

平成30年5月6日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19582

研究課題名(和文)腫瘍遺伝子HMGA2が骨髄増殖性腫瘍の病態に果たす役割の解明

研究課題名(英文)The role of HMGA2 in the pathogenesis of MPN

研究代表者

植田 航希 (UEDA, KOKI)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：80632190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄増殖性腫瘍(MPN)はJAK2V617F変異を中心とする遺伝子変異が発症の原因になるが、JAK2を標的とした治療のみでは完治しないことが示されており、新たな治療標的を見出すことが重要である。我々は、重症のMPN患者骨髄・末梢血検体において、腫瘍遺伝子HMGA2の発現が上昇していることを見出し、マウスモデルにおいてHMGA2が実際にMPNの病態を悪化させること、遺伝子操作でHMGA2を除去したマウスは病態が改善することを示した。

研究成果の概要(英文)：MPN are driven by mutations in JAK2, CALR and MPL. We have recently shown high HMGA2 mRNA level in almost all patients with myelofibrosis. Thus, to clarify if HMGA2 affect JAK2V617F+ hematopoiesis, we crossed HMGA2-overexpressing mice with JAK2V617F Tg mice. At 3 months old, leukocytosis, thrombocytosis, anemia and splenomegaly were most severe in double-Tg. Hmga2 and JAK2VF Tg mouse survived for over a year, but all double-Tg died within 5 months. Lineage-Sca1+Kit+ cells were most frequent in double-Tg followed by Hmga2, indicating HMGA2 contributes to expansion of JAK2V617F+ hematopoietic stem cells (HSC). In competitive/serial transplants, Hmga2 and double-Tg cells steadily expanded, while JAK2VF cells were decreased and eventually rejected in 3rd transplant. Thus, HMGA2 may accelerate proliferative hematopoiesis harboring JAK2V617F with expanding MPN HSC.

研究分野：血液腫瘍

キーワード：骨髄増殖性腫瘍 HMGA2

1. 研究開始当初の背景

BCR-ABL 融合遺伝子陰性の骨髄増殖性腫瘍 (MPN) においては、JAK2V617F 変異 (Nature 2005;434:1144-1148)・MPL515 変異 (Blood 2006;108:3472-3476)・JAK2 exon12 変異 (Leukemia 2007;21:1960-3) といった、JAK-STAT 系の恒常的活性化を介して細胞増殖を促進させる変異が明らかになった。しかし近年、JAK2 が細胞質だけでなく核内にも存在し、JAK-STAT 系非依存的にヒストン H3Y41 のリン酸化を惹き起こして HP1 を解離させること、JAK2 変異によってこのリン酸化が恒常的に生じると Imo2 など癌遺伝子が活性化することが示された (Nature 2009;461:819-822)。また、MPN 症例の中に STAT3 や STAT5 のリン酸化を認めない症例が存在する (Leukemia 2008;22:1828-1840)。以上より、JAK-STAT 系の活性化のみでは説明できない MPN の発症機序が存在すると考えられている。実際、JAK2V617F 陽性の症例から JAK2V617F 陰性クローン由来の急性骨髄性白血病 (AML) が発生することも少なくない (Blood 2007;110:375-379) 上に、JAK2V617F knock-in マウスにおいて、競合的造血再構築アッセイでの JAK2V617F 陽性細胞クローンの再構築能は正常造血幹細胞とほぼ同程度に留まったことが報告されている (Cancer Cell 2010;17:584-596)。したがって、MPN においては JAK2 や MPL の変異に加えて、変異陽性クローンを拡大させるのに寄与する他の因子が存在していることが予想される。そうした因子として、前述の変異した JAK2 そのものによって引き起こされる癌遺伝子の活性化以外にも、TET2 (N Engl J Med 2009;360:2289-2301)・ASXL1 (Leukemia 2009;23:2183-2186)・EZH2 (Nat Genet 2010;42:722-726) などエピゲノムやその調節に関与する因子の異常が明らかになってきた。これに加えて、転写調節因子である HMGA2 の過剰発現がこれまで JAK2V617F 陽性・陰性双方の MPN 症例において報告されている (Genes Chromosomes Cancer 2004;39:82-87・Leukemia 2005;19:245-252、他)。

2. 研究の目的

JAK2 変異を始めとする JAK-STAT 系の活性化を惹起する因子以外の MPN 発症機序が徐々に明らかになってきたが、それらが JAK2 変異とどのように協調し、病態に寄与しているのかはほとんど明らかになっていない。これらを明らかにすることで、JAK2 に続く新たな MPN の治療標的を見出すことを目的として、申請者は研究を計画した。

3. 研究の方法

Hmga2 過剰発現と JAK2V617F 変異の重複によって、MPN クローンの拡大が惹起され、それが MPN の重症化や骨髄の線維化、白血病への進展などにつながるかを、マウ

スモデルを用いて検討する。

MPN 症例において Hmga2 の高発現を惹起

する未知の機序を解明する。

4. 研究成果

以前我々のグループから、骨髄増殖性腫瘍の中でも重症なサブグループである骨髄線維症患者のほぼ全例で HMGA2 が上昇していることを報告している。これらの患者検体をさらに検討したところ、HMGA2 上昇はマイクロ RNA let7 の低下と関連している症例が多かったが、let7 が正常範囲でも HMGA2 が上昇している症例もみられた。これらの症例の約半数で、ポリコム複合体の構成因子である EZH2 に遺伝子変異をきたしていることが分かった。また、JAK2V617F トランスジェニックマウス (JAK2-Tg) と HMGA2 を交配して JAK2V617F × HMGA2 ダブルトランスジェニックマウス (double-Tg) を作製し、その表現型を同腹の HMGA2 や JAK2-Tg と比較した。その結果、HMGA2 や JAK2-Tg は脾腫や血球増多をきたすものの野生型と同等の期間生存するのに対して、double-Tg は出生後 12 週で 3g を超える巨大脾腫をきたし、末梢血白血球も平均 15 万/μL 程度まで達して 12-16 週ですべて死亡した。フローサイトメトリーを用いた骨髄造血細胞の解析では、造血幹細胞分画を示す LSK 細胞の比率は、JAK2-Tg は野生型と同程度であり (平均 0.17%)、HMGA2 ではわずかに増加していた (0.19%) が、double-Tg では大幅に増加していた (0.27%)。また、これらの Tg マウス (Ly5.2) の骨髄細胞と Ly5.1 野生型マウスの骨髄細胞を 1 対 1 で混合し、致死量放射線照射した Ly5.1 マウスをレシピエントとして競合的骨髄移植を行ったところ、HMGA2 および double-Tg の細胞は野生型細胞より有意に比率が増加し、JAK2-Tg の細胞比率は徐々に減少した。他施設からの報告でも、JAK2V617F は造血幹細胞機能を障害し、競合的移植では徐々にクローンが減少することが示されている (Blood 2010;116:1528-1538) が、我々の実験から考えると、HMGA2 の高発現が共存することで JAK2V617F による造血幹細胞機能の障害を補うほどの幹細胞分画の増加をきたし、過剰な血球を産生し続ける幹細胞プールとして機能することが、病勢の増悪に寄与していると考えられた。先行研究および我々のこれまでの研究で、HMGA2 は多くの MPN 症例で高発現しており、幹細胞分画の増加を介して MPN の増悪に寄与していることがわかった。こうした病態は、ダブルトランスジェニックマウスの骨髄細胞を、放射線照射した野生型マウスに移植した場合にも再現され、白血球増多・貧血・脾腫などの骨髄増殖性腫瘍の病態を示して死亡した。一方、他施設からの報告で、EZH2 の欠失によ

って HMGA2 が上昇すること、JAK2V617F トランスジェニックマウスと EZH2 ノックアウトマウスを交配すると、我々のダブルトランスジェニックマウスと同様の病態をきたすことが示されている。そこで、JAK2V617F マウスと EZH2 KO マウスを交配したマウスを、さらに HMGA2 KO マウスと交配したところ、脾腫や白血球増多などの骨髄増殖性腫瘍の病態が軽減された。これらから、HMGA2 が骨髄増殖性腫瘍、特に骨髄線維症の治療標的となり得ることが示された。

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 1 件)

1. Hmga2 collaborates with *JAK2V617F* in the development of myeloproliferative neoplasms

Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Takayuki Ikezoe, Kayo Harada-Shirado, Kazuei Ogawa, Yuko Hashimoto, Takahiro Sano, Hiroshi Ohkawara, Satoshi Kimura, Akiko Shichishima-Nakamura, Yuichi Nakamura, Yayoi Shikama, Tsutomu Mori, Philip J. Mason, Monica Bessler, Soji Morishita, Norio Komatsu, Kotaro Shide, Kazuya Shimoda, Shuhei Koide, Kazumasa Aoyama, Motohiko Oshima, Atsushi Iwama and Yasuchika Takeishi

Blood Advances 1(15): 1001-1015, 2017

[学会発表](計 3 件)

1. **2016 (58th) American Society of Hematology (ASH) Annual meeting and Exposition**, San Diego, CA, Dec5(2-6), 2016, Oral (#796)

HMGA2 Orchestrates the Tumorigenesis of Myeloproliferative Neoplasms (MPN) in Cooperation with *JAK2V617F*

Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Takayuki Ikezoe, Kazuei Ogawa, Yuko Hashimoto, Kayo Harada-Shirado, Hiroshi Ohkawara, Norio Komatsu, Kotaro Shide, Kazuya Shimoda, Shuhei Koide, Motohiko Oshima,

Atsushi Iwama, and Yasuchika Takeishi

Blood 128:796 ; 2016

2. 第 78 回日本血液学会総会 OS-3-21

The role of oncogene HMGA2 in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms (MPN)

Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Kazuei Ogawa, Yuko Hashimoto, Soji Morishita, Norio Komatsu, Kotaro Shide, Kazuya Shimoda, Atsushi Iwama, Yasuchika Takeishi

第 78 回日本血液学会総会、2016/10/15(13-15)、横浜

3. **The 5th JCA-AACR Special Joint Conference “The Latest Advances in Hematological Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics”**, Urayasu, Chiba, Japan, July 14 (13-15), 2016

Poster No.: 3-2, Poster Category: 3. Myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic syndrome

The role of HMGA2 in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms (MPNs)

Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Kazuei Ogawa, Yuko Hashimoto, Soji Morishita, Norio Komatsu, Kotaro Shide, Kazuya Shimoda, Atsushi Iwama, Yasuchika Takeishi

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植田 航希 (UEDA KOKI)
福島県立医科大学 血液内科学講座 助教
研究者番号：80632190

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：