

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 24 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)のがん幹細胞(CML 幹細胞)のチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) に対する抵抗性メカニズムに TGF-β-FOXO シグナルが重要な役割を担うことを報告した (Naka et al., Nature 2010). 本研究では, この TGF-β-FOXO シグナルによるがん幹細胞の抗がん剤抵抗性メカニズムを解明し, そのメカニズムを標的とする新しい治療薬の開発を目指した研究を進めている. 平成 24 年度は以下を目的とする研究を行った. 1) マウス CML 幹細胞における TGF-β-FOXO シグナル制御分子の機能解析を行う. 2) ヒト CML 患者の CML 幹細胞に対する当該シグナル標的治療薬の抑制効果を解析する. 3) CML 幹細胞研究で明らかになった制御メカニズムが乳がん幹細胞の維持にも関与しているか検討する.

2. 研究の実施状況

**1) CML 幹細胞の維持における TGF-β-FOXO シグナル制御分子の機能解析**

前年度発見した TGF-β-FOXO シグナル制御分子, 及びその変異体をマウス CML 幹細胞に導入して機能解析を行った. その結果, この分子 CML 幹細胞の細胞周期の静止期維持と自己複製能の制御に関わる可能性を見出した.

**2) ヒト CML 幹細胞に対する TGF-β-FOXO シグナル抑制化合物の治療効果**

前年度, マウス CML 幹細胞を用いて, TGF-β-FOXO シグナル標的治療薬の候補化合物を得た. 本年度はヒト CML 患者の CML 幹細胞を用いて TGF-β-FOXO シグナル抑制化合物の治療効果を検討した. その結果, 当該化合物は *in vitro* においてヒト CML 幹細胞のコロニー形成能を抑制できることを見出した. さらに, TKI 存在下, ヒト CML 幹細胞を培養すると TKI 抵抗性の CML 幹細胞が残存したが, 当該化合物を処理することで TKI 抵抗性 CML 幹細胞を抑制できることを発見した (特許出願中: 特願 2012-131328).

**3) マウス乳がん幹細胞の維持機構の解析**

補助事業者は CML 幹細胞の研究成果が固形がんのがん幹細胞の維持機構を解明する上で手掛りとなるのではないかと考えている. そこで, 乳がん幹細胞の自己複製制御における TGF-β-FOXO シグナルの役割を検証した. 乳がんモデルマウスより乳がん幹細胞を純化し, FOXO の機能を阻害するドミナントネガティブ(dnFOXO)変異体を導入して, レシピエントマウスの乳腺脂肪組織に移植を行った. その結果, dnFOXO を導入した乳がん幹細胞は生体内での自己複製能が低下していることが判明した. 従って, このシグナルは乳がん幹細胞の維持にも関与している可能性が考えられる.

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Takeishi S., Matsumoto A., Onoyama I., <u>Naka K.</u>, Hirao A., and Nakayama KI. (2013) Ablation of Fbxw7 Eliminates Leukemia-Initiating Cells by Preventing Quiescence. <b>Cancer Cell</b>. 23(3): 347-361.</li> <li>2. Hoshii T., Tadokoro Y., <u>Naka K.</u>, Ooshio T., Muraguchi T., Sugiyama N., Soga T., Araki K., Yamamura K., and Hirao A. (2012) mTORC1 is essential for leukemia-propagation but not stem cell self-renewal. <b>J Clin Invest</b>. 122(6): 2114-2129.</li> <li>3. Shugo H., Ooshio T., Ohmura M., <u>Naka K.</u>, Hoshii T., Tadokoro Y., Muraguchi T., Tamase A., Uema N., Yamashita T., Nakamoto Y., Suda T., Kaneko S., and Hirao A. (2012) Nucleostemin in injury-induced liver regeneration. <b>Stem Cells and Development</b>. 21(16): 3044-3054.</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>仲 一仁</u>, がん幹細胞におけるTGF-β-FOXOシグナルの役割. 愛媛大学プロテオ医学研究センター ProMRes研究会, 平成24年7月19日, 松山市</li> <li>2. <u>仲 一仁</u>, TGF-β-FOXOシグナルによるがん幹細胞の抗がん剤抵抗性機構. 北海道大学遺伝子病制御研究所ジョイントシンポジウム, 平成24年11月5日, 札幌市</li> <li>3. <u>Kazuhito Naka</u>, A Role of TGF-β-FOXO Signaling in CML Stem Cells, The 17th Annual Meeting of Korean Society of Cancer Prevention, November 9<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> 2012, Seoul, Korea</li> <li>4. <u>仲 一仁</u>, TGF-β-FOXOシグナルによるCML幹細胞の維持機構. 第11回秋田分子病態研究会, 平成24年11月27日 秋田市</li> <li>5. <u>Kazuhito Naka</u>, A Role of TGF-β-FOXO Signaling in CML Stem Cells, International Symposium on Carcinogenic Spiral and Tumor Biology in Kanazawa, Kanazawa Japan, January 24<sup>th</sup>-25<sup>th</sup> 2013.</li> </ol> <p>一般向け 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>仲 一仁</u>, 市民公開講座「幹細胞とがん」, 平成24年5月26日, 金沢市</li> <li>2. <u>仲 一仁</u>, 「がんの多層性・幹細胞とがん」, 平成24年度国立大学附置研究所・センター長会議第二部会シンポジウム, 平成24年10月26日, 金沢市</li> </ol>
<p>図書 計 0 件</p>	<p>なし</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 1 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 1 件 【発明者】仲 一仁 【出願者】金沢大学 【名称】慢性骨髄性白血病治療剤及びそのスクリーニング方法 【出願日】2012年6月8日【出願番号】特願 2012-131328 国内</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	<a href="http://cancerstem55.w3.kanazawa-u.ac.jp/">http://cancerstem55.w3.kanazawa-u.ac.jp/</a> (ホームページ) <a href="http://www.youtube.com/watch?v=vwjz4p1ZChM">http://www.youtube.com/watch?v=vwjz4p1ZChM</a> (動画サイト)
国民との科学・技術対話の実施状況	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 国民との科学・技術対話を推進するため、市民公開講座『幹細胞とがん』(平成24年5月26日, 参加人数20名), 及び平成24年度国立大学附置研究所・センター長会議第2部会シンポジウム『がんの多層性～幹細胞とがん～』(一般市民対象)(平成24年10月26日, 参加人数約70名)を実施した.</li> <li>2) 一般国民を対象とした, 上記のホームページと動画サイトを作成した.</li> <li>3) 応募のあった小学生2名(5年生・3年生)を対象に『理科好き小学生の研究室見学』を実施した(平成24年8月12日).</li> <li>4) 文部科学省スーパーサイエンスハイスクール指定高校(茗溪学園高等学校)の生徒(1名)に, 当該研究の内容(目的・これまでの成果・今後の展望等)の説明を行った.</li> </ol>
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	平成24年10月27日北國新聞にて平成24年度国立大学附置研究所・センター長会議第2部会シンポジウム『がんの多層性～幹細胞とがん～』の紹介記事が掲載された.
その他	補助事業者の論文が 科学技術振興機構(JST) 研究開発戦略センター(CRDS) 研究開発の俯瞰報告書ライフサイエンス・臨床医学分野 2013 において紹介された.

4. その他特記事項

特になし

## 実施状況報告書(平成24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	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	118,000,000	77,500,000	20,300,000	20,200,000	0
間接経費	35,400,000	23,250,000	6,090,000	6,060,000	0
合計	153,400,000	100,750,000	26,390,000	26,260,000	0

## 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	当該年度返還 額
直接経費	1,700	20,300,000	0	20,301,700	20,301,700	0	0
間接経費	19,615,926	6,090,000	0	25,705,926	6,166,133	19,539,793	0
合計	19,617,626	26,390,000	0	46,007,626	26,467,833	19,539,793	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	17,849,279	集細胞遠心装置、実験試薬等
旅費	221,700	研究打ち合わせ(韓国)等
謝金・人件費等	62,700	実験補助謝金
その他	2,168,021	研究施設使用料等
直接経費計	20,301,700	
間接経費計	6,166,133	
合計	26,467,833	

## 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
顕微鏡デジタルカ メラ	・オリンパス社製 Stander組合せ DP73-SET-A(17型 LCDモニタ S1721- XSHBKを除く)	1	1,179,150	1,179,150	2012/4/18	金沢大学
リアルタイムPCRシ ステム	・米国アジレント・テクノ ロジーズ・インク製 Mx3000P QPCRSystem	1	2,499,000	2,499,000	2012/4/25	金沢大学
405nmレーザー増 設キット	・米国ヘクトン・ディッキン ソン社製 649592 (375nmレーザー未搭載 BD FACSAriaIII用)	1	5,801,250	5,801,250	2012/6/18	金沢大学
集細胞遠心装置 サイトスピン4	・米国サーモフィシャーサイ エンティフィック社製 A78300003	1	1,005,900	1,005,900	2012/8/2	金沢大学