

# 時空間リプログラミングは腸管上皮の再生と腫瘍の基盤となる

Higa T, Okita Y, Matsumoto A *et al* : Spatiotemporal reprogramming of differentiated cells underlies regeneration and neoplasia in the intestinal epithelium. *Nat Commun* 13 : 1500, 2022

比嘉綱己, 岡 毅寛, 須賀原 修, 古賀大介, 中山敬一  
九州大学生体防御医学研究所 分子医科学

## Point

- 細胞周期の静止期を維持する因子であるp57の発現を指標として、腸管上皮における傷害後の再生に重要な役割を果たす幹細胞分画を新規に同定した。
- p57陽性細胞は傷害誘導性の脱分化を経て幹細胞性を獲得すること、またこの過程において胎児化と胃化生様変化を特徴とする「時空間リプログラミング」が重要であることを明らかにした。
- 時空間リプログラミングは腸管腫瘍においては恒常的に生じていることがわかった。

## Keyword

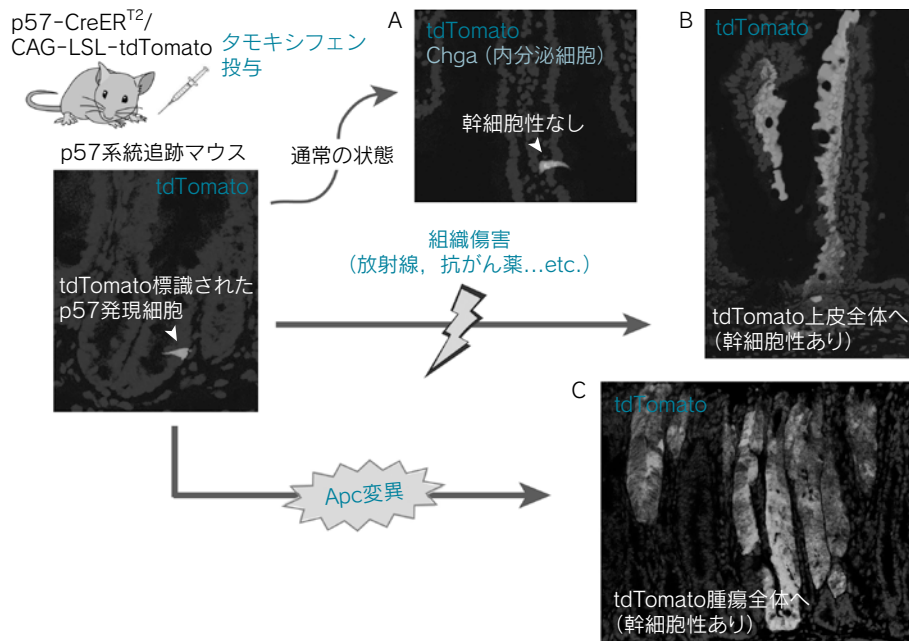
腸管幹細胞, p57, 静止状態, 脱分化, がん幹細胞

## \* 背景・目的

腸管上皮は大きな組織傷害を受けた後でも高度な再生力を示し、組織の維持や再生機構を研究するための有用なモデルとして注目されている。哺乳類の腸管上皮には、陰窩底部にLgr5陽性細胞という高増殖性の幹細胞が存在し、この細胞が定常状態における上皮の迅速なターンオーバーを駆動していることが知られてきた。一方で、Lgr5陽性細胞は抗がん薬や放射線などによる組織傷害に対して脆弱であり、これらの処理によって一時的にほぼ完全に失われてしまう。ところが、このような状況下でも腸管上皮はまったく問題なく維持され、失われたLgr5陽性細胞も1週間ほど経つと元通りに復活してくる。この

事実は、腸管にはLgr5陽性細胞以外にも幹細胞として機能する細胞集団が存在し、それらが傷害後再生に重要であることを強く示唆しているが、その細胞実体や再生の分子機構については不明な点が多かった。

われわれはこれまでに、細胞増殖の停止を司る分子(CDK阻害分子)の一つであるp57(Kip2, CDKN1cともよばれる)が、造血幹細胞や神経幹細胞にきわめて特異的に発現していることを見出してきた<sup>1)</sup>。今回の研究ではこのp57の発現を指標として、腸管上皮の再生に重要な役割を果たす細胞集団を同定した。また、胎児様変化と胃化生様変化によって特徴づけられる「時空間リプログラミング」という再生機構の一端を明らかにし、組織再生のしくみとがん



**図1** p53陽性細胞は傷害誘導的な腸管幹細胞として機能する

腸管 p53 陽性細胞を tdTomato 蛍光タンパク質で標識し、系統追跡実験をおこなった。p53 陽性細胞は定常状態では幹細胞性を示さない (A) が、傷害誘導性に幹細胞性を獲得し、子孫細胞を産生する (B)。また同様の幹細胞性は Apc 変異マウスに生じた腸管腺腫においても認められた (C)。

(P. 15 カラー図譜参照, 紹介論文より引用)

とのかかわりについても新たな知見を提示した。

## \* 方法

1) 免疫染色や遺伝子発現解析から、小腸陰窩に p53 を発現する低増殖性の細胞集団を発見した。p53 陽性細胞の腸管幹細胞としての機能を検証するため、p53-CreER<sup>T2</sup>/CAG-loxP-Stop-loxP (LSL)-tdTomato マウス (系統追跡実験用) および p53-DTR-Venus マウス (可視化用) を作製した。

2) 定常状態および抗がん薬投与や放射線照射などの傷害条件下において、腸管 p53 陽性細胞の挙動や幹細胞性を上記のノックインマウスを用いて調べた。また、傷害による遺伝子発現や細胞組成の変化を 1 細胞 RNA-seq 解析により調べた。

3) 同様の実験を Apc 変異マウスに生じた腸管腺腫においてもおこなった。

## \* 結果

1) 系統追跡実験により、腸管 p53 陽性細胞は腸管内分泌細胞の一種であり、定常状態においては幹細胞性を有しないことが判明した。ところが、抗がん薬投与や放射線照射などの腸管傷害後には幹細胞性を獲得してすべての種類の腸管上皮細胞を産生し、腸管上皮の再生に重要な役割を果たすことがわかった (図1)。

2) 1 細胞 RNA-seq 解析において、傷害後の p53 陽性細胞は胎児腸管や胃上皮の遺伝子群を発現しており (図2)、通常の成体腸管とは時空間的にまったく異なる細胞状態を経て幹細胞性を獲得していることが明らかとなった (時空間リプログラミング)。

3) 時空間リプログラミングは腸管腺腫においては恒常的に生じており (データ未提示)、そのようなコンテキストのなかで p53 陽性細胞は定常的にがん幹細胞として機能していることがわかった (図1)。

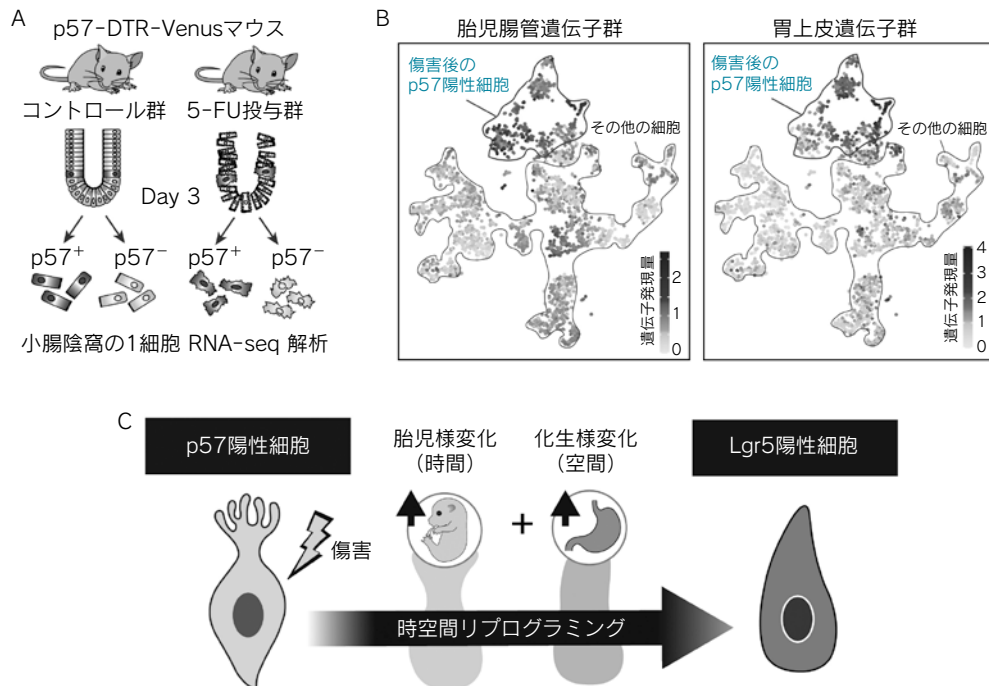


図2 p57 陽性細胞は時空間リプログラミングを経て幹細胞状態へと脱分化する

A : p57 陽性細胞を Venus 蛍光で標識したマウスから、正常および傷害後の腸管上皮細胞を単離して 1 細胞 RNA-seq 解析をおこなった。

B : 1 細胞 RNA-seq 解析の結果 (遺伝子発現量ヒートマップ)。傷害後の p57 陽性細胞では、胎児腸管および胃上皮の遺伝子群の著名な発現上昇を認めた。

C : 時空間リプログラミングの概念図。p57 陽性細胞は胎児様 (時間的) 変化と化生様 (空間的) 変化を経て、腸管幹細胞の状態へと脱分化する。

(P. 16 カラー図譜参照, 紹介論文より引用)

## \* 考 察

今回の研究から、腸管の p57 陽性細胞は通常は内分泌細胞として存在しているものの、傷害誘導的に脱分化し、幹細胞リリーフとして腸管上皮の再生に寄与していることがわかった。このことは、腸管上皮における細胞系譜は一方向性の固定化されたヒエラルキーではなく、条件依存的に幹細胞状態まで逆行しうる可塑的なシステムであることを示している。

組織傷害後の腸管上皮の 1 細胞 RNA-seq 解析の結果から、脱分化の途上にある p57 陽性細胞は、成体腸管には通常発現していないはずの胎児腸管や胃上皮の遺伝子群を高度に発現していることが明らかとなった。つまり、腸管傷害後の脱分化は通常の腸管上皮における分化系譜の単なる逆行ではなく、細胞のトランスクリプトームを時間的 (胎児化) およ

び空間的 (胃上皮化) にまったく異なる状態に脱構築しながら幹細胞性を獲得していくプロセスであると考えられる。このような生理的かつきわめてダイナミックな「時空間リプログラミング」を制御する分子機構の詳細ははまだ不明であり、今後の研究の課題である。

時空間リプログラミングにおいて、とくに腸管の胃上皮化はしばしば消化管腫瘍の発生母地となる化生を想起させる。化生の生理学的背景については不明な点が多いが、今回の結果をふまえると、脱分化を介して幹細胞性の獲得を駆動するための再生プログラムの一つであることが予想される。さらに、このようなリプログラミング現象が腸管腺腫において恒常的に観察されたことは、正常組織に内在されている再生プログラムが腫瘍では幹細胞性の獲得のために利用されている可能性を示唆している。今後、

時空間リプログラミングの分子機構をより詳細に解明していくことで、消化管腫瘍の効果的な治療法開発にもつながることが期待される。

## \* コメント

われわれは p57 陽性細胞の標識・追跡マウスを用いて、目下さまざまな正常組織やがんにおいて幹細胞の探索に取り組んでいる。幹細胞の生物学的特性

を明らかにすることで、将来的に再生医療やがん治療に直接つながるような知見を得られればと考えている。

## 文 献

- 1) Matsumoto A, Takeishi S, Kanie T *et al* : p57 is required for quiescence and maintenance of adult hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* **9** : 262-271, 2011