

PRESS RELEASE (2016/5/11)



北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY



慶應義塾大学
Keio University

がんになりにくい長寿ハダカデバネズミから初めて iPS 細胞作製に成功

～二重の防御で腫瘍を作らないことを発見～

研究成果のポイント

- ・長寿命で、がんになりにくい体質のハダカデバネズミから iPS 細胞を作製することに初めて成功した。
- ・マウスやヒトの iPS 細胞は、未分化な細胞が混入すると腫瘍（奇形腫）を形成する問題があるが、ハダカデバネズミの iPS 細胞は未分化な状態で移植しても腫瘍を形成しなかった。
- ・ハダカデバネズミだけが持つ、初期化やがん化を二重に防ぐメカニズムを明らかにした。将来は、人間の健康長寿やがんの予防に役立つと期待される。

研究成果の概要

北海道大学遺伝子病制御研究所の三浦恭子講師，慶應義塾大学医学部生理学教室の岡野栄之教授らの研究グループは，約 30 年の長寿命で，がんになりにくい体質の「ハダカデバネズミ」から iPS 細胞を作製することに世界で初めて成功しました。

マウスやヒトなど他の動物の iPS 細胞は，生体に移植する際に未分化な細胞が混入すると腫瘍（奇形腫）を形成する問題がありますが，ハダカデバネズミ iPS 細胞は未分化な状態で移植されても腫瘍を形成しませんでした。本研究グループは，ハダカデバネズミ iPS 細胞が，がん抑制遺伝子 ARF の活性化と，がん遺伝子 ERAS の機能欠失によって腫瘍を形成しないことを明らかにしました。さらに，iPS 細胞の作製過程に着目した解析から，ARF が不活性化された場合には，ハダカデバネズミ特有のがん化抑制メカニズム ASIS（ARF suppression-induced senescence）により，細胞の増殖を止めて，iPS 細胞化を防ぐことを見いだしました。また，マウス iPS 細胞で，ARF を活性化させると，腫瘍形成が強く抑制されることが分かりました。この発見は今後，人間の健康長寿やがんの予防に役立つと期待されます。

本研究成果は，2016 年 5 月 10 日（英国時間）に英国科学誌「ネイチャー・コミュニケーションズ」オンライン版で公開されました。

なお，本研究は，科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業^{※1}，内閣府/日本学術振興会最先端研究開発支援プログラム（FIRST）^{※2}，文部科学省科学研究費補助金，文部科学省新学術領域研究の一環で実施されました。

論文発表の概要

研究論文名： Tumour resistance in induced pluripotent stem cells derived from naked mole-rats

(ハダカデバネズミ iPS 細胞の腫瘍化耐性)

著者：宮脇慎吾^{1,2}, 河村佳見¹, 大岩祐基¹, 清水厚志³, 八谷剛士³, 坊農秀雅⁴, 古家育子², 岡田洋平⁵, 木村徳宏⁶, 土屋喜洋⁷, 鈴木禎史², 大西伸幸², 葛巻直子⁷, 松崎有未⁸, 成田年⁷, 池田栄二⁶, 岡ノ谷一夫⁹, 清野研一郎¹, 佐谷秀行², 岡野栄之², 三浦恭子¹

(1. 北海道大学 2. 慶應義塾大学 3. 岩手医科大学 4. ライフサイエンス統合データベースセンター 5. 愛知医科大学 6. 山口大学 7. 星薬科大学 8. 島根大学 9. 東京大学)

公表雑誌： *Nature Communications*

公表日：日本時間（現地時間）2016年5月10日（火）午後6時（英国時間 2016年5月10日（火）午前10時）

研究成果の概要

(背景)

ハダカデバネズミ^{注1)} (図1) は、マウスと同等の約10センチメートルの大きさでありながら、生存期間がマウスの約10倍の約30年という長寿命のげっ歯類です。さらに、その長い生涯で極めて腫瘍ができにくいという、がん化耐性の特長を持っています。ハダカデバネズミの長寿やがん化耐性のメカニズムを解明することは、人間の健康長寿やがんの予防に役立つと期待されます。

体細胞を初期化することで作製される iPS 細胞^{注2)} は、未分化な状態で細胞移植治療に用いられることはなく、神経や心筋などに分化させた細胞が移植されます。iPS 細胞の腫瘍化リスクには大きく2つの問題が存在します。分化させた細胞が移植された後のがん化する問題と、未分化な状態で生体に移植されると腫瘍（奇形腫^{注3)}）を形成する問題です。本研究では、後者の未分化な細胞が形成する腫瘍を対象としました。

正常な体細胞は、がん遺伝子の活性化やがん抑制遺伝子の不活性化の異常が起こると、腫瘍を形成するようになります。iPS 細胞とがん細胞は、半永久的に増殖をする能力があるなど、様々な共通点があります。近年、体細胞から iPS 細胞への初期化過程とがん化過程にも、共通したメカニズムが存在することが明らかになってきています。そこで、本研究では、ハダカデバネズミのようながん化耐性動物から iPS 細胞を作製できるのか、また、作製できた場合に iPS 細胞は腫瘍形成能（奇形腫形成能）^{注4)} を持つのかを検証しました。

(研究成果)

ハダカデバネズミの皮膚から線維芽細胞^{注5)} を作製し、マウスやヒトなど他の動物と同等の方法で、初期化に必要な Oct4, Sox2, Klf4, cMyc の4因子を遺伝子導入したところ、ハダカデバネズミ iPS 細胞の作製に成功しました (図2)。ハダカデバネズミ iPS 細胞は培養下での多分化能を持つにも関わらず、未分化な状態で生体に移植しても、他の動物の iPS 細胞のように腫瘍を形成せず、腫瘍化耐性を持つことが判明しました (図3)。そこで、ハダカデバネズミ iPS 細胞の腫瘍化耐性メカニズムを解析しました。

腫瘍形成能を持つマウスやヒトの iPS 細胞では、2つのがん抑制遺伝子 INK4a と ARF^{注6)} の発現が強く抑制されています。しかし、ハダカデバネズミ iPS 細胞では、INK4a の発現は抑制されている一方で、ARF の発現は活性化状態が保たれていました。

次に、マウス ES 細胞の腫瘍形成能における重要因子、がん遺伝子 ERAS^{注7)} の配列を解析しました。その結果として、ハダカデバネズミの ERAS には他の動物では認められない 4 塩基の挿入が存在し、ERAS タンパクの機能不全をもたらすフレームシフト変異^{注8)} が生じていました。

ハダカデバネズミ iPS 細胞で、活性化している ARF を人工的に抑制し、機能不全のハダカデバネズミ ERAS の代わりにマウスの ERAs を導入したところ、ハダカデバネズミ iPS 細胞は腫瘍形成能を獲得し、生体へ移植すると奇形腫を形成しました。さらに、マウス iPS 細胞でハダカデバネズミと同様に Arf を活性化させると、生体に移植した際の腫瘍形成能が強く抑制されることが明らかになりました (図 4)。以上の結果から、ハダカデバネズミ iPS 細胞は、ARF の活性化と ERAS の機能欠失により腫瘍化耐性を持っていると考えられます (図 5)。

初期化やがん化を誘導することは、正常な細胞にとってストレスとして働きます。ARF はこれらのストレスに応答して活性化し、細胞を初期化やがん化から守ります。この ARF による防御機構を突破した細胞が、iPS 細胞やがん細胞になると考えられています。実際に、iPS 細胞や多くのがん細胞では ARF が抑制または欠失しています。また、これまでの実験で、マウス iPS 細胞の作製中に ARF を抑制すると、マウス細胞の増殖速度は上昇し、より多くの細胞が iPS 細胞になることが知られています。

本研究グループは、ハダカデバネズミでも同様に実験し、ストレスに対する応答性を検証しました。ハダカデバネズミ細胞に初期化因子を導入して初期化ストレスを与えたところ、マウスやヒトと同様に ARF が活性化しました。次に、初期化ストレス下で活性化した ARF を人工的に抑制したところ、マウスとは対照的に、ハダカデバネズミ細胞の増殖が止まり、iPS 細胞が出現しなくなりました。解析の結果、ARF が抑制されたハダカデバネズミ細胞は、がん抑制機構の一つである「細胞老化^{注9)}」の状態になることが分かりました (図 6)。本研究グループはこの現象を「ASIS : ARF suppression-induced senescence (ARF 抑制時細胞老化)」と命名しました。ハダカデバネズミでは、初期化ストレス下で ARF が抑制されると、細胞老化によって細胞が増殖を停止するため、対照的に増殖する細胞である ARF の活性化した腫瘍化耐性 iPS 細胞が選択されたと考えられます。

次に、ASIS が初期化過程のみならず、がん化過程でも生じるのかを検証しました。ハダカデバネズミ細胞にがん化ストレスとして、がん遺伝子 cMYC の過剰発現や、細胞培養による増殖ストレスを加え、同時に ARF を人工的に抑制した結果、がん化ストレス下でも、ASIS が生じることが分かりました。

マウスやヒトなどの哺乳類の細胞では、初期化やがん化のストレスを受けると、防御機構として ARF が活性化されます。一方で、ハダカデバネズミでは、ARF の活性化だけでなく、ARF が抑制されてしまう状況でも ASIS が機能し、二重の防御機構で初期化やがん化を抑制すると考えられます。

(本研究による波及効果)

iPS 細胞は、様々な細胞へと分化する多能性を持つことから、細胞移植治療への応用が期待されていますが、腫瘍形成能が細胞移植治療の障害の一つになっています。ハダカデバネズミ iPS 細胞に特有の腫瘍化耐性メカニズムを応用することにより、より安全なヒト iPS 細胞の作製につながる可能性があります。

(今後への期待)

ハダカデバネズミに特有のがん化耐性メカニズムの一つとして、ASIS を発見することができました。今後 ASIS の詳細なメカニズムを研究することによって、ハダカデバネズミの体の「がん化耐性」

の仕組みが解明され、将来は人間にも応用できる新たながん化抑制方法の開発につながると期待されます。

お問い合わせ先

<研究に関すること>

北海道大学遺伝子病制御研究所 動物機能医科学研究室 講師 三浦 恭子 (みうら きょうこ)

TEL : 011-706-6053 FAX : 011-706-6053 E-mail : miura@igm.hokudai.ac.jp

URL : <http://www.igm.hokudai.ac.jp/debanezumi/>

<JSTの事業に関すること>

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ 川口 哲

TEL : 03-3512-3525 FAX : 03-3222-2067 E-mail : presto@jst.go.jp

<報道担当>

北海道大学総務企画部広報課

〒060-0808 北海道札幌市北区北8条西5丁目

TEL : 011-706-2610 FAX : 011-706-2092 E-mail : kouhou@jimuhokudai.ac.jp

URL : <http://www.hokudai.ac.jp>

科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町5番地3

TEL : 03-5214-8404 FAX : 03-5214-8432 E-mail : jstkocho@jst.go.jp

URL : <http://www.jst.go.jp/>

慶應義塾大学 信濃町キャンパス総務課

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

URL : <http://www.med.keio.ac.jp/>

(用語解説)

1. ハダカデバネズミ (*Heterocephalus glaber*, Naked Mole-Rat) : アフリカ(ケニア, ソマリア, エチオピア)に生息する小型げっ歯類。長寿命で、がん化に対して耐性があることが報告され、研究対象として世界的に注目されている。長寿やがん化耐性の他にも、低酸素環境に対する耐性や低体温など、様々な生物学的に興味深い性質を持つ。
2. iPS細胞 (induced pluripotent stem cells) : 体細胞に Oct4, Sox2, Klf4, cMyc などの因子を発現させて初期化することにより作製される多能性幹細胞。
3. 奇形腫 : 未分化な iPS 細胞は免疫不全マウスに移植すると奇形腫と呼ばれる腫瘍を形成する。この腫瘍は様々な細胞に分化した組織を含むため、iPS 細胞の分化能の検定に用いられる。

4. 腫瘍形成能（奇形腫形成能）：本研究での定義は，免疫不全マウスなどの生体に移植した際に固形腫瘍を形成する能力のことである。
5. 線維芽細胞：全身の結合組織を構成する細胞。本研究では皮膚の結合組織から作製した。
6. INK4a と ARF：代表的ながん抑制遺伝子の一つ。INK4a と ARF は，同一の遺伝子座に存在し，全く異なるアミノ酸配列の 2 つのタンパク質が作られる。INK4a はマウスでは別名 p16 と呼ばれ，がん抑制遺伝子の Rb を制御する。ARF はマウスでは p19 と呼ばれ，がん抑制遺伝子 p53 を制御する。これらの遺伝子の破綻は，がんの初期発生に重要である。
7. ERAS：マウスの ES 細胞のみに発現するがん遺伝子で，マウス ES 細胞の腫瘍形成能を活性化させる。
8. フレームシフト変異：遺伝子変異の一つで，塩基の挿入により，アミノ酸変化時の読み枠がずれる。結果として異なるタンパク質が生じたり，途中で終止コドンが生じたりする。
9. 細胞老化：体細胞にがん遺伝子を発現させた時などに生じるがん抑制機構の一つ。細胞は不可逆的に増殖を停止する。

※1：科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（研究者 三浦 恭子）

※2：内閣府/日本学術振興会・最先端研究開発支援プログラム「心を生み出す神経基盤の遺伝学的解析の戦略的展開」（中心研究者 岡野 栄之）

【参考図】



図1 ハダカデバネズミ

北海道大学遺伝子病制御研究所で飼育されているハダカデバネズミ

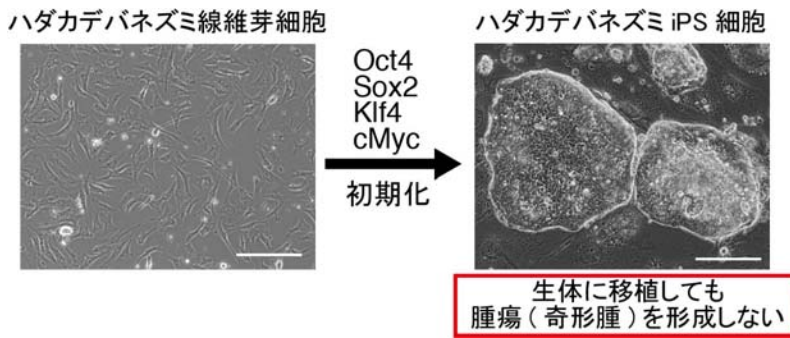


図2 ハダカデバネズミ iPS 細胞の作製

- (左) ハダカデバネズミ皮膚由来の線維芽細胞
- (右) 線維芽細胞を初期化して作製したハダカデバネズミ iPS 細胞

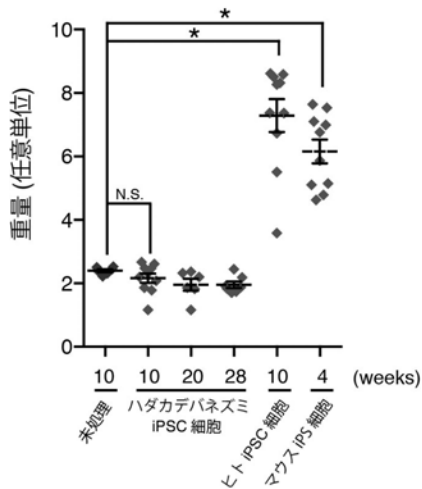


図3 ハダカデバネズミ iPS 細胞は腫瘍を形成しない

免疫不全マウスにハダカデバネズミ iPS 細胞を移植し、28 週を経過観察しても腫瘍が認められなかった。対照群としてマウス・ヒト iPS 細胞を移植した場合は腫瘍を形成した。

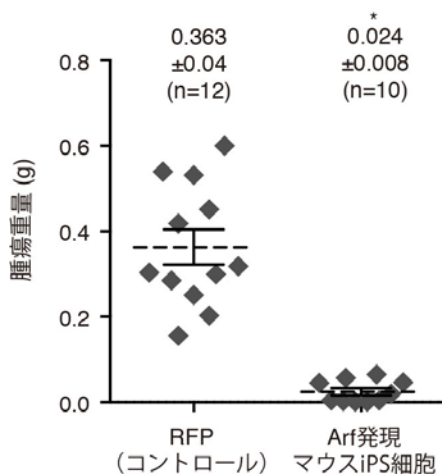


図4 ARF 発現マウス iPS 細胞は腫瘍形成能が減弱する

ハダカデバネズミ iPS 細胞から得られた知見をもとに、マウス iPS 細胞に ARF を発現させると、腫瘍形成能が減弱した。

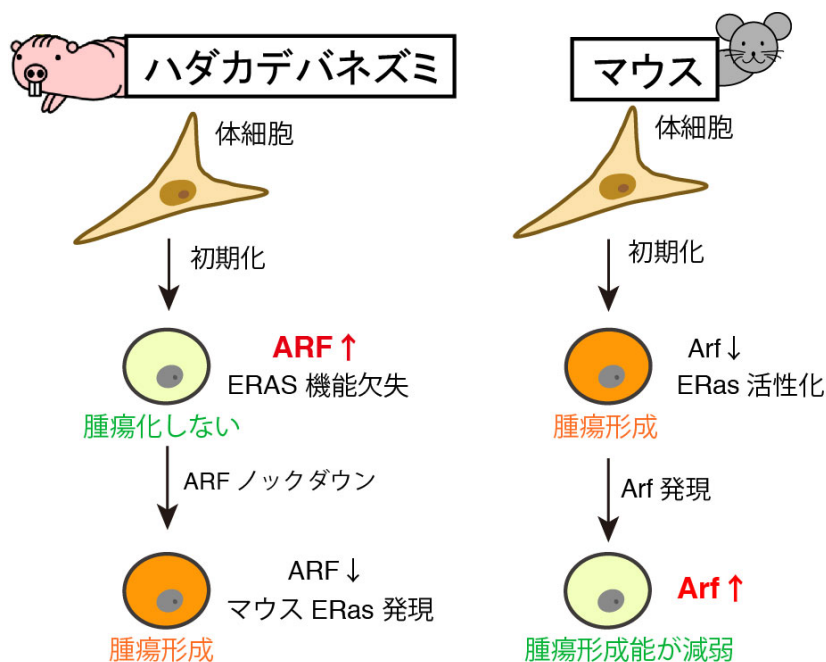
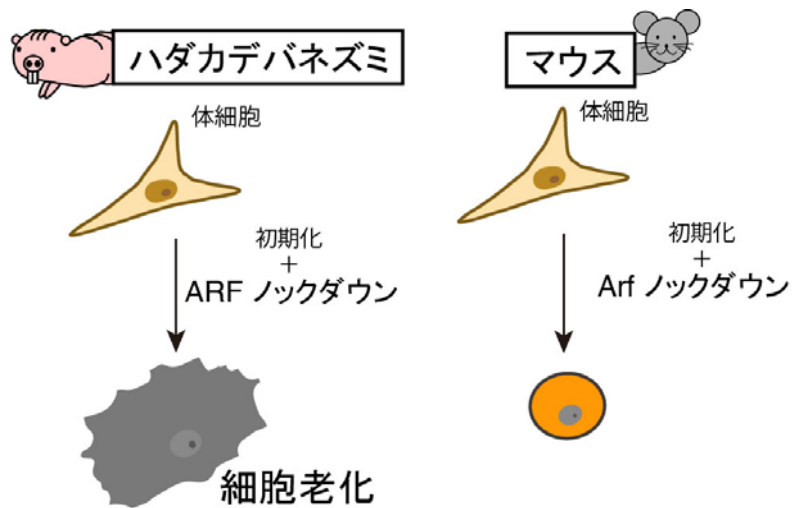


図5 ハダカデバネズミ iPS 細胞の腫瘍化耐性メカニズム

ハダカデバネズミ iPS 細胞は ARF の活性化と ERAS の機能欠失により腫瘍を形成しない。マウス iPS 細胞に ARF を発現させると腫瘍形成能が減弱する。



ASIS: ARF Suppression-Induced Senescence

がん遺伝子の発現などのストレス下でも生じる

図6 ハダカデバネズミ特有の腫瘍化に対する防御機構 (ASIS)

ハダカデバネズミ細胞は活性化していた ARF が抑制されるとハダカデバネズミ特有の細胞老化を起こし、細胞増殖を停止する。