

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：代謝解析による幹細胞制御機構の解明
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

平尾 敦(金沢大学がん研究所 教授)

代謝解析による幹細胞制御機構の解明

主たる共同研究者

岩間 厚志(千葉大学大学院医学研究院 教授)

合田 宣人(早稲田大学先進理工学部 教授)

須田 年生(慶應義塾大学医学部 教授)

田賀 哲也(東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授)

### 3. 研究実施概要

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、**HIF-1 $\alpha$**  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-p**38MAPK** 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、がんの根治戦略の中で、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。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

造血幹細胞の未分化性維持・自己複製能に骨髄ニッチにおける栄養飢餓状態が必須であること、その分子機構として、栄養環境センサーである FOXO3a の活性化と mTOR の活性低下、低酸素環境センサーである HIF-1 $\alpha$  の活性化、並びに p38MAPK の活性低下などが明らかにされた。さらに、これらの分子機構はがん幹細胞でも同様であることが明らかにされ、また、幹細胞で高発現する Nucleostemin の promoter 活性を用いた GFP 発現系による幹細胞識別法を開発し、がん治療の新しい分子標的の発見につながる可能性も示された。メタボローム解析に関しては、幹細胞機能とアミノ酸代謝変動との関連を示唆する結果が得られたが、ニッチ環境における幹細胞代謝の全体像について今後の更なる解析が望まれる。研究成果は、質と量ともにレベルが高く、一流雑誌に多数発表されている(欧文原著論文84件)。研究代表者は、「造血幹細胞維持メカニズムの解明」で第4回日本学術振興会賞(H19年度)を受賞した。これらのことから、研究は極めて高いレベルで達成されたものと判断する。

##### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

組織幹細胞およびがん幹細胞の分化制御における幾つもの分子を特定することに成功し、その制御機構と細胞内代謝制御との関係を明らかにした成果は、世界をリードする極めて優れたものであり、学術的インパクトが大きいことは勿論のこと、再生医療やがん治療など臨床応用に向けても大きく寄与するものと高く評価できる。実際、FOXO 欠損は、イマニチブの感受性を高めることを Nature 誌に発表し、マスコミにも取り上げられた。また、幹細胞で高発現する Nucleostemin の promoter 活性を用いた GFP 発現系によるがん幹細胞識別法などは極めて独創的なものであり、今後のがん幹細胞の研究の有力なツールとなることが期待できる。メタボローム解析の観点からの成果は十分とはいえないが、幹細胞の栄養環境や低酸素環境など、細胞内代謝制御の観点から独創的な研究が行われたことから戦略目標へ十分貢献したものと判断する。

##### 4-3. 総合的評価

幹細胞という極めて激烈な競争が展開されている分野において、幹細胞の分化制御について代謝制御という独自の視点で研究を行い、FOXO3a、mTOR、HIF-1 $\alpha$ 、p38MAPK などの幹細胞維持に必要な分子を同定するなど、この分野で世界をリードする優れた成果を挙げた点は極めて高く評価できる。これらの成果は、現在注目されている再生医療やがんの再発阻止など未だ困難な問題解決への糸口となるものであり、今後の更なる展開が大いに期待できる。メタボローム解析は、そのために必要な幹細胞を得るのが困難であるとの理由により、十分な成果が得られなかったが、幹細胞を増殖させる方法やより感度の高いメタボライトの解析技術の開発など

により、今後も継続して研究が行われることを期待する。