

# 研究報告書

研究課題：A（一般）

（平成26年度）

平成28年4月19日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 高山昭三 殿

研究施設 関西医科大学  
病理学第一講座  
住 所 〒573-1010  
大阪府枚方市新町2-5-1  
南館10階1011号室

研究者氏名 熊野 恵城



（研究課題）

肺癌の起源の違いに基づいたがん幹細胞を標的とした新たな治療標的の探索

平成27年 4月 1日付助成金交付のあった標記指定課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

成体幹細胞に発現しているマーカー（今回 Bmi1, c-kit, lgr5, lgr6 について検討した）の各種プロモーター下に Cre-ERT2 を発現する遺伝子改変マウスと Cre の DNA recombinase 活性により蛍光蛋白質を発現するレポーターマウス（Rosa26-rainbow など）を掛け合わせ、Tamoxifen を腹腔内投与することで Cre-ERT2 を活性化させ幹細胞を in vivo にて標識し、幹細胞およびその子孫である分化細胞の追跡を行った。Bmi1, c-kit については放射線による肺障害モデルにおいて、I 型肺胞上皮および II 型肺胞上皮の両方が再生されることがわかり、これらは肺胞領域の幹前駆細胞であることがわかった。Bmi1 は SPC 陽性の II 型肺胞上皮細胞の一部に発現していることを確認した。

さらに Bmi1-CreERT2/Loxp-STOP-Loxp(LSL) KrasG12D を作製することにより幹細胞マーカーを発現する細胞に tamoxifen(TM) 誘導により Kras 変異を発現させた。また同時に上記のマルチカラーモザイクマウス（Rainbow マウス）を同時に用いて腫瘍が 1 つの幹細胞から clonal に増殖していることを確認した。病理学的な観察により、Kras 変異単独でがん化はこのような clonal な増殖に引き続き TM 投与後 16 週以降で起こり始めるが、同時にがん抑制遺伝子である p53 や Rb を欠失させることで、clonal な増殖の増強とともに早期に（TM 投与後 8 週以降）がん化が起こることがわかった。Rb の欠失は、肺腺癌から小細胞癌への形質転換の際に認められることが報告されているものの今回の短期間（TM 投与後 12 週以降全例死亡する）ではそのような変化は観察されなかった。

一方で分化した II 型肺胞上皮細胞 (alveolar type 2(AT2) cell) 由来：SPC-CreERT2/LSL Kras G12D により AT2 細胞特異的に TM 誘導により Kras 変異を発現させたところ、AT2 細胞の clonality な増殖は認めたが、腫瘍化することなく現在のところ全例 TM 投与後 8w 以内で死亡しており、おそらく肺サーファクタントの過剰分泌による窒息が死因と考えられる。そのため現在 TM の投与量の調節を行っており、それにより長期の観察を可能になると考えられる。