

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「代謝調節機構解析に基づく細胞機能
制御基盤技術」
研究課題「代謝解析による幹細胞制御機構の解明」

研究終了報告書

研究期間 平成17年10月～平成23年3月

研究代表者：平尾 敦
(金沢大学がん研究所遺伝子染色体構築研究分野、教授)

§ 1 研究実施の概要

本研究では、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した。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した。本研究の成果をもって、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した。

まずは各種幹細胞の動態や特性を理解し、細胞内のいかなる代謝経路を重点的に検討するかを見極めることが重要である。その観点から、いくつかの重要と考えられる代謝経路に焦点を絞り、幹細胞機能との関連を探った。その結果、栄養環境センサーとして知られる転写因子 FOXO の幹細胞プール維持における役割を明らかにした。この知見は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。また、低酸素環境と幹細胞の観点から、HIF1 α の機能を検討し、幹細胞機能と解糖系あるいはミトコンドリア機能との関連を明らかにした。一方で、メタボローム技術を用い、栄養環境、酸素濃度など、幹細胞性あるいは未分化性の維持に関与する環境下での代謝変動を解析したところ、幹細胞機能とアミノ酸変動が関連することを示唆する知見を得た。そこで、アミノ酸、グルコース、ATP などのエネルギー代謝の中心的役割を担う mTOR の活性制御に注目し研究を展開した。その結果、mTOR 活性制御は、造血幹細胞の数および機能の調節に重要な役割を果たしている知見を得た。mTOR 活性制御を中心に幹細胞機能に影響を与えているか検討することにより、栄養代謝による新しい幹細胞制御機構の解明に寄与すると考えられた。その他、本研究において、細胞内レドックス制御の重要性、特に活性酸素-p38MAPK 経路の幹細胞における役割を明らかにした。また、神経や造血細胞、さらにがん幹細胞で共通の幹細胞らしさを支える分子基盤の解明に取り組み、エピジェネティクス制御、Wnt/bcatenin シグナルの重要性など幹細胞制御に関する多くの知見を得ることができた。このように幹細胞を取り巻く環境が幹細胞内の代謝制御を通じて、その機能をコントロールしていることが示唆され、今後、幹細胞のマニピュレーションや増幅のための技術開発の礎となると考えられた。

本研究におけるもうひとつのターゲットはがんである。特に、がん幹細胞の特定とその制御システムに関する検討を行った。がん幹細胞は、がんの源 (initiation) の細胞であると考えられており、その制御機構の解明は、がんの根治ストラテジーの中で、研究の推進が強く求められている。本研究においては、白血病、脳腫瘍、肝臓がんのモデル作製を行い、がん幹細胞の特定法を検討した。このように幹細胞研究をがんに応用することによって、有用な情報が得られると考えられた。また、FOXO や Bmi-1 などの幹細胞制御分子ががん幹細胞でも重要な役割を果たしていることを明らかにした。これらの知見は、新しい分子標的の発見につながる可能性を示した。さらに、幹細胞レベルでのがん原遺伝子の活性化モデルで解析を進めた結果、腫瘍の悪性進展度に応じて、幹細胞性の獲得を示すことが明らかとなった。このことは、幹細胞維持機構あるいは細胞分化制御機構が腫瘍の発生や悪性化進展に重要な鍵となることが示され、今後の治療の標的分子の探索の上で重要な柱になることが示された。

以上のように、正常幹細胞とがん幹細胞の維持・増殖・分化制御機構の解明を目指して、細胞内代謝制御からのアプローチを今後も継続することによって、さらに有意義な研究成果を得ることができ、将来の再生医療やがん治療の向上に寄与できるための重要な知見となると考えられる。

§ 2. 研究構想

(1) 当初の研究構想

本研究計画の基本は、①造血幹細胞を中心とする組織幹細胞の制御機構を細胞内代謝の観点から明らかにする、②がん幹細胞の特定とその制御機構を解明する、③細胞内代謝産物を解析することによって幹細胞性の維持、分化に重要な代謝経路を解明し、幹細胞制御やがん治療のための分子標的を特定し、医療への応用への足掛かりを模索することを目的とした。研究開始当初の個々の研究構想および計画は以下に示す通りである。

1. 幹細胞と細胞内代謝

造血幹細胞の特徴は、細胞周期から逸脱した G0 期にあることであり、幹細胞の自己複製制御機構を解明するためには、静止期にある幹細胞 (Quiescent Stem Cell) の性状の詳細な検討が必要である。私たちは、造血幹細胞がある種の **栄養飢餓状態・低酸素状態** ではないか、という仮説を持った。そこで、Quiescent Stem Cell と細胞内代謝制御との関係を明らかにするために、以下に示すシグナル分子の幹細胞制御における役割の解明に取り組んだ。

1) 栄養環境シグナル (AKT-FOXO) :

近年、カロリー制限は確実な寿命に延長させる手段であることが、線虫、酵母、哺乳類を含む複数の生物種で証明されている。一方で、幹細胞維持と組織の寿命制御因子との間に密接な関係が示されてきたことから、**栄養シグナルと造血幹細胞制御**に関する研究を推進した。線虫を飢餓状態にすると FOXO が活性化し、Dauer Formation という特殊な代謝状態を形成し生命を維持していることが知られているが、Quiescent Stem Cell はまさにこの Dauer Formation と同様の状態であることが示唆された。FOXO は、糖代謝に関与する分子を制御していることから Quiescent Stem Cell の代謝制御の特異性と幹細胞機能の深い関係が示唆される。以上の知見から、幹細胞こそ代謝状態の変化が、その機能の活性化あるいは不活化に直結し、その異常が組織の機能異常あるいは個体の老化に大きな影響を及ぼす原因であろうと考えるに至った。本研究では、造血幹細胞における FOXO の機能解析を中心として、栄養代謝と幹細胞機能の関連を明らかにすることを目指した。

2) 低酸素環境シグナル (HIF1 α) :

酸素濃度は細胞内代謝を大きく変化させる重要な因子である。これまでの研究で、造血幹細胞は低酸素環境にあることが示唆されてきた。そこで本研究では、酸素を利用したエネルギー代謝に及ぼす影響の分子論的解明を目指し、低酸素反応の中心的な役割を果たしている HIF-1 α に焦点を絞り検討を行った。骨髄造血幹細胞分画における酸素代謝を活性酸素種検出プローブを用い、幹細胞の酸素レベル、活性酸素レベルの検討を計画した。一方で、低酸素反応の幹細胞システム維持における役割を解明するため、HIF1 α 欠損マウスを用い、造血幹細胞の動態解析に取り組んだ。また、肝臓組織において切除後の再生能との関連を検討し、再生能力と低酸素反応あるいは糖代謝との関連の解析を予定した。

3) 活性酸素/DNA 損傷シグナル:

我々はこれまでに、細胞周期チェックポイント制御分子 ATM が、レドックス制御を介して造血幹細胞の自己複製能に必須の役割があることを明らかにしていた。そこで全体計画に基づき、正常の幹細胞の枯渇現象と活性酸素との関連の解明を目指した。また、細胞内の活性酸素上昇に伴い活性化するシグナルを特定し、幹細胞維持と活性酸素反応との関連、また、活性酸素と関連する DNA 損傷シグナルと幹細胞システムの関連解明を目指した。

4) 幹細胞性を司る分子基盤の解明と代謝

上記以外に、組織幹細胞維持を司る分子基盤を明らかにし、代謝制御と関連を探った。例えば、幹細胞性維持にクロマチンのメチル化、アセチル化制御が重要であることが示されてきた。また、造血幹細胞の老化・加齢とエピジェネティクス変化との関連が予想された。ポリコーム群蛋白はクロマチン修飾因子であり、遺伝子の発現抑制状態を維持する。そこで、本研究では、ポリコーム複合体の中心的構成分子である Bmi1 の造血幹細胞および肝がん幹細胞における役割を明らかにすることを目的とした。その他、神経幹細胞システムの維持メカニズムとニューロン、グリア分化抑制との関連に関する分子機構を解明することにより、代謝と幹細胞をつなぐ分子の特定を目指した。

2. がん幹細胞

がん組織中に幹細胞的性質を持つ“がん幹細胞”の存在が明らかとなっており、がん組織の構築を支えていることが明らかになりつつある。がん細胞では、解糖系が亢進した特殊な代謝制御が働いていることが知られ、正常の幹細胞との比較は興味深い。本研究では、がん細胞の“幹細胞らしさ”についても代謝解析によるアプローチを計画した。トランスクリプトームに加え、メタボローム解析を中心に進めた。その成果が、がん幹細胞特異的な薬剤の標的分子を特定し、がん治療に大きく貢献することを目標とした。以下に具体的な検討項目を示す。

1) 白血病幹細胞の特定と制御機構の解明

マウスを用いて、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病など、様々な白血病モデルを作成し、細胞内代謝制御と白血病の発症や白血病幹細胞維持メカニズムの解明を目指した。これらの腫瘍モデルを用い、白血病幹細胞の特定に取り組むと同時に、代謝制御と関連がある FOXO の役割に関しての検討を計画した。

2) 脳腫瘍幹細胞の特定と制御機構の解明

K-ras/p16p19 欠損による脳腫瘍(多型性膠芽腫)モデルの確立を計画した。これらの腫瘍モデルを用い、脳腫瘍幹細胞の特定、および代謝産物解析を行い、腫瘍細胞分化との関連解明を目指した。一方で、グリオーマ細胞株 C6 より SP 細胞を分画採取したのち培養し、SP 細胞集団からの SP 細胞集団の再現、非 SP 細胞集団からの SP 細胞集団の出現、SP 細胞と非 SP 細胞の混合による SP 細胞の維持など、癌幹細胞の動態解析を行った。SP 細胞の形成に必要な ABC トランスポーター Bcrp1 の発現と細胞動態に対する反応および代謝産物解析を計画した。

3) 肝臓幹細胞の特定と制御機構の解明

肝癌培養細胞株、HepG2, Huh6, Huh7, PLC/PRF/5 の SP 分画を培養および免疫不全マウスへの移植により、がん幹細胞の特定、その制御機構の解明に取り組んだ。また、マウスを用いた発がん実験により、幹細胞機能と発がん制御との関連を探った。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

下記の 2 点は、当初の計画には含まれていなかったが、研究の進捗、結果を踏まえて新たに追加した。

1. mTOR 活性化シグナルと造血幹細胞

上述の FOXO の造血幹細胞における役割を解析することにより、サイトカイン-PI3K-AKT シグナルの幹細胞の状態維持に重要であることが判明した。この経路の下流のひとつに mTOR が存在する。一方で、メタボローム解析から、アミノ酸制御と幹細胞性との関連も示唆された。そこで、mTOR を介した栄養環境感知シグナルの造血幹細胞の機能維持を検討することにした。

2. 脳腫瘍悪性化進展制御と幹細胞性

当初研究計画では、主に、腫瘍組織中のがん幹細胞の特定とその制御メカニズムの解明を目指し

研究を計画していたが、がん幹細胞の動態制御は、悪性化進展過程で変化するという結果を受け、「脳腫瘍悪性化進展制御と幹細胞性」の検討を行うこととした。この研究が、がん幹細胞制御メカニズムの解明と同時に治療法開発に寄与することが期待された。

§ 3 研究実施体制

(1)「平尾」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
平尾 敦	金沢大学	教授	H17.10～
仲 一仁	金沢大学	助教	H17.10～
大村昌子	金沢大学	博士研究員	H17.10～H19.9
玉瀬 玲	金沢大学	大学院生	H17.10～H22.3
村口輝行	金沢大学	博士研究員	H19.4～H20.3
星居孝之	金沢大学	助教	H19.4～
守護晴彦	金沢大学	大学院生	H18.9～
大塩貴子	金沢大学	博士研究員	H20.4～H22.3
坂江美智子	金沢大学	技能補佐員	H18.9～H21.6
田所優子	金沢大学	助教	H21.4～
上間徳之	金沢大学	大学院生	H21.4～
モハメドアリ	金沢大学	大学院生	H21.9～
田中慎吾	金沢大学	大学院生	H22.4～

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 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
須田 年生	慶應義塾大学	教授	H17.10～
久保田 義顕	慶應義塾大学	助教	H17.10～
永松 剛	慶應義塾大学	助教	H19.4～
吉原 宏樹	慶應義塾大学	大学院生	H19.4～

②研究項目

造血幹細胞の代謝特性解析

(3)「合田」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
合田 亘人	早稲田大学	教授	H17.10～
金井 麻衣	早稲田大学	客員研究助手	H21.4～
山内 玲奈	早稲田大学	客員研究助手	H20.4～H21.3
菱木 貴子	慶應義塾大学	助教	H20.4～
渡部 弘志	慶應義塾大学	共同研究員	H17.10～H19.3
槌谷 夏子	慶應義塾大学	特別研究助手	H17.10～H19.3

②研究項目

各種幹細胞の代謝産物解析

(4)「岩間」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
岩間 厚志	千葉大学	教授	H17.10～

千葉 哲博	千葉大学	助教	H17.10～
根岸 正充	千葉大学	産学官連携研究員	H19.4～
檜尾 牧子	千葉大学	大学院生	H19.4～
浅水 若奈	千葉大学	研究補助員	H19.4～H20.3

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

(5)「田賀」グループ

①研究参加者

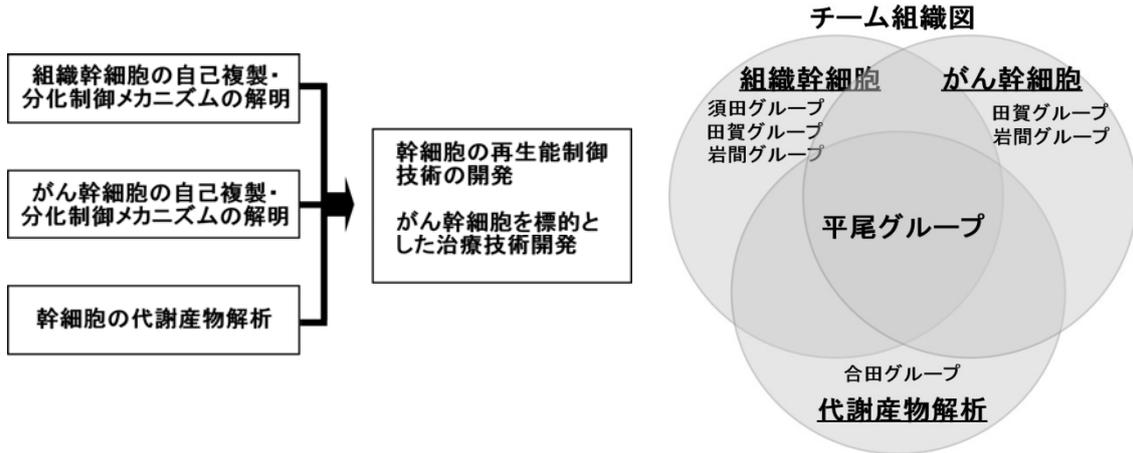
氏名	所属	役職	参加時期
田賀 哲也	東京医科歯科大学	教授	H17.10～
鹿川 哲史	東京医科歯科大学	准教授	H17.10～
信久 幾夫	東京医科歯科大学	准教授	H17.10～
柏木 太一	熊本大学	COE リサーチアソシエイト	H17.10～H21.3
新森 加納子	熊本大学	COE リサーチアソシエイト	H17.10～H21.3
梶 康一	熊本大学	COE リサーチアソシエイト	H17.10～H21.3
備前 典久	東京医科歯科大学	D1 リサーチ・アシスタント	H21.4～H22.3
Ahmed Ramadan Salem Gomaa	東京医科歯科大学	大学院生	H21.4～H22.3

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

§ 4 研究実施内容及び成果

細胞内代謝制御の幹細胞機能における役割を明らかにするため、チーム全体で、1) 組織幹細胞およびがん幹細胞の自己複製および分化制御における因子を特定し、その制御メカニズムと細胞内代謝制御との関係を明らかにする、2) 各種幹細胞の未分化性維持状態あるいは分化過程における代謝産物を測定し、細胞内代謝を理解する、という大きく2点について検討した。その結果をもって、幹細胞の再生能を制御する技術を確認し、再生医療の向上に寄与すること、あるいはがん幹細胞の研究を進め、がんの根治のための治療法の開発を目指した(下図参照)。各グループのこれまでの研究実施内容については以下の通りである。



4. 1 幹細胞およびがん幹細胞における代謝解析 (金沢大学 平尾グループ)

(1)研究実施内容及び成果

造血幹細胞を中心とした組織幹細胞の自己複製および分化制御機構を細胞内代謝制御の観点から解析し、各種幹細胞の制御に重要な経路の特定を試みた。その中でも、特に FOXO, mTOR 経路に重点を置き、研究を推進した。また、がんモデルを作成することにより、がん幹細胞の特定やその動態制御機構解明に取り組んだ。さらに、幹細胞可視化技術に向けての研究を志向し、将来の薬剤スクリーニングシステム開発の基盤作りに取り組んだ。

1)造血幹細胞の自己複製と代謝制御分子

(i) FOXO3a の造血幹細胞における役割

フォークヘッド転写因子 FOXO は、代謝制御、細胞周期、アポトーシス、DNA 修復などに関与する多くの遺伝子の発現を制御する。また、PI3K-AKT 経路の下流にあり、血清除去のような一種の“飢餓状態”で活性化することも知られ、エネルギー環境のセンサーとして働いていることが示唆されている。そこで、栄養環境センサーに反応する FOXO の造血幹細胞における役割の解明に取り組んだ。G0 期造血幹細胞では、FOXO が核内に局在しており、

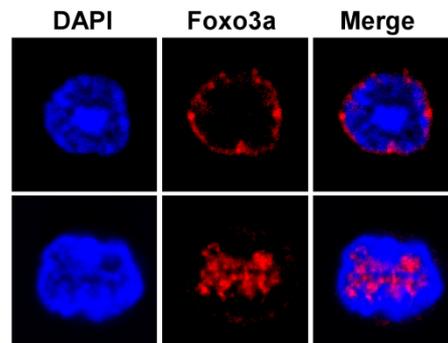


図1 造血幹細胞における FOXO 局在

から、骨髄ニッチに存在する造血幹細胞は、一種の栄養飢餓状態であると考えられた(図1)。若齢 FOXO3a 欠損マウスは、一見正常で、血液所見もほぼ正常であったが、骨髄移植により、未

分化な細胞集団の再生が低下していることが判明した。さらに、造血幹細胞が G0 期に留まらず細胞周期に入ってしまうこと、それに伴い幹細胞の自己複製能が低下することが判明した。また、正常の幹細胞は、抗癌剤の投与のような外界からのストレスに抵抗性を示すのに対して、FOXO3a 欠損マウスで抵抗性が低下してしまうことも判明し、FOXO3a が幹細胞の再生能の維持機構に重要とされる細胞周期制御、ストレス応答制御に大きな役割を果たしていることを明らかにした。さらに加齢したマウスの造血幹細胞の集団を観察すると、コントロールマウスと比較し、幹細胞の頻度が減っていることを見いだした。このことから、FOXO3a は、長期間生体内で幹細胞プールを維持するのに必須であることが判明した。

FOXO は、転写因子であるため、次に、その標的分子の探索を行った。まず、FOXO 欠損造血幹細胞において、DCFDA により活性酸素種の上昇が確認されたため、活性酸素上昇の分子機構を明らかにする目的で、FOXO3a 欠損造血幹細胞と野生型コントロール細胞を用い、遺伝子発現をマイクロアレイにて解析した。その結果、MnSOD, Catalase などの抗酸化酵素の発現が低下していることが判明した。これらの抗酸化酵素は、FOXO の直接的ターゲットとして知られているため、活性酸素制御機構としての役割が示唆された。

以上の一連の研究により、骨髄ニッチにおける”栄養飢餓状態“が、幹細胞機能の長期的な維持にとって必須であることが明らかとなった(図 2)。

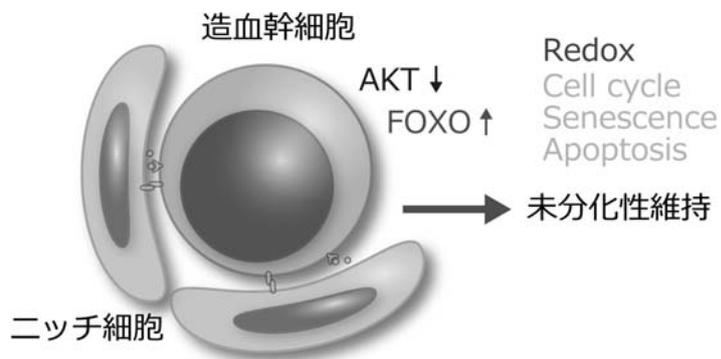


図 2 FOXO による造血幹細胞 G0 期維持

(ii)mTOR シグナルと造血幹細胞

上述の FOXO の造血幹細胞における役割を解析することにより、サイトカイン-PI3K-AKT シグナルの幹細胞の状態維持に重要であることが判明した。この経路の下流のひとつに mTOR が存在する。一方で、メタボローム解析から、アミノ酸制御と幹細胞性との関連も示唆された。そこで、mTOR を介した栄養環境感知シグナルの造血幹細胞の機能維持を検討することにした。その結果、mTOR 活性の変動は、幹細胞の数、機能、ニッチに対して決定的に影響を与える因子であることが判明した。

これら一連の研究により、mTOR 活性化を制御する因子、特に栄養環境を感知するシステムが造血幹細胞制御にとって重要な役割を果たしていることが判明した(図 3)。これらの知見は、再生医療や幹細胞医学における分子標的の発見につながることを期待された。さらに、このような幹細胞での mTOR 活性制御は、がんの動態制御にも関与している可能性があり、今後、治療戦略を構築する上でも重要な情報となる。

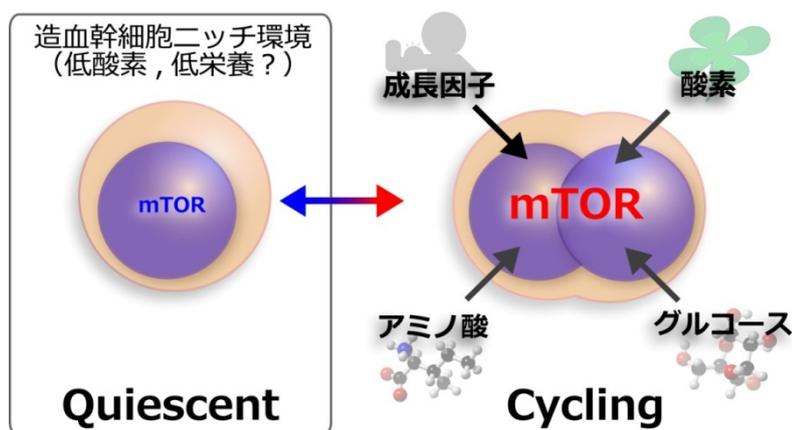


図 3 造血幹細胞における mTORC1 活性

(iii) 細胞内レドックス制御と幹細胞制御機構

本 CREST 研究を開始する以前に、細胞周期チェックポイント制御分子 ATM が、レドックス制御を介して造血幹細胞の自己複製能に必須の役割があることを明らかにしていた。そこで全体計画に基づき、正常の幹細胞の枯渇現象と活性酸素との関連を検討した。加齢マウスの骨髄より造血幹細胞を採取し、骨髄再構築能を検討してもその機能の低下は見られない。そこで、連続して骨髄移植を行うことにより、造血幹細胞の寿命を検討した。連続骨髄移植の過程で造血幹細胞において過酸化水素の上昇がみられ、特に3回目以降の移植では極めて高くなること、同時に骨髄再構築能の低下が見られることを観察した。さらに再構築された骨髄細胞の中で、未分化細胞ほど、ストレスキナーゼの一つである p38MAPK が活性化していることを発見した。比較的若いマウスから採取した骨髄細胞をグルタチオンの枯渇を誘導する BSO にて処理し、過酸化水素を上昇させたところ、コロニー形成能などの造血前駆細胞の機能にはあまり影響がないと対照的に、骨髄再構築能すなわち幹細胞活性が失われていることを観察した。このことは、加齢あるいは何らかのストレスによって幹細胞レベルで活性酸素が上昇すると、幹細胞活性が著しく阻害されることを示している。BSO 処理による骨髄再構築能の低下に、MAPK が寄与しているかどうかを検証するために、各種阻害剤を添加したところ、p38MAPK 阻害剤 SB203580 によって、BSO の影響から回避できることを見いだした。そこで、SB203580 を ATM 欠損マウスに投与したところ、幹細胞活性の低下が見られず、骨髄不全も見られなかった。さらに、野生型マウス由来造血幹細胞の連続移植において、SB203580 の投与を続けたところ、幹細胞の枯渇を防ぐことを確認した。NAC 投与も同様の効果を認めた。このことは、活性酸素の上昇とそれに反応した p38MAPK の活性化が造血幹細胞の枯渇の原因であることを意味する。合田グループと共同で、骨髄中の細胞を分画し、代謝産物を測定したところ、未分化細胞集団に還元型グルタチオン(GSH)が高いことが特徴的であった。このことは、通常の幹細胞では、レドックスが還元に傾いていることを意味する。以上のように低分子代謝産物の測定により幹細胞の生物学的活性制御を理解する上で有用な成果を得た。

2)がん幹細胞の特定と動態解析

(i)がん幹細胞の特定

核小体分子 Nucleostemin は、その発現が各種幹細胞で高く、またイモリのレンズあるいは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、約4%のみの細胞がGFP強陽性(Nucleostemin 高発現)細胞であり、これらの細胞集団は、レシピエントマウス精巣への移植実験により、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。一方、残りの GFP 弱陽性集団にはその活性が見られなかった。これらの GFP 強陽性細胞は、核小体蛋白が abundant であるにも関わらず、細胞周期上は G0/G1 であり、細胞周期との直接の関係は見られなかった。つまり、単に細胞周期を反映したものではなく、増殖ポテンシャルの指標になると考えられた。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した。このことは、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。そこで、まず、ES 細胞を用いた奇形腫モデルにおいて、奇形腫組織を構成する細胞を単離し、GFP の輝度を解析した結果、GFP 高発現集団は、未分化抗原を発現ししかも造腫瘍能が高いことから、この腫瘍でのがん幹細胞の特定に有望であることが判明した。

(ii)脳腫瘍幹細胞

がん組織の中の幹細胞の性状の理解と代謝制御との関係を明らかにするため、様々な組織の腫瘍モデルの構築に取り組んだ。まず神経組織由来悪性腫瘍の作成を試みた。p16INK4a/p19Arf 欠損マウス由来、神経幹細胞を分離し、ニューロスフェア培養法により増殖させた後、オンコジンを導入後、大脳基底核に注入したところ、一ヶ月後には全例が脳腫瘍によって死亡した。この脳腫瘍は、多形性を示し、壊死巣とその周囲に堤防状に腫瘍細胞が配列する pseudopalisade、血管増殖、巨細胞などを認めた(図4)。

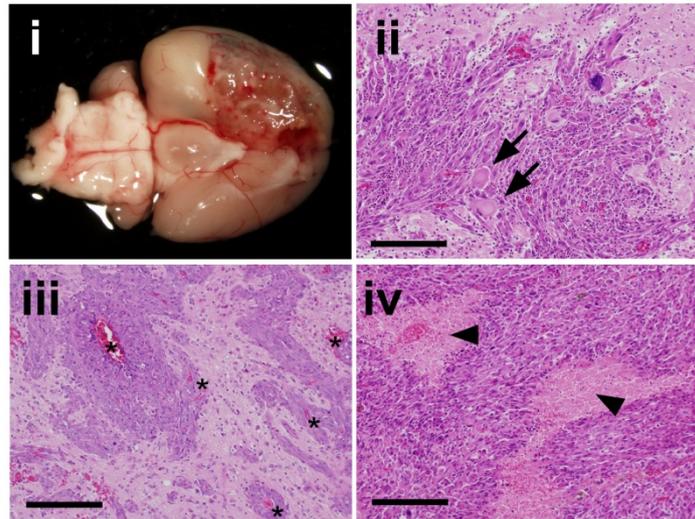


図4 多形性膠芽腫モデル

部分的に、ニューロンマーカーTuJ1、グリアマーカーGFAPが陽性であり、多形性膠芽腫と判断された。一方、培養することも可能であり、limiting dilutionにより、single cell由来の培養ができること、single cell由来であっても生体の中では、多様な腫瘍細胞が産み出され、originとなる腫瘍細胞とそこから“分化”した細胞によって、多形性膠芽腫が構成されていることが判明し、がん幹細胞特定のツールとなることが判明した。同様の方法によって、様々な組織において腫瘍モデルの作成、がん幹細胞の特定を進めることによって、がん幹細胞の共通性および組織特異性が理解できると期待された。さらに、この脳腫瘍を採取し、代謝産物を解析したところ、多くのアミノ酸が変動していることが明らかとなり、腫瘍の増殖・分化におけるアミノ酸代謝制御の役割が示唆された(合田グループとの共同研究)。

次に、K-ras/p16p19欠損による脳腫瘍(多形性膠芽腫)モデルとNS-GFP Tgを組み合わせ

て腫瘍細胞を解析したところ、腫瘍細胞をGFP陽性集団とGFP弱陽性集団の2群に分画することができた。GFP陽性集団は、GFP弱陽性集団に比べ、in vitroでsphereを形成する能力が圧倒的に高く、移植実験によって、二次脳腫瘍の発生能力も高いことを確認した(図5)。このように、本GFPレポーターシステムは、脳腫瘍においてもがん幹細胞を濃縮し、さらに腫瘍細胞分化のモニターリングシステムとしても機能していることが確認できた。従来、正常組織の分化については、様々な分化抗原や表面抗原によって解析可能であったが、腫瘍組織においてはその解析システムはほとんど皆無であった。本研究による成果は、がん幹細胞研究にとって貴重なマテリアルと考えられた。

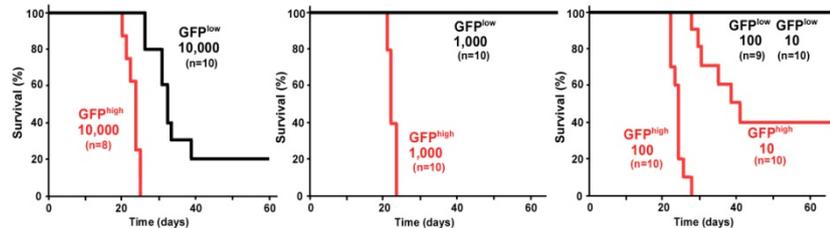


図5 多形性膠芽腫 glioma-initiating cell 分画

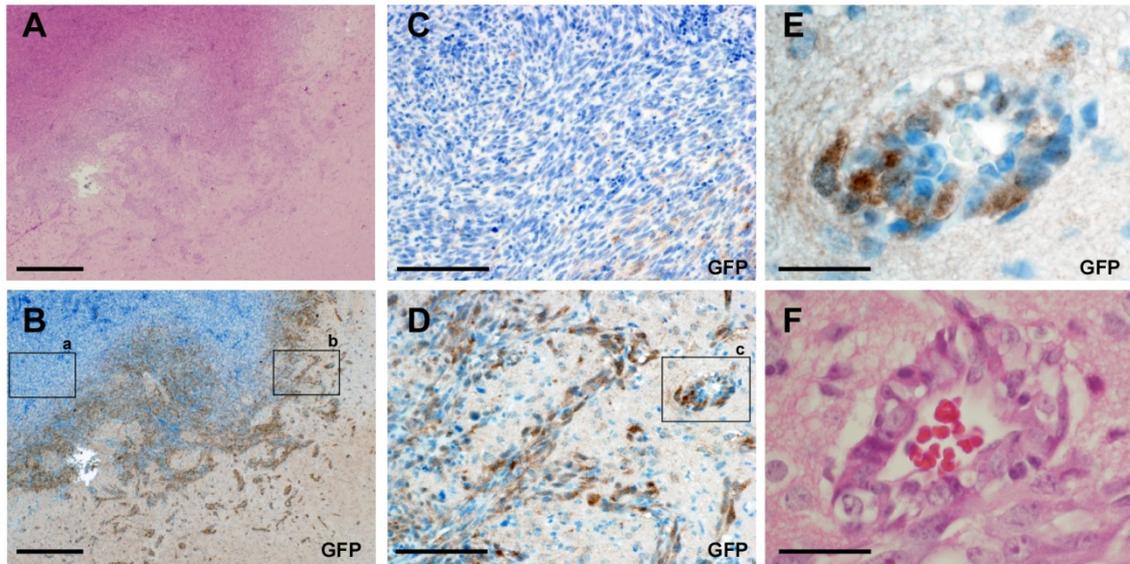


図 6 脳腫瘍モデルにおける Glioma-initiating cells の局在

このシステムを用い、脳腫瘍組織中で GFP 陽性集団と GFP 弱陽性集団の 2 群の間で変動のある分子の解析を行った。受容体型チロシンキナーゼ分子 *c-Met* の発現が GFP 陽性集団で高いことが判明した。組織学的な検討により、GFP 高発現細胞は、腫瘍組織の辺縁部に局在し、正常組織に浸潤している細胞であることが判明した(図 6)。これらの細胞は、血管に沿って浸潤していること、*c-Met*リン酸化も観察された。さらに、GFP 陽性集団は、マトリゲル中で *c-Met* のリガンドである HGF に反応し、細胞の形態を変化させ、浸潤能を高めることが判明した。以上の解析より、脳腫瘍におけるがん幹細胞は、高い浸潤能を有し、再発の原因となることが示唆された。また、同様の解析により、GFP 高発現細胞においてプリン合成経路に関わる酵素群が高い発現を示すことが判明した。プリン合成経路は、Nucleostemin 蛋白の発現調節に関わっていることも報告されており、がん幹細胞において、プリン代謝の重要性が示唆された。以上のように、Nucleostemin の promoter 活性を用いた GFP レポーターシステムが、がん幹細胞の動態解析に有用であることが示された。

(iii) 脳腫瘍悪性化進展制御と幹細胞性

脳腫瘍モデルとしての自然発症モデルの確立に取り組んだ。EGF-RAS 経路活性が、神経幹細胞の運命決定にいかに関与するか動物モデル (*K-Ras^{G12D}/Nestin-CreER*) と *p53* や *Ink4a/Arf* 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 gradeIII あるいは gradeIV 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(図 7)。悪性度の高い腫瘍 (glioblastoma (GBM), gradeIV) ほど、未分化抗原 (nestin, Sox2) の発現が見られ、一方悪性度の低い腫瘍 (Anaplastic astrocytoma, gradeIII) では、分化抗原 (*Olig2*) が高い発現を示していた。GradeIV は sphere 形成能を示すが、GradeIII ではその活性が見られないなど、未分化状態との相関がみられた。さらに、悪性度進展に関わる因子を探索したところ、これらの因子は、正常神経幹細胞 (neurosphere) の増幅能力を有することも観察した。この腫瘍モデルの組織像および発現分子は、ヒト脳腫瘍とよく一致し、悪性化進展過程における制御因子、特に細胞分化に関わる分子との関連を検討することができる優れた系であることが判明した。この研究が、がん幹細胞制御メカニズムの解明と同時に治療法開発に寄与することが期待された。

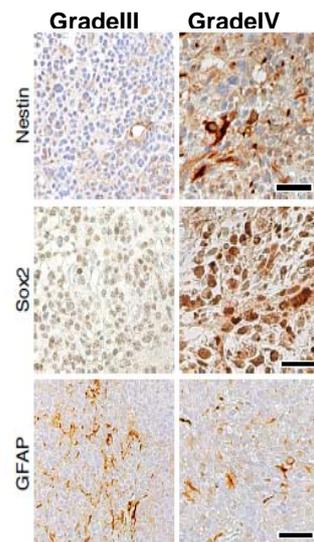


図 7 脳腫瘍悪性化と幹細胞性

(iv) 白血病幹細胞と FOXO

これまでの研究で、がん幹細胞と正常造血幹細胞の共通性が示唆された。そこで、造血幹細胞プールの維持に必須である FOXO の白血病幹細胞における役割について解析を進めた。まず、HOXA9/Meis1 による急性骨髄性白血病モデルを作製し、FOXO3a の役割を検討した。FOXO3a 欠損マウス骨髄細胞に、HOXA9/Meis1 を導入後、他のマウスに移植を行ったところ、野生型マウス由来細胞と同様に白血病の発症を確認した。この白血病を解析したところ、FOXO3a 欠損によって、白血病コロニーおよび移植後の二次白血病発症能が亢進していることが判明した。一方、BCR-ABL 融合遺伝子による慢性骨髄性白血病モデルにおいては、FOXO3a 機能が欠如した場合、様々なストレスにより白血病の増殖能力が低下することが判明し、急性骨髄性白血病とは全く反対の結果が得られた。そこで、双方のモデルの白血病幹細胞集団の性状を検討したところ、急性骨髄性白血病では分化した骨髄球の特性を持ち、一方、慢性骨髄性白血病では造血幹細胞の性状を示していた。FOXO3a は、正常の造血幹細胞においてはそのプールの維持に必須であるものの、骨髄球前駆細胞レベルでは逆に増殖の抑制作用を持つ。同様の細胞特異性が、がん幹細胞の制御に影響していたと考えられ、今後のがん根治ストラテジーに重要な情報であると考えられた。

さらに、慢性骨髄性白血病幹細胞における役割について詳細な検討を進めた。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、治療として、チロシンキナーゼ阻害剤イマチニブが特効薬として登場した。イマチニブは、ABL を標的としたチロシンキナーゼ阻害剤であり、従来の DNA 複製阻害剤を中心とした抗がん剤とは違い、特定の分子の機能阻害による薬剤、すなわち分子標的薬剤として、最も早く成功した薬剤として知られている。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た。我々は、マウス慢性骨髄性白血病モデルにおいて、白血病幹細胞の存在を確認し、この白血病幹細胞において、転写因子 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、さらに、イマチニブ抵抗性は、FOXO の機能に依存していることを発見した(図 8)。以上より FOXO 阻害剤を開発することによって、慢性骨髄性白血病のイマチニブ耐性を克服できることを示した。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 β シグナルが、FOXO の局在や活性などを変動させる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た。ヒト白血病幹細胞を用いた実験でもマウスと同様の知見を得た。以上のことから、FOXO の下流で、細胞内代謝が制御している可能性があり、代謝変動を調節する化合物も、がん治療に有効である可能性が示唆された。

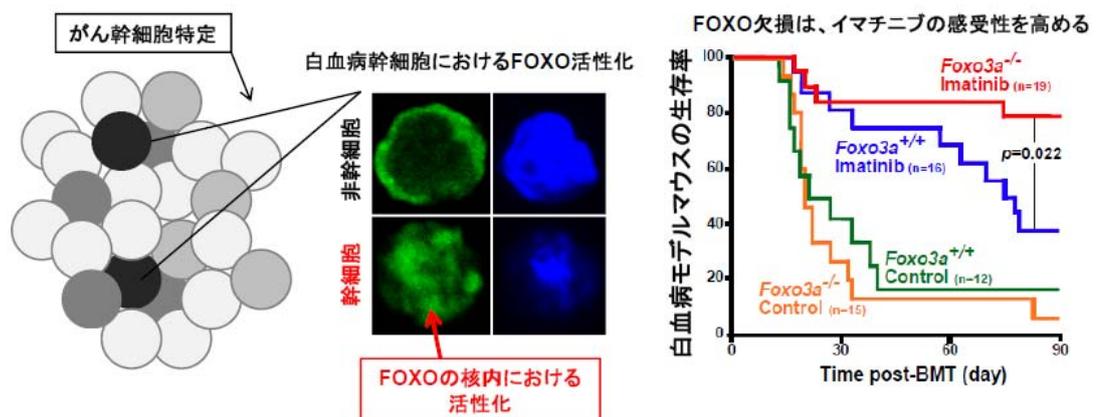


図 8 白血病幹細胞における FOXO 活性化と薬剤耐性

(2) 研究成果の今後期待される効果

1) 造血幹細胞と代謝制御分子研究

本研究で行った代謝制御分子である FOXO やその上流の AKT 活性化制御は、造血幹細胞の Quiescent 状態や幹細胞の数および質がどのように制御されているか、その一端を明らかにできた。

また、mTOR は、栄養代謝制御の中では中心的な役割を果たす経路であり、この経路が幹細胞制御で非常に重要であることを示すデータを得られたことは、幹細胞にとっての代謝制御の重要性を示す重要な知見である。さらに、この研究をさらに進め、幹細胞を取り巻く影響環境シグナルを解きほぐすことは、大きな意味で栄養環境ニッチを明らかにでき、新しい研究領域の開拓につながると考えられる。さらに、このようなコンセプトは他の組織幹細胞にも展開することが期待でき、大きなインパクトを持つ研究となることが期待される。

2) がん幹細胞と代謝制御研究

本プロジェクトでは、白血病幹細胞研究においては、臨床上問題となっている慢性骨髄性白血病の治療抵抗性メカニズムの一端を解明し、新たな白血病治療法開発のための重要な鍵を発見した。この研究を進めることにより、白血病幹細胞制御調節シグナル活性を調節する化合物の探索につながり、新たな白血病治療法が開発できる。その他、がん幹細胞特定法の開発や、がん細胞代謝モニタリング法を開発を進めており、このような技術を、ハイスループットスクリーニングシステムに応用できないかと模索している。このシステムを構築することができれば、製薬企業のもつ低分子薬物のスクリーニングを行うことができ、研究成果の産業化も期待できると考えている。また、悪性化指標を特定できれば、がんの診断にも応用が可能である。このように、がん幹細胞研究に関しては、がんの生物学の理解のための学問的価値のみならず、がんの治療法開発という社会還元においてきわめて意義のある研究成果につながることが期待される。今後、本研究グループは、がん幹細胞制御メカニズムの更なる理解を進めるとともに、化合物スクリーニングなどによる新規治療薬の探索、前臨床試験に有用ながんモデルの確立などを通して、がんの診断・治療の向上を目指す。

4. 2 造血幹細胞のエネルギー代謝特性の解析とその幹細胞性維持への寄与の解明 (慶應義塾大学 須田グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

本グループは、主にマウス成体骨髄の造血幹細胞をモデルとして選び、そのエネルギー代謝特性と分子論的制御機構、さらにはそれらの幹細胞性維持への寄与について検討した。その結果、骨髄造血幹細胞の維持は造血幹細胞周囲の微小環境(ニッチ)による、細胞周期の抑制性制御が必須であることを明らかにした。特にニッチ構成要素のうちでも酸素分子に着目した結果、造血幹細胞は低酸素応答性転写因子 Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α)を介して酸素代謝を極力抑制して、エネルギー代謝を維持し、さらに細胞内酸素代謝の副産物である活性酸素種の産生抑制を行うという知見を明らかにした。さらに、ヒト化マウスモデルを用いることでヒト造血幹細胞においてマウスで得られた低酸素応答系に関する知見が外挿できるか検討した。また、当初計画ではこれら造血幹細胞と骨髄微小環境の相互作用による造血幹細胞内酸素代謝の解析を想定し、研究を展開していたが、研究実施期間中に精巢の生殖幹細胞純化技術を確立することができたため、造血幹細胞と精子幹細胞の酸素代謝の解析を幹細胞の代謝生物学的特性解析の2つの切り口として解析を進めることができた。

1) 骨髄造血幹細胞分画における酸素代謝とその制御機構

(i) 骨髄造血幹細胞ニッチの酸素環境の検証

古典的に造血幹細胞が局在する骨髄内骨膜領域は低酸素状態にあるとされてきたが、実際に造血幹細胞が低酸素状態にあるかは明らかではなかった。そこで新鮮凍結骨髄切片を活性酸素種検出プローブである dihydroethidium で染色して、幹細胞ニッチが存在する骨髄内骨膜近傍領域の活性酸素産生性を検討した。さらに、低酸素状態にある細胞が取り込む分子プローブ・pimonidazole を野生型マウスに投与して、各種造血細胞分画における pimonidazole 陽性率を検討

した。さらに、低酸素環境が造血幹細胞に及ぼす影響を検討するために、純化した野生型造血幹細胞を低酸素環境に曝露して、細胞周期は single cell division assay 法で、幹細胞活性は FACS による表面マーカー解析と骨髄移植系を用いて解析した。その結果、内骨膜領域は実際に活性酸素産生の少ない環境であり、造血幹細胞も pimonidazole が陽性であることが明らかになった。

(ii) HIF-1 α による造血幹細胞の維持機構の検討

この低酸素環境を利用して、造血幹細胞は幹細胞性を維持していると仮説を立てて、その制御機構を検索した結果、造血幹細胞において低酸素応答系路のマスター制御因子の一つである HIF-1 α が選択的に蛋白質レベルで安定化していることを見いだした。これは3つある HIF- α ファミリーのなかでも造血幹細胞では HIF-1 α が特異的に発現していた。また、各種の HIF-1 α の下流で転写制御される遺伝子群も造血幹細胞レベルで高発現していることを見だし、機能的にも HIF-1 α は造血幹細胞内で転写因子として働いていることが示唆された。

次に、in vivoにおける HIF-1 α の機能を解析するために誘導的に HIF-1 α を造血器官で欠失できる Mx1-Cre:HIF-1 α ^{flox/flox} マウス(HIF-1 α cKO マウス)を準備し、それぞれの造血幹細胞分画を解析した。このマウスは生後のマウスに合成二重鎖 RNA である poly I:poly C を投与することで、主として造血幹細胞を含む造血器系において HIF-1 α 遺伝子をノックアウトすることができる。血液学的解析から、HIF-1 α cKO マウスは白血球数の増加を認めた。骨髄を解析すると、造血幹細胞分画のうち G0 期に存在するものは減少しており、造血幹細胞レベルの増殖亢進が示唆された。同時に、造血幹細胞レベルでミトコンドリアの活性酸素種の産生が亢進していた。さらに、高齢マウスの骨髄造血幹細胞分画は著明な減少を認める一方、脾腫と脾臓の造血幹細胞数の増加も認めたことから髓外造血が認められた。これらの結果から、造血幹細胞の細胞周期制御と、加齢に伴う造血幹細胞のニッチへの保持の低下が示唆された。

幹細胞機能を定量するために HIF-1 α cKO マウスの造血幹細胞を用いて連続骨髄移植を行ったところ、一次移植では HIF-1 α cKO マウス由来の造血幹細胞は野生型に比較して高い末梢血キメリズムを示したが、その一方骨髄のキメリズムは著減していた。さらに一次移植レシピエント骨髄から HIF-1 α cKO マウス由来の造血幹細胞を分取して二次移植を施行したが、骨髄再構築能が完全に失われていることが確認された。この際、HIF-1 α 欠損造血幹細胞では細胞老化の実行役として知られる Ink4a/Arf の発現が転写レベルで亢進していた。実際、Ink4a/Arf の発現をその発現抑制に重要である Bmi1 遺伝子の強制発現によって抑制すると HIF-1 α 欠損造血幹細胞の骨髄再構築能は回復した。従って、造血幹細胞は HIF-1 α を発現することで細胞周期を G0 期に止めて、Ink4a/Arf による細胞老化から防護していることが明らかになった。

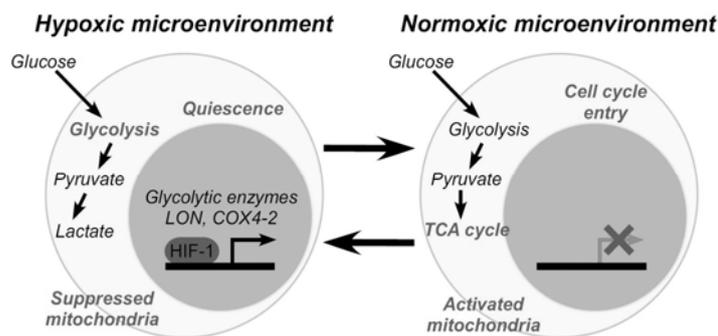


図1:HIF-1 α -VHL 制御系による造血幹細胞のエネルギー代謝制御モデル

骨髄低酸素環境にある造血幹細胞は HIF-1 を活性化してミトコンドリアの活性酸素種産生を抑制する一方解糖系を活性化して静止期を維持する。非低酸素環境では、VHL によって HIF-1 α 蛋白質が安定化できないためミトコンドリアが活性化し、静止期が失われる。この際、VHL を介した厳密な HIF-1 α 量の制御が重要である。

HIF-1 α は主に転写後レベルで蛋白量を制御されていて、特に通常酸素分圧下においては E3 ユビキチンリガーゼ VHL を介してユビキチン・プロテアソーム系で分解されている。従って VHL 遺伝子を欠失することで、通常酸素分圧下でも HIF-1 α を活性化できる。そこで今度は Mx1-Cre:VHL^{flox/flox} マウスあるいは Mx1-Cre:VHL^{+flox} マウスを準備し、造血幹細胞で VHL を両アレル、あるいは片アレル欠損することで HIF-1 α 量を増加させるモデルを作成し、造血幹細胞機能への影響を確認した。まず、VHL を両アレル欠損すると、造血幹細胞は通常よりもさらに細胞周期

が遅くなることを確認した。ところが、その一方造血幹細胞分画は減少し、移植再構築能も完全に失われてしまった。この際、移植後骨髄へのホーミング能が低下していることが一因として考えられた。VHLにはHIF-1 α 以外の基質も存在する他、このフェノタイプはVHLとHIF-1 α を共欠損することで回復したことから、HIF-1 α 依存性の減少であった。興味深いことに片アレルのVHL欠損では細胞周期はやはり緩慢になるが、加齢時や骨髄移植時移植時にはむしろ幹細胞が維持されている現象が認められた。この際、ミトコンドリアの活性酸素種の産生が抑制されていた。以上から、HIF-1 α 量を単純に増加するだけではむしろ造血幹細胞機能が障害されてしまうが、VHL片アレル欠損のような、至適なレベルのHIF-1 α の増加で造血幹細胞機能を維持できることが明らかとなった。

2) ヒト造血マウスモデルを用いたヒト骨髄ニッチにおける酸素代謝制御の検討

マウスで得られた造血幹細胞レベルの低酸素応答系の重要性をヒト造血モデルを用いて検証することを計画した。そこで、超免疫不全マウスNOGマウスにヒト臍帯血造血幹細胞(CD34+ CD38-Lineage marker-分画)を移植して、造血をマウスに置換したマウスモデルを作成した。このモデルでは4週ごろから高い末梢血キメリズムを認め、移植後4か月後まで経時的に観察すると、造血幹細胞が徐々にG0期を獲得していくことが確認された。この際、pimonidazoleをマウスに投与して、造血幹細胞レベルの低酸素環境獲得能を確認したところ、造血幹細胞は移植後4週から8週の間pimonidazole陽性となり、細胞周期がG0期になるのにやや先だって低酸素状態になることが確認された。興味深いことにこの現象は各種分化細胞、造血前駆細胞では認められず造血幹細胞特異的な事象であった。さらに、こうしたpimonidazoleが陽性であるヒト造血幹細胞はNOGマウス骨髄のなかでも内骨膜近傍領域に局在していたことから、異種移植系ではあるが、ニッチへ適切なホーミングもなされており、解析系が妥当であることも確認できた。

この低酸素状態再獲得プロセスが造血幹細胞の細胞周期停止に重要な役割を果たしているのではないかと考えて、遺伝子発現解析を行ったところ各種細胞周期抑制因子に加えて、チロシンキナーゼFlt-3の発現が低酸素状態獲得に伴い発現亢進していることが認められた。従って、ヒト骨髄移植療法の際も低酸素応答系の制御や、あるいはFlt-3シグナルの調節を行うことで造血幹細胞の生着を早めることができる可能性が示唆された。

3) 精巣幹細胞の低酸素応答系の解析

当初計画では造血幹細胞を中心に据えた解析を行う予定であったが、研究実施期間中に精巣の生殖幹細胞純化技術が確立できたため、生殖幹細胞の酸素代謝特性と特異的代謝生物学的特性の解析を導入することができた。このため、単一の幹細胞システムのみでの代謝生物学的解析に比べて、『臓器特異的経路』と『幹細胞共通のメカニズム』双方について考察が可能になった。そこで造血幹細胞の解析から得られた低酸素に適応したエネルギー代謝特性が各種臓器の幹細胞共通であるか検討した。そのため、造血幹細胞のような体性幹細胞と全く異なる精巣の生殖幹細胞についてもpimonidazoleを投与し低酸素環境か否かを確認したが、造血幹細胞とはことなり、pimonidazoleの保持は幹細胞レベルで特に高いということは無かった。

さらに、全身で活性酸素種が高く、各種幹細胞が進行性に失われていく変異マウス(ATMノックアウトマウス)の精巣幹細胞に対して抗酸化剤投与を行ったが精巣幹細胞の異常は全く回復できなかった。したがって、精子幹細胞では活性酸素種以外のメカニズムが幹細胞障害に働いていることが明らかになった。その一方で、ノックアウトマウスの解析からATM遺伝子によるDNA損傷修復を介した核酸代謝制御が必須であることが同定された。ATM欠損によって損傷DNAの代謝が障害されており、その結果、細胞周期の停止とア

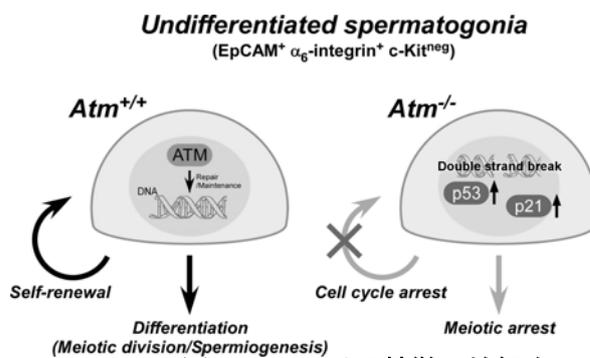


図 2: ATM による精巣の幹細胞の核酸代謝制御機構

ポトースによって精巣の幹細胞が進行性に失われる(図 2)。生殖幹細胞の、次世代に遺伝情報を高品質のまま伝えるという役割を考えると、この核酸代謝の特性は生殖幹細胞にとって本質的に重要であると考えられる。

ATM を欠損した精子幹細胞は損傷 DNA 代謝不全により p53/p21 経路が活性化して細胞周期が停止し、進行性に失われる。

その一方で、精子幹細胞とより分化した前駆細胞のトランスクリプトームを比較すると、上位に嫌気性エネルギー代謝遺伝子セットが濃縮されてくることが認められた。精子幹細胞そのものは低酸素状態ではなことから、癌細胞における Warburg 効果のように通常酸素分圧下での嫌気性代謝経路が精子幹細胞では活性化していることが示唆された。その分子機構を検証するために現在、精子幹細胞レベルで VHL の片アレル欠損するコンディショナルノックアウトマウスモデルを準備して HIF-1 α 量を増加させたが、精子幹細胞分画については少なくとも若年時は増加しておらず、造血幹細胞とは異なった制御がされている可能性が示唆されている。

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究により、造血幹細胞は低酸素応答経路の厳密な制御によって維持されていることが明らかになった。HIF-1 α には多くの活性化剤や阻害剤が知られているが、これらの至適処理濃度や投与量を決定することで、造血幹細胞の代謝特性を改変することができると考えられる。とりわけ、一部白血病幹細胞でも HIF-1 α 応答経路の重要性が示唆されており、単に正常の幹細胞の維持や増幅だけでなく、がん幹細胞で HIF-1 α 応答経路活性を増減することが新たな治療戦略となる可能性がある。

また、超免疫不全マウスモデルを用いたヒト造血幹細胞の低酸素状態再獲得系を確立することができたため、今後はこのプロセスをより向上する薬剤や分子標的を同定することで骨髄移植療法のさらなる生着向上を目指すことができると考えられる。

一方、基礎生物学的観点からは、造血幹細胞と精子幹細胞に共通して嫌気性エネルギー代謝経路が寄与していることを示唆する知見が得られたため、これらを維持する分子基盤の相違や、嫌気性代謝特性が幹細胞レベルでどのように調節されているのか、さらにエネルギー代謝特性によってどのように幹細胞性を維持しているのか等を明らかにすることでこれまでとは異なった視点から幹細胞性を再定義することが可能になると考えられる。

4.3 幹細胞の代謝産物の解析 (早稲田大学 合田グループ)

(1)研究実施内容及び成果

正常組織およびがん組織における組織幹細胞の性状を代謝の側面から理解し、“幹細胞らしさ”を規定する特異的な代謝経路を同定するために、未分化細胞集団と分化した細胞集団それぞれの細胞内代謝産物を capillary electrophoresis mass spectrometry (CE-MS)システムを用いて測定・解析した。

1) 正常造血幹細胞の代謝産物測定

C57/BL6 マウス骨髄中の造血幹細胞分画を含む KSL (c-Kit⁺ Sca-1⁺ Lin⁻)分画と分化した細胞群を含む単核球(MNC)分画をFACSにより分離し、それぞれ約60万個の細胞を用いてメタボローム解析を行った。その結果、解糖系、TCA回路、ペントースリン酸経路などの糖代謝と核酸代謝に係わる代謝産物の多くは測定感度以下であった。一方、アミノ酸代謝に係わる代謝産物は、測定された濃度は低いものの十分に測定できた。また、これらの細胞では嫌氣的解糖系最終代謝産物の乳酸と核酸代謝の重要な基質としての5-ホスホリボシルピロリン酸(PRPP)が、他の糖代謝関連代謝産物と比較して高濃度に存在していた。このことは、それぞれの細胞群が解糖系を介して酸素非依存的にエネルギーを獲得し、一方で核酸合成を積極的に行っている可能性を示唆していると考えられた。細胞分裂過程に必要なタンパク質合成の基質として両細胞群でアミノ酸含量が十分に測定できたことと併せて考え、今回の結果は酸素利用が限られた特殊な骨髄内環境下で骨髄細胞が旺盛な増殖機能を有していることと一致している。しかし、KSLとMNCの両分画における代謝産物の解析結果から、幹細胞特異的な代謝経路を特定することはできなかった。

2) Bcrp-1 高発現細胞における代謝解析

造血幹細胞をはじめ全ての組織幹細胞は、Hoechst 33342 色素を強く排出する性質を持っている。この色素排出能は ABC トランスポーター Bcrp-1 に起因し、抗癌剤やポルフィリンなどの物質を細胞外へ輸送する。幹細胞機能を維持する上で Bcrp-1 を介した特定の細胞内代謝産物排出機構が重要でないかと考え、グリオーマ細胞株 C6 に Bcrp-1 遺伝子を導入することで高発現細胞を作成し、その代謝産物解析を行った。通常血清条件下では、解析した解糖系、TCA回路、アミノ酸や核酸代謝産物すべてについて大きな変動は認められなかった。次に、同じ細胞群を無血清条件下で培養しメタボローム解析を行った。その結果、血清条件下と異なり、ほぼ全ての解糖系中間代謝産物の増加、特に3炭素代謝産物の増加が著しく、一方でTCA回路の代謝産物の低下が認められた。しかし、乳酸値は Bcrp-1 発現細胞と非発現細胞群では変化が認められなかった。今回の測定ではピルビン酸が検出感度以下となり、また培地中の乳酸値も測定していなかったためどのような代謝変動が惹起されたのかを推定することは困難であるが、培地中の乳酸値が Bcrp-1 発現細胞で高値になっているとすれば、無血清条件下では Bcrp-1 機能維持のためにグリオーマ細胞は酸化的リン酸化ではなく解糖系由来のエネルギーを主に利用していることを示唆しているのではないかと考えられた。生体内において造血幹細胞が成長因子などからの増殖シグナルが入りづらい環境下に存在していることを考えれば、これらの細胞が造血幹細胞機能維持に重要な Bcrp-1 トランスポーターを動かすために、嫌氣的に且つ代謝回転の速い解糖系からのエネルギー供給に依存していることは理に適っていると思われた。また、無血清条件下で全種類の細胞内アミノ酸含量が顕著に低下していた。このことは、無血清状態において Bcrp-1 がアミノ酸の積極的な排出を行っている可能性を示している。しかし現時点で Bcrp-1 が選択性を持たずほぼ全てのアミノ酸を排出する機能を有しているかどうかについて十分な検討がなされておらず、その生物学的意義の解明と併せて今後の課題であると考えている。

一方、須田グループの検討において、造血幹細胞がより低酸素環境に存在していることが示された。Bcrp-1 発現が低酸素刺激により増強することを考えれば、低酸素環境下で特異的に蓄積する代謝産物を積極的に排出することが幹細胞機能維持において非常に重要でないかと考え、低

酸素環境下で培養した細胞のメタボローム解析を行った。その結果、血清存在下で培養したコントロール C6 グリオーマ細胞では、解糖系および TCA 回路の代謝産物変動は顕著な変動は認められなかったが、ほぼ全てのアミノ酸含量と ATP などの核酸代謝産物が半分程度まで減少していた。一方、無血清条件下で細胞を低酸素に暴露すると、Bcrp-1 高発現細胞で認められた変化と同じ傾向、つまり乳酸を含めた解糖系代謝産物が有意な増加が認められた。しかし、TCA 回路の代謝産物は低下傾向が認められるものの、有意な変動ではなかった。一方、Bcrp-1 高発現細胞で認められたアミノ酸含量の低下は全く認められなかった。低酸素暴露により嫌氣的解糖系最終代謝産物の乳酸の増加とそれに伴った ATP 含量の増加が認められたことから、この細胞はその生存のため低酸素に反応して酸化的リン酸化から嫌氣的解糖系へエネルギー代謝のスイッチを行ったことが予測された。この結果は、あらゆる細胞において普遍的に低酸素に反応して認められるエネルギー代謝変化と一致しており、Bcrp-1 発現がこれまでに報告されていない代謝産物輸送に関与し、それにより幹細胞機能維持に関与しているのか否かについてはさらに検討が必要である。

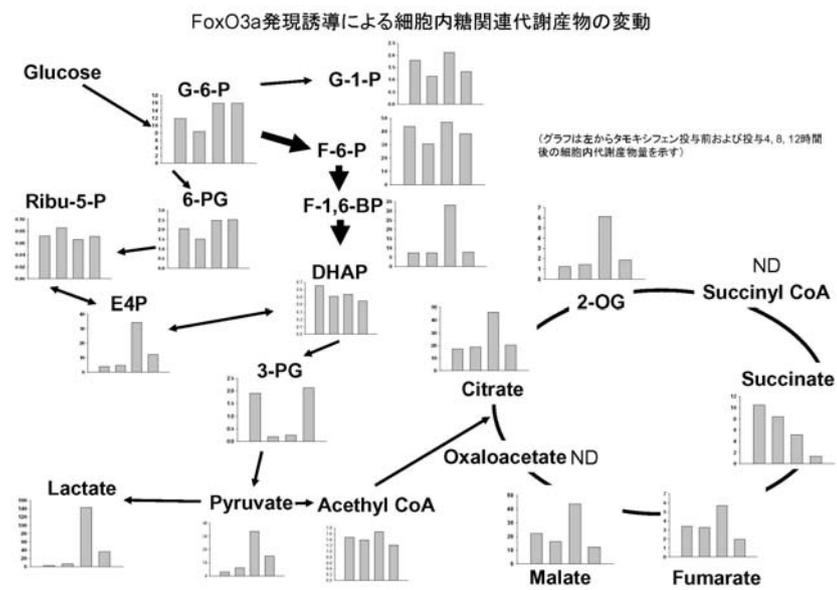
3) マウス造血前駆細胞株 (EML 細胞) を用いた細胞分化による代謝産物変動解析

マウス造血前駆細胞である EML 細胞は通常血清添加培地で培養・維持されるが、無血清培地下で培養することにより EML 細胞はその未分化性が維持できる。そこで、幹細胞の未分化性維持と代謝変動の関係を明らかにするために、血清添加時と未添加における EML 細胞の代謝産物を解析した。その結果、無血清培地下の細胞では TCA 回路代謝産物と乳酸の低下が認められた。また、解析した 20 種の内 12 種のアミノ酸含量の明らかな低下が認められた。この変化は EML 細胞を 5%酸素環境下で培養した場合でも同じような傾向を示した。Bcrp-1 高発現細胞で認められたアミノ酸含量の低下減少と EML 細胞の未分化性維持において認められたアミノ酸代謝変化から、造血幹細胞の維持と細胞内アミノ酸含量に負の相関関係が存在する可能性が示された。

4) 幹細胞未分化維持因子 FoxO3a が及ぼす細胞内代謝変動解析

平尾グループにより転写因子 FoxO3a が幹細胞維持に重要な機能を持つことが示された。そこで、FoxO3a が細胞内代謝変動に及ぼす影響を明らかにするため、タモキシフェン処理により活性化型 FoxO3a を発

現させることが出来る NIH3T3 細胞を樹立した。この細胞に対してタモキシフェン処理を行い、4 時間毎に投与後 12 時間までサンプリングを行った。メタボローム解析の結果、解糖系ではフルクトース 1,6-ビスリン酸およびピルビン酸がタモキシフェン処理 8 時間後に一過性の上昇を示した。一方、TCA



回路の代謝産物動態解析では、クエン酸がタモキシフェン投与 8 時間後に増え、これに伴い下流の 2 オキソグルタル酸、フマル酸、リンゴ酸も増加した (図 1)。しかし、コハク酸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エリスロース 4 リン酸以外にはタモキシフェン投与により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。

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タモキシフェン投与12時間後に著名な低下を示した(図2)。

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、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タモキシフェン投与後に認められた。

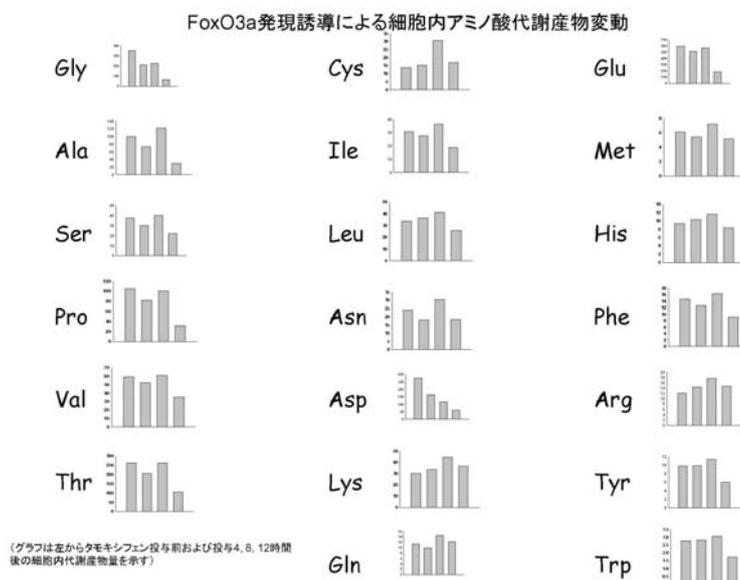


図2. FOXO3aによるアミノ酸代謝変動

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られる。また核酸代謝については、全体的に12時間後にはdCTP以外のデオキシ体が低下することが明らかになった。アミノ酸含量の低下と相関して核酸代謝産物が減少していることを考えると、この変動は2次的な変化でないかと考えられた。

今回得られたFoxO3a誘導後の代謝変動解析結果から、幹細胞に近い表現型を誘導することで認められた特定の細胞内アミノ酸含量の低下は、2)と3)で示した結果と共通した代謝変動であることから、アミノ酸代謝変動が幹細胞の未分化維持と強く関連している可能性があると考えられる。しかし、これが幹細胞機能発現に対して生物学的な意義が存在するかは明らかになっておらず今後の重要な課題であると考えている。

5) 神経幹細胞由来脳腫瘍組織の代謝産物解析

より生理的な環境下における幹細胞代謝動態を検討するために、マウス神経幹細胞にがん遺伝子を導入し、正常マウスに移植することで脳腫瘍を人工的に作成した。レシピエントマウスの脳組織から正常部と腫瘍部を別々に採取しメタボローム解析を行った。その結果、解糖系およびTCA回路の代謝産物の内、乳酸およびクエン酸は腫瘍部において有意に増加し、その他の代謝産物は不変あるいは低下傾向を示した。また、腫瘍部におけるATPの有意な増加が認められた。これらの結果から、腫瘍部では解糖系だけでなくTCA回路も利用しながら高いエネルギー産生を維持していると考えられた。一方、ペントースリン酸経路の代謝産物解析からPRPPの増加と核酸合成に必須のアスパラギン酸とグルタミン含量の有意な低下と全体的なヌクレオチド3リン酸含量の増加から、腫瘍部ではその旺盛な細胞増殖能に見合った活発なDNA合成を行っているのではないかと考えられた。更に、核酸代謝に関与しない多くのアミノ酸は腫瘍部で増加傾向を示した。これは腫瘍部でアミノ酸取り込みの増加を反映しているのか、あるいは破壊と再構築をものすごいスピードで行っている腫瘍組織ではオートファジーが活性化されたために認められた現象でないかと考えられる。いずれにせよ、この結果は生体内において生存する腫瘍組織は同じ起源を持つ周りの組織と異なり、旺盛な細胞増殖を維持するためにエネルギー代謝系のみならずその他の代謝経路も活性化する変化を惹起しているのではないかと考えられた。

6) がん幹細胞の代謝産物解析

平尾グループの知見から、固形がん組織において未分化性を示すマーカーに陽性のがん細胞、所謂がん幹細胞が存在し、かつその細胞が *nucleostemin* を高発現していることが示された。そこで脳腫瘍組織から分離した細胞を分化誘導し、それぞれの細胞内代謝産物解析を行った。その結果、解糖系、TCA 回路、ペントースリン酸回路、核酸代謝に係わる代謝産物はサンプル間でのばらつきが大きくはっきりとした増減傾向は認められなかった。一方、アミノ酸代謝に関しては、アラニン、アスパラギン、グルタミン、トリプトファン、システインを除くアミノ酸含量が分化誘導後に減少していた。この結果は正常細胞の幹細胞において認められていたアミノ酸代謝変動とは全く逆の変化であり、アミノ酸代謝ががん幹細胞と正常幹細胞の未分化性維持機構において異なる役割を演じている可能性を示唆していると考えられた。

7) 肝再生過程における代謝産物解析

高い自己複製能を特性とする幹細胞における代謝動態を考える上で、幹細胞と同じように通常時には静止期に存在し、ある種の刺激に応答して素早く自己複製を行う高い能力を有する肝細胞の代謝動態と比較解析することは、細胞分化や再生能と代謝制御の関連を理解する上で非常に重要である。そこで、マウス 70%肝切除により惹起される肝再生過程における肝臓内代謝産物解析を行った。その結果、肝切除後 72 時間の肝臓では、アセチル CoA を除く TCA 回路の代謝産物、アミノ酸と尿素合成に係わる代謝産物の著しい増加が認められた。一方、解糖系とペントースリン酸回路の中間代謝産物は減少傾向を示した。この結果は、肝細胞の再生に必要なエネルギー産生を細胞外からの糖ではなく、アミノ酸分解に依存して行っている可能性を示していると考えられる。幹細胞代謝産物解析で明らかにしてきたアミノ酸代謝が再生肝細胞の代謝変動と全く逆の応答を示していること、また 6) の分化がん細胞と肝細胞におけるアミノ酸代謝変動が同じ応答を示したことを考えれば、幹細胞の維持機構にはアミノ酸代謝制御が重要な役割を果たしていることが結論づけることができる。さらに、造血幹細胞機能維持において重要な低酸素応答制御因子 HIF-1 の肝再生過程における代謝動態への影響を解析したところ、HIF-1 が再生肝細胞における解糖系とグリコーゲン合成を積極的に抑制していることを見いだした。

(2) 研究成果の今後期待される効果

代謝は、エネルギー産生のみならず細胞のあらゆる営みに深く関わり、その活性は取り巻く環境に応答して時々刻々変化する。緻密な制御のもと複雑に絡み合ったネットワークを形成している代謝の“流れ”を理解するためには、代謝経路に係わる遺伝子やタンパク質の発現量からの解析だけでは十分ではない。本研究で行った質量分析装置による網羅的代謝産物解析は、代謝マップ上に展開する経路に流れを持たせることで、どの代謝がどのような状況下で活性化(不活性化)するのかというダイナミックな情報をもたらすことが可能となる。今回得られた細胞内代謝産物の量的解析自体はその変化の生物学的意義を明らかにすることはできないが、細胞および分子レベルでの解析結果と組み合わせることで、生命維持の最も根幹に位置する幹細胞の特性を理解する上で代謝制御の重要性を示したと考えている。特に、正常およびがん幹細胞に共通して、しかし全く異なった変動を示した細胞内のアミノ酸代謝産物動態に関する知見は、アミノ酸代謝を標的とした創薬研究が再生医療やがん治療に対する新しい可能性を秘めていることを大いに期待させるものである。

メタボローム解析による病態発症・進展機構の解明はまだ始まったばかりである。今回利用した CE-MS システムは網羅的な既知代謝産物解析を可能としたが、現在では TOFMS システムによる高感度・高精度の測定が可能となり、さらに未知代謝産物の同定技術も格段に向上している。今後、幹細胞機能破綻に起因するさまざまな病態における詳細な代謝変動解析やバイオマーカー探索が進めば、健康長寿の社会を支える新しい診断法や治療法の産業創成も期待できると考えている。

4. 4 幹細胞エピジェネティック代謝解析 (千葉大学 岩間グループ)

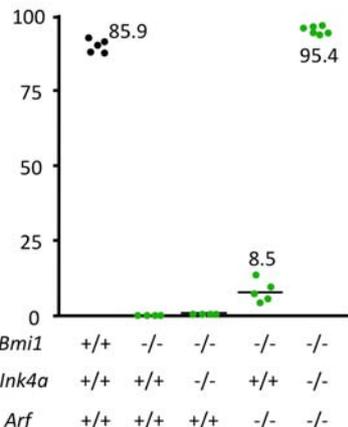
(1)研究実施内容及び成果

代謝解析による幹細胞制御機構の解明を実現するために、造血幹細胞および白血病幹細胞の老化制御に関わる分子機構としてポリコム群遺伝子の機能を解析した。さらに、肝細胞癌の癌幹細胞の分離法の確立・肝細胞癌マウスモデルの作製を通して、癌の成り立ち、その代謝制御の解明、治療法の開発を目指した解析を行った。

1)造血幹細胞の老化制御に関わるポリコム群遺伝子の機能

近年、造血幹細胞の加齢にともなう変化が明らかにされつつあり、造血幹細胞の老化を抑える機構がその自己複製能を維持するうえで極めて重要であることが明らかとなった。造血幹細胞においてもテロメア長や活性酸素、DNA 損傷の蓄積などが老化に関わることが示されている。老化誘導に関与する主な経路が p53 と Rb を中心とした癌抑制経路(p16^{Ink4a}→Rb、p19^{Arf}→p53→p21→Rb)である。ポリコム群蛋白はクロマチン修飾因子であり、遺伝子の発現抑制状態を維持する。我々は、ポリコム複合体の中心的構成分子である Bmi1 の遺伝子欠損マウスが造血幹細胞の著明な自己複製障害を示すこと、Bmi1 を強制発現すると造血幹細胞活性の増強がみられることを見出し、Bmi1 の発現量が造血幹細胞の自己複製能を規定する重要な因子であることを報告してきた。Bmi1 が幹細胞において制御する重要な標的遺伝子が癌抑制遺伝子 *Cdkn2a (Ink4a-Arf)* である。この遺伝子座には異なる読み枠から翻訳される p16^{Ink4a} と p19^{Arf} の 2 つの蛋白がコードされており、これらの遺伝子発現は Bmi1 遺伝子欠損マウスにおいて著明に亢進する。本研究において、Bmi1 欠損マウスにおける造血幹細胞の長期骨髄再構築能、*in vitro* での増殖・分化能は *Ink4a* と *Arf* 遺伝子の両方を欠損した場合(Bmi1^{-/-}*Ink4a-Arf*^{-/-})にほぼ正常に回復し、Bmi1 による *Ink4a-Arf* 遺伝子の発現抑制が造血幹細胞の自己複製能の維持に必須であることを確認した。この際、Bmi1^{-/-}*Ink4a*^{-/-}マウスおよび Bmi1^{-/-}*Arf*^{-/-}マウスにおける造血幹細胞活性の回復はごくわずかであり、Bmi1 による *Ink4a-Arf* 両遺伝子の発現抑制が造血幹細胞の維持に必須であることが明らかとなった(図 1)。Bmi1 欠損造血幹細胞を培養した際に、細胞老化の特徴である細胞の肥大化や、そのマーカーである senescence-associated β-galactocidase (SA-β-gal)陽性細胞の著明な増加が認められ、これは *Ink4a-Arf* 両遺伝子の欠損によって回復した。したがって、Bmi1 は造血幹細胞において *Ink4a-Arf* 遺伝子の発現を常に抑制することにより、造血幹細胞の老化を未然に防ぐ重要な分子といえる(*J Exp Med*, 2006)。

図1 移植12週後の末梢血におけるドナー由来血液細胞のキメラズム(%)



次に、同様の老化制御が白血病幹細胞においても当てはまるものか否かについて検討した。白

血病融合遺伝子 *MLL-AF9* は自己複製能を持たない造血前駆細胞に自己複製能を付与し、白血病幹細胞化することが知られている。そこで本研究では、この *MLL-AF9* の系を用いて前駆細胞が癌幹細胞化する過程における Bmi1 の機能を解析した。*MLL-AF9* を導入した野生型 GMP は、*in vitro* で効率良く形質転換し不死化した。Bmi1^{-/-} GMP、*Ink4a-Arf*^{-/-} GMP、Bmi1^{-/-}*Ink4a-Arf*^{-/-} GMP はすべて野生型と同様に形質転換し不死化したことから、Bmi1 は骨髓球系前駆細胞の *in vitro* での形質転換に必須ではないこと

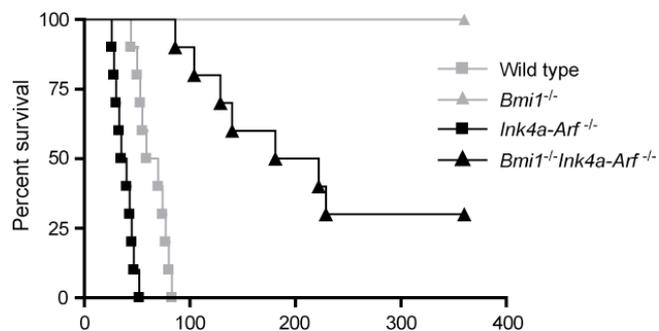


図2. Bmi1 欠損白血病幹細胞の白血病発症活性

が示された。in vitro で形質転換した野生型細胞を致死量の放射線を照射したマウスに移植すると、全例において白血病が発症した。一方で、in vitro で形質転換した *Bmi1* 遺伝子欠損細胞は全く生着しなかった(図2)。*Ink4a-Arf* の関与を検証するために、*Bmi1^{-/-}Ink4a-Arf^{-/-}* GMP から形質転換した細胞を移植したところ、白血病の発症が確認され、白血病幹細胞の活性維持にも *Bmi1* が *Ink4a-Arf* の発現抑制を維持することが重要であることが確認された。しかし、白血病発症にかかる期間が明らかに延長していることから、*Ink4a-Arf* 以外の未同定の遺伝子群の発現が抑制される必要があるものと考えられた。そこで、*Ink4a-Arf^{-/-}* GMP および *Bmi1^{-/-}Ink4a-Arf^{-/-}* GMP から形質転換した細胞より白血病幹細胞分画 ($Lin^- IL-7R\alpha^- Sca-1^- c-Kit^+ CD34^+$ $Fc\gamma RIII/II^{hi}$) を純化し、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。*Bmi1^{-/-}Ink4a-Arf^{-/-}* GMP において発現が2倍以上に脱抑制している遺伝子群が多数同定され、*Bmi1* が広範な遺伝子を制御することが確認された(図3)。これらの遺伝子の中で、今回解析を行った転写抑制遺伝子 *Tbx15* は、その強制発現により *Ink4a-Arf^{-/-}* GMP から形質転換した白血病細胞の増殖抑制活性を示したことから、白血病の発症過程において癌抑制遺伝子として機能する可能性が考えられる。*Bmi1* は各種の癌幹細胞において高い発現を示すことから、*Ink4a-Arf* のみならず、*Tbx15* のような癌抑制遺伝子の発現を確実に抑制することにより、癌幹細胞の活性を維持・増強するものと考えられる(論文投稿中)。以上の *Bmi1* を中心としたクロマチン制御は、細胞の老化を司り経路によって制御されている可能性があるため、細胞内代謝の関連を探索している。

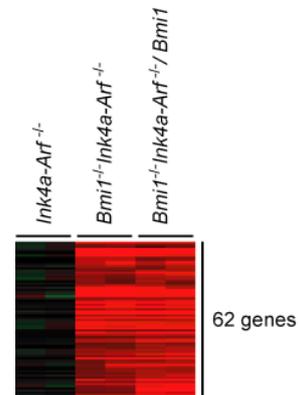


図3. *Bmi1* による遺伝子発現

2) 肝細胞癌の癌幹細胞の分離法の確立・肝細胞癌マウスモデルの作製

乳癌や脳腫瘍などの固形腫瘍においても「癌幹細胞システム」という概念が確立されつつある。そこで、幹細胞純化法として広く浸透した FACS (Fluorescence activated cell sorter) を用いたアプローチを肝癌細胞に応用し、癌幹細胞の分離とその細胞生物学的特性の解析をまず試みた。

SP (Side population) は、Hoechst33342 処理後に UV 励起すると、短波長(青)及び長波長(赤)の弱い蛍光を呈する細胞集団で、幹細胞活性を有することが知られている。そこで、4種類の肝癌培養細胞 HepG2, Huh6, Huh7, PLC/PRF/5 を解析したところ、Huh7 と PLC/PRF/5 の全細胞中の 0.2%、0.9% に SP 細胞が認められた。

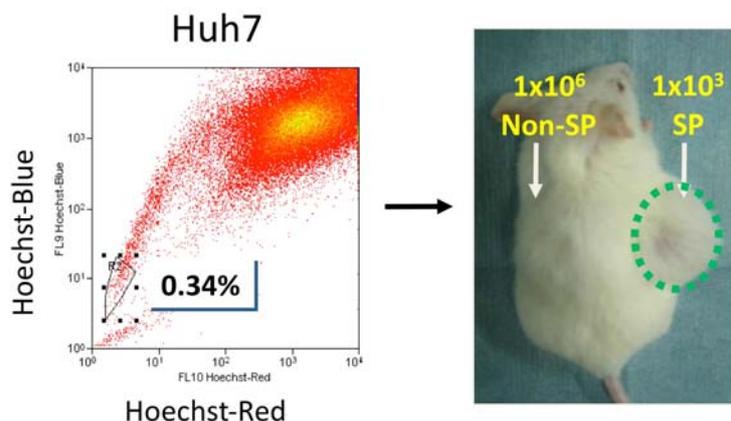


図4. 肝臓がんにおけるがん幹細胞分画

肝細胞マーカーである AFP と胆管上皮マーカーである CK19 の免疫染色の結果、SP 細胞では non-SP 細胞に比して AFP/CK19 共陽性の細胞の含有率が高く、より未分化な細胞集団である可能性が示唆された。分離された SP 細胞の皮下移植では 1×10^3 個にて腫瘍形成が確認されたのに対して、Non-SP 細胞では 1×10^6 個の細胞移植によっても腫瘍は形成されなかった(図4)。また、SP 細胞から形成された腫瘍の FACS による再解析では、SP 細胞と non-SP 細胞双方の細胞分画が存在し、二次移植の結果、SP 細胞の移植によって再び腫瘍が形成された。以上の解析から、Huh7, PLC/PRF/5 において、腫瘍形成能を有する極少数の細胞が SP 細胞分画に限定的に存在していることが明らかとなった。したがって、これら肝癌細胞の SP 分画は癌幹細胞のメタボローム解析に有用な細胞分画であるものと考えられた(*Hepatology*, 2006)。

さらにマウス胎児肝幹・前駆細胞を用いた肝癌モデルを確立した。肝幹・前駆細胞活性を有するとされるマウス胎児肝臓の $c\text{-Kit}^+ \text{CD49f}^{\text{low}} \text{CD29}^+ \text{CD45}^- \text{Ter119}^-$ 細胞を分離・回収し、自己複製能と発癌の関連性に関してプロスペクティブに解析した。これらの細胞にポリコーム遺伝子 *Bmi1* または $\beta\text{-catenin}$ 活性型変異体などの自己複製制御分子を強制発現した場合、肝幹・前駆細胞は二分化能を維持したままプレイング活性の有意な上昇、すなわち自己複製能の亢進を示すとともに、足場非依存性増殖能を獲得した。*Bmi1* または $\beta\text{-catenin}$ の活性型変異体を強制発現したこれらの細胞を NOD/SCID マウスの脾臓に移植したところ、肝腫瘍を生じた。なお、これらの現象は肝幹・前駆細胞特異的に認められ、分化傾向のある肝細胞群

においては認められなかった。以上より *Bmi1* および Wnt/ $\beta\text{-catenin}$ シグナルは肝幹・前駆細胞の自己複製に関与し、その自己複製制御異常が肝発癌における初期イベントとなる可能性が考えられた。(*Gastroenterology*, 2007)。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*^{-/-} 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*^{-/-} 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同定し、その機能解析を進めた。その中で転写因子 *Sox17* が *BMI1* によって直接されること、マウス Dlk^+ 胎児肝幹・前駆細胞に *BMI1* とともに *Sox17* を強制発現すると、*BMI1* による造腫瘍活性が著明に抑制されることを確認した(図 5)。したがって、*Sox17* は癌抑制遺伝子として機能し、癌化の過程においては *BMI1* によってその発現が抑制されているものと考えられる

(*Hepatology*, 2010)。

また、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(図 6)

(*Cancer Res*, 2008)。ヒト肝細胞癌検体の免疫染色解析において、ポリコーム蛋白 *BMI1* と *EZH2* の発現亢進が肝細胞癌の再発と有意に相関することも明らかとなった(*Hum Pathology* 2009)。

以上の知見は、癌幹細胞において活性が増強しているポリコーム複合体によって、多くの癌抑制遺伝子の発現が同時に抑制されていることを示唆するものであり、癌幹細胞の成立・維持の分子メカニズムの一面を明らかにするものである。さらに、ポリコーム複合体が遺伝子発現制御を介して、SP 細胞集団を増加させるなど癌幹細胞特異的な他の代謝制御にも関与する可能性を示唆するものであり、この点について ChIP-chip 法などにより解析を進める予定である。

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究において、ポリコーム群遺伝子が *Ink4a/Arf* をはじめとした多くの癌抑制遺伝子の発現を抑制することによって、正常ならびに癌の幹細胞の細胞老化を抑制し、幹細胞の維持に機能することが明らかとなった。したがって、ポリコームの活性抑制が癌の治療に結びつく可能性が示唆される。そこで、ポリコーム複合体の阻害剤である低分子化合物 *DZNep* を検討したところ、*in vitro* で白血病細胞ならびに肝細胞癌細胞の増殖を抑制しその分化を誘導することが確認された。今後ポ

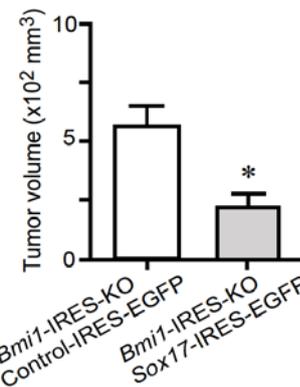


図 5. Sox17 によるがん化抑制作用

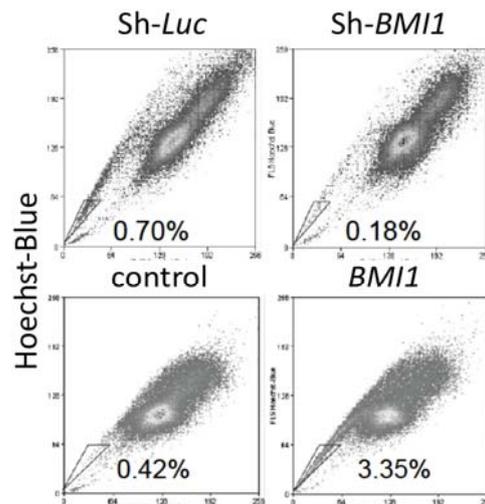


図 6. BMI1 による肝臓がん幹細胞分画の変動

リコーム複合体の阻害剤の効果をさらに詳しく解析することにより、ポリコーム蛋白を標的とした治療法の可能性が見えてくるものと期待される。

4.5 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 (東京医科歯科大学 田賀グループ)

(1)研究実施内容及び成果

正常組織幹細胞とがん幹細胞の双方に焦点をあて、主として造血幹細胞および神経幹細胞の増殖分化制御機構の解明と、グリオーマ幹細胞を規定する特性の解明を通じて、幹細胞に特有の性状を理解することに努めた。組織幹細胞の研究対象として、盛んな増殖能を示す胎生期中枢神経系ならびに、発生の進行に伴って造血の場を変える特徴をもつ胎生期造血組織を用いた。がん幹細胞の研究材料として、ラット C6 グリオーマにおけるがん幹細胞集団を用いた。いずれについても、幹細胞特性と幹細胞微小環境(ニッチ)特性の双方の観点から研究を進めた。

1)胎生期の造血組織における造血幹細胞の特性解明:SP細胞と幹細胞

造血幹細胞の特性解明については、胎生期のマウスにおける造血組織に焦点を当てた。造血の場は、個体発生の進行に伴い変化することが知られており、たとえば、成体型造血幹細胞は、大動脈-生殖原基-中腎(AGM)領域、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ことから、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むにあたり適した材料といえる。初期段階の AGM 領域における造血幹細胞について、その表面マーカーなどの詳しい特性は未解決である。AGM 分散培養により生じた浮遊細胞を CD45 および c-Kit で展開すると CD45^{low}c-Kit⁺(集団 A)、CD45^{low}c-Kit⁺(集団 B)、CD45^{high}c-Kit^{low/-}(集団 C)の3つの細胞集団に分かれた。Cobble stone 様コロニー形成アッセイなどから集団 A 細胞が未分化な細胞であることが示唆された。AGM 分散培養の血球輩出においては、CD45^{low}c-Kit⁺を特徴とする未分化な細胞集団が形成され、顆粒球およびマクロファージなどに分化することを示した。つまり、マウス AGM 領域の *in vitro* における分散培養の解析から CD45^{low}c-Kit⁺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。その後、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^{low}c-Kit⁺) の存在が明らかになった。造血幹細胞の1つの性質である side population(SP)の有無を Hoechst33342 染色で解析したところ、CD45^{low}c-Kit⁺細胞集団に SP 細胞を認めた。CD45^{low}c-Kit⁺集団中の SP 細胞および main population 細胞を比較すると、前者に高い mix コロニー形成能を認めた。この結果は *in vivo* で AGM 領域には CD45^{low}c-Kit⁺の SP 細胞分画に高い造血活性を有する細胞が存在することを示唆する。

一方、胎盤における造血幹細胞の存在はいくつかの報告があるが、その表面マーカーなどの詳しい特性は未解決である。本研究項目では、胎生 10.5 日目から 15.5 日目まで 1 日ごとのマウス胎盤について、OP9 ストローマ細胞上での敷石状コロニー形成能および半固形培地におけるコロニー形成能を指標に造血活性を解析した。調べたいずれの胎生時期においても、CD45 陽性かつ c-Kit 陽性の細胞集団に造血活性が認められた。CD45 陽性 c-Kit 陰性細胞集団、CD45 陰性 c-Kit 陽性細胞集団、CD45 陰性 c-Kit 陰性細胞集団には造血活性は殆ど検出されなかった。また、成体造血幹細胞が濃縮される細胞集団として知られている Hoechst33342 色素排出性の SP 細胞集団は、CD45 陽性 c-Kit 陽性細胞集団中に最も高い割合で観察された。胎盤は胎仔側組織と母体側組織が入り組んでいるが、GFP トランスジェニックマウスの利用により、胎仔由来細胞を GFP 標識することを可能にした。これにより幹細胞ニッチ探索への糸口を得た。

2)がん幹細胞の特性解明に関する研究

がん幹細胞 (cancer stem cell) のコンセプトは、これまでのがん研究の問題点を指摘すると同時に、

がんが根治する可能性を期待させる。がん塊中に微量に存在するがん幹細胞は正常組織幹細胞と同様、自己複製能と多分化能に基づく階層状の分裂様式を示し、不均一ながん組織を形成・維持・拡大する起源細胞として捉えられている。本研究グループでは、グリオーマ細胞株 C6 において、上記の SP 細胞ががん幹細胞分画であることを報告しており、正常組織とがん組織双方における幹細胞らしさの共通性を観察してきた。加えて、がん幹細胞は化学療法や放射線治療などに抵抗性を示すことから再発への関与が示唆されており、がん病態の解明と根治へ向けた重要な研究対象としてその性状解明に向けて研究を推進した。本研究ではがん幹細胞制御の分子基盤確立へ向け、足がかりとなる 2 つのアプローチを実施した。ひとつは、いくつかのがんにおいて、がん幹細胞は膜蛋白質 CD133 の発現を指標に濃縮されるという点に着目したアプローチであり、エピジェネティックな調節を含めた CD133 遺伝子の転写制御機構の解析を行った。もうひとつのアプローチは、がん幹細胞の自己複製を制御する特別な微小環境(ニッチ)の概念に基づくものであり、がん幹細胞ニッチ療法の可能性に取り組む研究である。この研究により、がん幹細胞が自ら一部分化してがん幹細胞を支持するニッチ環境を構築するという生存戦略をとっている可能性を示唆するデータも得た。

以上の研究によって、SP 細胞や CD133 というマーカーが造血細胞およびがんにも共通して、幹細胞らしさを制御する重要な鍵分子として働くことが示され、共通の分子代謝制御によって支えられていることが示唆された。さらに、神経幹細胞維持および分化制御シグナルを探った。

3) 神経幹細胞の増殖シグナルとニューロンおよびグリア分化抑制シグナルの連携

神経幹細胞が枯渇することなく、多分化能を保持したまま増え続ける「自己複製」の仕組みを明らかにすることを目的に実施された。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ことが重要と考えられる。神経幹細胞の自己複製の理解にはその微小環境(ニッチ)の関与を考慮することが必要である。神経幹細胞の *in vitro* における培養時に fibroblast growth factor 2 (FGF2) が広く用いられることを背景に、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、ニューロンやグリアの分化を抑制するシグナルが派生すると想定して取組んだ。その結果、神経幹細胞において FGF2、Wnt、Notch のシグナルが相互作用し、前 2 者のシグナルは、GSK3 β の不活化を経た β -catenin の核内蓄積量により、cyclin D1 発現誘導を経て増殖促進性に働き、その一方で、 β -catenin は Notch シグナルの増強によるニューロン分化抑制性に働くことで、自己複製に寄与することを明らかにした(図1)。前項の結果を受けてさらに、FGF2/Wnt シグナルがアストロサイト分化を抑制する機構について解析を進めた。GSK3 β / β -catenin 経路のひとつの標的遺伝子産物である cyclin D1 が細胞周期促進作用とは別に GFAP 陽性アストロサイトの分化を抑制することを確認した。その分子機構として、cyclin D1 が STAT3 と p300 の結合を阻害することを見出した。また、cyclin D1 が LIF、BMP2 誘導性のアストロサイト特異的遺伝子 *gfap* のプロモーター活性を抑制することも確認した。これらの結果と前項の成果を総合することで、神経幹細胞の自己複製を維持する機構の一端が説明可能となった点で、これらの結果は意義深い。

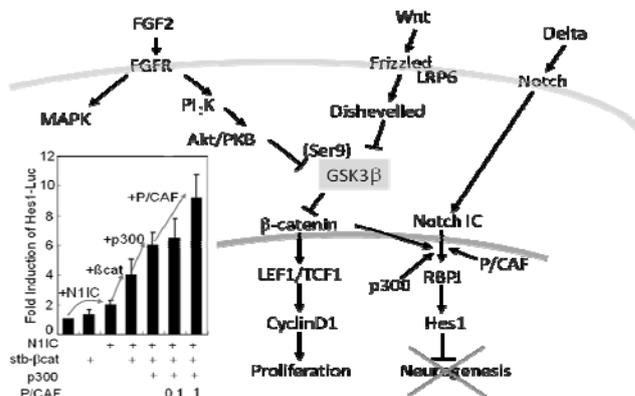


図1

これらの結果から、神経幹細胞の自己複製制御において、beta-catenin の核内蓄積が重要であることが示唆される。そこで beta-catenin の分解を亢進させる GSK3beta の優性活性型変異体が神経幹細胞の自己複製に及ぼす影響を検討した。すると、GSK3beta の優性活性型変異体を神経幹細胞に導入したところ、自己複製の指標である二次ニューロスフェア形成がほぼ完全に阻害されることがわかった。

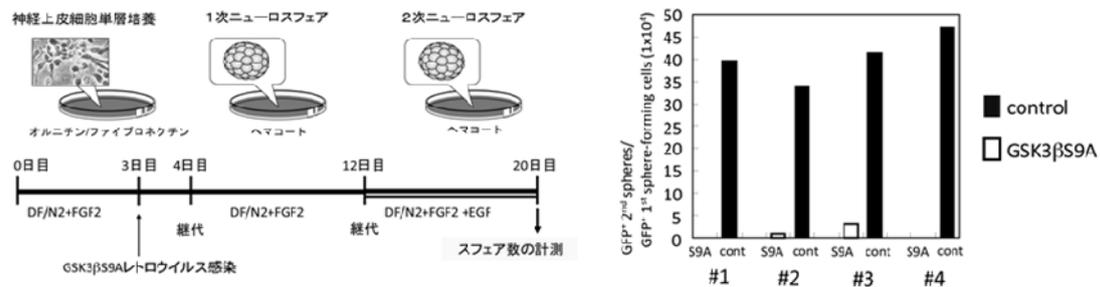


図2

これらのことから、神経幹細胞において FGF2、Wnt、Notch のシグナルが相互作用し、前 2 者のシグナルは、GSK3beta の不活化を経た beta-catenin の核内蓄積量により、cyclin D1 発現誘導を経て増殖促進性とアストロサイト分化抑制性に働き、その一方で、beta-catenin は Notch シグナルの増強によるニューロン分化抑制性に働くことで、自己複製に寄与することが明らかになった。Beta-catenin は、肝臓がん幹細胞集団 (SP) でも重要な役割を示すことから (岩間の項)、幹細胞制御にとっては共通の鍵分子であることが予想され、その観点から共通の代謝制御を捉えることは魅力的なアプローチであると考えられる。

(2)研究成果の今後期待される効果

胎生期の造血の場合は、発生の進行に伴って変遷するが、それらを対象とした本研究の成果は、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双方の理解に結び付くと期待される。また、がん幹細胞の自己複製を制御する特別な微小環境 (ニッチ) の存在の概念に基づくアプローチから得た成果、つまり、がん幹細胞が自ら一部分化してがん幹細胞を支持するニッチ環境を構築するという生存戦略をとっている可能性の示唆は、がん幹細胞ニッチ療法の開発的研究に応用展開できる可能性が期待される。また、このような細胞内在性プログラムと外来性シグナルを含めたがん細胞社会の包括的な理解に向かう成果は、がん分子標的のスクリーニングにおける新たな考察をあたえる効果も有している。

神経幹細胞の自己複製制御機構は、増殖シグナルと分化抑制シグナルの連携を分子レベルで明確に示すものであり、制御機構の破綻した癌の増殖をコントロールする手掛かりを与えるものであり、広くその他の組織幹細胞やがん幹細胞に応用できることが期待される。神経幹細胞は自己複製能をもつと同時にさまざまな分化制御を受けながらニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトを作り出す能力を有する。神経幹細胞の未分化性維持や分化誘導の分子機構を明らかにすることは、脳の発生の基本的メカニズムの解明に寄与するとともに、神経疾患の新しい治療法開発の手掛かりとなることが期待される。これまで遺伝子発現プロファイリングによるアプローチで神経幹細胞の分化制御を司る仕組みについての知見は出つつも全容解明には至っていない。その理由の一つとして、分化・未分化の制御機構が、これまで深く探索されてこなかった蛋白質翻訳後修飾 (リン酸化、分解、核移行など) により行われている可能性が挙げられる。本研究では、神経幹細胞の分化の運命づけに転写因子やクロマチン修飾因子を含む蛋白質の翻訳後修飾が関わっていると仮定し、2D-DIGE 法を含む最新のプロテオミクス的手法を取り入れた核蛋白質の解析を行っている。胎生 14 日目のマウス終脳から単離した神経上皮細胞を単層培養する際に、神経幹

細胞の自己複製にはたらく FGF2 を添加して神経幹細胞を得た。この神経幹細胞の培養系に対して FGF2 の除去と再添加を施したそれぞれのサンプルより、核蛋白質を分画し、異なる蛍光標識を施して 2D-DIGE を行い、画像プロファイルを比較定量解析した。その結果、pH3-11, 24 x 20cm のゲルで検出された 4,095 個の核蛋白質スポットのうち FGF2 刺激により量が変化した 18 個のスポットを認めた。ProQ Diamond で染色した結果、18 個中 11 個はリン酸化蛋白質であった。これらの蛋白質スポットは nanoLC-QQTOF MS により同定され、核移行やクロマチン修飾、あるいは転写調節など核内動態に関与する因子を含んでいた。これらの結果は、プロテオミクスの手法は神経幹細胞の運命決定を調節する仕組みを解明する方法として有効であることを示唆している。今後、本研究を推進していきたい。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0件、国際(欧文)誌 88件)

2011年

1. 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.* 71:1135-45, 2011
2. 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. 14-3-3sigma regulates B-cell homeostasis through stabilization of FOXO1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108:1555-60, 2011.
3. Takeda Y, Nakaseko C, Tanaka H, Takeuchi M, Yui M, Saraya A, Miyagi S, Wang C, Tanaka S, Ohwada C, Sakaida E, Yamaguchi N, Yokote K, Hennighausen L, and Iwama A. Direct activation of STAT5 by ETV6-Lyn fusion protein promotes induction of myeloproliferative neoplasm with myelofibrosis. *Br J Haematol* 2011 in press

2010年

4. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N and Hirao A. TGF β -FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature*, 463:676-80, 2010
5. 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
6. 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
7. Gomei Y, Nakamura Y, Yoshihara H, Hosokawa K, Iwasaki H, Arai F: Functional differences between two Tie2 ligands, angiopoietin-1 and -2, in regulation of adult bone marrow hematopoietic stem cells. *Exp Hematol*, 38: 82-9, 2010
8. Iwasaki H, Arai F, Kubota Y, Suda T: Endothelial protein C receptor-expressing hematopoietic stem cells reside in the perisinusoidal niche in fetal liver. *Blood*, 116: 544-553, 2010
9. Hosokawa K, Arai F, Yoshihara H, Iwasaki H, Nakamura Y, Gomei Y, Suda T: Knockdown of N-cadherin suppresses the long-term engraftment of hematopoietic stem cells. *Blood*, 116: 554-563, 2010
10. Nakamura Y, Arai F, Iwasaki H, Hosokawa K, Kobayashi I, Gomei Y, Matsumoto Y, Yoshihara H, Suda T: Isolation and characterization of endosteal niche cell populations that regulate hematopoietic stem cells. *Blood* 2010 May 14, [Epub ahead of print]
11. Shimizu T, Ishikawa T, Sugihara E, Kuninaka S, Miyamoto T, Mabuchi Y, Matsuzaki Y, Tsunoda T, Miya F, Morioka H, Nakayama R, Kobayashi E, Toyama Y, Kawai A, Ichikawa H, Hasegawa T, Okada S, Ito T, Ikeda Y, Suda T, Saya H: c-MYC overexpression with loss of Ink4a/Arf transforms bone marrow stromal cells into osteosarcoma accompanied by loss of adipogenesis. *Oncogene* 2010 Aug 2. [Epub ahead of print]

12. Kurihara T, Kubota Y, Ozawa Y, Takubo K, Noda K, Simon MC, Johnson RS, Suematsu M, Tsubota K, Ishida S, Goda N, Suda T, Okano H: von Hippel-Lindau protein regulates transition from the fetal to the adult circulatory system in retina. *Development*, 137:1563-1571, 2010
13. Miyauchi Y, Ninomiya K, Miyamoto H, Sakamoto A, Iwasaki R, Hoshi H, Miyamoto K, Hao W, Yoshida S, Morioka H, Chiba K, Kato S, Tokuhisa T, Saitou M, Toyama Y, Suda T, Miyamoto T: The Blimp1-Bcl6 axis is critical to regulate osteoclast differentiation and bone hemostasis. *J Exp Med*, 207: 751-762, 2010
14. Nakada S, Tai I, Panier S, Al-Hakim A, Iemura S-i, Juang Y-C, O'Donnell L, Kumakubo A, Munro M, Sicheri F, Gingras A-C, Natsume T, Suda T, Durocher D: Non-canonical inhibition of DNA damage-dependent ubiquitylation by OTUB1. *Nature* 466:941-946, 2010
15. Nakajima H, Ito M, Smookler DS, Shibata F, Fukuchi F, Morikawa Y, Ikeda Y, Arai F, Suda T, Khokha R, Kitamura T: TIMP-3 recruits quiescent hematopoietic stem cells into active cell cycle and expands multipotent progenitor pool. *Blood* 2010, in press
16. Sanematsu F, Hirashima M, Laurin M, Takii R, Nishikimi A, Kitajima K, Ding G, Noda M, Murata Y, Tanaka Y, Masuko S, Suda T, Meno C, Côté J-F, Nagasawa T, Fukui Y : DOCK180 Is a Rac Activator That Regulates Cardiovascular Development by Acting Downstream of CXCR4. *Circ Res*, 2010, in press
17. Hosokawa K, Arai F, Yoshihara H, Iwasaki H, Hembree M, Yin T, Nakamura N, Gomei Y, Takubo K, Shiama H, Matsuoka S, Li L, Suda T: Cadherin-based adhesion is a potential target for niche manipulation to protect hematopoietic stem cells in adult bone marrow. *Cell Stem Cell*, 6:194-8, 2010
18. Kobayashi I, Ono H, Moritomo T, Kano K, Nakanishi T, Suda T: Comparative gene expression analysis of zebrafish and mammals identifies common regulators in hematopoietic stem cells. *Blood*, 115: 1-9, 2010
19. Kondo K, Sugioka T, Tsukada K, Aizawa M, Takizawa M, Shimizu K, Morimoto M, Suematsu M, Goda N. Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor α agonist, improves hepatic microcirculatory patency and oxygen availability in a high-fat-diet-induced fatty liver in mice. *Adv Exp Med Biol*. 662, 77-82, 2010
20. Tanaka H, Takeuchi M, Takeda Y, Sakai S, Oda K, Abe D, Ohwada C, Ozawa S, Sakaida E, Shimizu N, Saito Y, Miyagi S, Iwama A, and Nakaseko C. Identification of a novel TEL-Lyn fusion gene in primary myelofibrosis. *Leukemia* 24:197-200, 2010
21. Tabu K, Kimura T, Sasai K, Wang L, Bizen N, Nishihara H, Taga T, Tanaka S, Analysis of an alternative human CD133 promoter reveals the implication of Ras/ERK pathway in tumor stem-like hallmarks. *Molecular Cancer*, 9: 39, 2010
22. Chiba T, Seki A, Aoki R, Ichikawa H, Negishi M, Miyagi S, Oguro H, Saraya A, Kamiya A, Nakauchi H, Yokosuka O, and Iwama A. Bmi1 promotes hepatic stem cell expansion and tumorigenicity in both Ink4a/Arf-dependent and -independent manners in Mice. *Hepatology* 2010 Jun 11. [Epub ahead of print].
23. Yamashita Y, Yuan J, Suetake I, Suzuki H, Ishikawa Y, Choi YL, Ueno T, Soda M, Hamada T, Haruta H, Takada S, Miyazaki Y, Kiyoi H, Ito E, Naoe T, Tomonaga M, Toyota M, Tajima S, Iwama A, and Mano H. Array-based genomic resequencing of human leukemia. *Oncogene* 24, 3723-3731, 2010.

24. Aoki R, Chiba T, Miyagi S, Negishi M, Konuma T, Taniguchi H, Ogawa M, Yokosuka O, and Iwama A. The polycomb-group gene product Ezh2 regulates proliferation and differentiation of murine hepatic stem/progenitor cells. *J Hepatology* 52, 854-863, 2010.
25. Inoue T, Kagawa T, Inoue-Mochita M, Isono K, Ohtsu N, Nobuhisa I, Fukushima M, Tanihara H, Taga T. Involvement of the HIPK family in regulation of eyeball size, lens formation and retinal morphogenesis. *FEBS Lett.* 584:3233-3238:2010
26. Ramadan A, Nobuhisa I, Yamasaki S, Nakagata N, Taga T, Cells with hematopoietic activity in the mouse placenta reside in side population *Genes to Cells.* 15:983-994:2010
27. Yoshinaga Y, Kagawa T, Shimizu T, Inoue T, Takada S, Kuratsu J, Taga T, Wnt3a promotes hippocampal neurogenesis by shortening cell cycle duration of neural progenitor cells. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2010, in press

2009 年

28. 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
29. 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.
30. 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
31. Yamada W, Nagao K, Horikoshi K, Fujikura A, Ikeda E, Inagaki Y, Kakitani M, Tomizuka K, Miyazaki H, Suda T, Takubo K: Craniofacial malformation in R-spondin2 knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 381:453-8, 2009
32. Sato T, Onai N, Yoshihara H, Arai F, Suda T, Ohteki T: Interferon regulatory factor-2 protects quiescent hematopoietic stem cells from type I interferon-dependent exhaustion. *Nat Med.* 15:696-700, 2009
33. Morikawa S, Mabuchi Y, Kubota Y, Nagai Y, Niibe K, Hiratsu E, Suzuki S, Miyauchi-Hara C, Nagoshi N, Sunabori T, Shimmura S, Miyawaki A, Nakagawa T, Suda T, Okano H, Matsuzaki Y: Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow. *J Exp Med*, 206: 2483-96, 2009
34. Tajima T, Goda N, Fujiki N, Hishiki T, Nishiyama Y, Senoo-Matsuda N, Shimazu M, Soga T, Yoshimura Y, Johnson RS, Suematsu M. HIF-1alpha is necessary to support gluconeogenesis during liver regeneration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 387:789-794, 2009
35. Fukushima M, Setoguchi T, Komiya S, Tanihara H, and Taga T. Retinal astrocyte differentiation mediated by leukemia inhibitory factor in cooperation with bone morphogenetic protein 2. *Int. J. Dev. Neurosci.* 27:685-690, 2009
36. Yonemitsu Y, Imazeki F, Chiba T, Fukai K, Nagai Y, Miyagi S, Arai M, Aoki R, Miyazaki M, Nakatani Y, Iwama A, Yokosuka O. Distinct expression of polycomb group proteins EZH2 and BMI1 in hepatocellular carcinoma. *Hum Pathology* 40, 1304-1311, 2009

37. Komatsu S, Takenobu H, Ozaki T, Ando K, Koida N, Suenaga Y, Ichikawa T, Hishiki T, Chiba T, Iwama A, Yoshida H, Ohnuma N, Nakagawara A and Kamijo T. Plk1 regulates liver tumor cell death by phosphorylation of TAp63. *Oncogene* 28, 3631-3641, 2009
38. Xiao W, Hong H, Kawakami Y, Kato Y, Wu D, Yasudo H, Kimura A, Kuwabara H, Bertoli LF, Davis RS, Chau LA, Madrenas J, Hsia CC, Xenocostas A, Kipps TJ, Hennighausen L, Iwama A, Nakauchi H, and Kawakami T. Tumor suppression by phospholipase C- β 3 via SHP-1-mediated dephosphorylation of Stat5. *Cancer Cell* 16, 161-171, 2009
39. 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.

2008年

40. 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
41. 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
42. 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- α in gastric tumour cells. *EMBO J.*27:1671-81, 2008.
43. 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
44. Hirashima M, Sano K, Morisada T, Murakami K, Rossant J, Suda T: Lymphatic vessel assembly is impaired in Aspp1-deficient mouse embryos. *Dev Biol*, 316: 149-59, 2008
45. 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.
46. 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
47. 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
48. 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

49. 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*, 112:4485-93, 2008
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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.

2007年

56. Miyamoto K, Araki YK, Naka K, Arai F, Takubo K, Yamazaki S, Matsuoka S, Miyamoto T, Ito K, Ohmura M, Chen C, Hosokawa K, Nakauchi H, Nakayama K, Nakayama KI, Harada M, Motoyama N, Suda T, and Hirao A. Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell Stem Cell.* 1:101-112: 2007
57. Ito K, Takubo K, Arai F, Satoh H, Matsuoka S, Ohmura M, Naka K, Azuma M, Miyamoto K, Hosokawa K, Ikeda Y, Mak TW, Suda T, Hirao A. Regulation of reactive oxygen species by atm is essential for proper response to DNA double-strand breaks in lymphocytes. *J Immunol.*178:103-10: 2007.
58. Zaugg K, Su YW, Reilly PT, Moolani Y, Cheung CC, Hakem R, Hirao A, Elledge SJ, Mak TW. Cross-talk between Chk1 and Chk2 in double-mutant thymocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104:3805-3810: 2007
59. Ohtani N, Imamura Y, Yamakoshi K, Hirota F, Nakayama R, Kubo Y, Ishimaru N, Takahashi A, Hirao A, Shimizu T, Mann DJ, Saya H, Hayashi Y, Arase S, Matsumoto M, Kazuki N, Hara E. Visualizing the dynamics of p21Waf1/Cip1 cyclin-dependent kinase inhibitor expression in living animals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104:15034-9: 2007
60. Iwanaga A, Sato T, Sugihara K, Hirao A, Takakura N, Okamoto H, Asano M, Yoshioka K.

Neural-specific ablation of the scaffold protein JSAP1 in mice causes neonatal death. *Neurosci Lett.* 429:43-48. 2007.

61. Kubota Y, Takubo K, Suda T: Bone marrow long label-retaining cells reside in the sinusoidal hypoxic niche. *Biochem Biophys Res Commun.*, 366:335-339: 2007
62. Ninomiya M, Abe A, Katsumi A, Xu J, Ito M, Arai F, Suda T, Ito M, Kiyoi H, Kinoshita T, Naoe T. Homing, proliferation and survival sites of human leukemia cells in vivo in immunodeficient mice. *Leukemia.* 21:136-142: 2007
63. Morita K, Miyamoto T, Fujita N, Kubota Y, Ito K, Takubo K, Miyamoto K, Ninomiya K, Suzuki T, Iwasaki R, Yagi M, Takaishi H, Toyama Y, Suda T. Reactive oxygen species induce chondrocyte hypertrophy in endochondral ossification. *J Exp Med.* 204: 1613-1623: 2007
64. Hosokawa K, Arai F, Yoshihara H, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Miyamoto K, Shima H, Ito K, Suda T. Function of oxidative stress in the regulation of hematopoietic stem cell-niche interaction. *Biochem Biophys Res Commun.* 363:578-583: 2007
65. Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Matsuoka S, Miyazaki H, Takahashi T, Suda T: Thrombopoietin/Mpl signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell Stem Cell.* 1:685-697: 2007
66. Fukuda S, Abematsu M, Mori H, Yanagisawa M, Kagawa T, Nakashima K, Yoshimura A, Taga T. Potentiation of astrogliogenesis by STAT3-mediated activation of BMP-Smad signaling in neural stem cells. *Mol. Cell. Biol.* 27:4931-4937: 2007.
67. Inoue T, Kawaji T, Inoue-Mochita M, Taga T, Tanihara H. Media conditioned by retinal pigment epithelial cells suppress the canonical Wnt pathway. *Neurosci. Lett.* 424:190-193: 2007
68. Chiba T, Zheng YW, Kita K, Yokosuka O, Saisho H, Onodera M, Ohkohchi N, Miyoshi H, Nakano M, Nakauchi H, Iwama A, and Taniguchi H. Excessive self-renewal of hepatic stem/progenitor cells drives cancer initiation. *Gastroenterology.* 133: 937-950: 2007
69. Oyama T, Harigaya K, Muradil A, Hozumi K, Habu S, Oguro H, Iwama A, Matsuno K, Sakamoto R, Sato M, Yoshida N, and Kitagawa M. Mastermind-1 is required for Notch signal-dependent steps in lymphocyte development in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 9764-9769: 2007
70. Nobuhisa I, Ohtsu N, Okada N, Nakagata N, and Taga T. Identification of a population of cells with hematopoietic stem cell properties in mouse aorta-gonad-mesonephros cultures. *Exp Cell Res.* 313:965-974: 2007
71. Negishi M, Saraya A, Miyagi S, Nagao K, Inagaki Y, Nishikawa M, Tajima S, Koseki H, Tsuda H, Takasaki Y, Nakauchi H, and Iwama A. Bmi1 cooperates with Dnmt1 associated protein 1 in gene silencing. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 353: 992-998: 2007
72. Kato Y, Koseki H, Vidal M, Nakauchi H, and Iwama A. Unique composition of polycomb repressive complex 1 in hematopoietic stem cells. *Int. J Hematol.* 85: 179-181: 2007

2006年

73. Ito K, Hirao A, Arai F, Takubo K, Matsuoka S, Miyamoto K, Ohmura M, Naka K, Hosokawa K, Ikeda Y, Suda T. Reactive oxygen species act through p38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells. *Nature Med.* 12:446-451: 2006

74. Takubo K, Hirao A, Ohmura M, Azuma M, Arai F, Nagamatsu G, Suda T. Premeiotic germ cell defect in seminiferous tubules of Atm-null testis. *Biochem Biophys Res Commun.* 351:993-1998: 2006
75. Zhao C, Irie N, Takada Y, Shimoda K, Miyamoto T, Nishiwaki T, Ishikawa H, Suda T, Matsuo K. Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis. *Cell Metabolis.* 4: 111-121: 2006
76. Lee SH, Rho J, Jeong D, Sul JY, Kim T, Kim N, Kang JS, Miyamoto T, Suda T, Lee SK, Pignolo RJ, Koczon-Jaremkó B, Lorenzo J, Choi Y. v-ATPase V(0) subunit d2-deficient mice exhibit impaired osteoclast fusion and increased bone formation. *Nat Med.* 12: 1403-1409: 2006
77. Nagamatsu G, Ohmura M, Mizukami T, Hamaguchi I, Hirabayashi S, Yoshida S, Hata Y, Suda T, Ohbo K. A CTX Family Cell Adhesion Molecule, JAM4, Is Expressed in Stem Cell and Progenitor Cell Populations of both Male Germ Cell and Hematopoietic Cell Lineages. *Mol Cell Biol.* 26: 8498-8506: 2006
78. Suganuma K, Tsukada K, Kashiba M, Tsuneshige A, Furukawa T, Kubota T, Goda N, Kitajima M, Yonetani T, Suematsu M. Erythrocytes with T-state-stabilized hemoglobin as a therapeutic tool for postischemic liver dysfunction. *Antioxid Redox Signal.* 8: 1847-1855: 2006
79. Ohtsu N, Nobuhisa I, Mochita M, and Taga T. Inhibitory effects of homeodomain-interacting protein kinase 2 on the aorta-gonad-mesonephros hematopoiesis. *Exp. Cell Rs.* 313:88-97: 2006
80. Takizawa H, Kubo-Akashi C, Nobuhisa I, Sang-Mo Kwon, Iseki M, Taga T, Takatsu K, and Takaki S. Enhanced engraftment of hematopoietic stem/progenitor cells by the transient inhibition of an adaptor protein, Lnk. *Blood.* 107:2968-2975: 2006
81. Oguro H, Iwama A, Morita Y, Kamijo T, van Lohuizen M, and Nakauchi H. Differential impact of *Ink4a* and *Arf* on hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment in *Bmi1*-deficient mice. *J Exp Med.* 203:2247-2253: 2006
82. Yamazaki S, Iwama A, Takayanagi S-I, Etoh K, Ema H, and Nakauchi H. Cytokine signals modulated via lipid rafts mimics niche signals and induce hibernation in hematopoietic stem cells. *EMBO J.* 25: 3515-3523: 2006
83. Chiba T, Kita K, Zheng Y-W, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A, Nakauchi H, and Taniguchi T. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. *Hepatology.* 44:240-251: 2006
84. Abematsu M, Kagawa T, Fukuda S, Inoue T, Takebayashi H, Komiyama S, and Taga T. bFGF endows dorsal telencephalic neural progenitors with ability to differentiate into oligodendrocytes but not GABAergic neurons. *J. Neurosci. Res.* 83:731-743: 2006
85. Takayanagi S, Hiroshima T, Yamazaki S, Nakajima T, Morita Y, Usui J, Eto K, Motohashi T, Shiomi K, Keino-Masu M, Masu M, Oike Y, Mori S, Yoshida N, Iwama A, and Nakauchi H. Genetic marking of hematopoietic stem and endothelial cells: Identification of the *Tmtsp* gene

encoding a novel cell-surface protein with the thrombospondin-1 domain. *Blood*. 107:4317-25:2006

2005年

86. Azuma M, Hirao A, Takubo K, Hamaguchi I, Kitamura T, Suda T. A quantitative matrigel assay for assessing repopulating capacity of prostate stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 338:1164-70. 2005
87. Ishikawa M, Kajimura M, Adachi T, Maruyama K, Makino N, Goda N, Yamaguchi T, Sekizuka E, Suematsu M. Carbon monoxide from heme oxygenase-2 is a tonic regulator against NO-dependent vasodilatation in the adult rat cerebral microcirculation. *Circ. Res.* 97: 104-114: 2005
88. Matsubara A, Iwama A, Yamazaki S, Furuta C, Hirasawa R, Morita Y, Osawa M, Motohashi T, Eto K, Ema H, Kitamura T, Vestweber D, and Nakauchi H. Endomucin, a CD34-like sialomucin, marks hematopoietic stem cells throughout development. *J. Exp. Med.* 202:1483-1492: 2005

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

- 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
- 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
- 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
- 平尾敦: 再生医療の将来と産婦人科 6. がん幹細胞 産科と婦人科巻 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: 平尾敦 寿命制御シグナルと幹細胞, 日本老年医学会雑誌 巻 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
- Naka K, Ohmura M, Hoshii T, Muraguchi T, Hirao A. Molecular bases for self-renewal and differentiation of leukemic stem cells. *Curr. Cancer Therapy Rev.* 4,178-187, 2008
- Naka K, Muraguchi T, Hoshii T, Hirao A. Regulation of reactive oxygen species (ROS) and genetic stability in hematopoietic stem cells. *Antioxidants Redox Signaling.* 10, 1883-1894, 2008
- 平尾敦 組織幹細胞の老化 細胞工学 27, 890-93, 2008
- 平尾敦 造血幹細胞プールの維持と老化・寿命制御 血液フロンティア 18:27-32, 2008
- 平尾敦 幹細胞と老化・寿命制御シグナル 血管医学 9:21-6, 2008
- 平尾敦 幹細胞と癌 細胞 *The Cell* 40:2, 2008
- 平尾敦 ステムセルとエイジング *AGING MEDICINE* 4:212-5, 2008
- 平尾敦 造血幹細胞と酸化ストレス *AGING MEDICINE* 4:372-4, 2008
- 仲 一仁, 平尾 敦 がん幹細胞のシグナル伝達制御機構, 医学のあゆみ, 227: 57-61, 2008
- 仲 一仁, 平尾 敦 がん幹細胞のシグナル伝達制御機構, 血液・腫瘍科, 56:661-667, 2008
- 仲 一仁, 平尾 敦 細胞 造血幹細胞の自己複製と白血病化の分子機構, マウスモデルを中心に. 細胞, 40:98-101, 2008
- 仲 一仁, 平尾 敦 がん幹細胞, がん幹細胞マーカーと分子標的, 癌の分子標的治療, 南山堂, 256-261, 2008
- 村口輝行, 平尾敦 がん幹細胞の生物学 63:2356-62, 2008
- 星居孝之, 平尾敦 「mTOR」分子細胞治療 7:460-462, 2008
- Naka K, Ohmura M, and Hirao A. Regulation of the self-renewal ability of tissue stem cells by tumor-related genes. *Cancer Biomarkers* 3: 193-201, 2007
- 平尾敦 活性酸素-p38MAPK による造血幹細胞寿命制御 *メディカルサイエンスダイジェスト* 33:4-5, 2007
- 平尾敦 造血幹細胞プールと酸化ストレス 再生医療 6:49-53, 2007
- 平尾敦 がん幹細胞の同定と制御メカニズム *Surgery Frontier* 14:82-84, 2007

- 平尾敦 造血幹細胞と老化 分子細胞治療 6:311-316, 2007
 仲一仁、星居孝之、平尾敦 PI3K-AKT/PKB シグナル伝達経路による幹細胞制御と発がん 分子細胞治療 6:422-427, 2007
 平尾敦 幹細胞制御と発癌 医学のあゆみ 219:177-8, 2006
 平尾敦 癌幹細胞の実体に迫る 実験医学 24:2965-70, 2006
 平尾敦 活性酸素と造血幹細胞 血液腫瘍科 52:665-9, 2006
 平尾敦 組織幹細胞自己複製制御機構の解明 十全医学会雑誌 115:56-7, 2006
 平尾敦 造血幹細胞自己複製制御機構の解明 臨床血液 47:379-82, 2006

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

①招待講演 (国内会議 64 件、国際会議 51 件)

2010 年

1. 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、東京、平成 22 年 8 月 6 日
2. 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
3. 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、東京、平成 22 年 7 月 8 日
4. 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、金沢、平成 22 年 6 月 16 日
5. 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、京都、平成 22 年 6 月 11 日
6. 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、広島、平成 22 年 3 月 19 日
7. Hirao A: Regulation of hematopoietic stem cell homeostasis and leukemia. AACR/JCA 8th Joint Conference: Cancer Genomics, Epigenomics, and the Development of Novel Therapeutics, Hawaii, Feb 7, 2010
8. Suda T: Hematopoietic stem cells in the hypoxic niche. EMBL Conference Stem Cells, Tissue Homeostasis and Cancer, May 12-15, 2010, Heidelberg, Germany
9. Suda T: Regulation of stem cells in hypoxic niche. International conference on: Hematopoiesis in Health and Disease, May 15-17, 2010, Lund, Sweden
10. Suda T and Takubo K: Hematopoietic stem cells in hypoxic niche. 18th Wilsede Meeting, Modern Trends in Human Leukemia and Cancer, June 19-23, 2010, Luenenburg, Germany
11. Suda T and Naganatsu G: In vitro acquisition of pluripotency in primordial germ cells. 3rd Waddensymposium, Stem Cell Renewal, June 27-30, 2010, Texel, Netherland
12. Suda T: Hematopoietic stem cell in hypoxic niche. Keystone Symposia, Hypoxia: Molecular Mechanisms of Oxygen Sensing and Response Pathways (B1), Jan 19-24, 2010 Keystone
13. Suda T: Niche regulation for cancer stem cells. American Association for Cancer Research, Feb 5-9, 2010, Hawaii
14. Suda T: Hematopoietic stem cell and niche. Keystone Symposia, Stem Cell Differentiation and Dedifferentiation (B4), Feb 15-20, 2010, Keystone
15. Iwama A. Unexpected role for the polycomb gene Bmi1 in lymphoid commitment. The 4th Chiba University Global COE Symposium. "Regulation of Immune Disorders" August 20, 2010, Chiba
16. Iwama A. Regulation of normal and cancer stem cell self-renewal by the polycomb complexes. The 1st Chiba-Uppsala Academia Joint Workshop "Inflammation/Immunity and Cancer" Feb 19, 2010, Chiba
17. Taga T: Regulation of neural stem cell self-renewal by transcriptional regulatory networks. Academia Sinica-Kumamoto University joint Conference on Organogenesis BIC Auditorium, Institute of Biomedical Sciences, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, April 8-9, 2010

18. 田賀哲也、鹿川哲史、梶康一、備前典久:神経幹細胞の自己複製機構の考察による癌幹細胞へのアプローチ 第19回日本癌病態治療研究会 東京都 2010年6月30日-7月1日
19. 田賀哲也:神経幹細胞の自己複製機構の考察による癌幹細胞へのアプローチ 第80回発生工学・疾患モデル研究会「神経幹細胞研究と癌幹細胞制御に向けたアプローチ」 東京都 2010年3月9日

2009年

20. 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
21. 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
22. 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、平成21年7月11日
23. 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
24. Hirao A: Roles of FoxO3a in normal hematopoiesis and leukemia. The 8th Japan-China Joint Conference for Cancer Research, Osaka, Oct 5, 2009
25. 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
26. Hirao A: Roles of forkhead transcription factor FoxO3a in normal hematopoiesis and leukemia. USA-Japan Cooperative Cancer Workshop "Stem Cells in Normal and Malignant Hematopoiesis". Hawaii, March 27-29, 2009
27. 平尾 敦:造血幹細胞制御と白血病、第8回日本再生医療学会総会、東京、平成21年3月5日
28. 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
29. Suda T: Quiescent stem cells in the niche. Symposium on Molecular Mechanisms of Adult Stem Cell Aging, Reisenburg, May 22-24, 2009
30. Suda T: Stem Cells and Cancer Stem Cells. TERMS World Congress 2009 in Conjunction with 2009 Seoul Stem Cell Symposium, Seoul, Aug 31-Sep 3, 2009
31. Suda T: Hematopoietic Stem Cell Niches. The 26th Naito Conference, Awaji, Nov4-7, 2009
32. Suda T: Hematopoietic stem cells and their niche 6th Korean Society of Hematology AML/MDS Working Party Symposium 3rd Korea-Japan Joint Symposium on Molecular Targets and AML/MDS Therapeutics Seoul, March 14, 2009
33. Suda T: HSC niche Quiescence of hematopoietic stem cells. USA-Japan Cooperative Cancer Workshop "Stem Cells in Normal and Malignant Hematopoiesis" Hawaii, March 27-29, 2009
34. Taga T: Coordinate regulation of stem cell growth and differentiation by transcriptional regulatory networks, 2009 Cancer Stem Cell Symposium "Stem cells and novel hallmarks of carcinogenesis for the management of cancer", Seoul, Korea, November 9-10, 2009
35. Taga T: Signaling pathways governing maintenance and fate decision of neural stem cells, Symposium "Molecular and cellular basis for neurogenesis and circuit formation", The 42nd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists, Niigata, May 31, 2009
36. 田賀哲也:神経幹細胞の増殖能と多分化能の分子基盤から癌幹細胞を探る 千里ライフサイエンスセミナー「臨床に繋がる癌幹細胞研究」大阪府 2009年8月25日
37. 岩間厚志「新規標的分子としてのポリコーム複合体」第71回日本血液学会シンポジウム「癌分子標的療法の新展開」10月23日～25日, 2009 京都
38. 岩間厚志「癌幹細胞のエピジェネティクスとポリコーム遺伝子」第68回日本癌学会学術総会シンポジウム「がん幹細胞の生物学的特性の理解と治療」10月, 2009 横浜
39. 岩間厚志「癌幹細胞のエピジェネティクスとポリコーム遺伝子の機能」千里ライフサイエンスセミナー「臨床に繋がる癌幹細胞研究」8月, 2009, 大阪

2008年

40. Hirao A: Effects of aging- or senescence-related factors on stem cell function and tissue homeostasis in vivo. BMB2008(第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会)、神戸、平成20年12月10日
41. 平尾敦:正常および腫瘍組織における幹細胞システム、第45回日本婦人科腫瘍学会学術集会、金沢、平成20年11月22日
42. Hirao A: Stemness in normal and malignant tissues. 第67回日本癌学会学術集会 名古屋、平成20年10月27日
43. Hirao A: Stemness in normal and malignant tissues. 36th Congress of the International Society of Oncology & BioMarkers. Tokyo, Oct. 7, 2008
44. Hirao A: Stemness in normal and malignant tissues. Mechanisms of Early Differentiation, Summer School, Barsinghausen, Germany, September 1-5, 2008
45. Hirao A: Stemness in normal and malignant tissues. The third International workshop on Cell Regulations in Division and Arrest, Okinawa, April 9, 2008
46. 須田年生: Quiescence of hematopoietic stem cells 第41回日発生生物学会 平成20年5月28日-30日 徳島
47. Suda T: Quiescent stem cells in the niche. 6th International Society for Stem Cell Research (ISSCR) Annual Meeting 2008, Philadelphia, June 11-14, 2008
48. 須田年生: 幹細胞とがん幹細胞の比較<特別講演> 第12回日本がん分子標的治療研究会総会 平成20年6月26日-27日 東京
49. Suda T: Quiescent hematopoietic stem cells in hypoxic niche. Summer School 2008- Stem Cell Research, Mechanisms of early differentiation, Barsinghausen, Germany, September 1-5, 2008
50. Suda T: Hematopoietic stem cell in the hypoxic niche. Taiwan Society for Stem Cell Research (TSSCR), International Symposia on Stem Cells, Epigenetics and Development, Taipei, September 27-28, 2008
51. Suda T: Quiescent hematopoietic stem cell in the niche. The 32nd World Congress of the International Society of Hematology, Bangkok, October 19-23, 2008
52. 須田年生: 造血幹細胞の静止期性 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 平成20年12月9日-12日 神戸
53. Taga T: Cell-fate determination in the developing mouse central nervous system. Edinburgh-CDB Joint Meeting, Kobe, April, 14-15, 2008.
54. 田賀哲也: Cross-interactions among growth and differentiation signaling pathways in neural stem cells、第31回日本神経科学大会、東京国際フォーラム、2008年7月9-11日
55. Iwama A: A Role of the polycomb group gene Bmi1 in normal hematopoiesis and leukemia. Professor Tomonaga Commemorative Symposium—Biology and Clinical Implications of Epigenetics in Leukemia and MDS, Nagoya, 2008
56. 岩間厚志: ポリコム複合体による幹細胞機能のエピジェネティック制御、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会シンポジウム「翻訳後修飾系によるクロマチンの動態制御」(神戸)平成20年12月
57. 岩間厚志: Unexpected role for the polycomb gene Bmi1 in lymphocyte commitment、第38回日本免疫学会総会シンポジウム「Immune development」、京都、平成20年12月
58. 岩間厚志: 癌幹細胞システムと癌治療、第27回日本口腔腫瘍学会総会教育講演、宇都宮、平成21年1月29日

2007年

59. 平尾 敦: Stemness genes in cancer. 第66回日本癌学会学術総会 横浜 平成19年10月3日
60. 平尾 敦: 造血幹細胞の自己複製と老化 第69回日本血液学会総会 横浜 平成19年10月7日
61. 平尾 敦: 幹細胞制御における組織間共通性 第10回日本組織工学会 東京 平成19年11月8日

62. Hirao A: Regulation of stem cell self-renewal by aging related genes. The second International workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. Okinawa, Mar. 25-29, 2007
63. Suda T: Niche regulation of quiescent hematopoietic stem cells. The 5th Catholic International Stem Cell Symposium -Cutting Edges & Workshop. Seoul, Jun.1, 2007
64. Suda T: Quiescent stem cells regulated by niche cells. Kyoto University 21st Century COE Symposium –Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine. Kyoto, Jun.29 -30, 2007
65. Suda T: Aging and dysfunction of quiescent hematopoietic stem cells. RUNX Meeting 2007. Singapore, Aug. 20-22, 2007
66. Suda T: Quiescence of hematopoietic stem cells regulation by ROS. 36th Annual Scientific Meeting of International Society for Experimental Hematology. Hamburg, Sep. 28-30, 2007
67. 須田年生:「幹細胞とがん幹細胞」第 66 回日本癌学会学術総会<特別講演> 平成 19 年 10 月 3-5 日
68. Suda T: Aging and dysfunction of quiescent hematopoietic stem cells. The 48th Korean Society of Hematology Meeting. Busan, Nov.2-3, 2007
69. Suda T: Hematopoietic stem cells and the endosteal niche. 2007 Shanghai International Symposium on Stem Cell Research. Shanghai, Nov. 6-9, 2007
70. Suda T: Oxygen, ROS and stem cells. The 1st Pacific Meeting for Angiogenesis and Lymphangiogenesis, Jeju, Nov. 11-13, 2007
71. Suda T: Oxygen, ROS and stem cells. The 1st International Cell Therapy Conference. Soeul, Nov.15, 2007
72. Suda T: Niche for stem cells. 7th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association. Hawaii, Jan 21-25, 2007
73. Suda T: Molecular interactions at the bone: stem cell interface. Keystone Symposia, Stem Cell Interactions with their Microenvironmental Niche(X1) 2007. Keystone, Mar. 2-7, 2007
74. Suda T: Niche regulation of hematopoietic stem cells by ROS. Gordon Research Conferences on Oxidative Stress and Disease. Ventura, Mar. 11-16, 2007
75. Taga T: Molecular Basis for cell-fate determination in the developing mouse brain. Neurogenesis 2007. Tokyo, May 15-16, 2007
76. 福田信治、清水健史、井上俊洋、鹿川哲史、田賀哲也: Molecular basis for cell-fate determination in the developing mouse brain. (シンポジウム)第 40 回日本発生生物学会第 59 回日本細胞生物学会合同大会 福岡 平成 19 年 5 月 28-30 日
77. 田賀哲也: 神経幹細胞の増殖分化を制御するサイトカインシグナルネットワークから癌の細胞特性を探る 第 3 回北海道癌免疫制御研究会 (招待講演) 札幌 平成 19 年 6 月 16 日
78. 田賀哲也: 細胞内は社会の縮図ー神経幹細胞の運命を左右するシグナル経路間の駆け引き 第 2 回「認識と形成」研究会 (特別講演) 熊本 平成 19 年 8 月 25 日
79. 田賀哲也: 細胞内信号伝達経路群の相互作用による神経幹細胞の運命付け 秋田大学・群馬大学連携グローバル COE プログラム「生体調節シグナルの統合的研究」第 2 回合同シンポジウム (招聘講演) 秋田 平成 19 年 11 月 2 日
80. Iwama A; Regulation of stem cell self-renewal by a polycomb gene product Bmi1. USA-Japan Cooperative Cancer Research Program “Animal models of hematological malignancies”. Kauai, Mar. 19, 2007
81. Iwama A: Role of the polycomb group gene Bmi1 in cancer stem cells. The 11th German-Japanese cancer workshop. Kyoto, Nov.29-Dec.1, 2007
82. 岩間厚志: ポリコム遺伝子 Bmi1 による組織幹細胞と癌幹細胞の自己複製制御第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会シンポジウム 横浜平成 19 年 12 月 11-15 日
83. 岩間厚志: Self-renewing machineries operating in both hematopoietic and leukemic stem cells 第 69 回日本血液学会総会 横浜 平成 19 年 10 月 7 日
84. 岩間厚志: ポリコム遺伝子産物 Bmi1 による組織幹細胞の自己複製制御、第 28 回日本炎症・再生医学会ワークショップ「Epigenetic Control of Stem Cells」東京 平成 19 年 8 月 2-3 日

2006年

85. 平尾 敦: 幹細胞自己複製制御と老化・寿命制御の共通性 老年医学会総会 金沢 平成 18年6月8日
86. Hirao A: ROS regulation and self-renewal capacity. International Symposium on Gas Biology. Hematopoietic stem cells. Tokyo, Jun. 27, 2006
87. Hirao A: Regulation of stem cell self-renewal by aging-related genes. 35th Annual Scientific Meeting International Society for Experimental Hematology. Minneapolis, Minnesota, Sep. 29, 2006,
88. Hirao A: Regulation of stem cell self-renewal by tumor related genes. Sixteenth International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar. Hiroshima, Oct. 22, 2006
89. Hirao A: Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells [II] The 19th Naito Conference. Kanagawa, Nov. 15, 2006
90. Suda T: Stem cell self renewal and the bone marrow niche. European Hematology Association 11th Congress. Amsterdam, Jun. 15-18, 2006
91. Suda T: Quiescent stem cells in the niche. 4th ISSCR Annual Meeting. Toronto, Jun. 29-Jul.1, 2006
92. 須田年生: 骨芽細胞ニッチと造血幹細胞 第24回日本骨代謝学会 東京 平成18年7月5-8日
93. Suda T: Niche regulation of quiescent stem cells by ROS. ASCB 2006 Summer Meeting. Stem Cell Niches. Boston, Jul. 15-18, 2006
94. Suda T: Niche regulation of stem cells by reactive oxygen species. 20th Anniversary Symposium of the Finnish Cancer Institute. Helsinki, Aug. 31-Sep.1, 2006
95. 須田年生: 造血幹細胞とニッチ 第68回日本血液学会総会・第48回日本臨床血液学会総会 <教育講演> 福岡 平成18年10月7-9日
96. Suda T: Regulation of hematopoietic stem cells by the niche 2006 Trilateral stem cell meeting. Paris, Jan 11-13. 2006
97. Suda T: Tools for identifying stem cell / niche cell interactions in the mouse. AACR Workshop on Cancer Stem Cells. Lansdowne, Feb. 1-4, 2006
98. Taga, T: Molecular Basis for cell-fate determination in the developing mouse brain. International Seminar on Developmental Neurobiology. Xi'an (China), Nov.3-6, 2006
99. 田賀哲也: 癌細胞制御機構を探るための正常組織幹細胞の増殖能と多分化能の理解 第65回日本癌学会 モーニングレクチャー 横浜 平成18年9月28-30日
100. 田賀哲也: 組織幹細胞と癌幹細胞の接点から癌細胞制御を探る 第44回日本癌治療学会総会 教育講演 東京 平成18年10月18-20日
101. 田賀哲也: 正常組織幹細胞の増殖能と多分化能の理解から癌細胞の制御機構を探る 第95回日本病理学会総会 東京 平成18年5月2日
102. 田賀哲也: 神経幹細胞の増殖と分化を連携制御するサイトカインシグナル群の相互作用 北海道大学 遺伝子病制御研究所セミナー 札幌 平成18年8月25日
103. 田賀哲也 福田信治: IL-6 ファミリーサイトカインの受容体に共有される膜蛋白質 gp130 の神経系における機能とその分子メカニズム 第10回 Molecular Cardiovascular Conference 北海道 平成18年9月8-10日
104. 岩間厚志: ポリコム複合体による幹細胞の自己複製制御 日本分子生物学会2006フォーラム クロマチンと高次生命現象の接点を探る 名古屋 平成18年
105. 岩間厚志: 幹細胞システムの成り立ちとその分子基盤—正常および癌幹細胞システムについて 第33回日本臓器保存生物学会総会 東京 平成18年
106. 岩間厚志: ポリコム遺伝子 Bmi-1 による造血幹細胞の自己複製制御 第51回人類遺伝学会シンポジウム「血液疾患の遺伝学」 鳥取 平成18年
107. 岩間厚志: がん幹細胞の自己複製メカニズム 第27回日本炎症・再生医学会ワークショップ がん幹細胞とSP細胞 東京 平成18年
108. 岩間厚志: 白血病幹細胞の自己複製メカニズム 第95回日本病理学会総会シンポジウム 幹細胞システムと発癌 東京 平成18年

2005年

109. 平尾 敦: 老化制御からみた幹細胞自己複製制御機構 第 28 回日本分子生物学会年会 福岡 平成 17 年 12 月 7-10 日
110. 岩間厚志: 教育講演「幹細胞システムの成り立ちとその分子基盤」第 14 回形成外科学会基礎学術集会 東京 平成 17 年度 10 月 14-15 日
111. 須田年生: 造血幹細胞のニッチ 第 51 回日本病理学会秋期特別総会 シンポジウム 東京 平成 17 年 11 月 17 日
112. Taga T: Molecular basis for cell-fate determination in the developing mouse brain. Korean Society for Molecular and Cellular Biology. Seoul, Oct.17-18, 2005
113. Taga T: Regulation of Neural stem cells. International Workshop on Bioelectrics. Kumamoto, Nov.12, 2005.
114. Suda T: Regulation of hematopoietic stem cells in the niche. Boehringer Ingelheim Fonds International Titisee Conferences. Titisee, Germany, Oct 19-23, 2005
115. Suda T: Exhaustion of hematopoietic stem cells by reactive oxygen species through p38MAPK. The 7th KOREA-JAPAN cancer and aging symposium. Muju ,Korea, Nov 3-5, 2005

②口頭発表 (国内会議 58 件、国際会議 10 件)

2010年

1. 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
2. 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, 2010.6.16-17. 金沢市
3. 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, 2010.6.30-7.1. 東京
4. Miyagi S, Kitabayashi I, Ichikawa H, and Iwama A. Co-repressor TIF1b is an essential regulator of hematopoietic stem cells. The 8th Stem Cell research Symposium. May 13-15 2010, Awaji, Hyogo
5. Iwama A. Brd1/Brpf2 is a core component of the Hbo1 HAT complex and regulates fetal liver erythropoiesis. The 17th international Runx workshop. July 11-14, 2010 Hiroshima
6. Miyagi S, Mishima Y, Saraya A, Negishi M, Endoh M, Kitabayashi I, Koseki H, and Iwama A. Brd1/Brpf2 is a core component of the Hbo1 HAT complex and regulates fetal liver erythropoiesis. The 1st Japanese Society of Hematology International Symposium. July 16-17, 2010, Akita
7. 榊康一、田賀哲也: C6 グリオーマ細胞株において MP は SP の維持に寄与する 第 69 回日本癌学会学術総会 大阪府 2010 年 9 月 22-24 日

2009年

8. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Motoyama N, Hirao A, Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第 68 回日本癌学会, 横浜、2009 年 10 月 1-3 日
9. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Motoyama N, Hirao A, Foxo3a is essential for maintenance of chronic myelogenous leukemia-initiating cells. 第 71 回日本血液学会総会、京都、2009 年 10 月 23-25 日
10. 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、2009 年 10 月 2 日

11. Kagawa T, Shimizu T, and Taga T: Studies on FGF2 Signaling in Neural Precursor Cells. Myelin Development, Function and Related Diseases: 9th Biennial Satellite Meeting of International Society for Neurochemistry on Myelin Biology. Gyeongju, Korea, August 19-23, 2009
12. Ramadan A, Nobuhisa I, Yamasaki S, and Taga T: Characterization of cells that have hematopoietic activity in the placenta of mouse embryo. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology. Osaka, December 2, 2009
13. 備前典久、井上俊洋、清水健史、鹿川哲史、田賀哲也: 神経幹細胞画分における細胞周期調節因子 cyclin D1 は細胞周期調節非依存的にアストロサイト分化を阻害する 第 52 回日本神経化学学会大会 群馬県 2009 年 6 月 21-24 日
14. 鹿川哲史、田賀哲也 中枢神経系グリア細胞亜集団の細胞系譜解析 第 52 回日本神経化学学会大会 群馬県 2009 年 6 月 24 日
15. 菅原武明、守田陽平、小黒秀行、岩間厚志 (2009)「TET ファミリー癌遺伝子 Fus は造血幹細胞の維持に必須である」第 71 回日本血液学会学術集会 (国立京都国際会館) 10 月 23 日～25 日
16. Taito Nishino, Katsuaki Miyaji, Norihisa Ishiwata, Makiko Yui, Yasuyuki Asai, Hiromitsu Nakauchi, Atsushi Iwama [A new approach for ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by a small-molecule agonist of MPL] 第 71 回日本血液学会学術集会 (国立京都国際会館) 10 月 23 日～25 日, 2009
17. 宮城 聡、三嶋雄太、更屋敦則、根岸正充、古関明彦、北林一生、岩間厚志 (2009)「Brd1 (Bromodomain-containing protein1) –HBO1 複合体による赤血球分化制御」第 71 回日本血液学会学術集会 (国立京都国際会館) 10 月 23 日～25 日, 2009
18. 青木竜之介、千葉哲博、横須賀收、岩間厚志「肝幹/前駆細胞におけるポリコム群遺伝子 Ezh2 の機能解析」第 16 回肝細胞研究会 6/26-27, 2009 山形,
19. 千葉哲博、岩間厚志「肝臓における正常幹細胞および癌幹細胞の制御機構」第 17 回日本消化器関連学会週間 (JDDW2009)10/14-17 (京都), 2009
20. 千葉哲博、青木竜太郎、横須賀收、岩間厚志 第 68 回日本癌学会総会 Regulatory machinery of Bmi1 in normal and cancer stem cells in liver」10/1-3、横浜, 2009
21. Nishino T, Miyaji K, Ishiwata N, Arai K, Yui M, Asai Y, Nakauchi H, and Iwama A. Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells by a small-molecule agonist of c-MPL. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8, 2009, New Orleans, USA
22. Iwama A, Poised lineage specification in multipotential hematopoietic stem and progenitor cells by the polycomb protein Bmi1. International Society of Experimental Hematology 38th Annual Scientific Meeting. , Athene, Greek, September 9-12, 2009.

2008 年

23. Naka K, Ohmura M, Muraguchi T, Hoshii T, Hirao A, Prospective identification of leukemic stem cells by promoter activity of nucleostemin gene. 6th International Society of Stem Cell Research, Philadelphia, PA, USA Jun. 11-14th 2008,
24. 仲 一仁, 大村昌子, 石原正彦, 宮地宏昌, 須田年生, 平尾 敦: Nucleostemin プロモーター活性による白血病幹細胞の同定 第 67 回日本癌学会学術集会 名古屋、平成 20 年 10 月 27 日
25. 仲 一仁, 大村昌子, 村口輝行, 星居孝之, 平尾 敦: Nucleostemin-GFP レポーターシステムによる白血病幹細胞の同定, 第 6 回幹細胞シンポジウム, 平成 20 年 5.16-17, 東京
26. 仲 一仁, 大村昌子, 村口輝行, 星居孝之, 須田年生, 平尾 敦: Nucleostemin-GFP レポーター

- ターシステムによる白血病幹細胞の同定, 第 70 回日本血液学会総会, 平成 20 年 10.10-12, 京都
27. 末松 誠、田島 敏秀、Randall Johnson、合田 亘人: HIF-1 is necessary for coordinated control of gluconeogenesis during liver regeneration BMB2008 シンポジウム 平成 20 年 12 月 9-12 日 神戸
 28. Kubota Y: Protein zero (P0) marks angioblasts in Notch-dependent vasculogenesis in postnatal retinal vascular development. ESH 8th Euro Conference on ANGIOGENESIS, Paris, May 9-12, 2008
 29. 備前典久、井上俊洋、清水健史、鹿川哲史、田賀哲也: 神経幹細胞画分における細胞周期調節因子 cyclin D1 はアストロサイト分化を阻害する、第 51 回日本神経化学会大会、富山国際会議場、平成 20 年 9 月 11-13 日
 30. 千葉哲博、宮城聡、関厚佳、横須賀収、岩間厚志: 肝臓における癌幹細胞システムの成立・維持機構の解明 (Molecular machinery in the establishment and maintenance of liver cancer stem cell system) 第 67 回日本癌学会学術総会 (名古屋国際会議場) 平成 20 年 10 月 28 日 - 30 日
 31. 千葉哲博、横須賀 収、岩間厚志: 肝臓における癌幹細胞システムの成立・維持メカニズム、第 12 回日本肝臓学会大会、東京、平成 20 年 10 月 1 日 - 3 日
 32. 袁 進、岩間厚志: 前駆細胞が癌幹細胞化する過程における自己複製制御分子 Bmil の機能 (Role of Bmil in leukemogenesis) 第 70 回日本血液学会総会、京都、平成 20 年 10 月 10 日 - 12 日
 33. 菅原武明、岩間厚志: Fus 欠損マウスにおける造血幹細胞の骨髄再構築能の障害 (Impaired Repopulating Activity of Fus-deficient Hematopoietic Stem Cells) 第 70 回日本血液学会総会、京都、平成 20 年 10 月 10 日 - 12 日
 34. 小黒秀行、中内啓光、岩間厚志: ポリコム群遺伝子 Bmil による造血幹細胞の運命決定制御 (Bmil regulates cell-fate decision of hematopoietic stem cells) 第 70 回日本血液学会総会、京都、平成 20 年 10 月 10 日 - 12 日
 35. 宮城聡、三嶋雄太、根岸正充、更屋敦則、古関明彦、岩間厚志: 新規クロマチン制御分子 Brd1 欠損マウスにおける胎仔肝造血異常、第 6 回幹細胞シンポジウム、東京、平成 20 年 5 月 16 日 - 17 日
 36. 関厚佳、千葉哲博、宮城聡、中内啓光、横須賀収、岩間厚志: ポリコム遺伝子産物 BMI1 は肝臓の癌幹細胞の維持に必須である、第 44 回肝臓学会総会、愛媛、平成 20 年 6 月 5 日 - 6 日

2007 年

37. 大村昌子、仲 一仁、木下雅史、玉 瀬玲、新井文用、永松 剛、田久保圭誉、照田展大、須田年生、平尾 敦: Nucleostemin の発現による組織幹細胞の可視化と同定 第 5 回幹細胞シンポジウム 淡路島 平成 19 年 5 月 17-19 日
38. 細川健太郎、新井文用、吉原宏樹、田久保圭誉、須田年生: 骨芽細胞ニッチ-造血幹細胞の相互作用における N-cadherin/ β -catenin の機能 第 5 回幹細胞シンポジウム 淡路島 平成 19 年 5 月 17-19 日
39. 田久保圭誉、平尾敦、合田亘人、新井文用、細川健太郎、吉原宏樹、Randall Johnson, 末松誠、須田年生: HIF-1a を介した骨髄低酸素環境における造血幹細胞の静止期維持 第 67 回日本血液学会総会、横浜、平成 19 年 10 月 11-13 日
40. Kubota Y, Suda T: Leukemia inhibitory factor negatively regulates VEGF expression in an oxygen-independent manner. The 1st Pacific Meeting for Angiogenesis and Lymphangiogenesis. Jeju, Nov. 11-13, 2007
41. 合田 亘人 他: Roles of HIF-1a in T cell-mediated inflammatory responses. 第 32 回日本微小循環学会 京都 平成 19 年 2 月 24 日
42. 合田 亘人、末松 誠: In vivo ヒト代謝システム生物学の創生と医学応用 第 2 回メタボローム

シンポジウム 東京 平成 19 年 11 月 5 日

43. Taga T: Cross-regulatory omteractions among Growth and Differentiation Signals in Neural Stem Cells:A Hint for Cancer Cell Growth Regulation. Capri Science Conference. Cancer Therapeutics The Road Ahead, Italy, Oct. 8-10, 2007
44. 清水健史、鹿川哲史、井上俊洋、高田慎治、田賀哲也: 神経前駆細胞の分裂と分化のシグナル連鎖 第 40 回日本発生生物学会 第 59 回日本細胞生物学会合同大会 福岡 平成 19 年 5 月 28-30 日
45. 清水健史、鹿川哲史、井上俊洋、高田慎治、田賀哲也: 神経前駆細胞の分裂と分化のシグナル連鎖 Neuro2007 横浜 平成 19 年 9 月 1-120 日
46. 鹿川哲史、吉永豊、清水健史、井上俊洋、高田慎治、田賀哲也: Wnt3a シグナリングによる海馬前駆細胞の細胞周期調節 Neuro2007 横浜 平成 19 年 9 月 10-12 日
47. 信久幾夫、山崎奨太郎、Gomaa Ahmed、田賀哲也: Identification of a population of cells having hematopoietic activity in the aorta-gonad-mesonephros region. 第 37 回日本免疫学会総会学術集会 東京 平成 19 年 11 月 20-22 日
48. Tanaka H, Takeuchi M, Oda K, Abe D, Ohwada C, Ozawa S, Sakaide E, Shimizu N, Cho R, Nishimura M, Saito Y, Miyagi S, Iwama A, Nakaseko C: Identification of a novel TEL-Lyn fusion gene in chronic eosinophilic leukemia with ins (12;8)(p13;q11q21): effect on myeloproliferative transformation and induction of myelofibrosis. American Society of Hematology 49th Annual Meeting. Orlando, USA, Dec. 8-11, 2007
49. 小山敏尚、針ヶ谷健一、穂積勝人、垣生園子、小黒秀行、岩間厚志、松野健治、坂本怜子、佐藤充治、吉田進昭、北川元生: Mastermind-1 は、リンパ球発生における Notch シグナル依存性ステップ遂行にとって必須である。第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会合同大会 横浜 平成 19 年 12 月 11-15 日
50. 根岸正充、岩間厚志: DNA 損傷修復応答における NuA4 複合体構成因子 Dmap1 の役割 第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会合同大会 横浜 平成 19 年 12 月 11-15 日
51. Chiba T, Miyagi S, Aoki R, Seki A, Yokosaka O, Taniguchi H, Nakauchi H, Iwama A: The polycomb gene product Bmi1 is essential for the tumor-initiating capability in hepatocellular carcinoma cells. 第 66 回日本癌学会学術総会 横浜 平成 19 年 10 月 3-5 日
52. 田中宏明、武内正博、小田佳世、堺田恵美子、阿部大二郎、三村尚也、大和田千佳子、小澤真一、清水直美、趙龍桓、西村美樹、宮城聡、岩間厚志、齋藤康、中瀬古知昭: ins(12;8)(p13;q1 1q21)を有する慢性好酸球性白血病から新規に同定した TEL-LYN 融合遺伝子異常 第 69 回日本血液学会 第 49 回日本臨床血液学会合同総会 横浜 平成 19 年 10 月 11-13 日
53. 武内正博、中瀬古知昭、竹田勇輔、田中宏明、小澤真一、大和田千佳子、堺田恵美子、増田真一、趙龍桓、西村美樹、宮城聡、深澤元晴、齋藤康、岩間厚志: 寛解時に非白血病芽球のクローン性増殖を認めた AML から新規に同定した 2 種の MLL-ELL variants 第 69 回日本血液学会 第 49 回日本臨床血液学会合同総会 横浜 平成 19 年 10 月 11-13 日
54. 塚田 孝介 他: Hypoxia Inducible Factor-1 is a determinant of oxygen consumption in hepatic microcirculation. 第 32 回日本微小循環学会 京都 平成 19 年 2 月 24 日

2006 年

55. 大村昌子、新井文用、仲 一仁、田久保圭誉、東 真樹、須田年生、平尾 敦: 核小体分子 Nucleostemin による生殖幹細胞制御機構 第 4 回幹細胞シンポジウム 東京 平成 18 年 5 月 20 日
56. 大村昌子、仲一仁、新井文用、木下雅史、玉瀬玲、松岡佐保子、伊藤圭介、宮本佳奈、田久保圭誉、須田年生、平尾敦: 組織幹細胞マーキング法の開発 第 68 回日本血液学会 福岡 平成 18 年 10 月 8 日
57. Iwama A, Iwamori N, Nakauchi H: Bmi-1 cooperates with the GDNF-PLZF signaling pathway in maintenance of self-renewing spermatogonial stem cells. . International Society for Stem

Cell Research 4th ISSCR Annual Meeting. Toronto, Canada, Jun.2006

58. 市川仁、道下正貴、岩間厚志: AML1 (RUNX1)-MTG8 (ETO)と CBFb-MYH11 による造血細胞の幹細胞性の亢進と HOXB2 の関与 第 65 回日本癌学会学術総会 横浜 平成 18 年 9 月
59. 千葉哲博、喜多かおる、鄭允文、横須賀収、岩間厚志、谷口英樹: 肝幹/前駆細胞の自己複製機構と癌化過程の関連性の検証 第 65 回日本癌学会学術総会 横浜 平成 18 年 9 月
60. 小黒秀行、中内啓光、岩間厚志: ポリコム遺伝子 Bmi1 による造血幹細胞の自己複製制御 第 68 回日本血液学会総会 福岡 平成 18 年
61. 波平昌一、神山淳、田賀哲也、中島欽一: 未成熟ニューロンが誘導する胎生中期神経幹細胞のアストロサイト分化能獲得機構 日本分子生物学会 2006 フォーラム 名古屋 平成 18 年 12 月 6-8 日
62. 鹿川哲史、清水健史、田賀哲也: 細胞分裂と神経分化のシグナル連鎖 第 12 回グリアクラブ研究会 北海道 平成 18 年 2 月 19-21 日、
63. 鹿川哲史、清水健史、井上俊洋、吉永豊、田賀哲也: A Molecular basis of transition from proliferating precursor cells to differentiating neurons. 第 28 回日本生物学的精神医学会 第 36 回日本神経精神薬理学会 第 49 回日本神経化学会大会合同年会 名古屋 平成 18 年 9 月 14-16 日
64. 梶村 真弓: Carbon monoxide suppresses NO generation in cultured porcine aortic endothelial cells 第 31 回日本微小循環学会 東京 平成 18 年 2 月 10 日
65. 田島 敏秀: Delayed onset of hepatocyte proliferative response after partial hepatectomy in HIF-1a-deficient mice 第 31 回日本微小循環学会 東京 平成 18 年 2 月 11 日
66. 西銘 千代子: Intravital observation of tumor microcirculation derived from human cancer cells in superimmunodeficient NOG mice 第 31 回日本微小循環学会 東京 平成 18 年 2 月 11 日
67. 渡部 弘志: Role of HIF-1a in T lymphocytes for modulation of inflammatory responses 第 31 回日本微小循環学会 東京 平成 18 年 2 月 11 日

2005 年

68. 根岸正允、小黒秀行、長尾研二、稲垣好昌、西川光郎、田嶋正二、中内啓光、岩間厚志: ポリコム遺伝子 Bmi-1 による DNA メチル化パターンの維持とその分子機構 第 28 回日本分子生物学会(ワークショップ) 福岡 平成 17 年 12 月 7-10 日

③ポスター発表 (国内会議 64 件、国際会議 36 件)

2010 年

1. 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, April 17th-21st 2010, Washington DC, USA
2. 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 5th international symposium of institute network, Kanazawa, June 24, 2010
3. 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、幹細胞 07、松島、2010 年 6 月 7 日
4. Kashio M, Shinga J, Koseki H, and Iwama A. The polycomb gene, *Ezh2*, is essential for fetal but not adult hematopoiesis. The 1st Japanese Society of Hematology International Symposium. July 16-17, 2010, Akita
5. Nobuhisa I, Kishikawa Y, Yamasaki S, Ramadan A, Taga T: Role of Sox-17 in hematopoietic

- progenitors from the aorta-gonad-mesonephros immature phenotype. 14th International congress of Immunology 2010 Kobe, August 22-27, 2010
6. Ramadan A, Nobuhisa I, Yamasaki S, Nakagata N, Taga T: Cells that have hematopoietic activity in the placenta of mouse embryo reside in the side population. 14th International congress of Immunology 2010 Kobe, August 22-27, 2010
 7. 鹿川哲史、清水健史、荒木喜美、竹田直樹、中瀧直巳、信久幾夫、田賀哲也: 中枢神経系グリア亜集団細胞系譜の GFAP/Cre レポーターマウスを用いた解析 Nuro2010(第33回日本神経科学大会、第53回日本神経化学学会大会、第20回日本神経回路学会大会合同大会)、兵庫県 2010年9月2-4日
 8. 備前典久、井上俊洋、清水健史、鹿川哲史、田賀哲也: 神経幹細胞/前駆細胞における細胞周期調節因子 cyclin D1 のアストロサイト分化制御機構 Nuro2010(第33回日本神経科学大会、第53回日本神経化学学会大会、第20回日本神経回路学会大会合同大会) 兵庫県 2010年9月2-4日
 9. 梶康一、国分康博、備前典久、信久幾夫、鹿川哲史、田賀哲也: Potential roles of non-cancer stem cell population on C6 glioma formation 22年度がん若手研究者ワークショップ 長野県 2010年9月1-4日
 10. 梶康一、国分康博、備前典久、信久幾夫、鹿川哲史、田賀哲也: C1 glioma main population maintains side population. The 8th Stem Cell Symposium(第8回幹細胞シンポジウム) 兵庫県 2010年5月13-15日
 11. Ramadan A, Nobuhisa I, Yamasaki S, Nakagata N, Taga T: Cells that have hematopoietic activity in the placenta of mouse embryo reside in the side population. The 8th Stem Cell Symposium(第8回幹細胞シンポジウム) 兵庫県 2010年5月13-15日
 12. 備前典久、井上俊洋、清水健史、鹿川哲史、田賀哲也: Molecular mechanism underlying cyclin D1 mediated inhibition of astrocyte differentiation from neural stem/progenitor cells. The 8th Stem Cell Symposium(第8回幹細胞シンポジウム) 兵庫県 2010年5月13-15日
 13. Goda N, Nishiyama Y, Suematsu M. HIF-1-mediated DEC1 induction inhibits excessive lipid accumulation in liver of mice chronically exposed to ethanol. BMB2010 Kobe, 2010年12月7-10日

2009年

14. Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Motoyama N, Hirao A. 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、2009年5月16-17日
15. 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
16. 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
17. 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、2009年5月15日
18. 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、2009年9月2日
19. 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、2009年10月25日
20. 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、2009年5月15日

21. Nagamatsu G: Fundamental knowledge of germ cells to innovating technology for somatic cell reprogramming. ISSCR 7th Annual Meeting, Barcelona, July 8-11, 2009
22. 西山靖将、末松誠、合田亘人 エタノール誘導性脂肪肝形成における HIF-1 の役割について 第 82 回日本生化学会大会、神戸、10 月 23 日
23. 合田亘人、西山靖将、末松誠 低酸素応答システムを介した肝内脂質代謝制御 第 7 回がんとハイポキシア研究会、京都、12 月 6 日
24. 金井麻衣、堤香菜子、合田亘人、松田七美 神経変性疾患ショウジョウバエモデルにおけるエネルギー代謝異常の解析 第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、12 月 9 日
25. Bizen N, Inoue T, Shimizu T, Kagawa T, and Taga T: Cyclin D1 inhibits astrocyte differentiation from neural stem/progenitor cells in a manner independent of cell cycle regulation. The 7th Stem Cell Research Symposium, Tokyo, May 15-16, 2009
26. Kashiwagi T, Kagawa T, and Taga T: FGF signaling inhibitor Sprouty 4 contributes to neural stem cell proliferation and fate determination. The 32nd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Yokohama, December 11, 2009
27. Nobuhisa I, Kishikawa Y, Yamasaki S, Gomaa A, and Taga: Sox-17 maintains immature phenotype of hematopoietic progenitors in the aorta-gonad-mesonephros region. The 32nd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Yokohama, December 11, 2009
28. 榎康一、田賀哲也 ラット C6 グリオーマ細胞株における main population による side population の維持(Maintenance of side population in C6 glioma by main population)、第 68 回日本癌学会 横浜市 2009 年 10 月 1-3 日
29. 新森加納子、鹿川哲史、森川崇、小林大樹、坪田 誠之、緑川宇一、柏木太一、中尾光善、荒木令江、田賀哲也: 翻訳後修飾を指標にしたマウス神経幹細胞の分化の運命づけを司る核内分子の探索 日本ヒトプロテオーム機構 (JHUPO) 第 7 回大会 東京都 2009 年 7 月 28 日
30. 根岸正充、岩間厚志 (2009) 「Zinc finger protein 277 collaborates with polycomb protein Bmi1 in preventing premature senescence through transcriptional regulation of the Ink4a-Arf gene locus」第 32 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜) 12 月 9 日～12 日
31. 更屋敦則、宮城 聡、三嶋雄太、根岸正充、北林一生、岩間厚志 (2009) 「Role of (Bromodomain-containing protein 1) in Hbo1-H4 HAT complex」第 32 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜) 12 月 9 日～12 日
32. 宮城 聡、三嶋雄太、更屋敦則、根岸正充、古関明彦、岩間厚志 (2009) 「The Hbo 1-Brd1 H4 HAT complex is required for erythroid differentiation in fetal liver」第 32 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜) 12 月 9 日～12 日
33. 山口陽子、竹信尚典、根岸正充、大平美紀、岩間厚志、中川原 章、上條岳彦 (2009) 「DMAP1 works as a novel tumor suppressor via p53 activation」第 32 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜) 12 月 9 日～12 日
34. 盛永敬郎、福本泰典、中山佑治、岩間厚志、山口直人 (2009) 「Exploration of Golgi localization system of Lyn utilizing a doubly tagged Lyn expressing cell line」第 32 回日本分子生物学会年会 (パシフィコ横浜) 12 月 9 日～12 日
35. 大澤光次郎、岩間厚志、カイバ マイケル (2009) 「ES 細胞からの造血発生における HoxxB4 の分子機構」第 71 回日本血液学会学術集会 (国立京都国際会館) 10 月 23 日～25 日
36. Sugawara T, Oguro H, Iwama, A. (2009) TET family oncogene fus is essential for the maintenance of Self-renewing hematopoietic stem cells. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8 (New Orleans, USA)
37. Yuan J, Takeuchi M, Oguro H, Negishi M, Ichikaa H, and Iwama, A. (2009) Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor. 51st ASH Annual Meeting and Exposition. December 5-8 (New Orleans, USA)

2008 年

38. 青木竜太郎、千葉哲博、宮城聡、紙谷聡英、横須賀收、岩間厚志: Bmi1 遺伝子欠損マウスを用いた肝幹・前駆細胞の機能解析 第 44 回肝臓学会総会 愛媛 平成 20 年 6 月 5-6 日

39. Iwama A, Negishi M: Dnmt1-associated protein 1 is a tumor suppressor gene essential for DNA damage repair. 99th American ADNMT1-associated protein 1 (DMAP1) is required for chromatin assembly in mammalian DNA-damage repair and functions as a tumor suppressor. Keystone symposia "Stem Cells, Cancer and Aging" Singapore,. Sep.29-Oct.4,2008
40. Oguro H, Nakauchi H, Iwama A: Bmi1 regulates cell-fate decision of hematopoietic stem cells. International Society for Stem Cell Research 5th ISSCR Annual Meeting. Pennsylvania USA, Jun.11-14, 2008
41. Miyagi S, Saraya A, Issay K, Iwama A: Identification and functional analysis of novel Bmi1-interacting protein. International Society for Stem Cell Research 5th ISSCR Annual Meeting. Pennsylvania USA, Jun.11-14, 2008
42. Negishi M, Iwama A: Dnmt1-associated protein 1 (Dmap1) is a tumor suppressor gene essential for DNA damage repair. 99th American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting. San Diego, USA, Apr. 12-16, 2008
43. Negishi M, Iwama A: Dnmt1-associated protein 1 promotes chromatin assembly during DNA repair through directly recruiting PCNA and acts as a tumor suppressor. Ataxia-Telangiectasia Workshop Ohtsu, Apr. 22-26, 2008
44. Nobuhito Goda, Daigo Ochiai, Randall S Johnson, Makoto Suematsu HIF-1 is not a critical determinant for metabolic zonation in liver acinus. Experimental Biology 2008, San Diego, Apr. 8, 2008
45. Nobuhito Goda: Role of hypoxic stress in the regulation of immune systems. ASMeW International Symposium. Tokyo, Aug.27, 2008
46. 信久幾夫、山崎奨太郎、Ahamed Ramadan、田賀哲也:マウス胎生中期の造血組織における未分化血球系集団の同定 第6回幹細胞シンポジウム 東京 平成20年5月16-17日
47. 鹿川哲史、荒木喜美、竹田直樹、清水健史、田賀哲也:Analysis of glial cell sub-lineages in the developing mouse central nervous system. 第41回日本発生生物学会(国際発生生物学会同時開催) 徳島、平成20年5月28日
48. 鹿川哲史、清水健史、荒木喜美、竹田直樹、田賀哲也:マウス中枢神経系グリア細胞系譜の解析。(ポスター発表)、第51回日本神経化学学会大会、富山、平成20年9月11-13日
49. Naka K, Ohmura M, Muraguchi T, Hoshii T, Hirao A: Identification of tumor-initiating cells by using Nucleostemin promoter activity. Keystone Symposia, Tumor suppressor and stem cell biology. Vancouver, Feb.24-29, 2008
50. Kubota Y, Suda T: Endothelial tip cell activity is negatively regulated by leukemia inhibitory factor in an oxygen-independent manner. The ESH Euroconference on Angiogenesis. Albuferia (Portugal), May 11-14, 2008
51. Goda N, Watanabe H, Johnson RS, Suematsu M: Deletion of HIF-1 in T cell deteriorates acetaminophen-induced hepatitis by preventing mitochondrion-dependent apoptosis. Keystone Symposia. Vancouver, Jan. 17, 2008
52. Yoshihara H: Role of cyclin-dependent kinase inhibitor p57^{kip2} in the regulation of hematopoietic stem cell quiescence. 2008 ISEH Annual Scientific Meeting, Boston, 2008
53. Kubota: M-CSF inhibition selectively targets tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. 50th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, Dec 6-9, 2008
54. Yoshihara H: Control of the HSC niche signaling for the efficient long-term engraftment of hematopoietic stem cells without irradiation or high-dose chemotherapy. 50th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, Dec 6-9, 2008
55. Kondo K, Sugioka T, Tsukada K, Aizawa M, Takizawa M, Shimizu K, Morimoto M, Suematsu M, Goda N: Fenofibrate, a Peroxisome Proliferator-activated Receptor Agonist, Improves Hepatic Microcirculatory Patency and Oxygen Availability in a High-fat-diet-induced Fatty Liver in Mice. ISOTT2008, Sapporo, Aug.3-7, 2008
56. Goda N: Role of hypoxic stress in the regulation of immune systems. ASMeW International Symposium, Tokyo, Aug. 27-28, 2008
57. 根岸正充、上條岳彦、岩間厚志:NuA4 複合体構成因子 DMAP1 は DNA 損傷修復機構に必須であり、1p34 欠損腫瘍でがん抑制遺伝子として働く、第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(神戸ポートアイランド)平成20年12月9日-12日
58. 米満裕、千葉哲博、青木竜太郎、今関文夫、横須賀収、岩間厚志:肝癌細胞細胞におけ

るポリコム群遺伝子産物 EZH2 と BMI1 の役割と臨床的意義 (Differential role of the polycomb gene products EZH2 and BMI1 in hepatocellular carcinoma cells) 第 67 回日本癌学会学術総会、名古屋、平成 20 年 10 月 28 日 - 30 日

2007 年

59. 仲 一仁, 大村昌子, 野口亜希, 石原正彦, 宮地宏昌, 須田年生, 平尾 敦: Nucleostemin プロモーター-GFPトランスジェニックマウスによる造血幹細胞標識システムの樹立 第 66 回日本癌学会横浜 平成 19 年 10 月 3-5 日
60. Naka K, Ohmura M, Arai F, Suda T, Hirao A: Establishment of a labeling system for hematopoietic stem cells by nucleostemin-enhancer/promoter driving GFP transgenic mice. The 5th International Society of Stem Cell Research. Australia, Jun. 17-20, 2007
61. Naka K, Ohmura M, Suda T, Hirao A.: Establishment of a labeling system for hematopoietic stem cells by nucleostemin-enhancer/promoter driving GFP transgenic mice. The 49th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. Atlanta, USA, Dec. 8-11, 2007
62. Iwasaki H, Arai F, Kubota Y, and Suda T: Expression of Endothelial Protein C Receptor Confines Hematopoietic Stem Cell in Murine Fetal Liver. The 49th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. Atlanta, USA. Dec. 8-11, 2007
63. Nakamura Y, Arai F, Gomei Y, Hosokawa K, Yoshihara H, and Suda T: Identification and Characterization of Osteoblastic Niche Cells That Regulate Hematopoietic Stem Cells. The 49th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. Atlanta, USA, Dec. 8-11, 2007
64. 渡部 弘志, 合田 亘人, 藤木 夏子, Randall S Johnson, 末松 誠.: T細胞の HIF-1 による急性炎症反応制御機構の解析 BMB2007 横浜 平成 19 年 12 月 14 -15 日
65. 宮城聡, 更屋敦則, 北林一生, 岩間厚志: ポリコム蛋白質 Bmi1 の新規結合因子の同定 第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会合同大会 横浜 平成 19 年 12 月 11-15 日
66. Kitagawa M, Oyama T, Muradil A, Hozumi K, Habu S, Oguro H, Iwama A, Sakamoto R, Sato M, Yoshida N, Harigaya K: Mastermind-1 is required for Notch signal-dependent steps in lymphocyte development in vivo. 第 66 回日本癌学会 横浜 平成 19 年 10 月 3-5 日
67. Sugawara T, Iwama A. Impaired repopulating activity of fus-deficient hematopoietic stem cells. American Society of Hematology 49th Annual Meeting. Orlando, USA, Dec. 8-11, 2007
68. Chiba T, Miyagi S, Iwama A: The polycomb gene product Bmi1 is essential for the tumor-initiating capacity of hepatocellular carcinoma cells. International Society for Stem Cell Research 5th ISSCR Annual Meeting. Cairns, Australia, Jun. 17-20, 2007
69. Oguro H, Nakauchi H, Iwama A: Differential impact of Ink4a and Art on hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment in Bmi1-deficient mice. Keystone symposia, Colorado, USA, Mar. 19-20, 2007

2006 年

70. Naka K., Ohmura M., Arai F., Suda T., Hirao A., 16th International Symposium on Hiroshima Cancer Seminar entitled "Cancer Stem Cells". Hiroshima, Oct. 22, 2006,
71. 大村昌子, 仲一仁, 吉田松生, 新井文用, 木下雅史, 玉瀬玲, 田久保圭誉, 澤田元,
72. 須田年生, 平尾敦: 精子形成におけるNucleosteminの役割 第112回日本解剖学会総会 大阪平成18年3月27日
73. 根岸正充, 中内啓光, 岩間厚志: ポリコム蛋白 Bmi1 による造血幹細胞の自己複製におけるエピジェネティクス制御 第 68 回日本血液学会総会 福岡 平成 18 年 10 月
74. Miyagi S, Masui S, Niwa H, Muramatsu M, Iwama A, Okuda A: The Sox2 gene is dispensable for neural stem cell maintenance in embryonic forebrain. International Society for Stem Cell Research 4th ISSCR Annual Meeting. Toronto, Canada, Jun. 2006
75. Negishi M, Nakauchi H, Iwama A: The Polycomb Mmi1 regulates Dnmt-1 dependent maintenance of DNA methylation. International Society for Stem Cell Research 4th ISSCR Annual Meeting. Toronto, Canada, Jun. 2006

76. Oguro H, Iwama A, Nakauchi H: Bmi1-deficient mice display premature senescence of hematopoietic stem cells and a profound defect in stem cell niche. International Society for Stem Cell Research 4th ISSCR Annual Meeting. Toronto, Canada, Jun. 2006
77. Oguro H, Iwama A, Nakauchi H: Bmi1-deficient mice display premature senescence of hematopoietic stem cells and a profound defect in stem cell niche. Keystone symposia " Stem Cells". Whistler, Jun. 2006
78. 塚田 孝介 他: HIF-1 as a modulator of oxygen consumption in hepatocytes. 20thIUBMB/第20回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 19 日
79. 梶村 真弓 他: CO is a tonic regulator against NO-dependent vasodilation in the rat cerebral circulation. 20thIUBMB/第 20 回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 21 日
80. 槌谷 夏子 他 HIF-1 α in hepatocytes as a regulator of cell size during liver regeneration. 20thIUBMB/第20回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 21 日
81. 渡部 弘志 他: Roles of HIF-1 α in T lymphocytes for modulation of inflammatory responses. 20thIUBMB/第 20 回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 21 日
82. 山本 雄大 他: CO-CBS pathway regulates cellular transmethylation. 20thIUBMB/第20回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 21 日
83. 半田 寛 他: In vivo microvascular observation of a liver metastasis model of human-derived tumors in superimmunodeficient NOG mice. 20thIUBMB/第20回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 22 日
84. 西銘 千代子 他: Roles of Kupffer cells in immune surveillance of circulating cancer cells: Analyses in superimmunodeficient NOG mice transplanted with human cancer cells. 20thIUBMB/第 20 回国際生化学・分子生物学会 京都 平成 18 年 6 月 22 日

2005 年

85. 福田信治、柳澤亮、盛裕之、吉村昭彦、田賀哲也: シグナル伝達分子 SOCS3 によるアストロサイトの分化制御機構。第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7 日
86. 波平昌一、神山淳、青沼真、瀬戸口廣貴、田賀哲也、中島欽一: Notch シグナルによる発生段階依存的な神経幹細胞成熟機構の解析 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
87. 清水健史、鹿川哲史、井上俊洋、高田慎治、田賀哲也: 細胞外来性因子による神経幹細胞増殖促進と分化制御機構の解析 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
88. 井上俊洋、鹿川哲史、清水健史、吉永豊、柏木太一、福島美紀子、谷原秀信、田賀哲也: サイトカイン誘導性アストロサイト分化に対する Cyclin D1 の抑制作 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
89. 吉永豊、鹿川哲史、清水健史、井上俊洋、高田慎治、倉津純一、田賀哲也: Wnt3a が海馬領域神経前駆細胞に与える影響について 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
90. 柏木太一、落合和、福田信治、鹿川哲史、田賀哲也: 神経幹細胞の未分化維持に関与する遺伝子の探索とその機構の解明 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7 日
91. 山本 雄大: 一酸化炭素による細胞内メチレーション制御機構の解析 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7 日
92. 渡部 弘志: Tリンパ球の HIF-1 による急性炎症反応制御機構の解析 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7 日
93. 西銘 千代子: Intravital observation of tumor microcirculation derived from human cancer cells in superimmunodeficient NOG mice. 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7 日
94. 梶村 真弓: Carbon monoxide from heme oxygenase-2 is a tonic regulator against nitric oxide-dependent vasorelaxation in the adult rat cerebral microcirculation. 第 78 回日本生化学

会大会 神戸 平成 17 年 10 月 21 日

95. 田島 敏: Delayed onset of hepatocyte proliferative response after partial hepatectomy in HIF-1-deficient mice. 第78回日本生化学会大会 神戸 平成 17 年 10 月 22 日
96. 渡部 弘志: HIF-1 in T lymphocytes modulates acute inflammatory response in acetaminophen induced liver injury. 第 78 回日本生化学会大会 神戸 平成 17 年 10 月 22 日
97. 道下正貴、岩間厚志、市川 仁: t(8;21)および inv(16)急性骨髄性白血病における HOXB2 の役割 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
98. 高柳晋一郎、山崎 聡、吉田進昭、岩間厚志、中内啓光: 造血幹細胞および内皮細胞の in vivo marking 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
99. 加藤裕子、岩森巨樹、小黒秀行、根岸正允、中内啓光、岩間厚志: 幹細胞特異的なポリコーム複合体の同定およびその生物学的意義 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
100. 岩森巨樹、岩間厚志、中内啓光: ポリコーム Bmi-1 による精子幹細胞の未分化性維持機構 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日
101. 宮城 聡、升井伸治、丹羽 仁、村松正実、岩間厚志、奥田晶彦: 中枢神経系における Sox2 遺伝子の役割 第 28 回日本分子生物学会 福岡市 平成 17 年 12 月 7-10 日

(4)知財出願

①国内出願 (3 件)

1. 名称: 白血病治療剤及び該治療剤の新規なスクリーニング方法

発明人: 平尾 敦 , 仲 一仁

権利者: 国立大学法人金沢大学

出願国: 日本

出願日: 平成 21 年 6 月 4 日

出願番号: 特願 2009-134714

2. 名称: 癌幹細胞の同定および単離方法

発明者: 平尾敦 仲一仁、石原正彦 宮地宏昌

権利者: 国立大学法人金沢大学、学校法人慶應義塾、協和発酵工業

出願国: 日本

出願日: 平成 18 年 10 月 19 日

出願番号: 特願 2006-284662

3. 名称: 幹細胞特異的プロモーター

発明者: 平尾敦 須田年生 桜田一洋 石原正彦 宮地宏昌 白石紀彦

出願人: 学校法人慶應義塾 安西祐一郎 協和発酵工業 松田穰

出願日: 平成 17 年 10 月 18 日

出願番号: 特願 2005-302630

②海外出願 (0 件)

(5)受賞・報道等

①受賞

第 4 回日本学術振興会賞(H19 年度) 平尾 敦

受賞理由 「造血幹細胞維持メカニズムの解明」

②マスコミ(新聞・TV等)報道

プレス発表 (平成22年2月1日)

「慢性骨髄性白血病の治療抵抗性原因分子を発見—新たな白血病治療法開発にはずみ—」

概要:

JST目的基礎研究事業の一環として、金沢大学 がん研究所の平尾 敦 教授と仲 一仁 助教授らは、慢性骨髄性白血病注の治療抵抗性原因分子を発見しました。

慢性骨髄性白血病の原因は、BCR-ABL 融合遺伝子によるチロシンキナーゼの異常活性亢進であることが知られており、特効薬としてチロシンキナーゼ阻害剤が開発され、患者の治療に使用されています。ところが、一部の患者に薬剤投与中止後の再発が起こること、また、残存白血病において新たな遺伝子異常が発生することが問題となっており、白血病完治のためには、薬剤抵抗性を克服することが必要があると考えられていました。また、最近、白血病細胞中に、その供給源となる幹細胞様の細胞集団“白血病幹細胞”の存在が示され、薬剤抵抗性との関連が示唆されていました。

本研究グループは今回、慢性骨髄性白血病マウスモデルを用い、白血病幹細胞の特定と動態制御の解析を行った結果、代謝制御分子フォークヘッド転写因子 FOXO が、白血病幹細胞において活性化していること、この活性化は白血病幹細胞の機能維持やチロシンキナーゼ阻害剤抵抗性に重要な役割を果たしていることを発見しました。さらに、FOXO 活性化機序のひとつとして、TGF ベータシグナル注 4)の役割を明らかにしました。TGF ベータ受容体阻害剤を投与することによって、チロシンキナーゼ阻害剤の治療効果が向上することから、白血病幹細胞における TGF ベータ-FOXO シグナル活性化が治療抵抗性の原因であることを示しました。

本研究の成果は、臨床上問題となっている慢性骨髄性白血病の薬剤抵抗性メカニズムの一端を解明したこと、また、新たな白血病治療法開発のための重要な鍵を発見したことを意味します。今後、さらに詳細なメカニズムの解明とともに、化合物スクリーニングなどを用いた新規治療法の開発が期待されます。本研究成果は、2010年2月4日(日本時間午前3時)発行の英国科学雑誌「Nature」に掲載されます。

新聞報道

平成22年2月4日掲載、毎日新聞(3面)、「白血病治療妨害たんぱく質 薬中断で再発 金沢大学が解明」

平成22年2月4日掲載、日本経済新聞(34面)、「白血病再発防止に道 薬の効果低下解明(金沢大)」

平成22年2月26日掲載、科学新聞(1面)、「慢性骨髄性白血病の治療抵抗性原因分子 — 金沢大の研究グループ発見—」

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

該当なし

②社会還元的な展開活動

該当なし

§ 6 研究期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2008年4月25日	ミーティング	早稲田大学 先端生命医 科学センター	4人	研究打合せ (平尾・合田グループ)
2007年5月10日	ミーティング	千葉大学	4人	研究打合せ (平尾・岩間グループ)
2006年11月24日	金沢大学がん研究所がん幹細胞研究センターシンポジウム	金沢大学	120人	代謝制御からのアプローチによる癌・幹細胞研究に関する研究成果の発表があった。

§ 7 結び

本研究プロジェクトでは、「代謝制御の観点から幹細胞動態制御メカニズムを解明する」という新規のコンセプトに基づいた研究計画を推進いたしました。私にとって、本コンセプトは非常に魅力的であり、かつ、これまでの自身の幹細胞研究に基づいた確信を持ったプロジェクトでありました。約5年間を経た現在でも、このコンセプト自体にはぶれがなく、プロジェクトの方向性に間違いはなかったと感じており、大変やりがいのあるプロジェクトでした。ただ、このコンセプトを具現化するためには、分子レベルでの証明する必要があるとあり、方法論的に苦心いたしました。方法として大きく二つを設定しました。ひとつには、網羅的な代謝産物測定を行い、そこから標的とする代謝経路を特定するという方法、もうひとつには低酸素や栄養という既知のシグナルからアプローチするという方法でした。結果的には、FOXO, mTOR, HIF1 など有望な代謝制御分子の役割を明らかにすることができ、これらの知見を今後、再生医療やがん医療に応用できる可能性が示唆され、有意義であったと思っています。ただ、残念なことは、網羅的解析用に幹細胞のような少数の細胞を取り扱うことは技術的困難さがあり、十分なデータが得られなかったことでした。この点は、今後の技術革新が必要な部分であると思います。また、論文発表はできたものの、本研究期間内に創薬や医療へ直接的に貢献できるところまでには至らなかった点も挙げられます。しかし、この点については、現在、ハイスループットスクリーニングシステム構築に取り組んでおり、今後新たな研究プロジェクトとして推進したいと考えております。以上の理由から、本研究プロジェクトは、私自身の今後の方向性を決める重要な研究プロセスであったと実感しております。今後、さらにこの方向性を進ませるために研究を推進したいと考えています。この5年間に研究体制を支援していただいたおかげで、研究室も一定の軌道に乗せることができました。さらに、本領域に参加させていただき、これまでお付き合いのないような先生方と知り合い交流することができるようになりました。JST の皆様、お世話になった先生方に心よりお礼を申し上げたいと存じます。ありがとうございました。



平尾研究室メンバー（平成22年4月）