

令和3年1月22日

各報道機関文教担当記者 殿

## 幹細胞らしさを決める新たな遺伝子を発見！

金沢大学がん進展制御研究所のニック・バーカーリサーチプロフェッサー、村上和弘助教らの研究グループは、**組織幹細胞を可視化できるマウスから樹立した生体外3次元細胞培養体（オルガノイド ※1）を用いて、胃組織幹細胞の運命を決定する新たな遺伝子を発見しました。**バーカー研究室は、金沢大学がクロスアポイントメント制度（研究者が複数の機関に所属して研究に従事できる制度）を活用して、上皮幹細胞研究分野の世界的研究者であるニック・バーカー教授を招聘し、平成27年に金沢大学がん進展制御研究所に設置しました。以降、組織幹細胞の制御機構の研究で卓越した成果を挙げ続けています。

我々の体は無数の細胞から成り立ちます。これらの細胞は日々入れ替わり、生体組織を一定の状態に保っています。これら無数の細胞を供給する重要な役割を担うのが、自己増殖能と分化能を併せ持つ組織幹細胞です。しかし、生体内における詳細な解析は困難なため、胃組織幹細胞の幹細胞性（※2）を制御する分子機構は謎に包まれたままでした。

本研究では、生体内の組織構造・組織機能を模倣できるオルガノイドと、任意の遺伝子機能を破壊できる Genome-Scale CRISPR Knock-Out（GeCKO）スクリーニング法（※3）を組み合わせ、胃組織細胞の幹細胞性を制御する分子機構の詳細な解析を試みました。その結果、胃組織幹細胞の幹細胞性を制御する新たな遺伝子 *Alk*, *Bclaf3*, *Prkra* をはじめて同定しました。

**本研究成果は幹細胞制御の新しい概念につながる知見・技術基盤を提供するものであり、将来的には再生医療やがん治療の分野に革新をもたらすことが期待されます。**

本研究成果は、2021年1月21日（米国東海岸標準時間）に米国科学誌『*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*』のオンライン版に掲載されました。

## 【研究の背景】

我々の体は約 60 兆個の細胞から成り立ち、これら途方もない数の細胞は日々入れ替わり、各生体組織を一定の状態に保っています。特に消化管の細胞は、数週間ですべて入れ替わるほど素早く増殖しており、これらの細胞を供給する重要な役割を担うのが生体組織に存在する組織幹細胞です。組織幹細胞は、分裂して自らと同じ細胞を作る能力（自己複製能）とさまざまな細胞に分化する能力（分化能）を併せ持ち、分裂しつつ分化細胞を産み出すことで、組織形成や傷害からの回復など多くの場面で重要な役割を担っています。これまでに本研究グループは、胃組織に存在する胃腺底部に組織幹細胞マーカーである *Lgr5* 遺伝子（※4）を発現し、Wnt シグナル（※5）によって幹細胞性が制御される胃組織幹細胞の存在を明らかにしてきました (Leushacke M. *et al.*, *Nat. Cell Biol.*, 2017)。しかし、生体内におけるさらなる詳細な検証は技術的に困難なため、Wnt シグナルによって制御される組織幹細胞内の分子機構の多くは謎に包まれたままでした。

## 【研究成果の概要】

我々は胃組織幹細胞の Wnt シグナル依存性を制御する分子機構の解明を目標に、*Lgr5* 陽性の胃組織幹細胞を可視化できるマウスから樹立したオルガノイドと、任意の遺伝子機能を破壊できる Genome-Scale CRISPR Knock-Out (GeCKO) スクリーニング法を組み合わせ、Wnt シグナルに依存した胃組織幹細胞の増殖・自己複製を制御する未知の細胞内分子機構を探索しました。結果として、*Alk*, *Bclaf3*, *Prkra* 遺伝子の破壊は Wnt シグナルの供給に依存しないオルガノイドの増殖を引き起こすことが明らかとなりました。それらの遺伝子は、マウスの胃組織においては幹細胞以外の分化細胞に発現していることから、組織細胞の幹細胞性を負に制御している可能性が考えられました。さらなる解析により、*Alk* は Wnt シグナルの制御因子の一つである Gsk3 $\beta$  をリン酸化することで Wnt シグナルを抑制すること、*Bclaf3* と *Prkra* は上皮性のインターロイキン（※6）11 と 23 の発現阻害を通して、胃組織幹細胞の増殖に必須な *Reg* 遺伝子の発現を抑制することが明らかとなりました。これらの結果から、*Alk*, *Bclaf3*, *Prkra* は胃組織幹細胞の幹細胞性を決定する新たな遺伝子であることが明らかになりました。

## 【今後の展開】

本研究を通して、これまで知られていなかった組織の恒常性、傷害からの修復を担う組織幹細胞の自己複製と分化を司る分子機構の一端が明らかになりました。Wnt シグナルは、発生段階によらずさまざまな幹細胞で広く活性化しているため、他の組織幹細胞にも同様の分子機構が存在している可能性があります。本研究で明らかになった制御機構を他組織においても検証し、生体内部で幹細胞の自己複製と分化を制御できれば、消化管のみならず肝臓、腎臓、膵臓などの組織損傷に対する修復治療法の確立が期待できます。本研究は、幹細胞研究に新しい知見・技術基盤を提供するものであり、将来的には再生医療やがん治療の分野に革新をもたらすことが期待されます。

本研究は、金沢大学戦略的研究推進プログラム「超然プロジェクト」、日本学術振興会科学研究費助成事業（基盤研究（A）、（C））の支援を受けて実施されました。

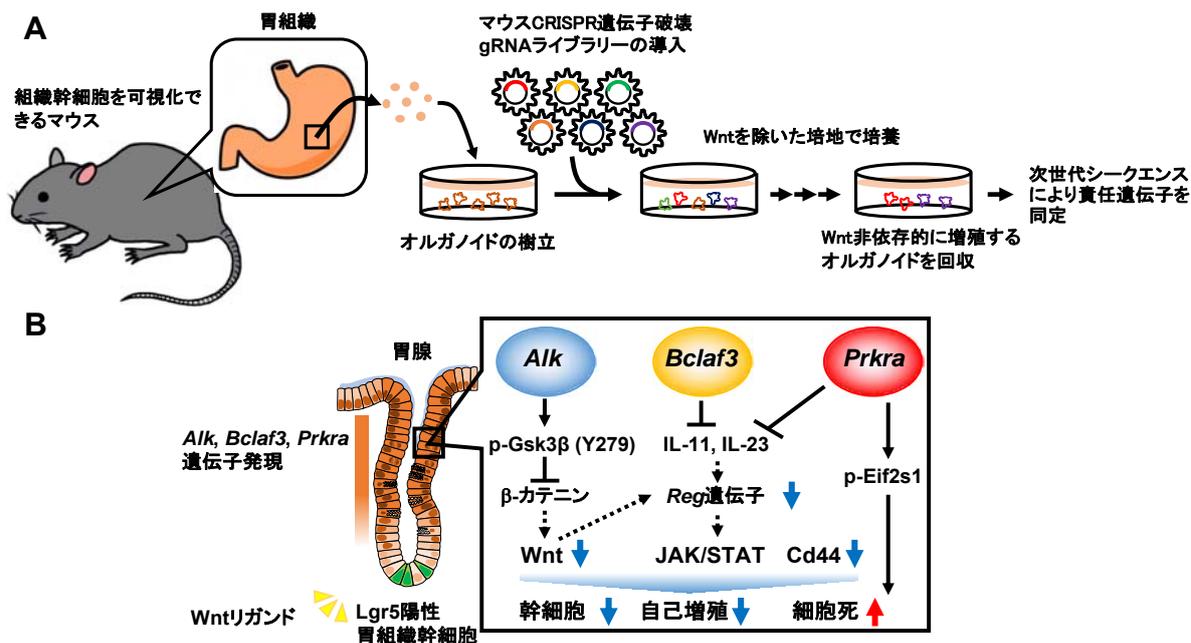


図. 本研究の概要

A. オルガノイドを用いた GeCKO スクリーニングの概要。組織幹細胞を可視化できるマウスから胃オルガノイドを樹立し、マウス CRISPR 遺伝子破壊 gRNA ライブラリーを導入することで遺伝子をランダムに破壊する。その後、Wnt シグナル非依存的に増殖するオルガノイドを回収し、次世代シーケンサーを用いて責任遺伝子を同定する。

B. 本研究で明らかになったこと。Alk, Bclaf3, Prkra 遺伝子は胃腺の分化細胞で発現している。Alk は GSK3β をリン酸化することで不安定化し Wnt シグナルを抑制する。一方で、Bclaf3, Prkra は、インターロイキン 11 (IL-11) および 23 (IL-23) の発現抑制を通して、胃上皮細胞の増殖に必須な Reg 遺伝子の発現を負に制御する。Alk, Bclaf3, Prkra が協調することで胃組織幹細胞の幹細胞性を決定していると考えられる。

### 【掲載論文】

雑誌名：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

論文名：A Genome-Scale CRISPR screen reveals novel factors regulating Wnt-dependent renewal of mouse gastric epithelial cells

(ゲノムスケール CRISPR スクリーニングによるマウス胃上皮細胞の Wnt 依存的な増殖を制御する新規因子の同定)

著者名：Kazuhiro Murakami, Yumi Terakado, Kikue Saito, Yoshie Jomen, Haruna Takeda, Masanobu Oshima and Nick Barker

(村上和弘, 寺門侑美, 齋藤喜久江, 定免由枝, 武田はるな, 大島正伸, ニック バーカー)

掲載日時：2021年1月21日（米国東海岸標準時間）にオンライン版に掲載

DOI：https://doi.org/10.1073/pnas.2016806118

## 【用語解説】

### ※1 オルガノイド

組織や器官を生体内に類似した構造・機能を保ったまま生体外で培養できる3次元細胞培養体のこと。オルガノイドを用いることで、生体内に近い状態で組織を維持・観察できるため、医薬品候補の絞り込み、毒性試験、疾患の病態研究などへの応用が期待されている。

### ※2 幹細胞性

組織を形成するさまざまな細胞に分化する能力を保ちながら、細胞分裂によって自ら分裂できる性質。

### ※3 GeCKO スクリーニング法

すべての遺伝子に対応するガイドRNA（gRNA）が混ぜ合わされており、希釈して細胞に導入することで遺伝子をランダムに破壊できる。その後、目的の表現型を示す細胞集団を回収し、次世代シーケンサーを用いて破壊されている遺伝子を調べることで、目的の表現型を誘導する責任遺伝子を同定することができる。

### ※4 *Lgr5* 遺伝子

Leucine-rich orphan G-protein-coupled receptor5 をコードする遺伝子。細胞の分化運命の決定を調整する Wnt シグナルの標的遺伝子で、消化管組織の恒常性維持および傷害からの修復に必須な上皮幹細胞のマーカー遺伝子。近年では消化管のみならず、腎臓、肺、肝臓、子宮など広範な上皮組織に発現していることが知られている。また、正常上皮幹細胞のみならず、大腸がんのがん幹細胞マーカーとしても報告されている。

### ※5 Wnt シグナル

Wnt タンパク質により活性化されるシグナル経路。細胞運命、増殖および遊走など個体発生における多種多様な細胞プロセスに重要な役割を果たしている。Wnt シグナル経路に関連する遺伝子の変異は、さまざまな遺伝性がんと自然発生がんの両方に関与していることが知られている。

### ※6 インターロイキン

細胞間免疫応答の調節のためにリンパ球や単球、マクロファージなど主に免疫担当細胞が産生する生物活性物質。インターロイキン 11 や 23 は胃上皮細胞からも分泌される。

---

**【本件に関するお問い合わせ先】**

■研究内容に関すること

金沢大学がん進展制御研究所 上皮幹細胞研究分野 助教

村上 和弘 (むらかみ かずひろ)

TEL : 076-234-4510

E-mail : kmurakami@staff.kanazawa-u.ac.jp

■広報担当

金沢大学医薬保健系事務部薬学・がん研支援課企画総務係

岡田 あゆみ (おかだ あゆみ)

TEL : 076-234-6858

E-mail : y-somu@adm.kanazawa-u.ac.jp