

平成 31 年 4 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06632

研究課題名(和文) 骨髄異形成症候群の発症及び白血病進展における細胞老化の役割の解明と治療標的の探索

研究課題名(英文) Investigating the role and therapeutic targets of cellular senescence in the development and transformation of myelodysplastic syndrome

研究代表者

宇仁 暢大(Uni, Masahiro)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：20802359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄異形成症候群(MDS)における細胞老化の変化を調べるべく、MDSモデルマウスを用いて細胞老化関連遺伝子のmRNAレベルあるいはそれらのコードするタンパクレベルの上昇を確認した。また細胞老化が白血病発症促進に関わる機序の一つとして細胞老化関連の炎症サイトカイン分泌が関与している可能性を指摘した。細胞老化の主要な制御因子であるp16をノックアウトしたマウスと上記のMDSモデルマウスを掛け合わせることで、MDSの表現型がキャンセルされることも確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨髄異形成症候群(MDS)は高齢者の高頻度に認められる予後不良の造血器腫瘍であるのみならず、急性骨髄性白血病への高頻度の進展も知られているが、MDSに対する現行の治療には根治的治療は含まれず、根本的な解決を得たとは言い難い。MDSの病態を捉え、それに適した治療法を開発することは喫緊の課題と言って良く、本研究はその治療標的の一端として細胞老化に可能性があることを見出した。これを標的とした治療がMDSに如何なる影響を及ぼすかについては、引き続き研究が必要とされる。

研究成果の概要(英文)：With our Asx11 heterozygous mutant knock-in mice, which recapitulates human myelodysplastic syndrome (MDS) well, we confirmed high expression of genes associated with cellular senescence, and also validated these in protein level. We further indicated the contribution of cellular senescence-related inflammatory cytokine secretion in the development of secondary leukemia from MDS. Finally, we intercrossed MDS model mice above with p16 knock-out mice, and showed restoration of phenotypes of human MDS in vivo.

研究分野：血液腫瘍内科学

キーワード：骨髄異形成症候群

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

骨髄異形成症候群(MDS)は造血幹細胞の異常に起因する単クローン性造血器腫瘍であり急性骨髄性白血病(AML)の前癌病態とも言える予後不良な疾患であるが、高齢患者が多い為、根治療法たる造血幹細胞移植が適応となる例が少なく、また他に有効な化学療法があるとは言い難い状況であり、分子標的療法を始めとした新規治療法の開発が望ましい。申請者はこれまでに当研究室で樹立した ASXL1 変異ノックインマウスがヒト MDS の病態を再現する事を明らかにし、網羅的遺伝子発現解析により細胞老化が MDS の病態形成・維持に密接に関与している可能性を見出した。

#### 2. 研究の目的

本研究では MDS マウスモデルを用いて細胞老化が MDS 病態形成・AML への形質転換に関わる分子機構を明らかにする。また、ヒト検体の網羅的解析と合わせて治療標的となりうるタンパク質やシグナル伝達経路を同定し、画期的な治療薬開発を目指した。

#### 3. 研究の方法

Asxl1<sup>G643fs/wt</sup> マウスを MDS モデルマウスとして利用し、MDS における細胞老化の関与を明らかにし、網羅的解析を行って治療標的を探索する。具体的には MDS モデルマウスの骨髄細胞を用いて細胞老化マーカーの発現やその表現型を確認し、サイクリン依存性キナーゼや Rb タンパクの発現、リン酸化を確認し、マウス骨髄細胞で *p16Ink4a* を *ex vivo* でノックダウン、あるいは *in vivo* でノックアウトした際の老化マーカーや上記タンパク発現レベルの変化を検証する。細胞老化は近年、炎症性サイトカインの分泌を介して腫瘍促進的にも働く事が明らかとなっており、MDS の病態形成・AML への進展に上記サイトカインの分泌亢進が関与しているかを検証する。更に野生型マウス、MDS マウス、二次性 AML マウスの骨髄細胞を用いてヒストン修飾の網羅的解析を行い、申請者が既に行った網羅的発現解析の結果と統合して治療標的を探索し、最後に臨床検体を用いて上記研究成果を検証する。

#### 4. 研究成果

骨髄異形成症候群(MDS)における細胞老化の変化を調べるべく、MDS モデルマウスとして Asxl1 ヘテロノックインマウスを用いて細胞老化関連遺伝子の mRNA レベルあるいはそれらのコードするタンパクレベルの上昇を確認した。その結果、細胞老化関連遺伝子である *p16Ink4a*, *p21*, *p15Ink4b* に代表される関連遺伝子およびその翻訳産物の発現上昇を認めた。また同時に細胞老化との関連が近年指摘されている、Senescence-associated secretory phenotype(SASP)の関与も明らかにすべく、これらの発現レベルも確認したところ MDS モデルマウスでは上昇していることが明らかとなり、細胞老化が白血病発症促進に関わる機序の一つとして細胞老化関連の炎症サイトカイン分泌が関与している可能性を指摘した。細胞老化の主要な制御因子である *p16* をノックアウトしたマウスと上記の MDS モデルマウスを掛け合わせることで、MDS の表現型がキャンセルされることも確認した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

1, Uni M, Masamoto Y, Sato T, Kamikubo Y, Arai S, Hara E, Kurokawa M.  
Modeling ASXL1 mutation revealed impaired hematopoiesis caused by derepression of *p16Ink4a* through aberrant PRC1-mediated histone modification.  
*Leukemia*. 2019 Jan;33(1):191-204.

2, Uni M, Kurokawa M.  
Role of ASXL1 mutation in impaired hematopoiesis and cellular senescence.  
*Oncotarget*. 2018 Dec 7;9(96):36828-36829.

[学会発表](計5件)

1, Masahiro Uni, Yosuke Masamoto, Tomohiko Sato, Yasuhiko Kamikubo, Shunya Arai, Eiji Hara and Mineo Kurokawa  
*ASXL1* mutation revealed impaired hematopoiesis caused by derepression of *p16Ink4a* through aberrant histone modification  
The 16<sup>th</sup> Stem Cell Research Symposium  
Oral presentation (English)  
June 2<sup>nd</sup>, 2017. Fukuoka, Japan

2, Masahiro Uni, Yosuke Masamoto, Tomohiko Sato, Shunya Arai, Eiji Hara and Mineo Kurokawa  
Modeling *ASXL1* Mutation Revealed Myelodysplasia Caused By Derepression of *p16Ink4a* through Aberrant PRC1-Mediated Histone Modification  
The 22<sup>nd</sup> Hematological malignancy meeting  
Oral presentation (Japanese)  
January 26<sup>th</sup>, 2017. Yokohama, Japan

3, Masahiro Uni, Yosuke Masamoto, Tomohiko Sato, Shunya Arai, Eiji Hara and Mineo Kurokawa  
Modeling *ASXL1* Mutation Revealed Myelodysplasia Caused By Derepression of *p16Ink4a* through Aberrant PRC1-Mediated Histone Modification  
The 59<sup>th</sup> ASH Annual Meeting and Exposition  
Oral presentation (English)  
December 9<sup>th</sup>, 2017. Atlanta, Georgia, USA

4, Masahiro Uni, Yosuke Masamoto, Tomohiko Sato, Shunya Arai and Mineo Kurokawa  
ASXL1 mutation induces MDS with derepression of p16Ink4a via aberrant histone modification by PRC1.  
The 79<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology  
Oral presentation (English)  
October 21<sup>th</sup>, 2017. Tokyo, Japan

5, Masahiro Uni, Yosuke Masamoto, Tomohiko Sato, Shunya Arai and Mineo Kurokawa  
ASXL1 mutation induces MDS with derepression of p16Ink4a via aberrant histone modification by PRC1.  
The 76<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Oncology  
Oral presentation (English)  
September 29<sup>th</sup>, 2017. Yokohama, Japan

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究分担者  
研究分担者氏名：  
ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。