード：大腸癌 KLF5 腸上皮幹細胞

## 1. 研究開始当初の背景

大腸癌は、罹患頻度が非常に高く臨床上重要な癌である。しかし、進行すると依然有効な治療法に乏しく日本ではがんの臓器別死亡率の男女合計で3位、女性の1位を占める。さらにその死亡数は年々増加傾向にあり、その克服が課題となっている。腸の腫瘍は、ほとんどが幹細胞から生まれ、幹細胞からの階層構造を保ちながら増殖する(*Nature* 457:608、*Science* 337:730)。そのため、大腸癌撲滅という観点からも、腸管粘膜上皮の幹細胞制御と幹細胞からの発癌の分子ネットワークの解明は極めて大きな意味を持つ。

申請者は、転写因子 Krüppel-like factor 5(KLF5)による腸管幹細胞と発癌の制御について研究を続けてきた。

KLF5 は、ES/iPS 細胞の未分化能維持・誘導(*Cell Stem Cell* 3:555) の根幹を担う。iPS 誘導 4 因子(山中因子)の一つである KLF4 のかわりに KLF5 を強制発現させても iPS 細胞が誘導される(*Nat Biotechnol* 26:101)。KLF5 は、正常腸管粘膜上皮においては、腸管幹細胞の存在する陰窩底部に強く発現し、分化が進むに従い、その発現は弱くなる。

申請者は、マウスで Lgr5+腸管上皮幹細胞

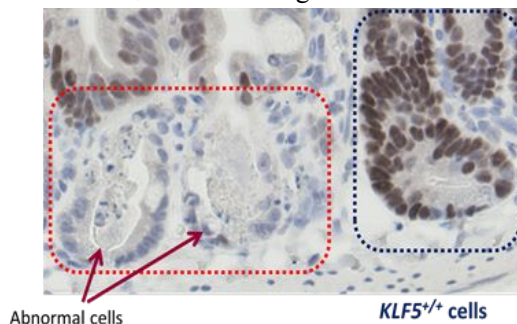


図 1:  $KLF5^{\Delta/\Delta}$  cells の一部にアポトーシスを認める

胞特異的に KLF5 を誘導性に欠損させると、陰窩上皮の増殖抑制、幹細胞の生存低下、そして、陰窩上皮の一部にアポトーシスに陥った細胞が出現することを見出した(図 1)。

一方で、申請者は、ヒト大腸癌において KLF5 遺伝子座のゲノム領域の増幅と KLF5 の発現増加、そして、KLF5 が上記のように正常幹細胞を制御することも見出した。これらの結果から、KLF5 が腸管幹細胞からの腫瘍形成を制御すると推察された。

Wnt/ $\beta$ -catenin 経路活性化はヒト大腸癌で最も高頻度にゲノム異常を認める(92-97%)分子経路である (*Nature* 487:330)。実際、Lgr5+腸管幹細胞において変異活性化型

$\beta$ -catenin を誘導性に発現させると、急速な腺腫・癌の増大によりマウスは死亡した。

しかし、申請者は、この**変異活性化型**

**$\beta$ -Catenin 誘導と同時に幹細胞で KLF5 を**

**欠損させると腫瘍形成が完全に抑制される**

ことを見出した(図 2)。

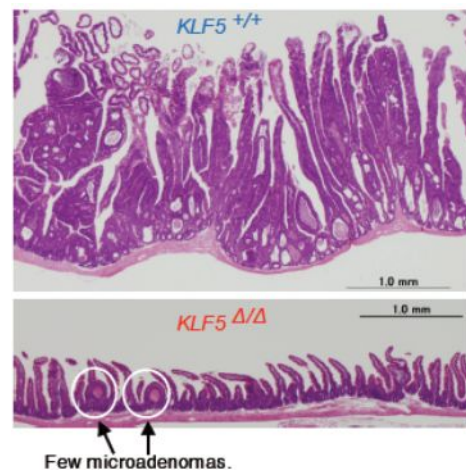


図 2: 幹細胞で Wnt シグナルを活性化することによる腸の腫瘍形成は同時に幹細胞で KLF5 を欠損させることで完全に抑制される

この結果は KLF5 が腸管幹細胞からの腫瘍形成の master switch として機能することを

示している。以上の研究成果は論文にまとめ、発表した (*Cancer Research* 2014)。

ES/iPS 細胞において、KLF5 は、同じ KLF ファミリーで iPS 細胞誘導因子でもある KLF4、iPS 細胞誘導因子 Oct4、Sox2 などと共に、相互に転写しあう転写 auto feedback loop 群を形成する。この分子ネットワークが iPS 細胞誘導と ES/iPS 細胞の幹細胞維持の分子制御の核を担う。

(*Nat Cell Biol* 10:353→図 3)。

iPS 細胞誘導因子である c-Myc がないと Wnt シグナル活性化による腸管腫瘍形成が完全に抑制されることから、c-Myc は KLF5 と同じく腸管腫瘍形成の master switch として機能すると考えられる(*Nature* 446:676)。一方で、iPS 誘導因子の KLF4 は、ES/iPS 細胞においては KLF5 と協調的に機能するが、腸上皮では KLF5 と相補的な発現パターンを示す。すなわち、KLF4 は腸管幹細胞の幹細胞性の維持に必須でないと推測される。また、KLF4 と同じく、iPS 誘導因子の Oct4 は、腸上皮を含む成体内幹細胞の自己増殖に必要でないことが報告されている (*Cell Stem Cell* 1:403)。以上のことから、腸管上皮では、ES/iPS 細胞とは異なる、KLF5・c-Myc による転写を軸にした、分子ネットワーク・転写 auto feedback loop 群が

幹細胞維持と発癌の根幹を制御すると推察される。しかしながらそれらの実態は未だ明らかではない。

## 2．研究の目的

上記の研究代表者らの発見は、KLF5 が大腸癌を癌幹細胞から抑制する治療標的であることを示す。しかしながら、KLF5 は生体の正常機能制御にも重要であり、分子全体を抑制すると強い副作用が出る。そこで、研究代表者らは、今までの研究成果に基づき、KLF5 の癌を促進する病的機能のみ選択的に阻害することにより、正常細胞をできるだけ傷害せず大腸癌細胞のみ選択的に抑制することができると考えた。

## 3．研究の方法

申請者は、KLF5 の病的機能のみ選択的に抑制する化合物を探索し、正常大腸細胞と大腸癌細胞に対する抑制能力を比較した。

## 4．研究成果

いくつかの KLF5 抑制化合物が、正常細胞を抑制せず、大腸癌細胞を選択的に抑制すると

いう preliminary な結果を得ている。この研究を継続して進めており、研究成果がまとまった段階で発表する予定である。

## 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 )

KLF5 regulates the integrity and oncogenicity of intestinal stem cells.

Nakaya T, Ogawa S, Manabe I, Tanaka M, Sanada M, Sato T, Taketo MM, Nakao K, Clevers H, Fukayama M, Kuroda M, Nagai R  
*Cancer Research* 15; 2882-91 (2014)

[ 学会発表 ] ( 計 1 件 )

FASEB Science Research Conference

“Biology and Pathobiology of Kruppel-like Factors”

2014 年 8 月 3 日 ~ 8 日

Snowmass Village, コロラド, アメリカ

Krüppel-like factor 5 regulates the integrity and oncogenicity of intestinal stem cells

Takeo Nakaya, Seishi Ogawa, Ichiro Manabe,

Masami Tanaka, Masashi Sanada, Toshiro Sato, Makoto M. Taketo, Kazuki Nakao, Hans Clevers, Masashi Fukayama, Masahiko Kuroda, and Ryozo Nagai

[ 図書 ] ( 計 0 件 )

[ 産業財産権 ]

○出願状況 ( 計 0 件 )

○取得状況 ( 計 0 件 )

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

仲矢 丈雄 (NAKAYA, Takeo)

自治医科大学 医学部 講師

研究者番号 : 80512277

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし