

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 25 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

がん幹細胞は抗がん剤治療後の再発を引き起こす原因となる細胞である。補助事業者は慢性骨髄性白血病(CML)のマウスモデルを用い、CML のがん幹細胞 (CML 幹細胞) のチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) に対する抵抗性に TGF-β-FOXO シグナルが重要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解明し、この分子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 25 年度は以下を目的とする研究を行った。1) マウス生体内での 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を行う。2) 当該シグナル分子を標的とする経口投与可能な新規 CML 幹細胞治療薬を開発する。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転移能の制御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

前年度までに、*in vitro*(試験管内)において、CML 幹細胞の維持に関わる TGF-β-FOXO シグナル制御分子を発見した。本年度は、当該 TGF-β-FOXO シグナル制御分子、並びにその変異体をマウス CML 幹細胞に導入し、マウスに移植して、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、当該分子は生体内での CML 幹細胞の維持に必須な役割を担うことを見出した。

2) チロシンキナーゼ阻害薬の耐性 CML 幹細胞に対する抑制効果

CML 患者の再発の原因として、TKI 治療後に残存した CML 幹細胞から TKI 耐性の BCR-ABL の遺伝子変異が発生することが知られている。この TKI 耐性 CML 幹細胞が大量の CML 細胞を供給し、CML の再発を引き起こす。従って、CML 患者の再発を克服するには、TKI 耐性 CML 幹細胞を治療することが重要である。本年度、代表的な TKI 耐性変異として知られている T315I 変異型 BCR-ABL を用い、TKI 耐性 CML マウスモデルを構築した。このマウスより TKI 耐性 CML 幹細胞を純化し、上記の TGF-β-FOXO シグナル分子をターゲットとする化合物の抑制効果を解析した。その結果、当該化合物は TKI 耐性 CML 幹細胞に対して抑制効果を有していることを見出した。従って、当該化合物は TKI 耐性 CML 幹細胞に対する治療薬の新しい候補化合物になることが期待される。

3) マウス乳がん幹細胞の維持機構の解析

前年度までに、乳がんマウスモデル(MMTV-PyVT)を用い、乳がん幹細胞の純化に成功した。この乳がん幹細胞に対して FOXO の機能を阻害するドミナントネガティブ(dnFOXO)変異体を導入すると、生体内での乳がん幹細胞は自己複製能が低下することを見出した。本年度は、これら遺伝子導入乳がん幹細胞の自然転移能の解析を行った。しかし、乳がん幹細胞を移植して発症した乳がん原発組織から肺への自然転移は認められなかった。

上記のように、TGF-β-FOXO シグナルは乳がん幹細胞の自己複製能の維持に必須な役割を担うことから、今後、CML 幹細胞の研究により得られた当該シグナルの阻害薬を用い、マウス乳がん幹細胞に対する治療効果を解析する計画である。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 5 件
計 8 件	<ol style="list-style-type: none"> 1. Baba T., <u>Naka K.</u>, Morishita S., Komatsu N., Hirao A., Mukaida N. (2013) MIP-1α/CCL3-mediated maintenance of leukemia initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. J Exp. Med. 210 (12): 2661-2673. doi: 10.1084/jem.20130112 2. Oshima H., Ishikawa T., Yoshida G., Naoi K., Maeda Y., <u>Naka K.</u>, Ju X., Yamada Y., Minamoto T., Mukaida N., Saya H., and Oshima M., (2013) TNF-α/TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells. Oncogene. doi: 10.1038/onc.2013.356. 3. Uema N., Ooshio T., Harada K., Naito M., <u>Naka K.</u>, Hoshii T., Tadokoro Y., Ohta K., Ali M.A.E., Katano M., Soga T., Nakanuma Y., Okuda A., and Hirao A. (2013) Abundant nucleostemin expression supports the undifferentiated properties of germ cell tumors. Am J. Pathol. 183(2): 592-603. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.04.018 4. Jin G., Hamaguchi Y., Matsushita T., Hasegawa M., Huu D., Ishiura N., <u>Naka K.</u>, Hirao A., Takehara K., and Fujimoto M. (2013) BLNK expression contributes to controlling allergic and autoimmune diseases by mediating IL-10 production in regulatory B cells. J Allergy Clin Immunol. 131(6):1674-1682 e9. doi: 10.1016/j.jaci.2013.01.044 5. <u>仲 一仁.</u> CML stem cells, 臨床血液, 54(10), 158-167, 2013. (総説)
	(掲載済み一査読無し) 計 0 件
	(未掲載) 計 3 件
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Imai Y., Takahashi A., Hanyuu A., Hori S., Sato S., <u>Naka K.</u>, Hirao A., Ohtani N., and Hara E. (2014) Crosstalk between the RB-pathway and AKT signaling forms a Quiescence-Senescence switch, Cell Report. in press 2. Hoshii T., Kasada A., Hatakeyama T., Ohtani M., Tadokoro Y., <u>Naka K.</u>, Ikenoue T., Ikawa T., Hiroshi Kawamoto H., Araki K., Yamamura K., Matsuda S., and Hirao A. (2014) Loss of mTORC1 induces developmental blockage in early T-lymphopoiesis and eradicates T-cell

様式19 別紙1

	<p>acute lymphoblastic leukemia cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. in press.</p> <p>3. Ju X., Ishikawa T., <u>Naka K.</u>, Ito K, Ito Y., Oshima M. (2014) Activation of Wnt signaling by tumor suppressor RUNX3 in Kato III gastric cancer cells. Cancer Sci. in press</p>
<p>会議発表 計 6 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>仲 一仁</u>, TGF-βシグナルを標的としたCML幹細胞複合治療戦略. 第11回日本臨床腫瘍学会学術集会, 平成25年8月29-31日 仙台市 2. <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86回日本生化学会大会, 平成25年9月11-13日 横浜市 3. <u>Kazuhito Naka</u>, and Atsushi Hirao, Role of TGF-β-FOXO Signaling in CML Stem Cells, Fifteen International Conference on Chronic Myeloid Leukemia Biology and Therapy, September 26-29th 2013, Estoril, Portugal. 4. <u>仲 一仁</u>, CML stem cells (教育講演). 第75回日本血液学会学術集会, 平成25年10月11-13日, 札幌市 5. <u>Kazuhito Naka</u>, A Novel Therapeutic Approach for Targeting CML Stem Cells, International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa&Symposium on Drug Discovery in Academics, Kanazawa Japan, January 23-24th 2014. <p>一般向け 計 1 件</p> <p><u>仲 一仁</u>, 幹細胞とがん, 2013年度金沢大学公開講座, 平成25年5月25日, 金沢市</p>
<p>図 書 計 1 件</p>	<p><u>Naka K.</u> (corresponding author), Hirao A, TGF-β signaling in Leukemogenesis. TGF-β in human disease, Moustakas A, Miyazawa K eds., Springer: 189-207 (総ページ数 464), 2013</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/ (ホームページ)</p> <p>http://www.youtube.com/watch?v=vwjz4p1ZChM (動画サイト)</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>国民との科学・技術対話を推進するため, 2013年度金沢大学公開講座: 『がん研究の最前線『幹細胞とがん』』(平成25年5月25日, 参加人数約20名)を実施した.</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 2 件</p>	<p>下記新聞紙上において本研究の紹介記事が掲載された. 日本経済新聞, 平成 26 年 3 月 6 日, 「金沢大 白血病新薬開発目指す」 35 頁 北國新聞, 平成 26 年 3 月 5 日, 「バイオベンチャーと共同研究 金大 白血病治療で」 32 頁</p>
<p>その他</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 第 72 回日本癌学会学術総会 (平成 25 年 10 月 3-5 日, 横浜市)では『がん幹細胞のニッチ』の座長を行った. 2. 第 75 回日本血液学会学術集会 (平成 25 年 10 月 11-13 日, 札幌市) では教育講演『CML stem cells』を行った.

4. その他特記事項

当該研究成果をさらに発展させるため、平成26年2月21日に（株）カルナバイオサイエンス社との共同研究契約締結を発表し、新規 CML 幹細胞治療薬の開発研究を開始した。

URL: http://www.carnabio.com/output/irlibrary/310_ja.pdf

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せん

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	97,800,000	20,200,000	0	0
間接経費	35,400,000	29,340,000	6,060,000	0	0
合計	153,400,000	127,140,000	26,260,000	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	0	20,200,000	0	20,200,000	20,200,000	0	0
間接経費	19,539,793	6,060,000	0	25,599,793	25,599,793	0	0
合計	19,539,793	26,260,000	0	45,799,793	45,799,793	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,731,325	下記備品、実験試薬等
旅費	586,760	研究成果発表旅費(第15回国際CML会議 ポルトガル)等
謝金・人件費等	0	該当なし
その他	5,881,915	学会参加費(第15回国際CML会議 ポルトガル等)、運搬料等
直接経費計	20,200,000	
間接経費計	25,599,793	
合計	45,799,793	

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
ChemiDoc MP ImageLab PC シス テム	米国バイオ・ラッ ドラボラトリーズ 社 170-8280J1	1	4,179,000	4,179,000	2013/6/18	金沢大学