

## 潰瘍性大腸炎患者で特定の遺伝子変異の蓄積を発見

### －難病の発症・増悪機構の解明に光明－

慶應義塾大学医学部佐藤俊朗教授らの研究グループは、潰瘍性大腸炎の大腸組織において、特定の遺伝子変異が蓄積していることを発見しました。

ヒトの正常な大腸上皮は、加齢とともに遺伝子変異が蓄積し、大腸の発がんの原因となることがわかっています。また、食事の質や慢性炎症などのさまざまな腸内環境の変化によっても大腸の発がんリスクが高くなります。しかし、腸内環境の変化が大腸上皮の遺伝子変異の蓄積に影響を与えるかどうかは不明のままでした。

本研究では患者から得られた大腸上皮を培養し、大腸上皮細胞を増やすことによって効率的に遺伝子変異の解析を行いました。その結果、罹病期間が長い潰瘍性大腸炎の患者の大腸上皮細胞には、健常人の大腸上皮に比べて、より多くの遺伝子変異が検出されました。こうした遺伝子変異の多くは、大腸がんに認められる遺伝子変異ではなく、慢性炎症に関連した遺伝子変異であることがわかりました。

さらに、オルガノイドと呼ばれる培養皿の上で臓器を培養する技術によって、これらの遺伝子変異の役割を突き止めました。

潰瘍性大腸炎では IL-17（インターロイキン 17）と呼ばれる慢性炎症シグナルが活性化しており、その刺激は大腸上皮を傷害しますが、潰瘍性大腸炎の大腸上皮は、健常人では生じない IL-17 に関連した遺伝子変異を獲得し、慢性炎症による細胞傷害から免れることがわかりました。つまり、潰瘍性大腸炎の患者の大腸では、炎症環境で生存しやすい遺伝子変異の上皮細胞が選択的に増え、正常な大腸上皮細胞を置き換えていくことが明らかになりました。

ヒトの大腸は遺伝子変異を蓄積することによって大腸がんを発生することが既に報告されていますが (Fearon ER, et al. Cell 1990.) 本研究により、慢性炎症などの腸内環境の変化に適応するための変異も蓄積していくことが判明しました。

遺伝子変異が生じた大腸上皮細胞の蓄積が潰瘍性大腸炎の病態やがん化にどのような影響を及ぼすか、今後の研究が期待されます。

この研究成果は、2019年12月18日に英科学誌『Nature』のオンライン版に掲載されまし

た。

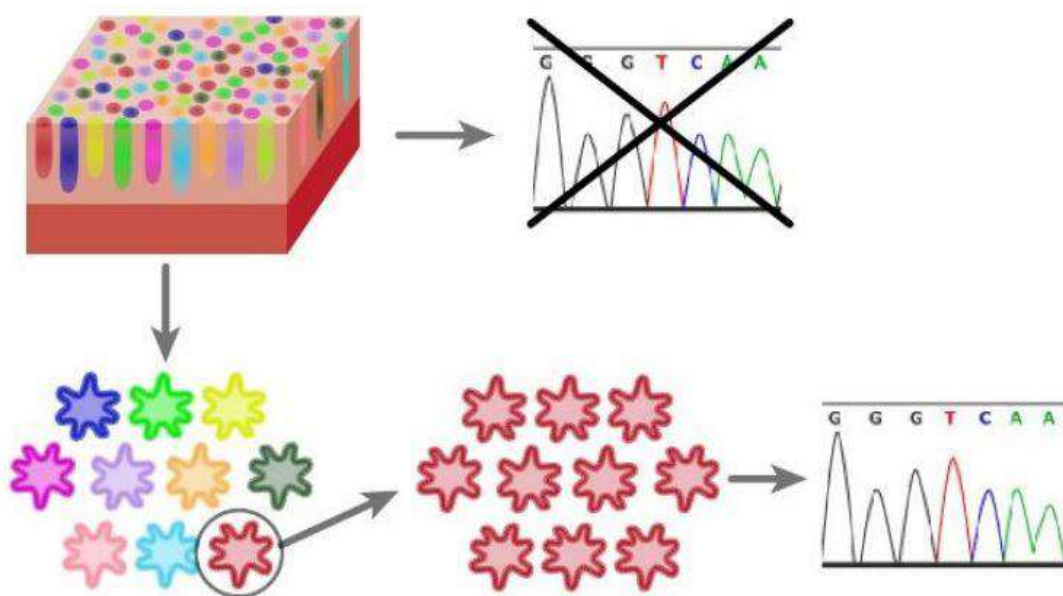
## 1. 研究の背景

潰瘍性大腸炎は、大腸に原因不明の慢性炎症が生じる炎症性腸疾患の一つです。潰瘍性大腸炎の罹患者数は日本で約 17 万人以上存在し増加の一途をたどっています。潰瘍性大腸炎の罹病期間が長くなると、大腸がんの発生が増加することが報告されていますが、なぜ潰瘍性大腸炎の患者では大腸がんが増えるのか、その明確な理由は解明されていませんでした。

多くのがんは加齢とともに増える遺伝子変異の蓄積によって生じます。そのため、炎症によって遺伝子変異の蓄積に影響が出ることが原因ではないかと予想されていました。この仮説を実証するためには、潰瘍性大腸炎で大腸組織の遺伝子変異の解析を行う必要がありますが、この証明には技術的な限界があり、現在まで解明が困難でした。

大腸では 10–20 個の幹細胞が陰窩と呼ばれるくぼみの中で、数か月の期間で、全て単一の幹細胞とその子孫細胞に置き換わることが知られています（この単一の幹細胞から産み出されたすべての細胞を“クローン”と呼びます）。

大腸では狭い領域に陰窩が無数に存在するため、従来の方法では、変異をもつ幹細胞と持たない幹細胞のクローンが混在したサンプルを用いることしかできず、個々の幹細胞にどのように遺伝子変異が蓄積されているのかを調べることができませんでした（図 1）。



【図 1】クローン化技術の応用による幹細胞単位の遺伝子変異解析

オルガノイド培養によるクローン化技術を応用することにより、個々の幹細胞クローンのみを増殖し、詳細なゲノム解析を行うことが可能となった。

近年、オルガノイド培養技術の応用によって、単一の幹細胞のクローンを培養して増殖し、各陰窩の幹細胞を個別に解析する手法が開発されました（図 1）。その結果、正常の大腸上皮幹細胞では年齢に比例して遺伝子変異が蓄積していることが報告されました（Blokzijl F, et al. Nature2016）。この報告において、遺伝子変異の蓄積には個人差があることが示されています。

今回研究グループは、この個人差に腸内環境が関与しているのではないかと考えました。そこで、右側大腸（大腸のうち口に近い側）に炎症がなく、左側大腸（大腸のうち肛門に近い側）にのみ炎症が生じている左側結腸炎型というタイプの潰瘍性大腸炎に着目し、その個別の幹細胞のクローンの詳細な遺伝子解析を行うことで、腸内環境の一つである慢性炎症が、幹細胞の遺伝子変異の蓄積にどのような影響を与えるかの解明に成功しました。

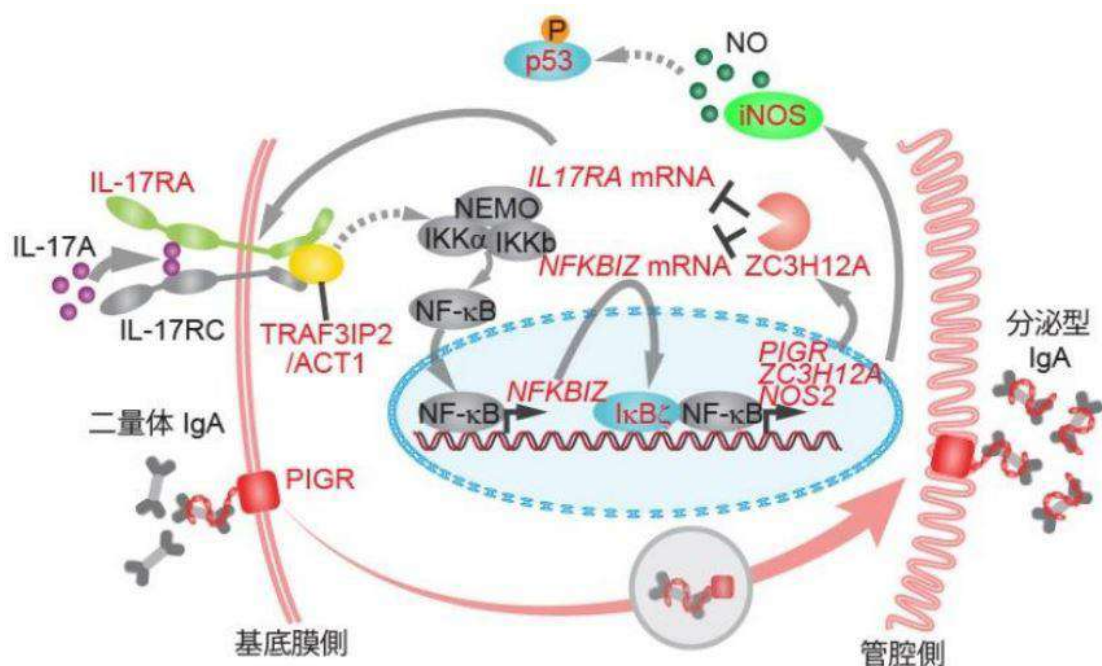
さらに、オルガノイドを用いて、潰瘍性大腸炎の炎症環境においてどのような遺伝子変異が生じているのか、また、その遺伝子変異が炎症の中でどのような役割を担っているのかを解明しました。

## 2. 研究の成果と意義・今後の展開

本研究では、オルガノイド培養技術を応用し、健常人と潰瘍性大腸炎の患者の大腸組織の体外培養を行い、それぞれの幹細胞でどのように遺伝子変異が生じているかを明らかにしました。

その結果、潰瘍性大腸炎の患者では、炎症によって、大腸上皮に蓄積している遺伝子変異の頻度が健常人と比較して増えていることが分かりました。しかし、炎症を原因とする遺伝子変異の頻度の増加は小さいものでした。

そこで、変異の量的な変化ではなく、どの遺伝子に変異が蓄積しているかの質的な変化に着目した結果、潰瘍性大腸炎の患者の大腸上皮幹細胞では、がんの発症に寄与する遺伝子変異は比較的少なく、一方で炎症を引き起こすサイトカインの一つである IL-17（インターロイキン 17）を介した炎症シグナルの経路上に、さまざまな遺伝子変異があることを発見しました。（図 2）



【図 2】潰瘍性大腸炎患者の大腸上皮幹細胞に蓄積する炎症耐性遺伝子変異

今回見つかった IL-17 シグナル上の遺伝子変異（赤字）。IL-17A が受容体に結合するとその下流の ACT1 や NFKBIZ が活性化し、最終的に iNOS を介して p53 が活性化し、細胞死に至る。

この遺伝子変異のクローンの広がりを知るため、生検鉗子で採取された領域に含まれる全ての大腸幹細胞に、どの程度これらの遺伝子変異が生じているか、より多くの患者由来のサンプルを用いて探索しました。

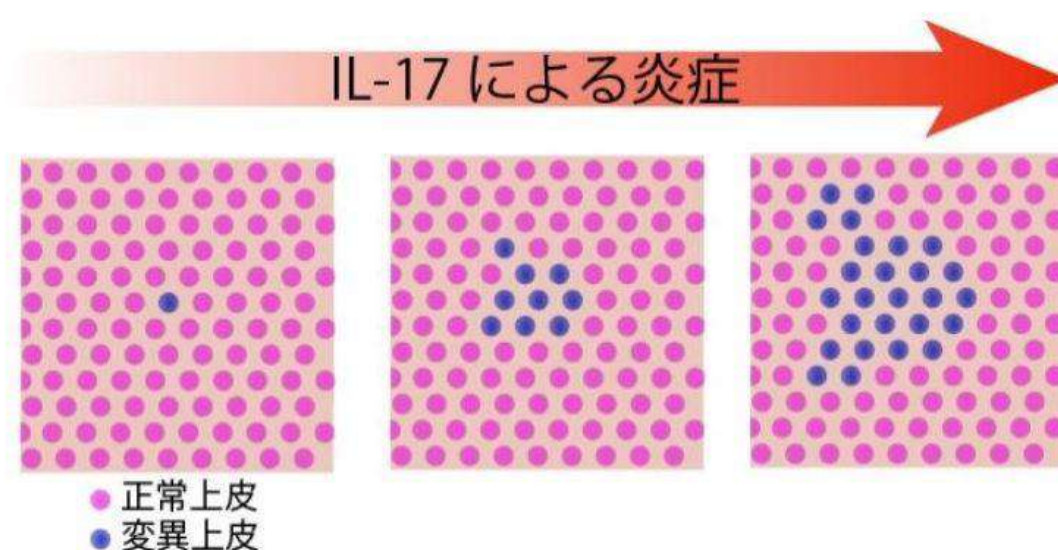
調査した潰瘍性大腸炎の患者 45 人のうち 6 割の 27 人でこれらの遺伝子変異が確認され、また、大腸がんを合併している患者では 75%以上の症例でがんではない大腸上皮細胞に遺伝子変異が生じていました。さらに、これらの遺伝子変異をもつ幹細胞のクローンが増えていることを確認しました。

活動性潰瘍性大腸炎の患者の大腸上皮細胞は、炎症により慢性的に細胞傷害が生じており、IL-17 はこのような炎症を引き起こす物質のうち重要な役割をもつことが知られています。これらの遺伝子変異が生じている細胞と正常な細胞においてこの IL-17 により刺激した際の細胞傷害性について比較しました。

その結果、正常な大腸上皮細胞はプログラムされた細胞死を起こしますが、遺伝子変異が生じた大腸上皮細胞はアポトーシスに耐性を示し、IL-17 の存在下（IL-17 による炎症下）で

も生存可能であることが確認されました。

このことから、生体内での炎症下において、正常な細胞は細胞傷害が生じ脱落するのに対し、今回同定した遺伝子変異が生じた細胞は細胞傷害を回避し生存し続けるため、徐々に変異細胞のクローンの領域が広がっていくことが考えられ（図 3）、炎症によって特定の遺伝子変異が生じた大腸上皮細胞のクローンが増えていくメカニズムの実証に成功しました。

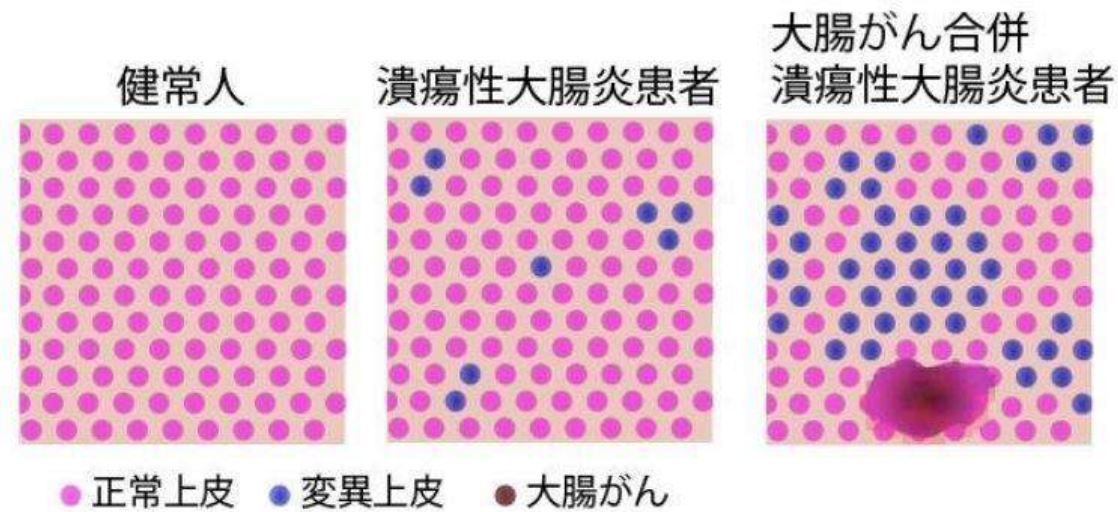


【図 3】 炎症下で変異クローンが増加する仕組み

IL-17 による炎症下で、今回同定した遺伝子変異が生じた幹細胞クローン（青色）の領域は炎症による傷害への耐性を持ち、長期の炎症過程でその遺伝子変異の領域が拡大する。

今回の研究で、多くの潰瘍性大腸炎患者の大腸上皮では、その炎症環境に適応するために幹細胞に炎症に対して耐性を獲得する遺伝子変異（＝炎症耐性遺伝子変異）が蓄積し、さらにそのクローンの領域が拡大していくことが分かりました。これらの遺伝子変異は、大腸がんを合併した潰瘍性大腸炎の患者でより多く認められたため、潰瘍性大腸炎において大腸がんが発症するハイリスク患者のバイオマーカーとなることが期待されます。

一方で、がん自体にはこれらの炎症耐性遺伝子変異は認められないことから、がんは変異をもたない上皮から発生していると考えられ、炎症耐性遺伝子変異を持つことはその細胞のがん化には抑制的に働く可能性があります（図 4）。



【図 4】炎症耐性遺伝子変異と大腸がん合併・発がんとの関係

大腸がんを有する潰瘍性大腸炎の患者では、高い割合で遺伝子変異の幹細胞クローンの拡大を認める。一方で、大腸がんは遺伝子変異を持たない大腸上皮を母地として発生する。

興味深いことに、これまでのマウスを用いた実験の報告から、今回発見した遺伝子変異が大腸粘膜に広がると、腸内環境が変化し、腸炎が悪化することが示されています。このことから、炎症耐性遺伝子変異はヒトの潰瘍性大腸炎においても、これを持つ細胞のがん化を抑制する一方、その作用により腸炎を悪化させ、周囲の変異を持たない細胞の発がん要因となっている可能性が考えられます。

本研究成果は、これまで不明であった潰瘍性大腸炎の慢性的な治療困難性や増悪などの原因解明につながる重要な手がかりとなる可能性があります。

#### 論文情報

タイトル Somatic inflammatory gene mutations in human ulcerative colitis epithelium

雑誌 Nature

#### 日文发布全文

<https://www.keio.ac.jp/ja/press-releases/2019/12/19/28-66342/>

文：JST 客观日本编辑部翻译