

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	後 藤 規 弘
論文題目	Distinct Roles of HES1 in Normal Stem Cells and Tumor Stem-like Cells of the Intestine (腸管の正常幹細胞と腫瘍幹細胞における HES1 の異なった役割)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】 近年、癌患者の予後改善を目指した腫瘍幹細胞標的治療の開発が注目を集めている。しかし、腫瘍幹細胞に発現する因子の多くは正常幹細胞にも発現しており、それらの因子を治療標的とした場合に正常組織への障害が懸念される。その一方、正常幹細胞と腫瘍幹細胞の各々で異なる役割を担う因子が同定できれば、正常組織を障害しない、腫瘍特異的な治療の実現が可能となる。転写因子 Hes1 は幹細胞や未分化細胞の維持に重要な役割を担っているが、胎生期に腸管特異的に Hes1 をノックアウトしたマウスでは腸管幹細胞への影響は認めないと報告されている。しかし、成体腸管の正常幹細胞と腫瘍幹細胞における Hes1 の役割は、まだ十分に検証されていない。そこで本研究では、成体マウスの腸管を用いて Hes1 の正常幹細胞と腫瘍幹細胞の各々における役割を解析し、腸腫瘍治療標的としての Hes1 の可能性を検討することとした。</p> <p>【方法】 Lgr5 は腸管 Paneth 細胞の間に存在する crypt base columnar 幹細胞に特異的に発現するマーカーである。そこで、<i>Lgr5<sup>CreERT2</sup>; Hes1<sup>flox/flox</sup>; Rosa26R</i> マウスを用いた lineage tracing によって、正常幹細胞における Hes1 の役割を解析した。また、Bmi1 は Paneth 細胞の直上に位置する+4 幹細胞に特異的に発現するマーカーであり、<i>Bmi1<sup>CreER</sup>; Hes1<sup>flox/flox</sup>; Rosa26R</i> マウスを用いて同様の解析を行った。次に、<i>Lgr5<sup>CreERT2</sup>; Ctnnb1<sup>lox(ex3)</sup>; Hes1<sup>flox/flox</sup></i> マウスを用いて、腸腫瘍形成過程における Hes1 の役割を解析した。最後に、<i>Lgr5<sup>CreERT2</sup>; Apc<sup>Min</sup>; Hes1<sup>flox/flox</sup>; Rosa26R</i> マウスおよび <i>Dclk1<sup>CreERT2</sup>; Apc<sup>Min</sup>; Hes1<sup>flox/flox</sup>; Rosa26R</i> マウスを用いて lineage tracing を行い、いったん形成された腸腫瘍の腫瘍幹細胞における Hes1 の役割を解析した。</p> <p>【結果】 Lgr5 陽性正常幹細胞で Hes1 をノックアウトすると、幹細胞は子孫細胞を供給するも自己複製ができなくなったが、正常腸管粘膜に障害は認められなかった。胎生期での Hes1 ノックアウトとは異なり、Hes3 や Hes5 による代償性の変化は、成体の腸管幹細胞では認めなかった。Bmi1 陽性細胞で Hes1 をノックアウトした場合も、同様の結果が得られた。次に、Lgr5 陽性細胞で β-catenin を安定化し同時に Hes1 をノックアウトすると、腸腫瘍形成は強く抑制されマウスの生存期間は有意に延長した。これらの結果より、Hes1 は腫瘍形成初期段階に不可欠な因子であることが示唆された。さらに、<i>Apc<sup>Min</sup></i> マウス腸腫瘍の Lgr5 陽性腫瘍幹細胞で Hes1 をノックアウトすると、腫瘍幹細胞の一部でアポトーシスが誘導され、腫瘍の退縮が見られた。Hes1 をノックアウトした直後の正常幹細胞と腫瘍幹細胞における mRNA の発現を解析すると、腫瘍幹細胞でのみアポ</p>			

<p>トーシス関連因子や PTEN の発現上昇を認めた。<i>Apc<sup>Min</sup></i> マウス腸腫瘍において、別の腫瘍幹細胞マーカーである Dclk1 陽性細胞で Hes1 をノックアウトしても、腫瘍幹細胞のアポトーシスと腫瘍の退縮がみられた。</p> <p>【結論】Hes1 は腸管の正常幹細胞と腫瘍幹細胞で異なった役割を担っており、正常組織を障害しない、腫瘍特異的な治療標的となる可能性が示唆された。</p>
<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>腫瘍治療成績の向上を目指して、腫瘍幹細胞を標的とした新規治療法の開発が注目を集めている。その実現のためには、腫瘍幹細胞を正常幹細胞と区別する因子を見だし、治療標的とする必要がある。申請者は、転写因子 Hes1 の正常幹細胞と腫瘍幹細胞における役割に着目し、成体マウスの腸管を用いて、Hes1 の腸腫瘍治療標的としての可能性を検討した。</p> <p>Lgr5 陽性正常幹細胞、Bmi1 陽性正常幹細胞で Hes1 をノックアウトすると、幹細胞は自己複製能を失ったが、正常腸管粘膜に障害は認めなかった。次に、Lgr5 陽性細胞で β-catenin を安定化し同時に Hes1 をノックアウトすると、腸腫瘍形成は強く抑制された。さらに、<i>Apc<sup>Min</sup></i> マウスのいったん形成された腸腫瘍において、Lgr5 陽性腫瘍幹細胞、Dclk1 陽性腫瘍幹細胞で Hes1 をノックアウトすると、いずれも腫瘍幹細胞でアポトーシスが誘導され、腫瘍が退縮した。腫瘍幹細胞では Hes1 ノックアウト直後にアポトーシス関連因子や PTEN の発現上昇を認めたが、正常幹細胞ではこのような変化は認めなかった。これらの結果から、Hes1 は腸管の正常幹細胞と腫瘍幹細胞で異なる役割を担い、腸腫瘍特異的な治療標的となる可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は正常幹細胞と腫瘍幹細胞の維持機構解明に貢献し、将来的な腫瘍特異的治療法の開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 3 0 年 1 月 1 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>