

平成21年 5月18日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18390282
 研究課題名（和文） がん幹細胞に発現する転写因子を標的とした新規分子標的療法の開発
 研究課題名（英文） Development of novel therapeutic strategy for targeting transcription factors expressed in cancer stem cells.
 研究代表者
 小松 則夫（KOMATSU NORIO）
 山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
 研究者番号：50186798

研究成果の概要：

癌患者に抗癌剤を投与すると経過中にその効果が減弱することがある。この薬剤耐性にはさまざまな機序が関与しており、いかに耐性を克服するかが治療戦略を考える上で重要な鍵となる。我々は寿命に関連する転写因子である FOXO3A に注目し、その分子を細胞の核内に強制的に発現させることで抗癌剤に耐性を獲得した細胞をも死滅させることを明らかにした。このことは FOXO3A を核内に発現できる薬剤こそが万能な抗癌剤となりうることを示唆している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2007年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2008年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：血液内科学、白血病、抗癌薬、薬剤耐性、寿命関連遺伝子、アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

FOXO3A は他の Forkhead 転写因子と同様にリン酸化の状態によって細胞内局在や転写因子としての機能を大きく変化させるのが特徴的である。すなわち3カ所のセリン/スレオニン残基が脱リン酸化されると FOXO3A は核内へと移行し、プロモーター上の認識部位に結合することによって転写因子としての機能を発揮し、標的遺伝子の転写を誘導する。一方、リン酸化を受けると 14-3-3 蛋白と結合して細胞質内に留まり、ユビキチン化

を受け、プロテアソームで分解される。したがって FOXO3A がリン酸化を受けた状態が持続すれば、転写因子としての機能が損なわれるため、TRAIL や BIM などの標的分子が誘導されず、細胞は細胞死から逃れて異常な増殖を続けることができると考えられる。実際、多くの造血器腫瘍で FOXO3A の恒常的リン酸化の報告があり、我々も慢性骨髄性白血病 (CML) において FOXO3A が BCR-ABL の下流に存在し、恒常的にリン酸化を受けた状態にあること、BCR-ABL 特異的阻害剤イマチニブによ

って脱リン酸化状態になった FOXO3A は転写因子としての機能を獲得し、アポトーシスを誘導することを証明した。臨床的にはイマチニブは CML に劇的な治療効果をもたらしたが、イマチニブに耐性を示す症例の存在が問題となってきた。

2. 研究の目的

そこでイマチニブに耐性を示す症例をどのように治療するかが重要な研究課題と考え、本研究では FOXO3A を核内に強制的に発現させることでイマチニブ耐性を克服できるかどうかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

活性型 FOXO3A-TM/エストロゲン受容体融合遺伝子 (FOXO3A-TM/ER) (AKT リン酸化部位である 32 番目のスレオニン、253 番目のセリン、315 番目のセリンをアラニンに置換した FOXO3A にエストロゲン受容体を連結させたもので、タモキシフェン添加によって核内へ移行し、転写活性化能を獲得し、標的遺伝子の転写を活性化できる) を CMV プロモーターに搭載したベクターを用いてイマチニブ耐性細胞株に遺伝子導入し、安定株を樹立し、タミキシフェンを添加することで活性型 FOXO3A を核内に強制発現させ、アポトーシスを誘導できるかどうかを検討した。

4. 研究成果

イマチニブに耐性を獲得した細胞に FOXO3A を強制的に核内に発現させることによって TRAIL の発現を介してアポトーシスを誘導できることを明らかにした。今後臨床的に問題になると思われるイマチニブ耐性を克服するための有望な治療戦略であることが認められ、Cancer Science の表紙を飾るとともに、Issue Highlights にも取り上げられた。このように腫瘍化と FOXO3A の恒常的リン酸化は密接な関係にあり、FOXO3A の脱リン酸化 (= 活性化) を目指した治療薬の開発は今後のがん撲滅のための治療戦略として重要な位置を占める可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

1. Kosaka N, Sugiura K, Yamamoto Y, Yoshioka Y, Miyazaki H, Komatsu N, Ochiya T, Kato T. Identification of erythropoietin-induced microRNAs in hematopoietic cells during erythroid differentiation. Br J Haematol. 2008;142:293-300 (査読有り)
2. Yoshida K, Kirito K, Yongzhen H, Ozawa K, Kaushansky K, Komatsu N. Thrombopoietin (TPO) regulates HIF-1 α levels through generation of mitochondrial reactive oxygen species. Int J Hematol. 2008 Jul; 88(1):43-51. (査読有り)
3. Nagai T, Kikuchi S, Ohmine K, Miyoshi T, Nakamura M, Kondo T, Furuyama K, Komatsu N, Ozawa K. Hemin reduces cellular sensitivity to imatinib and anthracyclins via Nrf2. J Cell Biochem. 2008. 15;104(2). 680-691. (査読有り)
4. Kirito K, Sakoe K, Shinoda D, Takiyama Y, Kaushansky K, Komatsu N. novel RUNX1 mutation in familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies. Haematologica. 2008;93. 155-156. (査読有り)
5. Komatsu N. Regulation of erythropoiesis and pathogenesis of anemia. Nippon Rinsho. 2008;66:420-422. (査読無し)
6. Mitsumori T. Pure erythroid leukemia (M6b). Rinsho Ketsueki. 2008;49. 1-2 (査読無し)
7. Uchida M, Kirito K, Endo H, Ozawa K, Komatsu N. Activation of FKHRL1 plays an important role in protecting erythroid cells from erythropoietin deprivation-induced apoptosis in a human erythropoietin-dependent leukemia cell line, UT-7/EPO. Int J Hematol. 2007;86(4):315-24. (査読有り)
8. Miyoshi T, Nagai T, Kikuchi S, Ohmine K, Nakamura M, Hanafusa T, Komatsu N, Ozawa K. Cloning and characterization of a human BCR/ABL-positive cell line, K562/RR, resistant to the farnesyltransferase inhibition by tipifarnib. Exp Hematol. 2007;

- 35(9):1358-65 (査読有り)
9. Kikuchi S, Nagai T, Kunitama M, Kirito K, Ozawa K, Komatsu N. Active FKHL1 overcomes imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia-derived cell lines via the production of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Cancer Sci.* 2007; 98(12):1949-58. (査読有り)
 10. Komatsu N. Erythropoietin for the treatment of chemotherapy-induced anemia. *Rinsho Ketsueki.* 2007; 48(10):1435-41. (査読無し)
 11. Furukawa Y, Vu HA, Akutsu M, Odgerel T, Izumi T, Tsunoda S, Matsuo Y, Kirito K, Sato Y, Mano H, Kano Y. Divergent cytotoxic effects of PKC412 in combination with conventional antileukemic agents in FLT3 mutation-positive versus -negative leukemia cell lines. 2007; 21(5):1005-14 (査読有り)
 12. Nagai R, Matsuura E, Hoshika Y, Nakata E, Nagura H, Watanabe A, Komatsu N, Okada Y, Doi T. RUNX1 suppression induces megakaryocytic differentiation of UT-7/GM cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 345:78-84. 2006 (査読有り)
 13. Kirito K, Kaushansky K. Transcriptional regulation of megakaryopoiesis: thrombopoietin signaling and nuclear factors. *Curr Opin Hematol.* 13(3).151-156. 2006 (査読有り)
 14. Nagashima T, Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Miyoshi T, Tatara R, Meguro A, Fujiwara S, Obara Y, Oh I, Kikuchi S, Sato K, Matsuyama T, Toshima M, Ohmine K, Ozaki K, Takatoku M, Mori M, Nagai T, Ozawa K. Pleocytosis after hemopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma.* 2006; 47(8).1613-1617 (査読有り)
 15. Okada Y, Nagai R, Matsuura E, Hoshika Y, Nakata E, Nagura H, Watanabe A, Komatsu N, Doi T. Suppression of RUNX1 by siRNA in megakaryocytic UT-7/GM cells. *Nucleic Acids Symposium Series.* 2006;50. 261-262 (査読有り)

[学会発表] (計4件)

1. Keita Kirito, Kozue Yoshida, Yongzhen Hu, Qiao Qiao, Kumi Sakoe, and Norio

- Komatsu. HIF-1 Prevents Hematopoietic Cells from Cell Damage by Overproduction of Mitochondrial ROS after Cytokine Stimulation through Induction of PDK-1. 第50回米国血液学会. December 7, 2008. San Francisco
2. Kosaka N. Regulation of miR-210 Generation in Response to Hypoxia in Erythrocytic Cells. 第49回米国血液学会. December 8, 2007. Atlanta
 3. Kirito K. HIF-1 Supports the Survival of Multiple Myeloma Cells through the Induction of Survivin Gene. 第49回米国血液学会. December 9, 2007. Atlanta
 4. Sugiura K. Expression of miR-188 and 362 Induced by Erythropoietin Stimulation in a Human Erythrocytic Leukemia Cell Line. 第49回米国血液学会. December 9, 2007. Atlanta.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小松 則夫 (KOMATSU NORIO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授

研究者番号: 50186798

(2)研究分担者

桐戸 敬太 (KIRITO KEITA)
山梨大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：90306150

國玉 眞江 (KUNITAMA MASAE)
山梨大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60397297

永嶋 貴博 (NAGASHIMA TAKAHIRO)
山梨大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10343443

三森 徹 (MITSUMORI TORU)
山梨大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80377514

迫江 公己 (SAKOE KUMI)
山梨大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10398505

(3)連携研究者

なし