

大腸腫瘍進展の新たな分子機序の解明

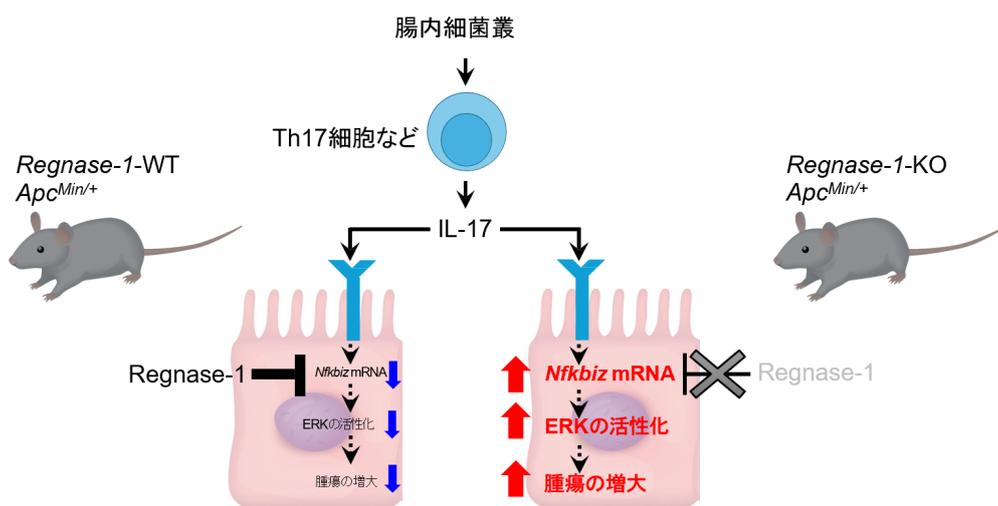
—Regnase-1 は *NFKBIZ* mRNA の分解を介して IL-17 signaling を制御し、
大腸腫瘍の発育を抑制する—

概要

京都大学大学院医学研究科消化器内科学の井口恵里子博士研究員(研究当時)、高井淳講師、妹尾浩教授らの研究グループは、大腸腫瘍の進展に関わる新たな分子メカニズムを明らかにしました。

RNA 分解酵素である Regnase-1 は、IL-17 経路の重要な分子である *NFKBIZ* mRNA を分解し、IL-17 経路の活性を抑える働きがあることが分かっています。IL-17 経路は大腸腫瘍の発育を促進する働きがあること、大腸粘膜上皮細胞には Regnase-1 が生理的に発現していることに着目し、Regnase-1 の大腸腫瘍における役割を解明する目的で研究を開始しました。大腸腫瘍モデルである *Apc^{Min/+}* マウスで腸管上皮特異的に *Regnase-1* を欠損させると (*Reg1^{KO}-Min*)、大腸腫瘍が有意に増加・増大しました。網羅的な遺伝子発現解析では、*Reg1^{KO}-Min* の腫瘍組織で *Nfkbiz* とその下流の分子の発現が上昇しており、さらに、*Reg1^{KO}-Min* で *Nfkbiz* を欠損させると腫瘍が著明に減少・縮小することから、*Nfkbiz* が Regnase-1 の標的分子と考えられました。Regnase-1 発現安定作用を有する Dimethyl Fumarate (DMF) を投与すると、Regnase-1 発現を有する *Apc^{Min/+}* マウス (*Reg1^{WT}-Min*) では大腸腫瘍がリン酸化 ERK の発現低下を伴って有意に減少・縮小するものの、*Reg1^{KO}-Min* では DMF の抗腫瘍効果が認められないことから、DMF は Regnase-1 の発現安定化を介して IL-17 経路の活性化を抑制し、リン酸化 ERK などの増殖シグナルを低下させ、大腸腫瘍抑制効果を示すと考えられました。ヒト大腸腫瘍組織を用いた検討でも、Regnase-1 と *NFKBIZ* の発現は逆相関することや、Regnase-1 低発現群の予後が不良であることが分かりました。以上より、Regnase-1 は *NFKBIZ* mRNA の分解を介して IL-17 経路を制御し、大腸腫瘍の発育を抑制することが明らかとなりました。

本研究成果は、2025 年 6 月 3 日、国際学術誌「*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*」にオンライン掲載されました。



本研究の概要図

1. 背景

大腸癌の罹患患者数は増加傾向にあり、死亡者数も男性で3位、女性で1位と非常に多いことが知られています。特に、進行癌は治療不応となることも多く、病態解明と新規治療の開発が強く求められています。

大腸には腸内細菌叢が存在するため、免疫環境が特殊であり、Th17細胞と言われるT細胞系のリンパ球が生理的に分布しています。Th17細胞はIL-17と呼ばれる炎症性サイトカインを分泌し、腸管上皮細胞の増殖や感染防御などに寄与する一方で、IL-17には大腸癌の進展を促進させる作用があることが知られています。しかしながら、IL-17関連分子を標的とした治療の臨床応用はまだなされていません。

RNA分解酵素であるRegnase-1は、主に免疫細胞に発現して、炎症性サイトカインであるIL-6 mRNAを分解することで免疫応答の調節を行う分子として最初に報告されましたが、その後の研究で、IL-17経路の重要なメディエーター分子である*NFKB1* mRNAを分解することで、IL-17シグナリングの活性を抑制することが分かっています。このRegnase-1は、免疫細胞のみならず、大腸粘膜などの腸管上皮細胞にも生理的に発現しており、潰瘍性大腸炎症例では腫瘍発生に対して抑制的な役割を果たしていることが最近報告されました。しかしながら、大腸上皮でRegnase-1が主に分解標的とする分子や、炎症性腸発癌以外のいわゆる「通常の大腸癌」の進展における役割については明らかになっていませんでした。

2. 研究手法・成果

まず、腸管上皮特異的に*Regnase-1*を欠損したマウスと、*Apc*遺伝子変異により大腸腫瘍を自然発生するモデルである*Apc*^{Min/+}マウスを用いて実験を行いました。両者を交配し、その表現型を解析したところ、*Regnase-1*を欠損した*Apc*^{Min/+}マウス(*RegI*^{KO}-Min)では、*Regnase-1*を欠損していない*Apc*^{Min/+}マウス(*RegI*^{WT}-Min)に比較し、大腸腫瘍の有意な増加と増大が認められました。また、*RegI*^{KO}-Minの大腸腫瘍細胞で、増殖活性を表すKi67やリン酸化ERKの発現が上昇していることが分かりました。

次に、Regnase-1がどのようなmRNAを分解しているのかを調べるために、*RegI*^{WT}-Minと*RegI*^{KO}-Minの大腸腫瘍を対象に、網羅的な遺伝子発現解析を行いました。その結果、抗菌ペプチドであるDefensinに関する遺伝子群などに変動が認められましたが、中でも、従来Regnase-1の標的分子として知られている*Nfkbiz*の発現が*RegI*^{KO}-Minの大腸腫瘍で有意に上昇していることが分かりました。網羅的解析の結果で、IL-17経路の中でも、*Nfkbiz*よりも上流の分子の発現には変動がないにもかかわらず、*Nfkbiz*の下流分子は大きく変動していたことから、*Nfkbiz*は大腸上皮細胞におけるRegnase-1の重要な標的分子の一つであると考えられました。

腸管内でIL-17経路の活性化には、主に腸内細菌叢が関与することから、*RegI*^{WT}-Minと*RegI*^{KO}-Minに抗生剤を投与し、その表現型を解析しました。その結果、抗生剤を投与したマウスでは、*RegI*^{WT}-Minと*RegI*^{KO}-Minともに、IL-17の発現低下を伴って、大腸腫瘍が減少・縮小することが分かりました。また、IL-17に対する中和抗体を両者に投与して表現型の解析を行いました。上記と同様の腫瘍抑制効果が得られました。さらに、*RegI*^{WT}-Minと*RegI*^{KO}-Minのそれぞれと*Nfkbiz*欠損マウスを交配させ、表現型を解析したところ、やはりいずれのマウスでも大腸腫瘍が著明に減少・縮小することが分かりました。以上より、腸内細菌叢によって活性化されるIL-17経路の重要な分子である*Nfkbiz*の発現が大腸腫瘍の進展を促進させる一方、Regnase-1は*Nfkbiz* mRNAを分解することで腫瘍抑制的に作用している可能性が示唆されました。

Regnase-1を標的とした新たな治療を考案するにあたり、Dimethyl Fumarate (DMF)と呼ばれる薬剤に着目しました。DMFは米国食品医薬品局で多発性硬化症や乾癬(いずれも病態にIL-17経路が関与すると言われています)に対する治療薬としてすでに認可されており、Regnase-1のリン酸化を阻害してその発現を安定化

させる作用があると報告されています。DMF の大腸上皮細胞に対する作用について、まず細胞培養実験で検討を行いました。大腸癌細胞株である HT29 細胞に IL-17 を加えると、Regnase-1 発現は低下し、*Nfkbiz* とリン酸化 ERK の発現が上昇しました。一方、DMF を添加して同様の実験を行ったところ、Regnase-1 の発現は維持され、*Nfkbiz* とリン酸化 ERK の発現は抑制されました。次に、マウスの大腸上皮細胞から作成したオルガノイドを用いて同様の検討を行いました。*RegI^{WT}*-Min の大腸オルガノイドに対して DMF を加えると、リン酸化 ERK の発現は抑制されましたが、*RegI^{KO}*-Min の大腸オルガノイドでは、DMF によるリン酸化 ERK の発現抑制効果が認められませんでした。

続いて、DMF のマウス投与実験を行いました。野生型マウスに DMF を投与すると、細胞実験の結果と同様に、Regnase-1 の発現が維持され、*Nfkbiz* とリン酸化 ERK の発現が低下することを確認しました。そこで、*RegI^{WT}*-Min と *RegI^{KO}*-Min に DMF を投与して、その表現型を解析したところ、*RegI^{WT}*-Min では DMF 投与により、Ki67 陽性細胞の減少や *Nfkbiz*・リン酸化 ERK の発現低下を伴って、大腸腫瘍が著明に減少・縮小しましたが、*RegI^{KO}*-Min では DMF を投与しても *Nfkbiz* は減少せず、抗腫瘍効果も認められませんでした。これらの結果より、DMF は Regnase-1 の発現安定化を介して IL-17 経路の活性化を抑制し、リン酸化 ERK などの増殖シグナルを低下させ、大腸腫瘍抑制効果を示すと考えられました。

最後に、ヒト大腸癌における Regnase-1 と NFKBIZ の発現の相関や、予後との関連についての解析を行いました。京都大学医学部附属病院で内視鏡的もしくは外科的切除を行った 11 例の大腸腫瘍症例の組織検体を用いて免疫染色による解析を行ったところ、多くの症例では非腫瘍部よりも腫瘍部で Regnase-1 が強く発現しており、NFKBIZ の発現は低く抑えられていましたが、Regnase-1 の発現が低い腫瘍では NFKBIZ の発現が高く、両者は逆相関する傾向にありました。興味深いことに、ある症例では腫瘍内で部分的に Regnase-1 の発現が低くなっていましたが、そこでは NFKBIZ の発現が特異的に上昇していました。次に、The Cancer Genome Atlas と呼ばれるデータベースに公開されている大腸癌 379 症例の網羅的遺伝子発現データを解析し、IL-17 の発現が高い 68 症例を選出しました。これらを Regnase-1 高発現群と低発現群に分け、生存率を比較したところ、Regnase-1 低発現群で全生存率・無増悪生存率とも有意に低いことが分かりました。

以上より、Regnase-1 は *Nfkbiz* mRNA の分解を介して IL-17 経路を制御し、大腸腫瘍の発育を抑制することが明らかとなりました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により、Regnase-1 の IL-17 経路を介した大腸における抗腫瘍効果が明らかとなりました。今後は、すでに米国で認可されている DMF を含め、Regnase-1 を標的とした新たな治療薬の開発研究を進めたいと考えています。また、肝臓・胆道・膵臓領域の癌にも IL-17 が関与することが報告されており、これらの腫瘍における Regnase-1 や NFKBIZ の役割についても並行して研究を進める予定です。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の研究費にて行われました。

- ・科学研究費助成事業(19K08443, 22K07983, 23K15039, 23K27582)
- ・ムーンショット型研究開発制度(JPMJMS2022, JP22zf0127009)
- ・次世代がん医療加速化研究事業(24ama221515)
- ・共創の場形成支援プログラム(JPMJPF2018)

<用語解説>

IL-17：インターロイキン-17 の略称で、Th17 細胞と呼ばれるヘルパーT 細胞より、IL-23 の刺激により産生されます。IL-17 はいくつかの種類のケモカインと呼ばれる炎症惹起物質の産生を誘導し、自己免疫性疾患などの原因となることが知られていますが、腸管内では腸内細菌の刺激により恒常的に産生されています。

<研究者のコメント>

「Regnase-1 の大腸上皮細胞における標的分子を特定することを通して、大腸腫瘍の分子機序の一端を明らかにすることができたのは、今後の大腸癌の治療を考える上で大きな一歩になるのではないかと思います。この研究を進めるにあたっては紆余曲折があり、思うように進まない時期もありましたが、諦めずに取り組み続けた結果、このような形で論文発表できて大変喜ばしく思っております。これからも消化器癌の克服に向けて、ますます研究を精力的に進めていきたいと考えています。」（高井淳）

<論文タイトルと著者>

タイトル：Epithelial Regnase-1 inhibits colorectal tumor growth by regulating IL-17 signaling via degradation of *NFKB1Z* mRNA (Regnase-1 は Nfkbiz mRNA の分解を介して IL-17 signaling を制御することで大腸腫瘍の発育を抑制する)

著者：Eriko Iguchi, Atsushi Takai*, Natsumi Oe, Yosuke Fujii, Mayuki Omatsu, Haruhiko Takeda, Takahiro Shimizu, Takahisa Maruno, Yuki Nakanishi, Masanori Yoshinaga, Takashi Maruyama, Hiroyuki Marusawa, Kazutaka Obama, Osamu Takeuchi and Hiroshi Seno
(*Corresponding author)

掲載誌：*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*

DOI：10.1073/pnas.2500820122