

課題番号	LS125
------	-------

**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	急性骨髄性白血病の再発解明と幹細胞を標的とした治療確立へのトランスレーション
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人 理化学研究所 統合生命医科学研究センター ヒト疾患モデル研究グループ グループディレクター
氏名	石川文彦

1. 当該年度の研究目的

ヒト白血病幹細胞・正常造血幹細胞の動態を解析するためのあらたなヒト化マウスシステムの開発から、患者白血病細胞を用いたモデル構築、さらに、急性骨髄性白血病の幹細胞を標的とした治療確立をめざし、以下の3点を目的とした。1. あらたなヒト化マウスの作製について、c-Kit リガンドである SCF を発現する免疫不全マウス作製と解析を進める。2. 白血病幹細胞に高い発現が確認された HCK を標的とした低分子のスクリーニングを行ってきたが、ヒト化マウスモデルを用いることで、生体内での効果を検証する。3. 白血病幹細胞に発現する WT1 peptide、特異的 T 細胞受容体の強制発現系を用いて、HLA class I 発現免疫不全マウスでの WT1 特異的 CD8+ T 細胞の誘導を解析する。

2. 研究の実施状況

c-Kit に対するリガンド分子 Stem cell factor (SCF) で報告された二つの variant のうち、膜型 SCF について、臍帯血由来ヒト造血幹細胞を限界希釈法を用いて移植することで、従来の NSG マウスと比較して生着を有意に改善することを示した。ヒト幹細胞の細胞周期の比較については、十分な数に達していない可能性があるが、SCF 発現 NSG マウスの骨髄内で、統計学的な有意差をもって G0 期に多く見られるまでには至らなかった。

HCK の低分子阻害剤については、そのほかの Src ファミリーキナーゼである LYN, SRC についても阻害活性を示すこと、Flt3-ITD についても阻害活性を示すこと、100以上に及ぶほかのキナーゼについて活性に影響を与えない選択性を有することが分かった。Flt3-ITD 変異を持つヒト白血病幹細胞を移植して作製した白血病のヒト化マウスモデルに一日2回の投与を続けたところ、1週・3週・5週とヒト白血病細胞は末梢血中から順調に減少し、途中、低分子化合物に耐性を示す細胞の出現・増殖を認めなかった。投薬開始2ヶ月後、骨髄・脾臓を解析したところ、骨髄からもほぼすべての白血病細胞が消滅し、投薬しない場合の著名な脾腫も改善した。さらに、正常な赤血球造血・ミエロイド系細胞の回復が確認された。HCK の特異性を確認するため、shRNA をレンチウイルスベクターに導入して実験したところ、HCK の発現を低下させることが、白血病細胞の増殖抑制につながることを示した (Science Translational Medicine, in press)。

WT1 については、HLA class I 発現 NSG マウスを用いた免疫療法のモデル実験から、特に、ペプチドを取り込ませた樹状細胞を用いた場合、特異的な CD8+ T 細胞の割合が増加することを確認できた。T 細胞受容体をヒト造血幹細胞に発現させた後、移植を行う実験系に着手し、次年度、その解析を実施する。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> Saito Y, Yuki H, Kuratani M, Hashizume Y, Takagi S, Honma T, Tanaka A, Shirouzu M, Mikuni J, Handa N, Ogahara I, Sone A, Najima Y, Tomabechi Y, Wakiyama M, Uchida N, Tomizawa-Murasawa M, Kaneko A, Tanaka S, Suzuki N, Kajita H, Aoki Y, Ohara O, Shultz LD, Fukami T, Goto T, Taniguchi S, Yokoyama S, <u>Ishikawa F.</u> A Pyrrolo-Pyrimidine Derivative Targets Human Primary AML Stem Cells in Vivo. Science Translational Medicine. 5:181ra52 1-15 (2013) Valent P, Bonnet D, De Maria R, Lapidot T, Copland M, Melo JV, Chomienne C, Ishikawa F, Schuringa JJ, Stassi G, Huntly B, Herrmann H, Soulier J, Roesch A, Schuurhuis GJ, Wöhrer S, Arock M, Zuber J, Cerny-Reiterer S, Johnsen HE, Andreeff M, Eaves C. Cancer Stem Cell Definitions and Terminology: the Devils in the Details. Nature Reviews Cancer 12:767-75 (2012) <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 4 件</p>	<p>専門家向け 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 第 10 回臨床腫瘍学会学術集会 ・演題:急性骨髄性白血病幹細胞を標的とした治療 ・発表者:石川文彦 ・会期:平成 24 年 7 月 26 日~28 日 ・会場:大阪国際会議場(グランキューブ大阪) ・主催機関:日本臨床腫瘍学会 第 74 回日本血液学会学術集会 ・演題:化学療法抵抗性 AML 細胞に対する新たな治療戦略 Targeting chemotherapy-resistant AML cells ・発表者:石川文彦 ・会期:平成 24 年 10 月 19 日~21 日 ・会場:国立京都国際会館 ・主催機関:社団法人日本血液学会 第 35 回造血細胞移植学会 ・演題:白血病幹細胞の解析と治療標的の探索 ・発表者:石川文彦 ・会期:平成 25 年 3 月 9 日 ・会場:ホテル日航金沢 アートホール ・主催機関:日本ベクトンディッキンソン株式会社 <p>一般向け 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 理研よこはまサイエンスカフェ ・演題:白血病の根治にむけて ・発表者:石川文彦 ・実施日:平成 25 年 3 月 2 日 ・会場:横浜市立中央図書館 ・主催機関:独立行政法人理化学研究所横浜研究所
<p>図書 計 0 件</p>	

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>独立行政法人理化学研究所プレスリリース「白血病再発の主要原因「白血病幹細胞」を標的とした低分子化合物を同定」 ・60秒でわかるプレスリリース : http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130418_1/digest/ ・報道発表資料: http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130418_1/ ・YouTube: https://www.youtube.com/watch?v=wJn3vSppPUI&list=UUIGmhpdcVev1Wc0YK7FHlig&index=1&feature=plcp</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>・標題: 白血病の根治にむけて ・実施日: 平成 25 年 3 月 2 日 ・場所: 横浜市立中央図書館 ・対象者: 一般市民 ・参加人数: 40 名 横浜市立図書館において、ライブラリーカフェ・サイエンスカフェとして、一般の聴衆を対象に、白血病根治を目指した研究を紹介した。定員40名に対して、その2倍ほどの応募があり、2時間かけて、これまでのヒト化マウス研究の確立、現在の白血病医療の位置づけとこれから研究で改善したい点、本プログラムで進めている白血病幹細胞を標的とした治療開発研究について講演した。講演後、聴衆から質問をしていただく時間を40分ほど設けたところ、さまざまなご意見・ご質問をいただき、今後の研究に反映させたいと感じるものも多かった。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件</p>	
<p>その他</p>	

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ず

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	130,000,000	78,000,000	27,000,000	25,000,000	0
間接経費	39,000,000	23,400,000	8,100,000	7,500,000	0
合計	169,000,000	101,400,000	35,100,000	32,500,000	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	100,938	27,000,000	0	27,100,938	27,100,938	0	0
間接経費	0	8,100,000	0	8,100,000	8,100,000	0	0
合計	100,938	35,100,000	0	35,200,938	35,200,938	0	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	25,048,713	実験試薬、細胞培養消耗品等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	2,052,225	化合物検査料等
直接経費計	27,100,938	
間接経費計	8,100,000	
合計	35,200,938	

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
				0		
				0		
				0		