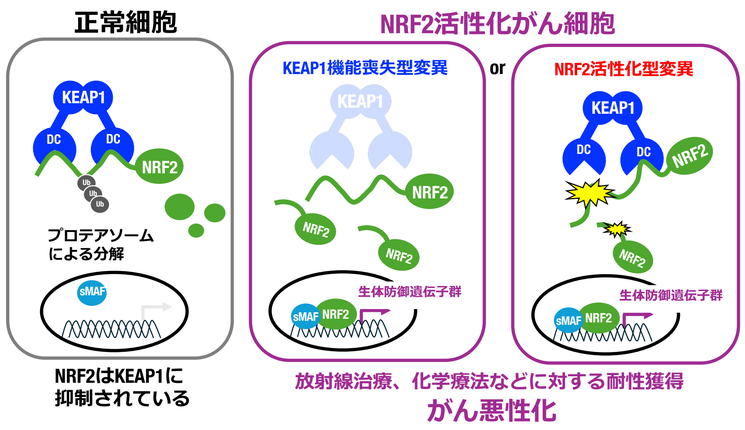
KEAP1体細胞変異を有する肺腺がん悪性化の分子基盤解明

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構 分子医化学分野　佐藤 美羽

概要

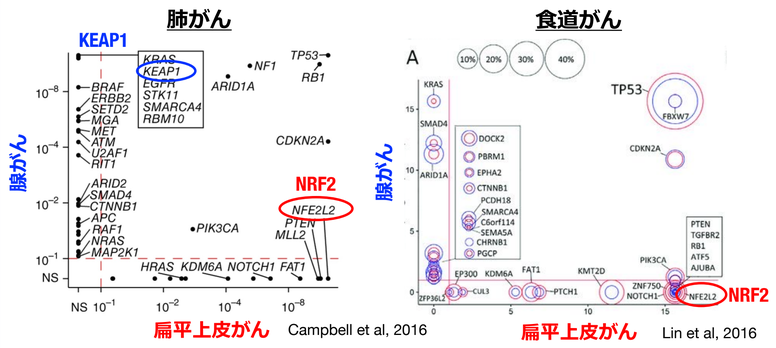
肺がんの中で約半数を占める腺がんは、体細胞変異頻度が高く、治療抵抗性を獲得して悪性化しやすい。KEAP1は生体防御機構のマスター転写因子NRF2の活性を抑制的に制御しているが、*KEAP1*は肺腺がんで高頻度に体細胞変異が認められる遺伝子の一つである。*KEAP1*変異が生じるとNRF2が恒常的に活性化し、抗がん治療に抵抗性を与える遺伝子群の発現を誘導して、がん細胞の悪性化に寄与する。同様のNRF2活性化は、*NRF2*遺伝子の体細胞変異によっても生じるが、興味深いことに、**肺腺がんでは*KEAP1*変異を高頻度に認め、*NRF2*変異は少ない**。一方、食道扁平上皮がんでは*KEAP1*変異が少なく*NRF2*変異が多く認められる。しかし、*KEAP1*変異が肺腺がん選択的、かつ高頻度に生じる分子メカニズムは未だ明らかにされていない。これまでに、扁平上皮特異的に遺伝子変異を導入したマウスの比較解析から、食道扁平上皮において、*KEAP1*変異細胞はすぐに消失する一方、*NRF2*変異細胞は長く生存可能であることを見出している。この結果を受けて本研究では、食道扁平上皮細胞とは反対に、**肺上皮細胞では*KEAP1*変異が生存に有利にはたらくという仮説**を立てた。この仮説を検証するために、食道や肺を含む臓器において全身性に*KEAP1*変異を誘導するマウスを作出し、食道と肺の比較解析を行なった。その結果、食道扁平上皮において*KEAP1*変異細胞は時間経過にともなって消失する一方、肺上皮において*KEAP1*変異細胞は長期残存することが示された。すなわち、***KEAP1*変異が食道扁平上皮細胞の生存に不利にはたらく一方、肺の腺上皮細胞の生存に有利にはたらく可能性**が示唆された。

背景1



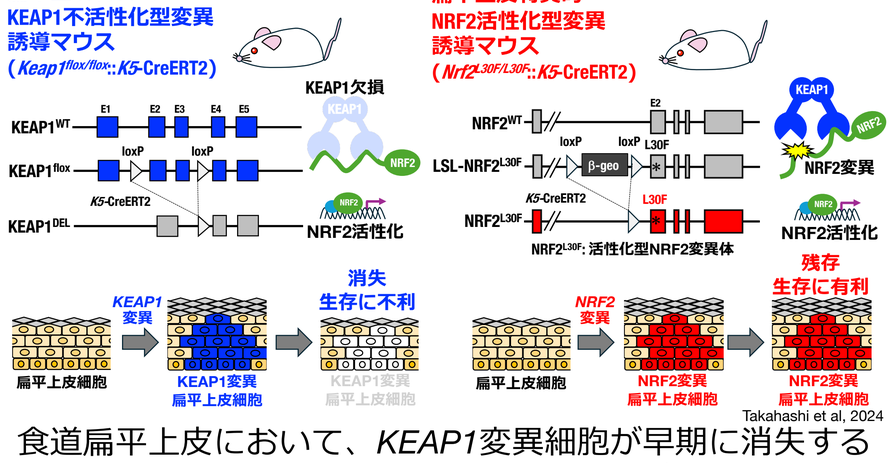
がん細胞における恒常的NRF2活性化は生体防御遺伝子群の発現を通してがん悪性化に寄与する。恒常的NRF2活性化は制御因子KEAP1の機能喪失型変異またはNRF2活性化型変異によって引き起こされる。

背景2



*KEAP1*変異および*NRF2*変異は同様にNRF2活性化を引き起こすが、*KEAP1*変異は腺がんで圧倒的に多く扁平上皮がんで少ない。このことから、*KEAP1*変異が腺がんの生存に有利に、扁平上皮がんの生存に不利にはたらく機構の存在が示唆される。

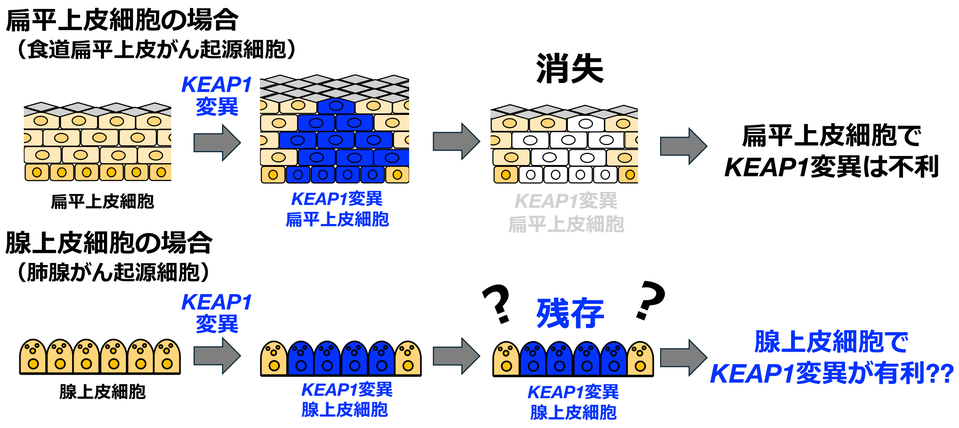
背景3



食道扁平上皮において、*KEAP1*変異細胞が早期に消失する一方、*NRF2*変異細胞は長期残存することが示された。このことが、扁平上皮がんで*KEAP1*変異が少なく*NRF2*変異が多く見出される理由と考えられた。

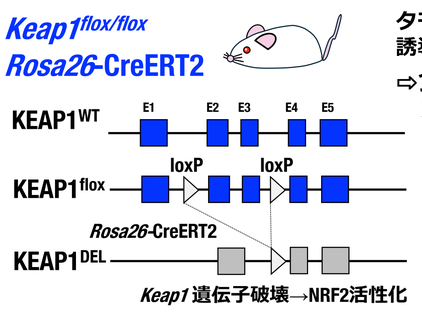
本研究の問い

肺の腺上皮細胞では*KEAP1*変異が生じても生存可能？

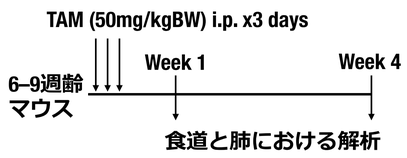


仮説
扁平上皮細胞とは反対に、
腺上皮細胞では*KEAP1*変異が生存に有利にはたらく

食道や肺を含む臓器において全身性にKEAP1不活性化型変異を誘導するマウスの創出



タモキシフェン（TAM）投与により誘導的かつ全身性に*Keap1*遺伝子破壊が可能
⇨食道（扁平上皮細胞）と肺（腺上皮細胞）の表現型を同一個体内で比較できる！



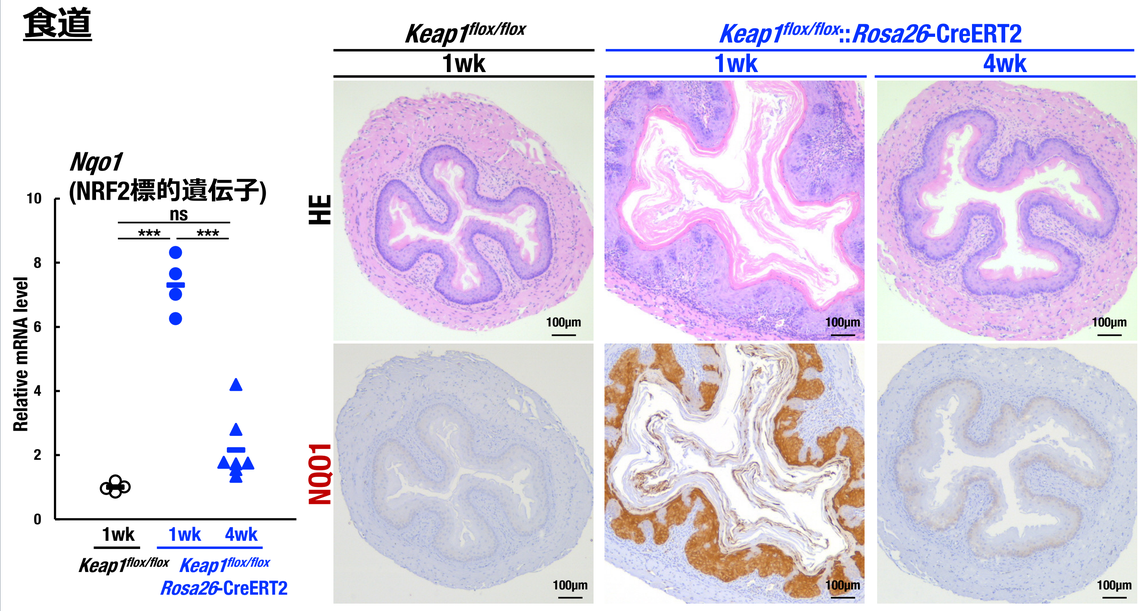
まとめ

- 食道扁平上皮：*KEAP1*変異細胞は時間経過に伴い消失
- 肺の腺上皮細胞：*KEAP1*変異細胞は長期残存

⇨*KEAP1*変異が食道扁平上皮細胞の生存に不利である一方、肺の腺上皮細胞の生存に有利にはたらく可能性が示された

結果1:食道における*KEAP1*変異扁平上皮細胞は早期に消失する

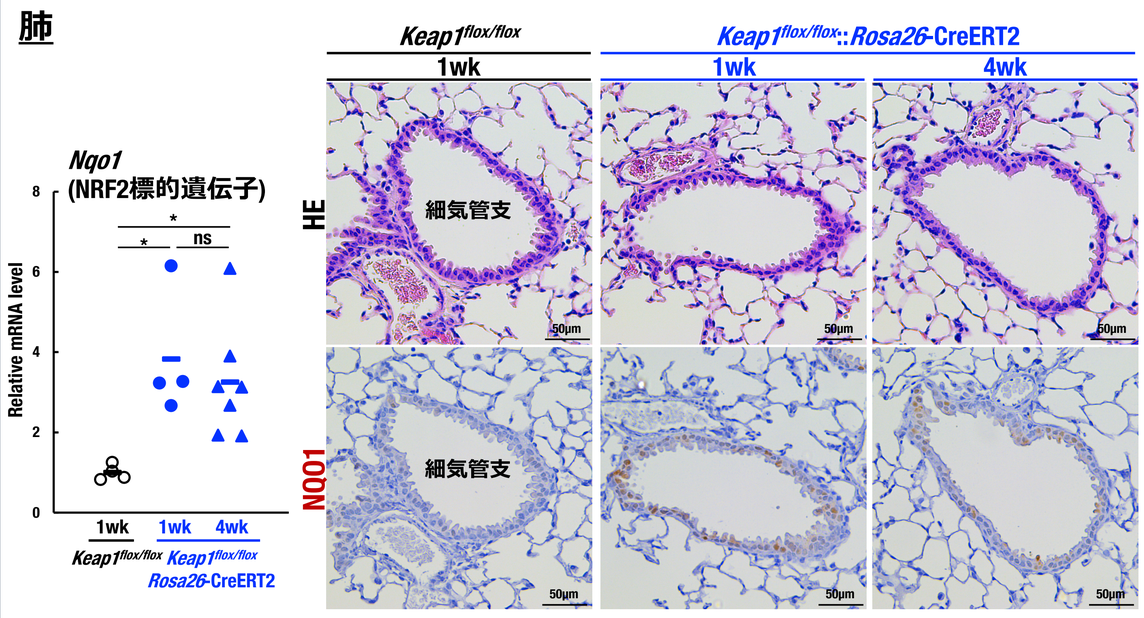
食道



Keap1$^{flox/flox}$::*Rosa26*-CreERT2マウス食道において、TAM投与1週後に見られたNQO1陽性細胞が4週後に消失していた。この結果はK5-CreERT2を用いた先行研究の結果と一致しており、食道扁平上皮において、*KEAP1*変異細胞が早期に消失することが示された。

結果2:肺における*KEAP1*変異腺上皮細胞は長期残存する

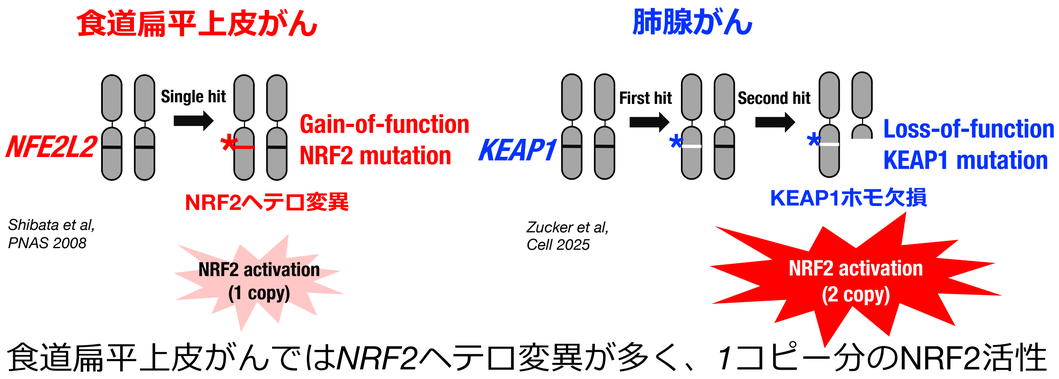
肺



Keap1$^{flox/flox}$::*Rosa26*-CreERT2マウス肺において、TAM投与1週後に見られたNQO1陽性細胞が4週後も維持されていた。このことから、食道扁平上皮細胞とは異なり、肺の腺上皮細胞において、*KEAP1*変異細胞が生存可能であることが示された。

考察1

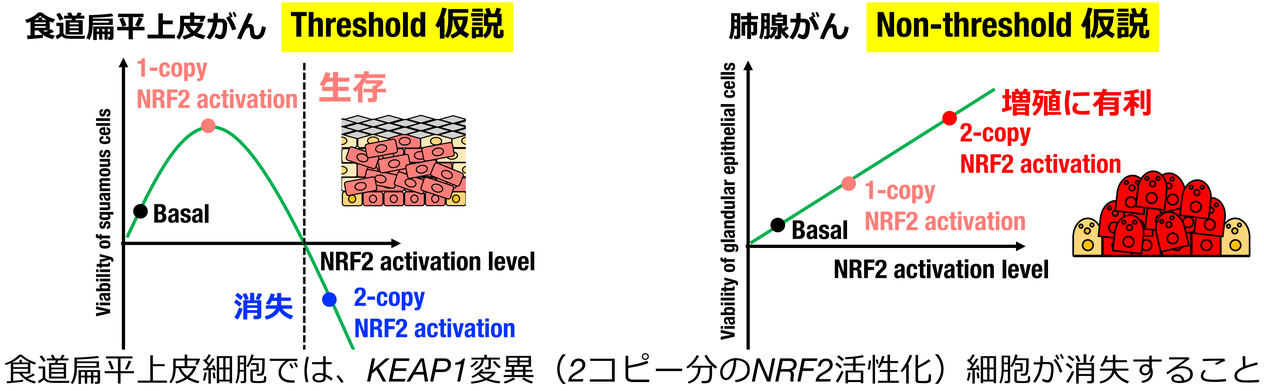
食道扁平上皮がんと肺腺がんではKEAP1とNRF2の変異遺伝子の違いだけでなく、NRF2活性化レベルが異なる



食道扁平上皮がんでは*NRF2*ヘテロ変異が多く、*1*コピー分のNRF2活性化が生じていると考えられる。一方、肺腺がんでは*KEAP1*ホモ欠損が多く、*2*コピー分のNRF2活性化が生じていると考えられる。細胞運命の違いはNRF2活性化の強さの違いに起因するものと考えられる。

考察2

なぜ*KEAP1*変異が腺上皮細胞の生存に有利にはたらくのか？



食道扁平上皮細胞では、*KEAP1*変異（*2*コピー分の*NRF2*活性化）細胞が消失することから、ある一定のNRF2活性化レベル（閾値）を超えると生存に不利になる「Threshold仮説」が考えられる。肺の腺上皮細胞では*KEAP1*変異細胞が生存可能であることから、NRF2活性化が強いほど生存に有利になる「Non-threshold仮説」が考えられる。食道扁平上皮細胞と肺上皮細胞の運命決定において、*NRF2*活性化レベルの閾値の有無があるのではないか？