

**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	組織幹細胞の次世代イメージングを通じた治療標的膜蛋白質の同定と新しいがん治療法の開発
研究機関・部局・職名	関西医科大学・医学部・教授
氏名	上野博夫

1. 当該年度の研究目的

今年度は昨年度に引き続き幹細胞共通マーカーを用いて各種臓器の成体幹細胞の同定および解析を行う。同定された幹細胞について生理的条件下、また障害時における細胞代謝の動態を解析し、また障害時における幹細胞関連遺伝子の発現変化について解析する。また今後さらに特異的に幹細胞の同定を行う目的にて幹細胞共通マーカーに CreERT2 を発現する新たなマウスラインを樹立する。一方で治療標的候補となる細胞膜発現遺伝子を元に設計した可溶化阻害膜蛋白質の in vitro および in vivo における発現系を構築する。幹細胞の in vitro 培養系を確立し、マルチカラー細胞系譜追跡法(レインボーマウス)を用いて time lapse イメージングを行い、作製した設計した可溶化阻害膜蛋白質の幹細胞に対する効果をマウス in vivo にて検討する。

2. 研究の実施状況

①幹細胞共通マーカーを用いて新たな成体幹細胞を同定した。その内の一つ舌ケラチン化上皮幹細胞の同定と幹細胞による組織障害時再生機構について Nature Cell Biology 電子版に publish した。

<http://www.nature.com/ncb/journal/vaop/ncurrent/abs/ncb2719.html>

本研究は Nature Cell Biology 2013 年 5 月号の表紙に採択された。他にもいくつかの臓器であらたな幹細胞が同定されており、投稿中ないし投稿準備中である。

②①の他に新たに共通幹細胞マーカーに YFP-CreERT2 をノックインしたマウスを2ライン樹立した。これらのラインでは、幹細胞マーカー陽性細胞を蛍光蛋白質にて標識できるだけでなく、タモキシフェンにて CreERT2 が活性化し loxp 配列を切り出す事で細胞系譜追跡にも使う事ができ、レインボーマウスを組み合わせたマルチカラー細胞系譜追跡法を行い解析中である。

③可溶化阻害蛋白質を設計し in vivo において一過性大量発現する系を構築し、マウス血清のウェスタンブロットングにて設計した蛋白質が大量に発現している事を確認した。また効果の知られている既知蛋白質をコントロールとして同系で用い、その効果が in vivo で再現できることを確認した。また、生理的条件下における正常幹細胞および発がんモデルマウスにおけるがん幹細胞候補細胞に対する効果を検討中である。また Gateway システムを用い新たな可溶化阻害蛋白質発現系の構築を容易にしたので、今後も順次新たな蛋白質を設計、効果を確認していく。

④同定された成体組織幹細胞の in vitro 培養系の構築に成功した。その方法について知的所有権申請準備中である。この方法を用いて、正常幹細胞およびがん幹細胞候補細胞の動態の解析および可溶化阻害蛋白質の効果など time lapse imaging による解析を行っている。現在これらの結果につき投稿中である。

3. 研究発表等

雑誌論文 計6件	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件</p> <p>1 Toshihiro Tanaka, Yoshihiro Komai, Yoko Tokuyama, Hirotsugu Yanai, Shuichi Ohe, Kazuichi Okazaki and Hiroo Ueno Identification of stem cells that maintain and regenerate lingual keratinized epithelial cells (2013) Nature Cell Biology 15; 511-518</p> <p>2. Hirotsugu Yanai, Toshihiso Tanaka, Hiroo Ueno Multicolor lineage tracing methods and intestinal tumors (review article) (2013) J Gastroenterol 4; 423-433</p> <p>3. Hua Zhang , Wenjing Zheng , Yan Shen , Deepak Adhikari , Hiroo Ueno (co-corresponding author), Kui Liu (2012) Experimental evidence showing that no mitotically active female germline progenitors exist in postnatal mouse ovaries Proc Natl Acad Sci USA 109:12580-12585</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計3件</p>
会議発表 計7件	<p>専門家向け 計6件</p> <p>2012年4月 日本消化器病学会セミナー(東京)演題「マルチカラーキメラ法による小腸幹細胞の維持機構とがん化過程におけるその破綻の解析」発表者 上野博夫</p> <p>2012年5月 内閣府生命倫理専門調査会発表(東京)演題「再生医療研究の将来像とクローン臓器の可能性について」発表者 上野博夫</p> <p>2012年8月 千葉大学 GCOE セミナー(千葉)演題「マルチカラーモザイクマウス (レインボーマウス)による成体幹細胞研究について」発表者 上野博夫</p> <p>2012年9月 no side GI講演会(大阪)演題「マルチカラー細胞系譜追跡法における 消化管上皮幹細胞の解析」発表者 上野博夫</p> <p>2012年11月 金沢医科大学セミナー(金沢)演題「マルチカラーキメラ法を用いた幹細胞・発生研究について」発表者 上野博夫</p> <p>2013年1月 千里ライフサイエンスセミナー(大阪)演題「マルチカラー細胞系譜追跡法を用いた成体組織幹細胞の同定と解析」発表者 上野博夫</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>2012年5月 守口市医師会講演会(大阪)演題「腸幹細胞研究の最前線～モデルマウスを用いた大腸がん発症過程の多色細胞系譜解析」発表者 上野博夫</p>
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	http://www3.kmu.ac.jp/pathol1/
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>2012年8月18日(土曜日) 関西医科大学附属枚方病院におけるオープンキャンパスにてパネル展示および研究内容のスライド公開を実施(参加者 390名、内受験者 137名/保護者 255名)。</p> <p>また、ホームページ(http://www3.kmu.ac.jp/pathol1/)にて成果を一般に公表している。</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計5件	<p>2012年7月 雑誌論文3に関する記事が時事ドットコムおよびYahoo!ニュースに掲載。</p> <p>2013年1月 金沢医科大学報に上野のセミナーに関する記事が掲載。</p> <p>2013年2月 臓器再生に関する上野のコメントが掲載(産経新聞、時事ニュース、南日本新聞等)</p>
その他	

4. その他特記事項

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	132,000,000	52,837,000	41,893,000	37,270,000	0
間接経費	39,600,000	15,851,100	12,567,900	11,181,000	0
合計	171,600,000	68,688,100	54,460,900	48,451,000	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	2,980,132	41,893,000	0	44,873,132	37,569,270	7,303,862	0
間接経費	4,696,090	12,567,900	0	17,263,990	8,817,017	8,446,973	0
合計	7,676,222	54,460,900	0	62,137,122	46,386,287	15,750,835	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	25,447,352	実験試薬、機械装置等
旅費	0	
謝金・人件費等	7,935,240	研究補助員、博士研究員人件費
その他	4,186,678	総合研究施設利用料、動物センター利用料
直接経費計	37,569,270	
間接経費計	8,817,017	
合計	46,386,287	

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
超低温フリーザー	パナソニック製 KM-DU73Y1J	1	1,554,000	1,554,000	2012/11/22	関西医科大学
密閉式自動固定包埋装置	サクラファインテック 製ティシュー・テック VIP6	1	4,982,145	4,982,145	2012/11/7	関西医科大学
パラフィン包埋ブロック作製装置	サクラファインテック 製ティシュー・テック TECプラス TEC-P-S-J0	1	1,585,500	1,585,500	2012/11/7	関西医科大学
マイクロマニピレーションシステム一式	オリンパス製ON3-99D-2他	1	8,998,500	8,998,500	2012/3/28	関西医科大学