

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 23 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、これまでに、チロシンキナーゼ阻害薬による治療後の再発が臨床上的の問題となっている慢性骨髄性白血病(CML)のマウスモデルを用いて、がん幹細胞(CML 幹細胞)の抗がん剤抵抗性に TGF-β-FOXO シグナルが必須な役割を担うことを発見した (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詳細に解明し、その分子メカニズムをターゲットとする新規治療薬の開発を目指した研究を進めている。

当該年度は、以下を目的とする研究を実施した。1) マウス CML 幹細胞を制御する TGF-β-FOXO シグナル関連分子を明らかにする。2) この分子を阻害する化合物を用いて、チロシンキナーゼ阻害薬抵抗性の CML 幹細胞を標的とする新規治療薬の開発を試みる。3) マウス CML 幹細胞で明らかになったがん幹細胞制御メカニズムを乳がん幹細胞の治療に応用できないか検討するため、マウス乳がん幹細胞の純化、並びに遺伝子導入方法を確立する。

2. 研究の実施状況

当該年度、下記の研究成果を得た。

1) CML 幹細胞の維持機構を制御する TGF-β-FOXO シグナル分子の探索
マウス CML モデルよりフレッシュに純化した CML 幹細胞に、TGF-β-FOXO シグナルの制御に関わる遺伝子を導入した。これらの遺伝子導入 CML 幹細胞をマウスに移植し、生体内での CML 幹細胞の維持における役割を解析した。その結果、CML 幹細胞の維持に関わる新規の候補分子を見いだした。

2) TGF-β-FOXO シグナルをターゲットとする新規 CML 幹細胞治療薬の開発
マウス CML 幹細胞を純化し、上記 1) の分子に対する阻害剤の処理を行った。その結果、この阻害剤は *in vitro* において CML 幹細胞のコロニー形成能を抑制できることを見いだした。さらに、マウス CML 幹細胞に対して、上記の阻害剤とチロシンキナーゼ阻害薬との併用効果を解析した。チロシンキナーゼ阻害薬の単独投与では CML 幹細胞が残存して増殖するが、この阻害剤と併用すると、チロシンキナーゼ阻害薬に抵抗性の CML 幹細胞のコロニー形成能を有意に抑制できることを見いだした (特許出願準備中 金沢大学 特 2011-0069)。

3) マウス乳がんモデルを用いた乳がん幹細胞の構築
マウス乳がんモデル(MMTV-PyMT マウス)より乳がん幹細胞(CD24⁺CD14⁺cKit⁻分化マーカー陰性細胞)を純化し、蛍光タンパク質 GFP 遺伝子の導入を試みた。その結果、低酸素条件で培養を行うことで、乳がん幹細胞に GFP 遺伝子を導入することに成功した。
さらに、この GFP 導入乳がん幹細胞をレシピエントマウスの乳腺脂肪組織に移植して、GFP 陽性二次腫瘍を発症させることに成功した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件 <u>Naka K.</u>, Hoshii T., Tadokoro Y., and Hirao A. (2011) Molecular Pathology of Tumor-initiating Cells: Lessons from Philadelphia-positive leukemia Pathology International. 61(9) 501-508 (総説). <u>Naka K.</u>, and Hirao A. (2011) Maintenance of genomic integrity in hematopoietic stem cells. International Journal Hematology. 93 (4): 434-439 (総説). (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 2 件 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. Journal of Clinical Investestigation. 印刷中 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., Nucleostemin in injury-induced liver regeneration. (2012) Stem Cells and Development. 印刷中</p>
<p>会議発表 計 4 件</p>	<p>【専門家向け 計 2 件】 仲 一仁, がん幹細胞の治療抵抗性メカニズム, 神戸大学第 35 回膜生物学 GCOE 学術講演会, 平成 23 年 11 月 11 日, 神戸市 <u>Kazuhito Naka</u>, A Role of TGF-β-FOXO Signaling in CML Stem Cells, CHA University CHA Research Institute Seminar Series, Seoul, Korea, February 20th 2012 【一般向け 計 2 件】 仲 一仁, 市民公開講座『幹細胞とがん』(平成 23 年 5 月 21 日), 仲 一仁, 『金沢大学まちなかサイエンスセミナー』(平成 23 年 12 月 23 日)</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>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://cancerstem55.w3.kanazawa-u.ac.jp/ http://www.youtube.com/watch?v=wwjz4p1ZChM (動画サイト)</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1) 一般市民を対象とした, 市民公開講座『幹細胞とがん』(平成23年5月21日), 並びに『金沢大学まちなかサイエンスセミナー』(平成23年12月23日)を実施した. 2) 平成23年9月9日北國新聞にて本研究内容を紹介した. 3) 応募のあった親子を対象に『理科好き小学生の研究室見学』を実施した (平成 23 年 8 月 27 日・9 月 17 日). 4) 本研究内容を説明するため, 上記の Web ページを作成した. 5) また, 研究者自身の言葉で研究内容を伝えるための動画サイトを作成した.</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 1 件</p>	<p>北國新聞「抗がん剤阻む仕組み解明」(平成 23 年 9 月 9 日)</p>
<p>その他</p>	

実施状況報告書(平成23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	0	40,500,000	0
間接経費	35,400,000	23,250,000	0	12,150,000	0
合計	153,400,000	100,750,000	0	52,650,000	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	65,001,700	0	0	65,001,700	65,000,000	1,700	0
間接経費	23,250,000	0	0	23,250,000	3,634,074	19,615,926	0
合計	88,251,700	0	0	88,251,700	68,634,074	19,617,626	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	64,650,750	自動細胞解析分取装置,実験試薬等
旅費	72,650	研究成果発表旅費(韓国)
謝金・人件費等	105,450	研究補助謝金
その他	171,150	Webサイト構築
直接経費計	65,000,000	
間接経費計	3,634,074	
合計	68,634,074	

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
分光光度計	米国GEヘルスケア社 GeneQuant 100	1	623,700	623,700	2011/6/10	金沢大学
グローブボックス	アステック 特別 仕様	1	714,000	714,000	2011/6/30	金沢大学
マルチガスインキュ ペータ	アステック APM- 30D	1	605,325	605,325	2011/6/30	金沢大学
窒素ガス発生装置	十慈フィールド NGS-40	1	885,675	885,675	2011/6/30	金沢大学
自動細胞解析分取 装置	米国ベクトン・ ディッキンソン社 BD FACSAriaIII セルソーター 2 レーザー3カラー タイプ	1	41,055,000	41,055,000	2011/7/19	金沢大学
共焦点レーザー走査 型顕微鏡	オリンパス(株)製 FV10i-DOC	1	9,450,000	9,450,000	2011/12/13	金沢大学