

課題番号	LS119
------	-------

**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25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

平成24年までの研究により、多色細胞系譜追跡法を用いて新たな成体幹細胞(舌上皮幹細胞、食道上皮幹細胞)を同定した。またこれら幹細胞の *in vitro* 3D培養(マトリゲル培養)法を開発した。またこれら組織に薬剤を用いて効率よく悪性腫瘍を発生させることに成功した。

本研究プログラム最終年度において、腸上皮幹細胞に加えてこれまで同定した成体幹細胞(舌上皮幹細胞、食道上皮幹細胞)の解析を進め、それら組織由来の悪性腫瘍の起源の解析、がん幹細胞の解析、またがん組織からがん幹細胞を除去する目的にて可溶化阻害蛋白質を、アデノウィルスベクターを用いて *in vivo* にて投与しその効果を確認する。また他臓器における成体幹細胞の解析も続行する。

2. 研究の実施状況

①小腸および大腸上皮組織における悪性腫瘍に対する可溶化阻害蛋白質の効果を検討するために3種類(1)Apcmin マウス単独による方法。(腺腫モデル)(2)Apcmin マウスにDSSを投与する方法(2nd hitモデル)(3)azoxymethane(AOM)による化学発がんモデル(自然発症がんモデル)の発がんモデルマウスを使って悪性腫瘍を発生させた。

②平成24年度の研究によって私たちが同定した新たな成体幹細胞(舌上皮幹細胞、食道上皮幹細胞)の研究を発展させるために当該組織に4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO)を投与して発がんさせるモデルを構築した。

③小腸および大腸上皮組織における悪性腫瘍に対して治療標的膜蛋白質の候補を選定した。その内の一つの分子に対する可溶化阻害蛋白質を発現するアデノウィルスベクターを用いて *in vivo* にて投与するアポトーシス誘導効果を見だし、その効果および作用機序について検討中であり、また特許出願予定である。

④舌上皮幹細胞、食道上皮幹細胞を同定したのと同じ方法論にて他臓器の成体幹細胞の同定を進めている。その内の一つ精巣生殖幹細胞のマーカーを同定し論文投稿後改訂中である。このマーカーはこれまで同定されている精巣生殖幹細胞のマーカーと比べても非常に未分化な段階の生殖幹細胞にて強く発現しており、また精巣周期特異的な発現が認められるなど特徴的な発現パターンを示した。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 8 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件            1. Yanai H., Tanaka T., <u>Ueno H.</u> Multicolor lineage tracing methods and intestinal tumors. (2013) <b>JG</b> 4:423-433            2. Tanaka T., Komai Y., Tokuyama Y., Yanai H., Ohe H., Okazaki K. and <u>Ueno H.</u> Identification of stem cells that maintain and regenerate lingual keratinized epithelial cells. (2013) <b>Nature Cell Biology</b>;15:511-518            3. Hisha H, Tanaka T, Kanno S, Tokuyama Y, Komai Y, Ohe S, Yanai H, Omachi T, and <u>Ueno H.</u> Establishment of a Novel Lingual Organoid Culture System: Generation of Organoids Having Mature Keratinized Epithelium from Adult Epithelial Stem Cells. (2013) <b>Scientific Reports</b> 3, Article number: 3224   doi:10.1038/srep03224            (掲載済み一査読無し) 計0件            (未掲載) 計5件            1. Toshihiro Tanaka, Hiroko Hisha, Yoko Tokuyama, Shohei Kanno, Yoshihiro Komai, Hirotsugu Yanai, Taichi Ohmachi, Shuichi Ohe, Kazuichi Okazaki and Hiroo Ueno. Identification and characterization of esophageal stem cells. (Nature Cell Biology 投稿中)            2. Yoshihiro Komai, Toshihiro Tanaka, Yoko Tokuyama, Hirotsugu Yanai, Shuichi Ohe, Taichi Omachi, Naho Atsumi, Naoko Yoshida, Keiki, Kumano, Hiroko Hisha, Tadashi Matsuda and Hiroo Ueno. Bmi1 expression in long-term germ stem cells (Scientific Reports 投稿中)            3. Shuichi Ohe, Toshihiro Tanaka, Yoko Tokuyama, Hirotsugu Yanai, Yoshihiro Komai, Taichi Omachi, Hiroko Hisha, Fumikazu Yamazaki, Hiroyuki Okamoto and Hiroo Ueno. Identification of stem cells for the acral epithelium of the skin. (Nature Communications 投稿中)            4. Hirotsugu Yanai, Toshihiro Tanaka, Yoko Tokuyama, Shuichi Ohe, Yoshihiro Komai, Taichi Omachi, Hiroko Hisha, Masanori Kwon, and Hiroo Ueno. Food intake is not required for development of neonatal intestine. (Development 投稿中)            5. Hirotsugu Yanai, Toshihiro Tanaka, Yoko Tokuyama, Shuichi Ohe, Yoshihiro Komai, Taichi Omachi, Hiroko Hisha, Masanori Kwon, and Hiroo Ueno. Monoclonal origin of intestinal tumors and identification of cancer stem cells. (Nature Medicine 投稿中)</p>
<p>会議発表 計9件</p>	<p>専門家向け 計9件            1. 2013年6月6日 日本病理学会 口演(札幌)演題「舌糸状乳頭角化上皮細胞の維持・再生を担う舌上皮幹細胞の同定」発表者 田中敏宏、上野博夫他            2. 2013年6月28日 GI research(京都)演題「Identification of stem cells that maintain and regenerate lingual keratinized epithelial cells」講演 発表者 田中敏宏、上野博夫他            3. 2013年9月20日 東京大学先端科学技術研究センターシステム生物学ラボラトリー(東京)演題「多色細胞系譜追跡法による成体幹細胞の発生・維持機構の視覚化」セミナー発表者 上野博夫            4. 2013年10月3日 日本癌学会 口演(横浜)演題「糸状乳頭を構成する舌上皮幹細胞の同定と機能解析」発表者 上野博夫            5. 2013年11月14日 東京大学 第64回幹細胞治療フォーラム セミナー(東京)演題「多色細胞系譜追跡法による新規成体組織幹細胞の同定と機能解析」発表者 上野博夫            6. 2013年12月4日 日本分子生物学会 ポスター(兵庫)演題「舌糸状乳角化上皮の維持・再生を担う舌上皮幹細胞の同定」発表者 田中敏宏、上野博夫他            7. 2013年12月11日 大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学講座主催 医学研究セミナー 講演(大阪)演題「多色細胞系譜追跡法による新規成体幹細胞の同定と機能解析」発表者 上野博夫            8. 2014年3月3日 国立循環器病研究センター セミナー(大阪)演題「マルチカラー細胞系譜法を使った成体幹細胞の維持と発生研究」発表者 上野博夫            9. 2014年3月4日 第13回日本再生医療学会 シンポジウム(京都)演題「幹細胞ニッチの最前線と再生医療への応用」シンポジウム 発表者 田中敏宏、上野博夫            一般向け 計0件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	
<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>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	ホームページ <a href="http://www3.kmu.ac.jp/pathol1/">http://www3.kmu.ac.jp/pathol1/</a>
国民との科学・技術対話の実施状況	2013年8月3日(土曜日)、関西医科大学枚方学舎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383名 内受験生218名・保護者165名)。 また、ホームページにて成果を一般に公表している。
新聞・一般雑誌等掲載 計7件	2013年6月 朝日新聞6月6日 朝刊科学面 舌幹細胞の論文について 2013年6月 市立札幌病院広報誌創刊号(6月) 2頁 マルチカラー細胞系譜追跡法と舌 2013年10月 関西医科大学広報誌 vol.23(10月) 14頁 雑誌論文2について 2013年10月 BIO GARAGE vol.18(10月) 研究紹介 2013年12月 細胞工学 2014Vol.33No.1(2013年12月22日発行)7頁 2013年 オリンパス広告媒体各種 研究紹介
その他	平成25年度日本医師会医学研究奨励賞受賞 平成25年度持田助成財団30周年特別研究助成金 平成26年度日本病理学会学術研究賞(A演説)

4. その他特記事項

特になし。

## 実施状況報告書(平成25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	94,730,000	37,270,000	0	0
間接経費	39,600,000	28,419,000	11,181,000	0	0
合計	171,600,000	123,149,000	48,451,000	0	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	7,303,862	37,270,000	0	44,573,862	44,573,862	0	0
間接経費	8,446,973	11,181,000	0	19,627,973	19,627,973	0	0
合計	15,750,835	48,451,000	0	64,201,835	64,201,835	0	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	14,429,891	実験試薬、機械装置等
旅費	0	
謝金・人件費等	15,797,631	研究補助員、博士研究員人件費
その他	14,346,340	総合研究施設利用料、動物センター利用料
直接経費計	44,573,862	
間接経費計	19,627,973	
合計	64,201,835	

## 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
ユニバーサル遠心機	久保田 5911	1	676,200	676,200	2014/1/23	関西医科大学
リニアスライサー	堂阪イーエム PRO10	1	2,205,000	2,205,000	2014/2/21	関西医科大学