

胃腸の細胞が作られる仕組みを解明 ～消化器がん発症の新たな分子メカニズムに迫る～

本研究成果のポイント：

- ◆食道、胃、腸の細胞が作られるときに細胞の中でおこる分子メカニズムを解明した
- ◆Id2 遺伝子が腸の発生に必須の役割を持つことを発見した
Id2 遺伝子欠損マウス(人工的に Id2 遺伝子を無くしたマウス)は腫瘍発症機構の解明における新たなマウスモデルである
- ◆食道がんや胃がんなど、消化器がんの発症機序の解明と新たな治療法の開発に貢献することが期待される

胃腸は、食べ物を運び、消化吸収により栄養に変えるという、生きる上で最も大事な役割を果たしている。また、食道がん、胃がんや大腸がんなど、人間の体の中でもがんができやすい臓器である。胃腸の形成は胎児期に始まり、最初に、口-食道-胃-小腸-大腸といった領域に区分けされ、その後、それぞれに特徴的な形と機能をもった細胞が作られる。しかし、食道、胃や腸の細胞がどのような遺伝子の働きによって分化するかは不明な点が多い。また、ヒトでは食道の細胞が胃や腸の細胞に変化することや、胃の細胞が腸の細胞に変化することが知られており、そのような変化ががんの要因になる。

本研究では、細胞の分化を調節する機能を持つ“Id2”という遺伝子が胃腸の細胞が作られる上で重要な役割を果たしていることを明らかにした。我々は Id2 の遺伝子欠損マウス (Id2 ノックアウトマウス) の消化管を解析し、小腸に『食道や胃の細胞で構成される腫瘍』ができることを発見した。Id2 ノックアウトマウスの胎児の小腸には、本来は形成されない食道細胞や胃細胞が認められ、その細胞が小腸にできる腫瘍の元になることが判明した。この時、Id2 ノックアウトマウスの胎児小腸では、Irx5 と呼ばれる食道や胃の細胞への分化に必要な遺伝子が異所性に発現しており、Id2 は Irx5 遺伝子の発現を抑えることによって、胎児期の腸が食道や胃にならないように機能していることが示唆された。

その一方で、Id2 遺伝子は食道がんや胃がんが発症する際に発現量が増えることが報告されており、これらの研究結果を包括的に捉え直すことによって、食道がんや胃がんの発症機序の解明や、新しい治療法の開発にもつながる知見をもたらすことが期待される。

〈研究の背景と経緯〉

人の体はおよそ37兆個の細胞からなり、約200種類の機能や形態の異なる細胞によって構成されている。細胞が増える（増殖）ことと、細胞が機能を持つ細胞に変化する（分化）ことは様々な遺伝子の働きにより厳密に制御されており、その制御の異常は先天性疾患やがんなどとも密接に関係している。人の消化管は、食物から栄養を得るために重要な働きをしており、食道、胃や腸といった臓器はその中心的な役割を担っている。消化管の表面は消化管上皮という組織で覆われており、臓器に特有の細胞と組織構造を持つ（図1）。例えば、食道は胃に送る食べ物の通り道となる丈夫な上皮細胞で構成され、胃は食べ物を消化するための胃酸を分泌する細胞を持ち、小腸や大腸は胃で消化された食べ物や水分を吸収する細胞で構成されている。消化管は口から入ってきたものが排泄されるまでの通り道であり、消化管上皮は皮膚と同じように常に外界からのストレスに曝されている組織である。そのため、食道がんや胃がん、大腸がんといった、細胞のがん化が起きやすいと考えられている。消化管に生じるがんは、バレット食道^(注1)や腸上皮化生^(注2)などの上皮の変化（病変）に起因することが知られている。バレット食道は食道上皮が胃上皮や腸上皮に置き換えられる病変であり、また腸上皮化生は胃上皮が腸上皮に置き換えられる病変である。そうした一度食道や胃の上皮になった細胞が他の組織の細胞に変化する仕組みについての分子メカニズムは不明な点が多く、また、そこからがんが生じる仕組みについても十分に明らかになっていない。

ヒトやマウスの食道、胃、腸の上皮細胞の形成は胎児期に、細胞の分化方向が決まっていなかった未分化消化管上皮細胞の発生にはじまり、未分化消化管上皮細胞は生後離乳するまでに徐々に臓器特有の形態と機能を持った細胞へと分化していく。しかし未分化消化管上皮細胞から食道や胃や腸の細胞へと分化する過程で、どのような遺伝子が細胞の運命を制御しているかは解明されていない。

そこで、我々は臓器の特異的な消化管上皮細胞の分化を制御する分子メカニズムについて、遺伝子改変マウスと遺伝子発現解析法を用い、消化管形成の分子基盤の解明を行った。

〈研究の内容〉

細胞分化調節因子 Id 遺伝子は、各種細胞の分化を制御する因子の1つであり、細胞の分化に関わる様々な遺伝子の発現を抑えることで、細胞を増殖の方向に向かわせる機能をもつ（図2）。我々は生体において細胞の増殖と分化がどのように制御されているかを解明するため、Id 遺伝子 (Id1~4) の1つである Id2 に着目し、Id2 が様々な細胞の分化や病態発症において重要な役割を持つことを明らかにしてきた。

我々は Id2 遺伝子を欠損したマウス (Id2 ノックアウトマウス)^(注3) の消化管を解析したところ、生後早期から小腸に腫瘍^(注4) ができることを見出した (図3)。Id2 は細胞増殖活性を持つことを考えると、この知見は今までに想定された Id2 の機能では説明できない新しい発見である。さらに Id2 ノックアウトマウスの小腸にできた腫瘍の病理組織学的解析から、この腫瘍が『食道や胃の性質を持った細胞で構成される腫瘍』であることが判明した (図4)。

Id2 の発現量は、胎児期の未分化腸上皮細胞では高く、生後の分化した腸上皮細胞では低いことから、胎児消化管形成における Id2 の機能に焦点を絞って解析した。定量 PCR 法^(注5) やホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法^(注6)、免疫組織化学法^(注7) による遺伝子発現解析から、Id2 ノックアウトマウスの胎児小腸では食道や胃の分化に関わる Sox2 や Barx1 といった遺伝子が発現し、その一方で腸の分化に関わる遺伝子 Cdx2 の発現が減少していることが判明した (図5)。このことは小腸の

未分化細胞で Id2 が欠落すると、正常な分化とは異なり、食道や胃の細胞へと分化することを示すものであった。

また、胎児期の未分化胃上皮細胞では Id2 は発現しておらず、レトロウイルス^(注 8)を用いて未分化胃上皮細胞に Id2 遺伝子を人為的に発現させたところ、未分化胃上皮細胞は胃上皮にはならず、腸上皮へと分化した。これらの結果から、Id2 は未分化胃上皮細胞が腸上皮細胞へと分化する過程において必須であり、また未分化胃上皮細胞が胃上皮細胞に分化する過程では Id2 が発現していないことが重要であることが判明した。

Id2 は遺伝子の発現を抑制する機能をもつことから、Id2 ノックアウトマウスの未分化腸上皮細胞では遺伝子の発現が変化していることが予想された。そこで、マイクロアレイ法^(注 9)により Id2 ノックアウトマウス胎児腸管の遺伝子発現を解析した結果、本来は未分化食道上皮細胞や未分化胃上皮細胞で発現する Irx5 遺伝子が、Id2 ノックアウトマウスの未分化腸上皮細胞で発現していることが判明した(図6)。さらに Irx5 遺伝子を未分化腸上皮細胞で発現するトランスジェニックマウス^(注 10)を作出したところ、Id2 ノックアウトマウスと同様に小腸に『胃の性質を持った細胞で構成される腫瘍』が形成されることを確認した(図7)。これらの結果から、Id2 は未分化腸上皮細胞から腸上皮細胞へと分化する過程で、食道上皮や胃上皮への分化を抑制することで腸上皮の分化を誘導する機能を持つことが明らかとなった(図8)。

〈今後の展開〉

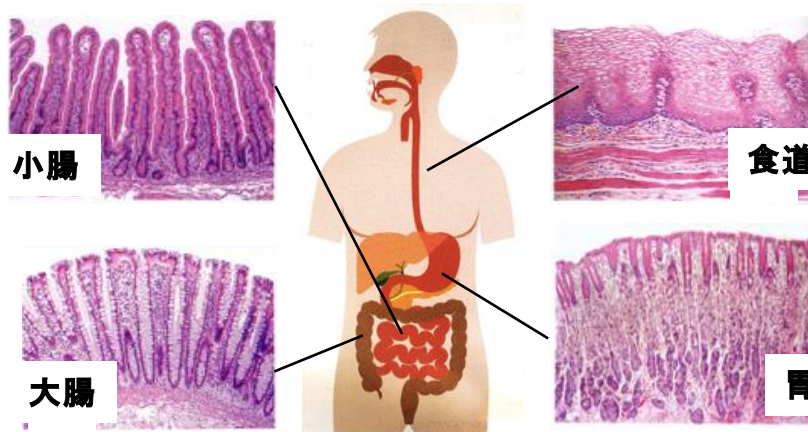
本研究により、食道や胃、腸の上皮形成は、分化調節因子 Id2 の発現により制御されていることが明らかになった。Id2 は食道と胃の分化誘導因子 Irx5 の発現を抑制することで未分化腸上皮細胞を腸上皮細胞へと分化させることから、腸上皮の形成には「食道や胃にならないようにする」分化制御メカニズムが必須であることが明らかとなった。また Irx5 も Id2 と同様に遺伝子発現を抑制する活性を持つことが知られており、上記と併せると、食道、胃と腸は各々が腸や胃、食道にならないようにすることで形成されると考えられ、このことはヒトやマウスと同じような消化管構造を持つ様々な生物の消化管形成に普遍的な分化調整メカニズムであることを示唆するものであった。

これまで、細胞分化の研究は個々の分化誘導因子を中心に進められてきたが、複雑な分化制御メカニズムを理解する上では個々の因子に着目するだけでは十分な知見が得られていなかった。その点、本研究は分化調節因子に着目した解析を行うことで、2種類の分化調節因子が互いに相手の遺伝子発現を抑制することで臓器特異的な細胞分化を誘導されることを見出した。消化管の細胞分化に係る複雑な遺伝子発現ネットワークの根幹が2種類の分化調節因子の相互作用で成り立つことを明らかにしたことは、独創的な研究結果と言える。

異所性上皮からのがん化について、Id2 ノックアウトマウスは初期病態発症の機序を理解する上で恰好のモデルであると考えられる。Id は膵がんや大腸がんを始めとする様々ながんで高発現しており、その発現量と悪性度の相関が報告されている。実際、バレット食道や腸上皮化生のマウスモデルでは Id2 の発現量が増加することが報告されており、こうした本来の部位とは異なる部位にできる上皮の形成には Id2 の発現が変化することで細胞の遺伝子発現ネットワークに変化が起きることが重要と考えられる。Id2 による遺伝子発現ネットワークの解明は、今後食道がんや胃がんの発症機序の解明や新たな治療戦略の開発に重要な知見をもたらすことが期待される。

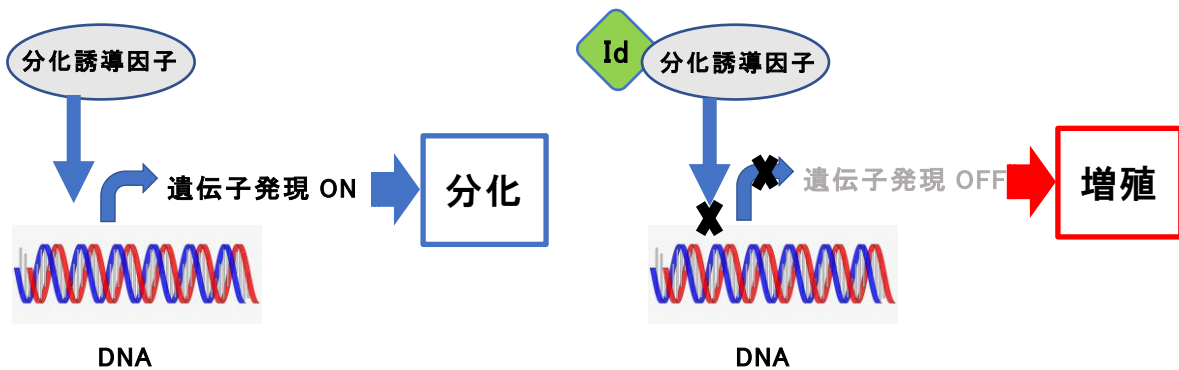
〈参考図〉

図 1 : ヒトの消化管と組織構造



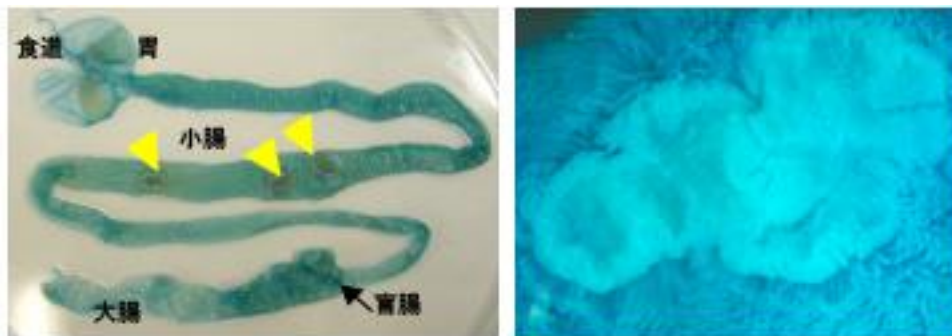
消化管を構成する各臓器の断面図（組織切片）。特有の構造を持ち、臓器特異的な細胞で構成されている。

図 2 : 分化調節因子 Id による遺伝子発現と細胞の分化増殖の制御



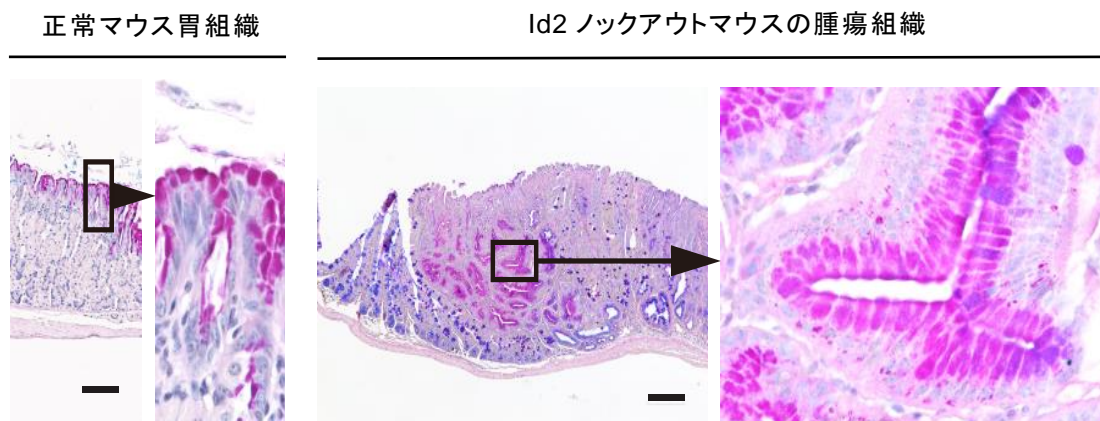
(左図) 分化誘導因子は DNA に働きかけ、細胞分化のための様々な遺伝子の発現を引き起こす
 (右図) Id は分化誘導因子と結合し、その機能を阻害することで細胞分化のための遺伝子発現を抑え、分化が阻害された細胞は増殖へと向かう。

図 3 : Id2 ノックアウトマウスの小腸に形成される腫瘍組織



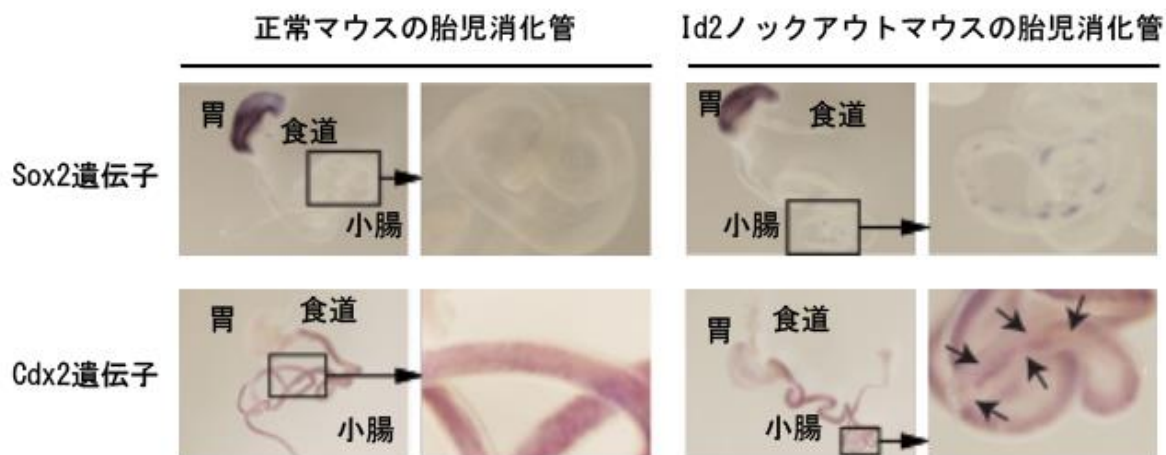
(左図) Id2 ノックアウトマウスでは小腸に複数の腫瘍が認められる（黄色矢頭）
 写真は Id2 ノックアウト消化管を縦軸方向に開き、対比のために青く染色してある。
 (右図) 腫瘍組織の拡大写真。周囲に見えるのは小腸絨毛。

図4 : Id2 ノックアウトマウスの腫瘍は胃上皮細胞で構成される



(左図) 正常マウス胃組織と(右図) Id2 ノックアウトマウスの腫瘍組織像。赤紫に染色されている細胞は胃粘液を分泌する細胞を示す。中央図の紺色に染色されている細胞は腸粘液を分泌する細胞を示す。腫瘍組織では腸粘液を分泌する細胞が減り、胃粘液を分泌する細胞が存在している。各図の右下の黒棒は 0.2mm の長さを表す。

図5 : Id2 ノックアウトマウス胎児小腸では胃で発現する遺伝子が異所性に発現している



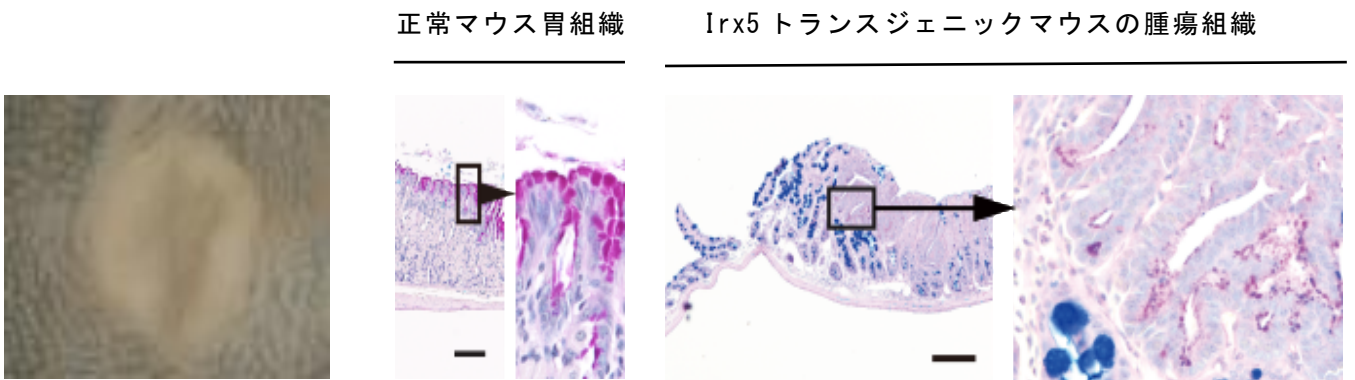
(上図) (左) 正常マウスでは、Sox2 遺伝子 (紺色) は食道と胃で発現し、小腸では発現しないが、(右) Id2 ノックアウトマウスでは小腸で発現している。
 (下図) (左) 正常マウスでは、Cdx2 遺伝子 (赤紫) は腸で発現し、食道や胃では発現しないが、小腸では発現していない部位を認める (矢印)。

図6：Id2 ノックアウトマウス胎児小腸では Irx5 遺伝子が発現している



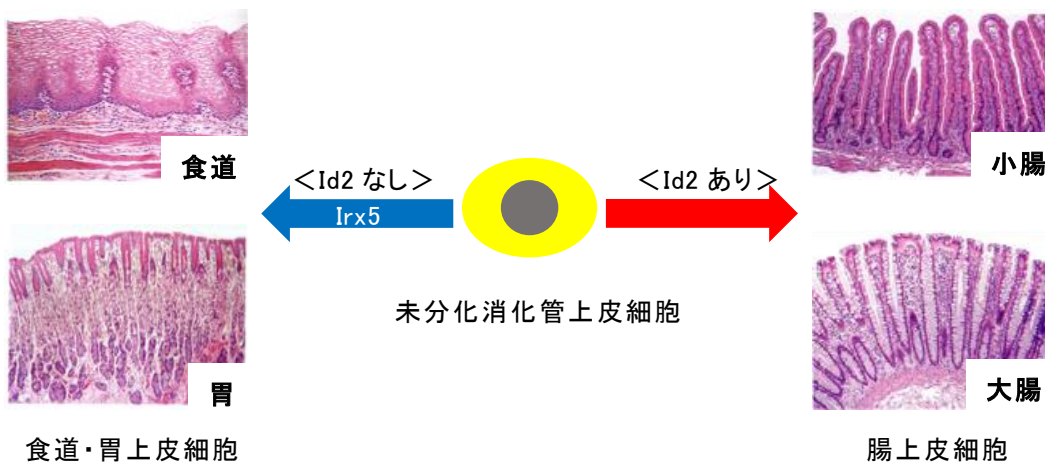
(左図) Irx5 は胎児食道と胃で発現している (緑色) が小腸では発現していない
 (右図) Id2 ノックアウトマウス胎児小腸では食道と胃の他に小腸でも Irx5 遺伝子が発現している

図7：Irx5 トランスジェニックマウスは Id2 ノックマウスと同様に小腸に腫瘍が形成される



(左図) Irx5 トランスジェニックマウスの小腸にできた腫瘍組織。
 (中央図) 正常マウス胃組織。赤紫色は胃粘液分泌細胞を示す。黒棒は 0.2mm の長さを示す。
 (右図) Irx5 トランスジェニックマウスの腫瘍組織。腫瘍組織の細胞は胃粘液を分泌する細胞 (赤紫色) を持つ。青色は腸粘液分泌細胞を示す。黒棒は 0.2mm の長さを示す。

図8：Id2 による未分化消化管上皮細胞の運命決定機構



Id2 は未分化消化管上皮細胞において、胃の分化に関わる因子 (Irx5 など) の発現を抑えることで腸上皮細胞の分化を誘導し、Id2 が発現していない細胞は Irx5 を発現し、食道や胃上皮細胞へと分化する。

〈用語解説〉

（注1）バレット食道

胃酸や十二指腸液が食道に逆流性に流れることで食道下部の細胞に炎症反応が起こり（逆流性食道炎）、食道上皮が胃や腸の細胞に置き換わる。

（注2）腸上皮化生

胃に常在するピロリ菌の慢性的な感染により萎縮性胃炎が起こり、その結果胃上皮細胞が腸の細胞に置き換わる。

（注3）ノックアウトマウス

胚性幹細胞（ES細胞）に対して、特定の遺伝子を他の遺伝子に置き換えることでその遺伝子の機能を無効化し、そのES細胞をもとにマウスを作出することで、全身の細胞で特定の遺伝子を無くした個体を作られる。

（注4）腫瘍

体の細胞が正常な制御に反して過剰に増殖することによってできる細胞の塊。新生物ともいう。増殖が緩やかで、生体の維持に悪影響を及ぼさないものを良性腫瘍という。それに対し、増殖が活発で、近接する組織に侵入し、腫瘍が最初にできた場所から転移しながら生体の維持に悪影響を及ぼすものを悪性腫瘍という。「がん」は上皮にできた良性腫瘍が遺伝子の変異などにより悪性腫瘍と変化したものを表す。

（注5）定量PCR法

組織や細胞における特定の遺伝子の発現量を測定する方法。目的の組織や細胞からメッセンジャーRNA（mRNA）を抽出し、逆転写酵素を用いてmRNAから相補的なDNAを合成し、それを鋳型としてPCR（Polymerase Chain Reaction）反応を行う。目的の細胞に含まれるmRNA遺伝子の発現量の違いにより、PCR反応により増幅される反応産物の増殖速度が異なる（mRNAが多いほど早く増える）原理を利用して、比較する組織や細胞間での遺伝子の発現量の差を測定することができる。

（注6）ホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法

遺伝子の発現している部位について胚や組織全体（ホールマウント）から検出する方法。目的とする遺伝子のmRNAと相補的な配列をもつRNAを試験管中で人工的に合成し、胚や組織のRNAと相補的に結合（ハイブリダイズ）させ、二本鎖を形成したRNAを検出することで、胚や組織全体における空間的な遺伝子の発現場所を形態的に評価することが可能になる。

（注7）免疫組織化学法

特定の抗原（タンパク質）とそれに結合する抗体との抗原抗体反応（免疫反応）を用いて、目的とする遺伝子産物（タンパク質）を検出する方法。対象とする組織を固定し、薄切した後、スライドガラス上で抗体と反応させ、結合した抗体を検出することで、間接的に抗原である目的タンパク質の組織内の分布を可視化することができる。

(注 8) レトロウイルス

一本鎖核酸 (RNA) と RNA を DNA に変える酵素 (逆転写酵素) を持つウイルスの総称。

自身の RNA を感染した細胞中で DNA に変え、感染した細胞の DNA に自身の DNA を挿入する。遺伝子工学実験では、目的とする遺伝子をレトロウイルスの核酸に組み込み、ウイルス産生細胞で作られるウイルスを、標的細胞に感染させることで目的遺伝子を導入、発現させる目的で使用される。

(注 9) マイクロアレイ法

細胞内の遺伝子の発現量を測定するために、極小の基盤に数万種類の遺伝子断片を複数配置し、目的の細胞で発現している遺伝子と相補的な結合をすることでその遺伝子の発現量を検出する方法。網羅的遺伝子解析法の 1 つである。

(注 10) トランスジェニックマウス

マウスの受精卵に目的とする遺伝子を注入し、そのマウスを作出することで、目的の遺伝子の機能を調べることができる。注入する遺伝子に組織特異的な遺伝子調節配列を同時に組み込むことで、特定の組織についてのみ目的の遺伝子を発現させることができる。

〈論文タイトル〉

“Id2 determines intestinal identity through repression of the foregut transcription factor, Irx5”

(日本語タイトル:「Id2 は前腸転写因子 Irx5 の発現抑制を通じて腸のアイデンティティを決定する」)

〈著者〉

Kentaro Mori, Harumi Nakamura, Hisanori Kurooka, Hitoshi Miyachi, Kota Tamada, Manabu Sugai, Toru Takumi, and Yoshifumi Yokota

森 健太郎 福井大学 医学部 生命情報医科学講座 分子遺伝学 助教
中村 ハルミ (福井大学 医学部 学生)
現・地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪国際がんセンター
病理・細胞診断科 診療主任
黒岡 尚徳 (福井大学 医学部 生命情報医科学講座 分子遺伝学 准教授)
現・相模女子大学 栄養科学部 管理栄養学科 教授
宮地 均 京都大学ウイルス・再生医科学研究所附属感染症モデル研究
センター 専門技術職員
玉田 紘太 理化学研究所 脳科学総合研究センター 研究員
菅井 学 福井大学 医学部 生命情報医科学講座 分子遺伝学 教授
内匠 透 理化学研究所 脳科学総合研究センター シニアチームリーダー
横田 義史 (福井大学 医学部 生命情報医科学講座 分子遺伝学 教授); 故人

〈発表雑誌〉

Molecular and Cellular Biology

(モレキュラーアンドセルラーバイオロジー)

(2018年2月20日に on line 掲載、2018年5月号に掲載予定)

アブストラクト URL:

<http://mcb.asm.org/content/early/2018/02/14/MCB.00250-17.abstract>

[DOI 番号: 10.1128/MCB.00250-17.]