

課題番号	LS050
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 22 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	抗がん剤抵抗性がん幹細胞をターゲットとする革新的がん治療戦略
研究機関・ 部局・職名	金沢大学・がん進展制御研究所・准教授
氏名	仲 一仁

1. 当該年度の研究目的

補助事業者は、慢性骨髄性白血病(CML)のマウスモデルを用い、TGF-β-FOXO シグナルががん幹細胞のチロシンキナーゼ阻害薬イマチニブに対する抵抗性獲得に必須な役割を担うことを発見した (Naka *et al.*, Nature 2010). さらに、このシグナルを抑制する TGF-β阻害薬を投与することにより、イマチニブ抵抗性のがん幹細胞を減少できることを報告した。しかし、CML のがん幹細胞において、TGF-β-FOXO シグナルによるイマチニブ抵抗性の制御メカニズムは解明されていない。平成 22 年度は、CML のがん幹細胞のチロシンキナーゼ阻害薬に対する抵抗性制御メカニズムを解明するため、マウス CML がん幹細胞を用いて TGF-β-FOXO シグナルの下流の標的遺伝子の探索を実施した。

2. 研究の実施状況

【CMLのがん幹細胞におけるTGF-β-FOXO標的遺伝子のスクリーニング】
 CMLのがん幹細胞におけるFOXO依存的TGF-β誘導遺伝子をスクリーニングするため、野生型、並びにFoxo3a欠損マウス由来のCMLがん幹細胞(cKit⁺Sca1⁺分化マーカー陰性細胞)を純化し、TGF-β処理後に誘導される遺伝子群をcDNAマイクロアレイにより解析した。さらに、CMLのがん幹細胞と大多数の分化したCML細胞との間での遺伝子発現プロファイリング解析をcDNAマイクロアレイにより実施し、野生型マウス由来のCMLで発現が誘導され、Foxo3a欠損マウス由来のがん幹細胞では発現誘導が認められない遺伝子の絞り込みを実施した。その結果、がん幹細胞特異的に高発現しているTGF-β-FOXO標的遺伝子の28候補遺伝子を絞り込むことに成功した。

【定量PCRによるTGF-β-FOXO標的遺伝子の発現検証】
 次に、定量PCRにより、TGF-β処理後の野生型、並びにFoxo3a欠損マウス由来のCMLがん幹細胞において転写誘導されるTGF-β-FOXO標的遺伝子を検証した。

【TGF-β-FOXO標的遺伝子のレポーターシステムの構築】
 マウスのゲノムDNAよりTGF-β-FOXO標的候補遺伝子のプロモーター領域を単離し、このプロモーターの制御下でルシフェラーゼ遺伝子を発現するレポーターシステムの構築した。今後、このTGF-β-FOXO標的遺伝子のレポーターシステムを用い、TGF-βシグナルによるFOXOの上流の制御メカニズムの解析と、下流標的遺伝子による抗がん剤抵抗性メカニズムの解析を行う計画である。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計 1 件	(掲載済み一査読有り) 計 0 件 (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 1 件 1. <u>Naka K.</u> , Hirao A. Maintenance of genomic integrity in hematopoietic stem cells. International Journal Hematology 2011; in press.
会議発表 計 0 件	専門家向け 計 0 件 一般向け 計 0 件
図書 計 0 件	
産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件	(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件
Webページ (URL)	
国民との科学・技術対話の実施状況	国民との科学・技術対話を推進し、説明責任を果たすため、市民公開講座で本研究内容の講演を行う準備を実施した(平成 23 年 5 月 21 日に『幹細胞とがん』と題して、市民公開講座を実施する予定)。 また、国民に対して、最先端・次世代研究開発支援プログラムにおける研究を説明するため、専用ホームページを作成中である(平成 23 年 7 月 4 日に公開予定)。 http://cancerstem55.w3.kanazawa-u.ac.jp
新聞・一般雑誌等掲載 計 0 件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	118,000,000	0	77,500,000	40,500,000
間接経費	35,400,000	0	23,250,000	12,150,000
合計	153,400,000	0	100,750,000	52,650,000

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	77,500,000	0	77,500,000	12,498,300	65,001,700
間接経費	0	23,250,000	0	23,250,000	0	23,250,000
合計	0	100,750,000	0	100,750,000	12,498,300	88,251,700

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	12,426,100	倒立型リサーチ顕微鏡、CO2インキュベータ、消耗品
旅費	0	
謝金・人件費等	72,200	実験補助
その他	0	
直接経費計	12,498,300	
間接経費計	0	
合計	12,498,300	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
倒立型リサーチ顕微鏡	オリンパス社・IX71N-22F/PH	1	2,352,000	2,352,000	2011/3/29	金沢大学
CO2インキュベータ	アステック社・WCI-165R	1	981,750	981,750	2011/3/30	金沢大学
低酸素インキュベータ	アステック社・APM-30DR	1	704,550	704,550	2011/3/30	金沢大学
クリーンベンチ	三洋電機社・MCV-B91S	2	729,750	1,459,500	2011/3/25	金沢大学
バイオハザード対策用キャビネット	三洋電機社・MHE-131AJ	1	1,182,720	1,182,720	2011/3/25	金沢大学
超低温フリーザー	三洋電機社・MDF-U384	1	927,360	927,360	2011/3/25	金沢大学
ユニバーサル冷却遠心機	久保田製作所社・5922	1	560,385	560,385	2011/3/23	金沢大学
液体窒素保存容器	米国テイラーワートン社・LS3000	1	504,000	504,000	2011/3/30	金沢大学
オートクレーブ	トミー精工社・SX-500	1	597,975	597,975	2011/3/22	金沢大学