

「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」  
平成 17 年度採択研究代表者

平尾 敦

金沢大学がん研究所がん幹細胞研究センター・教授

代謝解析による幹細胞制御機構の解明

## 1. 研究実施の概要

本研究は、恒常的に、あるいは障害時に細胞の供給源となる組織幹細胞を対象に、細胞内代謝の観点からその制御システムを理解することを目標とする。また、正常組織幹細胞に加え、がん組織の中の幹細胞的な役割を持つ“がん幹細胞”も研究の対象とし、幹細胞研究の技術・知識を基盤とするアプローチによって、がんの発生・維持の制御機構を解明することを目標とする。本研究成果をもって、再生医療における技術向上あるいは新しいがん治療の開発に貢献し、社会へ還元することを目指すものである。本年度は、H20 年度の研究実施計画に基づき、下記のように研究を遂行した。

本年度は主に代謝制御と幹細胞機能を結びつける大きな鍵になると考えられた栄養環境センサー転写因子 FOXO や低酸素環境による幹細胞機能制御メカニズムの解明に取り組んだ。FOXO に関して、白血病の中の幹細胞、“白血病幹細胞”における FOXO の挙動についての検討を行った。原がん遺伝子導入による白血病細胞を分化度別に分画し検討した結果、FOXO の細胞内局在が分画間で変動しており、正常造血組織と同様に FOXO 機能の細胞特異性があることが判明した。一方で、この細胞特異性は、その原因遺伝子や白血病の型によって、さらに変動するものでもあり、細胞の状態、未分化性と FOXO 依存的な細胞内代謝変動との相関をさらに詳細に検討することが必要であると考えられた。正常造血幹細胞においては、FOXO の活性化に重要な役割があることが知られている NAD 依存的に活性化する脱アセチル化酵素 SirT1 の解析を行った。我々の実験系では、SirT1 欠損による造血幹細胞での FOXO3a 機能への明らかな影響は見出すことができなかった。したがって、造血幹細胞では SirT1 非依存的な FOXO の活性化制御が重要であることが示唆された。さらに、FOXO と同様に Akt の下流にあるとされている mTOR シグナルについて検討を行った。その結果、静止状態造血幹細胞で mTOR 活性が低下していることを見出し、FOXO 同様に mTOR 活性制御を解析することによって、細胞内外の代謝変動と幹細胞の関係を明らかにできると考えられた。一方で、低酸素環境と造血幹細胞に関しては、ヒト造血幹細胞において検討を行った。

がん組織の解析において、昨年度までに神経幹細胞を用いた脳腫瘍モデルを構築したため、本モデルを用いて腫瘍細胞の分化と細胞内代謝変動の解明に取り組んだ。脳腫瘍組織の代謝

産物を解析した結果、多くのアミノ酸の変動が観察されアミノ酸輸送体を介して細胞増殖に必要なエネルギーやタンパク質合成を維持していることが示唆され、腫瘍における特殊な代謝制御が観察された。また、がん幹細胞の特定の目的で、Nucleostemin を用いた幹細胞マーキングシステムの開発に取り組んだ。Nucleostemin promoter 活性を用いた GFP レポーターマウス(NS-GFP Tg)を作製し、各種組織で検討を行い、複数の組織で細胞の未分化状態と GFP の相関を観察した。また、肝臓がんにおいても、そのがん幹細胞の制御にポリコム遺伝子 Bmi1 が重要な役割を果たしていることを見出した。この系はがん幹細胞の代謝を解析する上で有用なものと考えられた。これらの系を駆使し、今後、がん幹細胞の特定・制御機構の解明と代謝経路との関係解明に寄与できることが期待された。

## 2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

### 平尾グループ

#### 1. 幹細胞と代謝

昨年までに引き続き、造血幹細胞の自己複製、未分化性維持あるいはストレス応答に重要な代謝制御分子フォークヘッド転写因子 FOXO3a の機能解析に取り組んだ。まず、計画に基づき脱アセチル化酵素 SirT の造血幹細胞における役割を解析した。Sir2 脱アセチル化酵素は、さまざまな生物種において生体の寿命を調節している。また、SirT1 と FOXO 転写因子は細胞内で酸化ストレスに応答して複合体を形成し、さらに SirT1 は試験管内でも細胞内でも FOXO3 を脱アセチル化することが知られている。造血幹細胞において SirT1 が FOXO の活性化に寄与するのではないかという作業仮説に基づき検討を行った。SirT1 欠損マウスは多くは生直後に死亡する。そこで、胎生 14 日マウスの肝臓より造血幹細胞分画(c-Kit 陽性、Sca-1 陽性、Lin 陰性)を採取し、培養および移植により造血幹細胞機能を検討した。その結果、SirT1 欠損細胞のコロニー形成能はやや高い傾向を示したものの、FOXO3a 制御において明らかな機能不全は認められなかった。このことから、FOXO3a の活性化は SirT1 非依存的に起こっていると考えられ、さらに他の因子の探索を行う必要があると考えられた。一方で、FOXO の活性化は白血病幹細胞でも重要であることを示唆する知見を得た。様々なヒトの白血病の原因遺伝子をマウス造血幹細胞に導入後移植することによって、白血病モデルを作成することができる。さらに表面抗原を用い白血病細胞を細分画したところ、FOXO3a の局在は分画間で変動していた。このことは、FOXO が白血病細胞においても細胞周期、生存、分化と関連し細胞特異性を持つことを示唆する。今後、白血病幹細胞における役割の解明、FOXO を中心とする代謝制御を解析することが新たな治療法開発に寄与すると考えられた。さらに、FOXO と並び Akt の下流として知られている mTOR の活性を検討したところ、静止期造血幹細胞において mTOR の活性が抑制されていることが判明した。このことから、今後 FOXO 同様に mTOR 活性制御を解析することによって、細胞内外の代謝変動と幹細胞の関係が明らかにできると考えられた。また、ゲノム安定性と幹細胞機能維持メカニズムという観点から、ATM、53BP1 という DNA 損傷シグナル制御分子の幹細胞制御システムの解析を進めた(文献 1)。

#### 2. がんと代謝

昨年度作成した脳腫瘍モデルを用いて、がん幹細胞すなわち tumor-initiating cell 集団の検討

を行うために、腫瘍細胞を採取し培養と移植実験を行った。その結果、正常の神経幹細胞の分化制御に関与していることが知られている BMP を添加することによって、未分化腫瘍細胞が分化型腫瘍細胞に変化することが判明した。今後、この系を用いて腫瘍細胞の分化過程と細胞内代謝変動を解析する予定である。一方、生体内での tumor-initiating cell 特定法の確立が必要である。この目的で、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、またイモリのレンズ四肢の傷害時に見られる脱分化現象の際に発現が誘導されることが報告され、細胞の未分化状態との相関が示唆されていた。そこで、Nucleostemin の promoter 活性を用いた GFP レポーターマウス(NS-GFP Tg)を作製した。すなわち、Nucleostemin の発現の高い細胞を GFP にて標識するシステムである。NS-GFP Tg マウスの精巣を解析すると、胎生期、新生児期、発達期において、未分化生殖細胞集団を標識できていることを確認した。特に、新生児期の精巣細胞では、少数の GFP 強陽性(Nucleostemin 高発現)細胞集団が、生殖細胞の再構築能を持つ幹細胞集団であることが判明した(文献 2)。さらに、この Tg マウスでは、造血組織、神経組織、肝臓において GFP の輝度と幹細胞活性に相関があることを明らかになり、組織を超えた未分化性維持機構に共通性があることが示唆された。今後、このシステムにおいて GFP の輝度をもとに腫瘍細胞の分類を行い、代謝制御とがん幹細胞の関係を明らかにする予定である。また、このシステムを消化管腫瘍においても適用するため、消化器における発がん細胞分化制御の解明に取り組んだ(文献 3)。

#### 須田グループ

今年度はヒト造血幹細胞システムに対する低酸素環境の機能的影響を検討した。具体的方法としては、ヒト臍帯血造血幹細胞の、ex vivo での酸素濃度改変の影響と、培養後の細胞の免疫不全マウス(NOG マウス)への異種移植による骨髄再構築系を用いた解析を行った。特に、ex vivo の培養においては、マウス造血幹細胞培養で用いられる最小限度のサイトカインの組み合わせ(SCF+TPO)を採用し、サイトカインシグナルによる幹細胞枯渇を最低限に抑制する方法を採用した。これらを組み合わせることでヒト造血幹細胞システムに対する酸素濃度の影響を以下に述べるとおり、より精緻に検討できた。まず、低酸素培養後のヒト臍帯血造血幹細胞分画(Lineage marker 陰性 CD38 陰性 CD34 陽性)の細胞増殖は抑制されていた。培養後の細胞の超免疫不全マウス NOG マウスへの骨髄移植によって、細胞数が抑制されているにもかかわらず幹細胞活性は高く保たれていることが示された。また、この分画のなかで Ki67 陽性の細胞周期が回転している細胞の割合は著明に減少しており、低酸素培養で細胞周期の抑制されていることが免疫組織学的解析によって確認された。さらに、ヒト造血幹細胞の細胞周期静止期維持に必要な CDK inhibitor p21 の発現が亢進していることがリアルタイム PCR 法によって同定された。最後に、ヒト臍帯血造血幹細胞を NOG マウスへ移植すると、幹細胞分画が NOG マウスの骨髄内で pimonidazole 陽性となり低酸素環境を再獲得していることが免疫組織学的解析から明らかになり、マウスだけでなく、ヒト造血幹細胞の維持にも低酸素環境の貢献が重要である可能性が示唆された(文献 4)。その他、マウス組織幹・前駆細胞のニッチの関連を明らかにした(文献 5-11)。

#### 合田グループ

昨年度に引き続き幹細胞機能維持に係わる代謝経路の同定を目指して、Capillary

Electrophoresis Mass Spectrometry を用いて全代謝解析を行った。特に、本年度は平尾グループにおいて見いだした幹細胞維持に重要な転写因子である FoxO3a を介した代謝変動を経時的に捉えることを試みた。その結果、解糖系では Fructose 1,6-Bisphosphate が FoxO3a 誘導 8 時間後に一過性の上昇を示すことが明らかになった。一方、TCA 回路の代謝産物動態解析では、クエン酸がピルビン酸同様に誘導 8 時間後に増え、さらに下流の 2 oxo-glutarate、フマル酸、リンゴ酸も同じ変動を示した。しかし、succinate はこれらの代謝産物動態と異なり時間依存性に低下した。また、ペントースリン酸経路の代謝産物動態は Erythrose 4-phosphate 以外には顕著な変化は認められないものの、この経路で産生される重要な細胞内還元物質である NADPH を NADPH/NADP 比で捉えてみると、FoxO3a 誘導後 4-8 時間で急激に低下することが明らかになった。これらの結果は、FoxO3a 発現誘導により一過性に糖の利用とエネルギー代謝経路の活性化が誘導されることを強く示唆していると考えられた。一方、アミノ酸代謝解析の結果、20 種のアミノ酸のうち半数のアミノ酸が FoxO3a 誘導 12 時間後に著大な低下を示すことが明らかになった。特に負電荷極性アミノ酸であるアスパラギン酸とグルタミン酸、水酸基側鎖を持つセリン、スレオニン、チロシンの低下が特徴的であった。また更に、メチオニン代謝については大きな変動が認められないものの、還元型グルタチオンの急激な減少が認められた。この結果は NADPH の変動と併せて、FoxO3a 誘導により細胞内酸化ストレスが急激に生じたために主要な細胞内還元物質が低下したのではないかと考えている。今後更に幹細胞固有の代謝制御機構における FoxO3a の役割について解析を行う予定である。

## 田賀グループ

1) 血液系: 胎生期の造血の場合は、個体発生の進行に伴い変化する。たとえば、大動脈-生殖原基-中腎(AGM)領域に見られる成体型造血幹細胞は、肝臓、胎盤と、その存在が変遷する。この現象は、時期ならびに場所に特異的な、幹細胞特性の変化と幹細胞ニッチの変化を反映しているものと考察される。つまり、胎生期造血組織は、幹細胞特性と幹細胞ニッチの双方に取り組み好材料であり、ひいては未解明の癌幹細胞の特性と癌幹細胞ニッチの理解に結びつく可能性がある研究対象ともいえる。本研究課題で当研究担当者らはこれまでに、マウス AGM 領域の *in vitro* における分散培養の解析から CD45<sup>low</sup>c-Kit<sup>+</sup>細胞集団に各種血液細胞に分化する能力があることを明らかにした。また、この *in vitro* の結果を踏まえて、*in vivo* の状況を考察した。胎生 10.5 日胚の AGM 領域の細胞を培養せずに CD45 と c-Kit の発現強度に基づき分取し、ストローマ細胞との共培養で生じる血球細胞コロニー数の検討を行った結果、*in vitro* の観察と同様な造血能を有する集団 (CD45<sup>low</sup>c-Kit<sup>+</sup>) の存在を明らかにした。本年度は、成体型造血幹細胞 (特に出生後の造血幹細胞) の 1 つの性質である side population (SP) の有無を Hoechst33342 染色で解析する研究を継続した。これにより、前述の CD45<sup>low</sup>c-Kit<sup>+</sup>細胞集団を、SP の性質を加味して分取しコロニー形成能を比較することで、さらに幹細胞活性の高い集団に狭めることが可能であることをあきらかにした。今年度はこれと並行して、胎生の進行に伴う胎盤内の造血幹細胞活性を、CD45 と c-Kit の発現強度に基づいて検討する研究も実施した。その結果、CD45<sup>+</sup>c-Kit<sup>+</sup>集団に最も高い造血コロニーの存在を認めた。胎盤における造血の研究はそのプールの拡大を勘案するとニッチ細胞研究の糸口を得られる可能性がある。今後、幹細胞特性と幹細胞ニッチを対象に平行し

て研究することで、幹細胞特性の動態解明とがん幹細胞への適用に努める。

**2) 神経系:** 神経幹細胞の特性を明らかにすることは、脳腫瘍における幹細胞様細胞の特性を知る手がかりを得られるものと考えられる。この点で、脳の形成が盛んに行われる胎生期において神経幹細胞がどのような分子基盤に基づいて増殖しつつ分化抑制されるのか、言い換えればどのように自己複製するのかを明らかにすることは、解決すべき重要な問題点である。これまでに、神経幹細胞が自己複製する際には、増殖が促進される仕組みと分化が抑制される仕組みの双方が連携しているとの観点から、神経幹細胞の維持に寄与する増殖因子 *fibroblast growth factor 2 (FGF2)* の信号伝達経路に取り組んできた。その際に、神経幹細胞において *FGF2* の下流のシグナル伝達経路のコンポーネントのいずれかから、ニューロンなどの分化を抑制するシグナルが派生すると想定した。神経幹細胞に *FGF2* を添加すると *PI3K-Akt* 経路を介して *GSK3beta* の 9 番目の *Serine* がリン酸化されることで *GSK3beta* のキナーゼ活性が抑制され、結果的に *Wnt3a* シグナルの下流標的である *beta-catenin* の核への蓄積と、細胞周期制御因子 *CyclinD1* の発現促進に至ることがわかった。*Notch* シグナルはニューロン分化を抑制するという点において神経幹細胞の未分化性維持に寄与していると言える。当研究担当者らは *Notch* シグナルのエフェクター分子である抑制型 *basic helix-loop-helix* 分子 *Hes1* の発現が、*FGF2* シグナルの共存化で増強されることがわかった。この増強は、*Notch* の細胞内領域と *beta-catenin* の物理的な相互作用を核として転写共役分子 *p300, P/CAF* を含む核内複合体の形成によりなされることが明らかになった(文献 12)。これらの結果は、*FGF2* シグナルが *Wnt3a* シグナルや *Notch* シグナルとクロストークして神経幹細胞の増殖機構と未分化性維持機構を連携させもるものであり(文献 13)、正常神経幹細胞や、がんにおける幹細胞様細胞の維持機構を考察する上で興味深い。

## 岩間グループ

造血幹細胞研究に関しては、造血幹細胞の老化制御機構を介した維持機構の解析を進めるとともに(文献 14,15)、ポリコム遺伝子 *Bmi1* がメモリーT細胞において *Noxa* の発現抑制を介して、抗アポトーシス・抗老化に機能することを明らかとした(文献 16)。がん幹細胞研究に関しては、白血病幹細胞の機能解析を進めるとともに(文献 17)、ヒト肝細胞癌における *Bmi1* の強制発現、ノックダウンの系を用いて、*Bmi1* が肝癌幹細胞の維持・造腫瘍活性に必須であることを確認した(文献 18)。この系は癌幹細胞の代謝を解析する上で有用なものと考えられた。さらに、ポリコム遺伝子産物 *Bmi1* が癌幹細胞において制御する *Ink4a-Arf* 以外の遺伝子群の同定を行った。マウス *Dlk1*<sup>+</sup>胎児肝幹・前駆細胞にポリコム遺伝子 *Bmi1* を強制発現した場合、肝幹・前駆細胞は自己複製能の充進を示すとともに、*NOD/SCID* マウスにおいて腫瘍を形成する。この腫瘍化の過程において、*Bmi1* の重要な標的遺伝子であり細胞老化制御に密接に関連する *Cdkn2a(Ink4a/Arf)* 遺伝子の意義を検証するため、*Ink4a-Arf*<sup>-/-</sup>マウスから胎仔肝幹・前駆細胞を分離し同様の実験を行った。*Ink4a-Arf*<sup>-/-</sup>胎仔肝幹・前駆細胞は *in vitro* での形質転換は示したものの、*NOD/SCID* マウスに移植しても腫瘍を形成しないことが示され、*Bmi1* の強制発現による腫瘍形成の過程においては、*Ink4a-Arf* 遺伝子以外にも *Bmi1* の重要な標的遺伝子が存在し、その発現抑制が腫瘍化には必須であるものと考えられた。マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い、*Bmi1* が直接制御する遺伝子群の中から、癌抑制候補遺伝子を複数同定し、癌細胞排除に働く癌遺伝子シグナル誘導

性細胞老化(Oncogene-induced senescence: OIS)における機能解析を進めている。ヒト肝細胞癌サンプルにおける癌幹細胞の同定は、いまだ試行錯誤の途中であるが、CD90 陽性癌肝細胞分画の純化が可能な状況まで進んでいる。

### 3. 研究実施体制

#### (1)「平尾」グループ

①研究分担グループ長：平尾 敦(金沢大学、教授)

②研究項目

- ・正常組織幹細胞とがん幹細胞の代謝解析

#### (2)「須田」グループ

①研究分担グループ長：須田 年生(慶應義塾大学、教授)

②研究項目

- ・造血幹細胞の代謝解析

#### (3)「合田」グループ

①研究分担グループ長：合田 亘人(早稲田大学、教授)

②研究項目

- ・各種幹細胞の代謝産物の測定

#### (4)田賀グループ

①研究分担グループ長：田賀 哲也(熊本大学、教授)

②研究項目

- ・組織幹細胞および脳腫瘍におけるがん幹細胞の代謝解析

#### (5)「岩間」グループ

①研究分担グループ長：岩間 厚志(千葉大学、教授)

②研究項目

- ・造血幹細胞および肝がんにおけるがん幹細胞の代謝解析

### 4. 研究成果の発表等

#### (1) 論文発表 (原著論文)

1. Takubo K, Ohmura M, Azuma M, Nagamatsu G, Yamada W, Arai F, Hirao A, Suda T. Stem cell defects in ATM-deficient undifferentiated spermatogonia through DNA damage-induced cell cycle arrest. *Cell Stem Cell*, 2:170-182, 2008
2. Ohmura M, Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Shugo H, Tamase A, Uema N, Ooshio T, Arai F,

- Takubo K, Nagamatsu G, Hamaguchi I, Takagi M, Ishihara M, Sakurada K, Miyaji H, Suda T, Hirao A. Identification of Stem Cells During Prepubertal Spermatogenesis Via Monitoring of Nucleostemin Promoter Activity. *Stem Cells*. 26:3237-46, 2008
3. Oguma K, Oshima H, Aoki M, Uchio R, Naka K, Nakamura S, Hirao A, Saya H, Taketo MM, Oshima M. Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor-alpha in gastric tumour cells. *EMBO J*. 27:1671-81, 2008.
  4. Shima H, Takubo K, Iwasaki H, Yoshihara H, Gomei Y, Hosokawa K, Arai F, Takahashi T, Suda T: Reconstitution activity of hypoxic cultured human cord blood CD34-positive cells in NOG mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 378: 467-72, 2009
  5. Urano T, Ito Y, Akao M, Sawa T, Miyata K, Tabata M, Morisada T, Gato T, Yano M, Kadomatsu T, Yasunaga K, Shibata R, Murohara T, Akaike T, Tanihara H, Suda T, Oike Y: Angiopoietin-Related Growth Factor Enhances Blood Flow via Activation of the ERK1/2-eNOS-NO Pathway in a Mouse Hind-Limb Ischemia Model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28: 827-34, 2008
  6. Hirashima M, Sano K, Morisada T, Murakami K, Rossant J, Suda T: Lymphatic vessel assembly is impaired in *Asppl*-deficient mouse embryos. *Dev Biol*, 316: 149-59, 2008
  7. Kawasaki K, Watabe T, Sase Hitoshi, Hirashima M, Koide H, Morishita Y, Yuki K, Sasaoka T, Suda T, Katsuki M, Miyazono K, Miyazawa K: Ras signaling directs endothelial specification of VEGFR2+ vascular progenitor cells. *J Cell Biol*, 181: 131-41, 2008.
  8. Kubota Y, Hirashima M, Kishi K, Stewart CL, Suda T: Leukemia inhibitory factor regulates microvessel density by modulating oxygen-dependent VEGF expression in mice. *J Clin Invest*, 118:2393-403, 2008
  9. Nagoshi N, Shibata S, Kubota Y, Nakamura M, Nagai Y, Satoh E, Morikawa S, Okada Y, Mabuchi Y, Katoh H, Okada S, Fukuda K, Suda T, Matsuzaki Y, Toyama Y, Okano H: Ontogeny and multipotency of neural crest-derived stem cells in mouse bone marrow, dorsal root ganglia, and whisker pad. *Cell Stem Cell*, 10: 392-403, 2008
  10. Sawatani Y, Miyamoto T, Nagai S, Maruya M, Imai J, Miyamoto K, Fujita N, Ninomiya K, Suzuki T, Iwasaki R, Toyama Y, Shinohara M, Koyasu S, Suda T: The role of DC-STAMP in maintenance of immune tolerance through regulation of dendritic cell function. *Int Immunol*, 20: 1259-68, 2008

11. Miyamoto K, Miyamoto T, Kato R, Yoshimura A, Motoyama N, Suda T: FoxO3a regulates hematopoietic homeostasis through a negative feedback pathway in conditions of stress or aging. *Blood*, 2008 Sep 17. [Epub ahead of print]
12. Shimizu T, Kagawa T, Inoue T, Nonaka A, Takada S, Aburatani H, and Taga T. Stabilized beta-catenin functions through TCF/LEF proteins and the Notch/RBP-Jkappa complex to promote proliferation and suppress differentiation of neural precursor cells. *Mol. Cell. Biol.* 24:7427-7441, 2008.
13. Namihira M, Kohyama J, Semi K, Sanosaka T, Deneen B, Taga T, and Nakashima K. Committed neuronal precursors confer astrocytic potential on residual neural precursor cells. *Dev. Cell* 16:245-255, 2009.
14. Matsuoka S, Oike Y, Onoyama I, Iwama A, Arai F, Takubo K, Mashimo Y, Oguro H, Nitta E, Ito K, Miyamoto K, Yoshiwara H, Hosokawa K, Nagamatsu G, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Shima H, Hayashi Y, Matsuzaki Y, Nakayama K, Ikeda Y, Hata A, Chiba S, Nakayama K-I, and Suda T. Fbxw7 acts as a critical failsafe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL. *Genes & Dev* 22, 986-991, 2008.
15. Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Nose T, Hamaguchi I, and Yamaguchi K. Identification of transcripts commonly expressed in hematopoietic and germline stem cells. *Stem Cells and Development* 17, 67-80, 2008.
16. Yamashita M, Kuwahara M, Suzuki A, Hirahara K, Shinnakatsu R, Hosokawa H, Hasegawa A, Motohashi S, Iwama A, and Nakayama T. Bmi1 regulates memory CD4 T cell survival via repression of the Noxa gene. *J Exp Med* 205, 1109-1120, 2008.
17. Takeuchi M, Nakaseko C, Miyagi S, Takeda Y, Ozawa S, Ohwada C, Cho R, Nishimura M, Saito Y and Iwama A. Clonal expansion of non-leukemic cells expressing two novel MLL-ELL variants differing in transforming activity. *Leukemia* 22, 861-864, 2008.
18. Chiba T, Miyagi S, Saraya A, Aoki R, Seki A, Morita Y, Yonemitsu Y, Yokosuka O, Taniguchi H, Nakauchi H, and Iwama A. The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 68, 7742-7749, 2008

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 2 件)