

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16243

研究課題名（和文）骨髄増殖性腫瘍幹細胞のクローン拡大におけるシグナル制御分子STAPの機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of STAP, a signal-regulating molecule, in clonal expansion of myeloproliferative tumor stem cells

研究代表者

戸田 淳 (Toda, Jun)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：90770834

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：STAP分子がCML以外の白血病幹細胞の維持に必要なかを調査し、MPN幹細胞をターゲットとした治療基盤を構築するため、MPNモデルマウスを用いて検討を行った。JAK2V617F knock-inマウスの骨髄をWTマウスに移植し、MPNのフェノタイプを確認した。その後、WT、JAK2TG、JAK2TG/STAP2KOマウスの骨髄細胞を放射線照射マウスに移植すると、STAP2KOマウスでは白血球数増加、貧血、血小板減少の傾向が強く見られた。STAP-2欠損がMPN進行を促進する可能性が示唆された。STAP1KOマウスでは有意差は見られず、MPN幹細胞に対するSTAP-1の影響は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、白血病幹細胞の維持に必要なSTAPファミリー分子の役割を明らかにし、特にSTAP-2がMPNの進行に寄与する可能性を示しました。この発見は、MPN治療の新たなターゲットを提供し、より効果的な治療法の開発に繋がります。社会的には、白血病患者の生活の質向上と治療成績の向上に寄与し、医療費の削減にも貢献する可能性があります。研究成果は、白血病治療の新たな方向性を示し、将来の臨床応用に大きな期待を寄せています。

研究成果の概要（英文）：To investigate whether STAP family molecules are essential for the maintenance of leukemia stem cells other than those in CML, and to establish a therapeutic foundation targeting MPN stem cells, we conducted studies using MPN model mice. Initially, we transplanted bone marrow from JAK2V617F knock-in mice into WT mice and confirmed the MPN phenotype. Subsequently, bone marrow cells from WT, JAK2TG, and JAK2TG/STAP2KO mice were transplanted into irradiated recipient mice. The STAP2KO mice exhibited a higher white blood cell count, more severe anemia, and thrombocytopenia compared to the JAK2TG mice, along with an increase in LK cells. These findings suggest that STAP-2 deficiency may promote the progression of MPN. In contrast, in similar experiments with STAP1KO mice, no significant differences were observed in peripheral blood, bone marrow, or spleen cells. This indicates that while STAP-1 plays a functional role in stem cells in CML, it does not significantly affect MPN stem cells.

研究分野：Hematology

キーワード：STAP MPN

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨髄増殖性疾患 (MPN) は造血幹細胞レベルでの腫瘍化により発症する疾患であり、慢性骨髄性白血病 (CML)、真性多血症、本態性血小板血症、骨髄線維症などが含まれる。近年、筆者は Signal Transducing Adaptor Protein (STAP)-1 が CML 幹細胞で高発現し、アダプター蛋白として炎症系シグナルを介して STAT5 のリン酸化を制御し、CML 幹細胞の生存に関与していることを明らかにした。STAP ファミリー蛋白は、様々な受容体の細胞膜内側でサイトカインシグナルを制御し、免疫応答に関わっていることが報告されている。これに基づき、本研究では CML 以外の BCR-ABL 陰性 MPN に焦点を当て、STAP 蛋白が MPN の病態に及ぼす影響とそのメカニズムの解明を目指した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、STAP ファミリー分子が CML 以外の白血病幹細胞の維持に必要なかを調査し、特に MPN 幹細胞をターゲットとした治療基盤を構築することである。これにより、MPN 幹細胞を標的とした新たな薬剤開発の土台を作ることを目指す。

3. 研究の方法

- (1) モデルマウスの作成: JAK2V617F knock-in マウスの骨髄 (BM) を野生型 (WT, B6J) マウスに移植することで骨髄移植 (BMT) モデルを作成し、MPN フェノタイプの確認を行った。
- (2) 骨髄移植実験: WT、JAK2TG、JAK2TG/STAP2KO マウスの骨髄細胞を放射線照射マウス (B6Iy5.1) に移植し、各マウスの MPN 表現型を観察した。
- (3) 細胞解析: 白血球数、貧血、血小板減少、LK 細胞の増加などの指標を測定し、STAP-2 欠損の影響を評価した。
- (4) 比較実験: 同様の手法で JAK2TG/STAP1KO マウスを作成し、末梢血、骨髄細胞、脾臓細胞の解析を行った。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

本研究では、STAP ファミリー分子が BCR-ABL 陰性 MPN の病態進行において重要な役割を果たすことを明らかにしました。特に、STAP-2 の欠損が MPN の進行を促進することを示しました。JAK2V617F knock-in マウスの骨髄細胞を用いた実験で、STAP-2 欠損マウスは白血球数の増加、貧血、血小板減少の症状が顕著であり、LK 細胞の増加が確認されました。一方、STAP-1 欠損マウスでは、末梢血、骨髄、脾臓細胞に有意な差は見られず、STAP-1 が MPN 幹細胞に対して重要な役割を果たさないことが示されました。

(2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究の成果は、STAP-2 が MPN の進行において重要な役割を果たしていることを初めて示した点で、国内外において新たな知見を提供します。特に、MPN 治療における新たな分子標的として STAP-2 が注目されることで、今後の治療戦略に大きなインパクトを与えると考えられます。過去の治療において、MPN の治療は主に JAK 阻害剤が中心であり、これにより一部の患者で症状が改善することが示されていますが、完全な治癒は難しい状況です。従って、

新たな分子標的の探索が求められています。STAP-2 の発見は、この要求に応えるものであり、既存の治療法に新たな選択肢を提供します。

また、STAP ファミリー蛋白は、炎症シグナルを介して様々な細胞機能を調節することが報告されており、特に STAP-2 が免疫応答や細胞生存に深く関与することが示されています。本研究で得られた STAP-2 が MPN 進行に及ぼす影響に関する知見は、これらの報告を基にさらなる研究を促進し、MPN 治療の新たなパラダイムシフトを引き起こす可能性があります。STAP-2 の阻害により、MPN の進行を抑制する治療法が開発されれば、これまでの治療法では不十分であった患者層にも効果的な治療が提供できる可能性があります。このように、STAP-2 の研究成果は MPN 治療の新たな地平を切り開くものといえます。

(3) 今後の展望

今後の研究では、STAP-2 を標的とした分子療法の開発を進めることが重要です。具体的には、STAP-2 の機能阻害剤の開発や、STAP-2 を標的とした新しい治療法の検討を行う予定です。具体的には、

STAP-2 の機能阻害薬の開発:

-スクリーニングと最適化: STAP-2 の機能を阻害する低分子化合物を高スループットスクリーニング技術を用いて探索します。候補化合物が見つかった後、構造活性相関 (SAR) 解析を行い、化合物の有効性と安全性を最適化します。

-細胞レベルでの評価: 最適化された化合物を用いて、MPN 細胞株に対する細胞増殖抑制効果やアポトーシス誘導効果を評価します。また、STAP-2 シグナル伝達経路に対する影響を詳細に解析します。

-動物モデルでの評価: 動物モデル (JAK2V617F knock-in マウス) を用いて、候補化合物の有効性と安全性を評価します。具体的には、白血球数、貧血、血小板数、LK 細胞の変化をモニタリングします。

STAP-2 を標的とした新しい治療法の検討:

-CRISPR/Cas9 技術の活用: CRISPR/Cas9 技術を用いて、STAP-2 の発現を抑制する手法を開発します。この方法により、STAP-2 を欠損させた細胞の挙動を詳細に調べ、MPN の進行をどの程度抑制できるかを評価します。

-RNA 干渉技術の利用: STAP-2 の mRNA を標的とした siRNA や shRNA を用いて、STAP-2 の発現を抑制する方法を開発します。これにより、STAP-2 の発現低下が MPN 細胞に与える影響を解析し、治療効果を評価します。

-併用療法の検討: STAP-2 阻害薬と既存の JAK 阻害剤 (例: ルキシソリチニブ) や免疫チェックポイント阻害剤 (例: PD-1/PD-L1 阻害剤) を併用することで、治療効果の増強を目指します。併用療法のシナジー効果を動物モデルや患者由来の細胞株で評価します。

これらのアプローチを通じて、STAP-2 をターゲットとした新しい治療法を開発し、MPN 患者の予後改善に寄与することを目指します。また、これらの研究成果は、他の造血器疾患やがん治療にも応用可能であり、広範な臨床応用が期待されます。

(4) 新たな知見

研究の過程で、STAP-2 の欠損が MPN の進行を顕著に促進することが判明しました。この予期しない発見は、STAP-2 が単にシグナル伝達を調節するだけでなく、MPN の病態形成においてより深い役割を持つ可能性を示唆しています。この新たな知見は、今後の研究の方向性を定める上で重要な指針となると考えられる。

本研究の成果により、STAP-2 が MPN の病態進行において重要な役割を果たすことが明らかになりました。これに基づき、STAP-2 を標的とした新たな治療法の開発が期待されます。特に、STAP-2 阻害薬の開発や併用療法の検討により、MPN 患者の治療効果が向上する可能性があります。さらに、STAP-2 の機能や役割に関する新たな知見は、他の造血器疾患やがん治療にも応用される可能性があり、広範な臨床応用が期待されます。研究の進展により、MPN 治療の新たなパラダイムシフトが実現し、患者の生活の質向上に大きく貢献することが期待されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ichii Michiko, Oritani Kenji, Toda Jun, Hosen Naoki, Matsuda Tadashi, Kanakura Yuzuru	4. 巻 105
2. 論文標題 Signal-transducing adaptor protein-1 and protein-2 in hematopoiesis and diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Experimental Hematology	6. 最初と最後の頁 10 ~ 17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.exphem.2021.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishiura Marie, Kitai Yuichi, Kashiwakura Jun-ichi, Muromoto Ryuta, Toda Jun, Ichii Michiko, Oritani Kenji, Matsuda Tadashi	4. 巻 556
2. 論文標題 Positive interactions between STAP-1 and BCR-ABL influence chronic myeloid leukemia cell proliferation and survival	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 185 ~ 191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.03.162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------