

遺伝子・染色体構築研究分野

<研究スタッフ>

教授：平尾敦 准教授：仲一仁 助教：田所優子、星居孝之

日本学術振興会特別研究員：大塩貴子

村口輝行（7月より University of California,
San Francisco に留学（学振 海外特別研究員））

大学院生：守護晴彦、上間徳之、田中慎吾、Mohamed Ali、山田大祐

技術補佐員：田村恭子、澤和恵

技能補佐員：竹上美也子

<研究概要>

当研究分野では、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。本年度遂行した具体的な研究テーマは、①造血、神経を中心とした組織幹細胞維持および分化における FOXO, TGFβ, mTOR の役割、②がん幹細胞の特定と制御機構の解明、③脳腫瘍発生における神経幹細胞分化の役割などである。

<本年度の主な研究成果と、今後の研究の方向性>

1) TGFβ-FOXO シグナルと白血病幹細胞

造血幹細胞と類似した性質の白血病幹細胞をもつ慢性骨髄性白血病の解析を進め、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明らかにした。また特効薬としてのチロシンキナーゼ阻害剤イマチニブ中止後の再発の原因として、白血病幹細胞における FOXO の活性化が原因のひとつであることを明らかにした(*Nature*, 2010)。さらに、TGFβ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だし、その阻害剤が白血病治療に有効であることを確認した。現在、FOXO の活性化メカニズム、下流分子の特定を進め、新たな治療標的の探索を行っている。

2) 脳腫瘍の発生メカニズムと神経幹細胞分化

神経幹細胞における EGF-RAS 経路活性化状態における細胞分化運命決定制御因子を解析した。その結果、RAS 活性化が神経幹細胞のグリア系への分化を誘導すること、この分化誘導が阻害されると腫瘍形成が促進されることを見出した。さらに、本モデルを遺伝子改変マウスと組み合わせることによって、ヒトのグリーマ grade III あるいは grade IV と同じ病的特徴を持つ腫瘍を再現させることに成功した(*Cancer Research*, in press)。悪性度の高い腫瘍 (GBM, grade IV) ほど、未分化抗原の発現が見られ、一方悪性度の低い腫瘍 (Anaplastic astrocytoma, grade III) では、分化抗原が高い発現を示していた。grade IV は sphere 形成能を示すが、grade III ではその活性が見られないなど、悪性度と未分化性の相関を確認した。さらに、この系を用いて、脳腫瘍悪性進展に関わる因子を同定している。

3) mTOR シグナルと造血幹細胞および白血病幹細胞

FOXO とならび、PI3K-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の制御に極めて重要な役割を果たしていることが判明した。さらに、白血病モデルを作成し、白血病幹細胞では、大部分の白血病細胞と mTOR シグナルの依存性が大きく異なること、幹細胞の生存には他のシグナルとのクロストークが重要であることが明らかになった。同時に、ATP 経路、オートファジーなど関連シグナルも解析を行っている。これらの詳細を知ることは、白血病治療戦略に重要である。

4) マルチオミクス解析によるがん動態制御機構の解明

最近 mTOR 阻害剤が開発され、抗がん剤としての臨床治験が進んでいる。現在、治療に使用されている腎細胞癌のみではなく、乳がん、肺がん、肝がんなど複数の難治がんにおける有効性が期待されている。我々は、がん幹細胞の観点から mTOR の役割を解析しているが、これらの難治がんにおける mTOR の役割を知るため、上記変異マウスを用い各種がんモデルを構築している。腫瘍サンプルを用いた網羅的リン酸化蛋白解析にて mTOR 標的蛋白の特定、新規分子の探索を行っている (慶應義塾大学先端生命科学研究所との共同研究)。さらに、臨床検体で検証し、新規治療診断マーカー、分子標的の特定を目指す。

< 発表論文 >

原著論文

(研究室主体)

1. 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*, 463:676-80.2010.
2. Muraguchi T, Tanaka S, Yamada D, Tamase A, Nakada M, Nakamura H, Hoshii H, Ooshio T, Tadokoro Y, Naka K, Ino Y, Todo T, Kuratsu J, Saya H, Hamada J, Hirao A. NKX2.2 suppresses self-renewal of glioma-initiating cells. *Cancer Res.* in press

(共同研究)

3. Takubo K, Goda N, Yamada W, Iriuchishima H, Ikeda E, Kubota Y, Shima H, Johnson RS, Hirao A, Suematsu M, Suda T. Regulation of the HIF-1 α level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell.* 7:391-402, 2010
4. Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, Hirao A, Yanagi S, Fukami K, Ishikawa Y, Sone S, Hara E, Ohtani N. Intrinsic Cooperation between p16INK4a and p21Waf1/Cip1 in the Onset of Cellular Senescence and Tumor Suppression In vivo. *Cancer Res.* 70:9381-90, 2010
5. Su YW, Hao Z, Hirao A, Yamamoto K, Lin WJ, Young A, Duncan GS, Yoshida H, Wakeham A, Lang PA, Murakami K, Ohashi P, Mak TW. 14-3-3 σ regulates B-cell homeostasis through stabilization of FOXO1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108:1555-60, 2011

総説

1. Naka K, Hoshii T, Hirao A. Novel therapeutic approach to eradicate tyrosine kinase inhibitor resistant chronic myeloid leukemia stem cells. *Cancer Sci.* 101:1577-81, 2010
2. 平尾敦：“幹細胞らしさ”を支える代謝システム 細胞工学、30:47-51, 2011
3. 平尾敦：新規治療標的分子探索に向けた白血病幹細胞研究、細胞42:574-577, 2010

4. 仲一仁、平尾敦：白血病におけるTGF- β シグナル、医学のあゆみ、234:963-7, 2010
5. 仲一仁、平尾敦：慢性骨髄性白血病とTGF- β 、医学のあゆみ、234:573-6, 2010
6. 仲一仁、平尾敦：がん幹細胞と抗がん剤抵抗性、腫瘍内科、5:518-22, 2010
7. 仲一仁、平尾敦：TGF- β -FOXOシグナルによる白血病幹細胞の抗がん剤抵抗性機構、細胞42:18-21, 2010

<学会発表>

国際学会

1. Hirao A: Molecular mechanisms regulating maintenance of leukemia stem cells. The 15th Japanese Foundation for Cancer Research-International Symposium on Cancer Chemotherapy (JFCR-ISCC), Dec. 2-3, 2010, Tokyo (invited)
2. Hirao A: Role of PI3K-AKT signals in the maintenance of normal and leukemia stem cells, Tokyo iPS/Stem cell symposium, Nov.24, 2010, Tokyo (invited)
3. Hirao A : Roles of PI3-K signals in the maintenance of normal and leukemia stem cells, ESH-ICMLF Twelfth International Conference. CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA - Biological Basis of Therapy Sep 24-16, 2010, Washignton DC, USA (invited)
4. Hirao A: Roles of TGF β /FoxO in the maintenance of leukemia stem cells, The 59th Fujihara Seminar, Molecular mechanisms of TGF- β signaling and disease, July 14 -17, 2010, Tomakomai, Japan (invited)
5. Hirao A: Regulation of hematopoietic stem cell homeostasis and leukemia. AACR/JCA 8th Joint Conference: Cancer Genomics, Epigenomics, and the Development of Novel Therapeutics, Feb 7,2010 Hawaii, USA (invited)
6. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Motoyama N, Oshima M, Hirao A:Foxo3a is essential for survival of leukemia-initiating cells in chronic myeloid leukemia. American Association for Cancer Research 101th Annual meeting, Apr. 17th-21st, Washington DC, USA
7. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A :Molecular Mechanism Regulating Foxo In Leukemia Initiating Cells of Chronic Myeloid Leukemia. The 52nd American Society of Hematology Annual meeting and exposition, Dec. 4-7, 2010, Orlando, FL, USA
8. Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, Ooshio T, Muraguchi T, Araki K, Yamamura K, Hirao A : Critical Roles of mTORC1 signaling in maintenance of hematopoietic

stem cells, The Joint Symposium of the 5th International Symposium of Institutes Network, Jun 24th, 2010, Kanazawa

9. Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, Ooshio T, Muraguchi T, Araki K, Yamamura K, Hirao A: Strict regulation of mTOR signaling is essential for hematopoietic stem cell maintenance in vivo, The 8th Stem Cell Research Symposium Program, Awaji, May 15, 2010

全国学会

10. Hirao A: Regulation of stem cell homeostasis and tumorigenesis. BMB2010, 平成 22 年 12 月 8 日、神戸
11. 平尾敦：造血幹細胞および白血病幹細胞維持制御メカニズム 日本顕微鏡学会、平成 22 年 11 月 12 日、金沢
12. 平尾敦：腫瘍悪性進展制御と細胞分化、第 48 回日本癌治療学会、平成 22 年 10 月 27 日、京都
13. 平尾敦：代謝解析による幹細胞制御機構の解明、第 3 回公開シンポジウム CREST「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」研究領域、平成 22 年 10 月 21 日、東京
14. Hirao A: Molecular mechanisms regulating self-renewal of glioma-initiating cells. 第 69 回日本癌学会、平成 22 年 9 月 22-24 日、大阪
15. 平尾敦：栄養代謝制御シグナルと造血幹細胞、第 31 回日本炎症・再生医学会、平成 22 年 8 月 6 日、東京
16. 平尾敦：白血病幹細胞制御機構の解明と治療戦略 第 14 回日本がん分子標的治療学会学術集会、平成 22 年 7 月 8 日、東京
17. 平尾敦：幹細胞研究に基づいた脳腫瘍の発生・病態制御機構解明へのアプローチ、第 19 回日本がん転移学会学術集会、平成 22 年 6 月 16 日、金沢
18. 平尾敦：寿命制御シグナルと造血幹細胞、第 10 回日本抗加齢医学会総会、平成 22 年 6 月 11 日、京都
19. 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 9 回日本再生医療学会、平成 22 年 3 月 19 日、広島
20. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A : Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第 69 回日本癌学会、平成 22 年 9 月 22-24 日、大阪
21. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A : Foxo3a is essential for maintenance of chronic

myelogenous leukemia-initiating cells. 第 72 回日本血液学会総会, 平成 22 年 9 月 24-26 日、横浜

22. 仲一仁、平尾敦：TGF- β -FOXO シグナルによる白血病幹細胞の抗がん剤抵抗性機構の解析, 第 19 回日本がん転移学会, 平成 22 年 6 月 16-17 日、金沢
23. 仲一仁, 平尾敦：白血病幹細胞の抗がん剤抵抗性機構の解析, 第 19 回日本癌病態治療研究会, 平成 22 年 6 月 30-7 月 1 日、東京
24. 星居孝之、田所優子、村口輝之、大塩貴子、仲一仁、平尾敦：TSC-mTOR signaling controls the hematopoietic stem cell pool 日本分子生物学会第10回春季シンポジウム、平成22年6月7日 宮城
25. 星居孝之、畠山朋樹、田所優子、仲一仁、大塩貴子、村口輝之、平尾敦：Rapamycin inhibits initiation of T-ALL induced by activation of oncogenic K-ras 第69回日本癌学会学術総会、平成22年9月22日、大阪

<外部資金 (平成 22 年度) >

公的資金

1. 平尾敦：基盤研究 (B) 「細胞老化・寿命制御シグナルによる白血病幹細胞の発生・維持・分化」 4,300千円
2. 平尾敦：戦略的創造研究推進事業 代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御に関する基盤技術の創出「代謝解析による幹細胞制御機構の解明」35,000千円
3. 平尾敦：挑戦的萌芽研究 「腫瘍悪性度進展における未分化性獲得メカニズムの解明」 3,000千円
4. 平尾敦：厚生労働省がん研究開発費「mTOR経路調節による白血病治療法の開発」1,000千円
5. 仲 一仁：基盤研究(C)「フォークヘッド転写因子Foxoによる白血病幹細胞の維持機構の解明」1,100千円
6. 田所優子：若手研究(B)「Spred-1 の機能に着目した造血幹細胞及び白血病幹細胞ニッチの解析」1,600 千円
7. 星居孝之：若手研究 (B) 「mTOR 複合体 1 による正常造血幹細胞・白血病幹細胞制御機構の解明」1,500 千円
8. 村口輝行：特別研究員奨励費「発がん防御機構における細胞老化 (O I S) を介した幹細胞分化制御の役割」800 千円
9. 大塩貴子：特別研究員奨励費「プリンヌクレオチド合成経路によるがん幹細胞の未分化維持機構の解明」1,000 千円

民間資金

1. 仲 一仁：2010年武田科学振興財団研究助成金「白血病幹細胞における細胞周期静止期制御メカニズムの解析」3,000千円
2. 仲 一仁：第28回持田記念研究助成金「TGF- β シグナルによる白血病幹細胞の維持機構の解析」3,000千円
3. 仲 一仁：第24回北國がん基金「がん幹細胞におけるフォークヘッド転写因子FOXOの制御メカニズムの解析」2,000千円

<共同研究>

学内

1. 白血病幹細胞解析：医学系研究科 血液内科 中尾眞二
2. 脳腫瘍幹細胞解析：医学系研究科 脳神経外科 中田光俊、浜田潤一郎

学外

3. 白血病幹細胞におけるFOXOの役割解析：国立長寿医療センター 本山昇
4. 脳腫瘍幹細胞解析：東京大学大学院医学系研究科脳神経外科 藤堂具紀
5. 脳腫瘍幹細胞解析：慶應義塾大学医学部 佐谷秀行
6. 脳腫瘍幹細胞解析：熊本大学大学院医学系研究科脳神経外科 倉津 純一
7. 白血病幹細胞解析：名古屋大学大学院医学系研究科血液腫瘍内科学 直江知樹
8. マルチオミクス解析：慶應義塾大学先端生命科学研究所 曾我朋義
9. 細胞老化とがん幹細胞：癌研究会癌研究所 原英二