

遺伝子・染色体構築研究分野

<研究スタッフ>

教授：平尾 敦 助教：仲 一仁、田所優子

博士研究員：村口輝行、星居孝之、大塩貴子

大学院生（博士課程）：玉瀬玲、守護晴彦、上間徳之、田中慎吾

（修士課程）：畠山朋樹、小澤宝正

技能補佐員：竹上美也子、田村恭子

<研究概要>

当研究分野では、組織幹細胞の自己複製および分化制御メカニズムを理解すること、幹細胞とがんの共通性を知ることによって、がんの発生や動態制御メカニズムを理解すること、さらに、上記の知見に基づいて新規がん治療法の開発を目標に研究を進めている。主な研究テーマは、1. 造血、神経を中心とした組織幹細胞自己複製および分化制御機構の解明、2. がん幹細胞の特定と制御機構の解明、3. がんの発生における細胞分化制御の役割の解明である。

<今年度の成果，進行状況と今後の計画>

我々の研究において基盤となるテーマ “幹細胞とがん” に沿って、以下の視点から研究を進めた。

1) PI3 キナーゼ - AKT シグナル制御と造血幹細胞・白血病幹細胞

従来進めてきた JST/CREST 研究により、栄養飢餓状態で活性化する転写因子 FOXO が G0 期造血幹細胞で活性化しており、幹細胞制御に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。FOXO は、PI3 キナーゼ - AKT シグナルの下流分子であるが、本年度は、この一連のカスケードが、白血病幹細胞維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした。まず、マウス慢性骨髄性白血病モデルにおいて、白血病幹細胞集団を特定した。この白血病幹細胞において、FOXO が活性化していること、FOXO 機能を欠損させることによって白血病幹細胞の維持能低下が起こることを見出した。慢性骨髄性白血病の原因は、造血幹細胞における BCR-ABL 融合遺伝子によるチロシンキナーゼ異常活性亢進であり、特効薬としてチロシンキナーゼ阻害剤イマチニブが開発され、患者の治療に使用されている。ところが、薬剤中止後の再発が問題となり、その原因としてイマチニブ耐性白血病幹細胞の存在が示唆されていた。本研究において、白血病幹細胞における FOXO の活性化がイマチニブ抵抗性の原因のひとつであることを明らかにした。次に、白血病幹細胞の FOXO の局在を指標に、複数の

上流の標的分子の阻害剤を探索したところ、TGF-beta シグナルが、FOXO の上流分子として重要な役割を果たしていることを見出し、その阻害剤が白血病治療に有効であることを確認した。以上のように、PI3 キナーゼ - Akt - FOXO カスケードを調節する化合物を探索することによって、慢性骨髄性白血病のイマチニブ耐性を克服できる可能性を示した(*Nature*, in press)。

また、FOXO と並び、PI3 キナーゼ - Akt シグナルによって制御を受ける mTOR の活性化制御が、造血幹細胞の制御に重要な役割を果たしていることを見出した。mTOR 複合体 1 の活性に影響を与えるいくつかの分子の変異マウスを解析した結果、本複合体が造血幹細胞の機能および数、さらに造血環境因子に極めて重要な役割を果たしていることが判明した。今後、さらに PI3 キナーゼ - AKT シグナルカスケードの造血幹細胞および白血病幹細胞動態に関する詳細な検討を進める。

2) 固形腫瘍におけるがん幹細胞解析

固形腫瘍モデルにおけるがん幹細胞 (tumor-initiating cell) の特定法を確立するため、核小体分子 Nucleostemin の発現に着目した。Nucleostemin は、その発現が各種幹細胞で高く細胞の未分化状態との相関が示唆されていた。そこで、Nucleostemin promoter 活性を用いた GFP レポーターマウス (NS-GFP Tg) を用い、tumor-initiating cell の特定を試みた。NS-GFP Tg マウスをベースに脳腫瘍モデルを作製し、形成された脳腫瘍細胞を解析したところ、GFP 陽性細胞に腫瘍形成能を有する tumor-initiating cell が濃縮されていることが判明した。この細胞は、未分化マーカーを発現しており、GFP 陰性細胞は、未分化抗原が消失していることから、GFP 陽性細胞が幹細胞的性質を有していることが明らかとなった。さらに、腫瘍細胞が活発に正常脳組織に浸潤している部位に tumor-initiating cell が存在していることが判明し、治療後の脳腫瘍再発の原因となっていることも示唆された(*PNAS*, 2009)。同時に、免疫不全マウスを用いたヒト脳腫瘍動態解析法の確立を試みており、脳腫瘍根治を目指した治療法の開発を目指している。

一方、脳腫瘍の発生の原因として知られる Ras の活性化シグナルの正常な神経幹細胞に対する影響を検討した。その結果、細胞分化と腫瘍発生メカニズムの深い連関を示唆する知見を得た。今後、さらに分子レベルでの解析を進め、脳腫瘍発生・動態制御の詳細なメカニズムの解明を目指す。

研究業績

発表論文

<原著論文>

研究室が主体となったもの:

Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A. TGF β -FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature*, 2010, in press (DOI 10.1038/nature08734)

Tamase A, Muraguchi T, Naka K, Tanaka S, Kinoshita M, Hoshii T, Ohmura M, Shugo H, Ooshio T, Nakada M, Sawamoto K, Onodera M, Matsumoto K, Oshima M, Asano M, Saya H, Okano H, Suda T, Hamada JI, Hirao A. Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106:17163-8, 2009

共同研究:

Yamakoshi K, Takahashi A, Hirota F, Nakayama R, Ishimaru N, Kubo Y, Mann DJ, Ohmura M, Hirao A, Saya H, Arase S, Hayashi Y, Nakao K, Matsumoto M, Ohtani N, Hara E. Real-time in vivo imaging of p16Ink4a reveals cross talk with p53. *J Cell Biol*. 186:393-407, 2009.

<総説>

平尾敦: 再生医療の将来と産婦人科 6. がんと幹細胞 産科と婦人科 76: 1203-1207, 2009

平尾敦: 癌幹細胞研究の動向 がんの起源細胞と階層性、Biotherapy (Tokyo) 23:359-363, 2009

平尾敦: 幹細胞ホメオスタシスと酸化ストレス 実験医学 27:2401-2404, 2009

平尾敦: 寿命制御シグナルと幹細胞、日本老年医学会雑誌 46:29, 2009

平尾敦: がん幹細胞研究の最前線 日本外科学会雑誌 110:144-147, 2009

学会発表

<国際学会>

Hirao A: Roles of FoxO3a in normal hematopoiesis and leukemia. The 8th Japan-China Joint Conference for Cancer Research, Osaka, Oct 5, 2009

Hirao A: Roles of FoxO3a in normal hematopoiesis and leukemia. The 4th International workshop on Cell Regulations in Division and Arrest, Okinawa, Nov.30, 2009

Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Ooshio T, Motoyama N, Hirao A: Foxo3a is essential for survival of chronic myeloid leukemia-initiating cells. 7th International Society of

Stem Cell Research, Barcelona, Spain, July 8-11, 2009

Muraguchi T, Hoshii T, Ooshio T, Tadokoro Y, Naka K, Hirao A: Roles of Ras-induced growth suppression of neural stem cell in malignant glioma progression. American Association for Cancer Research (AACR) Special Conference on Genetics and Biology of Brain Cancers, U.S.A. San Diego, Dec. 14, 2009

<国内学会>

平尾敦: 幹細胞可視化システムを用いたがん組織不均一性の解析、第98回日本病理学会総会、京都、平成21年5月1日

平尾敦: 寿命制御シグナルと幹細胞、第51回日本老年医学会、横浜、平成21年6月19日

平尾敦: 老化・寿命制御シグナルと幹細胞、第5回加齢皮膚医学研究会、徳島、平成21年7月11日

平尾敦: Regulation of stem cell homeostasis and tumorigenesis by microenvironmental factors、第68回日本癌学会学術総会、横浜、平成21年10月1日

平尾敦: フォークヘッド転写因子 FoxO による造血幹細胞および白血病幹細胞制御、第82回日本生化学大会、神戸、平成21年10月21日

仲一仁、星居孝之、村口輝行、田所優子、大塩貴子、本山昇、平尾敦: Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第68回日本癌学会、横浜、平成21年10月1-3日

村口輝行、星居孝之、大塩貴子、田所優子、仲一仁、平尾敦: Roles of oncogenic Ras-induced differentiation of neural stem cell in malignant glioma progression, Oncogenic Ras signaling による神経幹細胞分化制御機構のグリオーマ悪性化進展における役割 第68回日本癌学会学術総会、横浜、平成21年10月2日

仲一仁、星居孝之、村口輝行、田所優子、大塩貴子、本山昇、平尾敦: Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第71回日本血液学会総会、京都、平成21年10月23-25日

星居孝之、村口輝之、大塩貴子、仲一仁、平尾敦: TSC-mTOR シグナルによる造血幹細胞制御機構の解明 第71回日本血液学会学術集会、優PS-3-13、京都、平成21年10月25日

仲一仁、星居孝之、村口輝行、田所優子、大塩貴子、本山昇、平尾敦: Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第7回幹細胞シンポジウム、東京、平成21年5月16-17日

村口輝行、星居孝之、大塩貴子、田所優子、仲一仁、平尾敦: p53- and Ink4a/Arf-independent growth arrest of neural stem/progenitor cells induced by oncogenic Ras signal in vivo. 第7回幹細胞シンポジウム、東京、平成21年5月15日

星居孝之、村口輝之、大塩貴子、仲一仁、平尾敦: TSC-mTOR signaling controls the hematopoietic stem cell pool through both intrinsic and extrinsic regulation. 第7回 幹細胞シンポジウム、P-19、東京、平成21年5月15日

村口輝行、星居孝之、大塩貴子、田所優子、仲一仁、平尾敦: Oncogenic Ras signaling による神経幹細胞分化制御機構のグリオーマ悪性化進展における役割 第10回 文部科学省特定領域「がん」5領域 若手研究者ワークショップ、長野、平成21年9月2日