

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16105

研究課題名(和文) EVI1発現異常に起因する血液疾患発症メカニズムにおけるMPLの重要性の解明

研究課題名(英文) Elucidate the importance of MPL in the pathogenesis of hematological diseases caused by abnormal EVI1 expression

研究代表者

片山 紗乙莉 (Katayama, Saori)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：50812278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：3番染色体逆位・転座による白血病は、血小板増多を伴うという特徴がある。この白血病では、EVI1遺伝子の過剰発現と、GATA2の発現低下が生じる。本研究はこの白血病において血小板増多がおこるメカニズムを、マウスを用いて解析した。EVI1遺伝子過剰発現により白血病発症前から巨核球およびその前駆細胞の増加がみられた。また、EVI1遺伝子過剰発現とGATA2遺伝子発現低下を同時に再現することで、巨核球・血小板増多を伴う白血病が再現された。本研究によって、EVI1遺伝子とGATA2遺伝子の協調作用によって、血小板増多を伴う白血病が発症することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

3番染色体長腕q21とq26との逆位・転座は、急性骨髄性白血病の約1-2%でみられ、予後不良因子として知られている。本研究ではこの予後不良白血病の特徴である巨核球・血小板増多を再現する系を確立した。巨核球は造血幹細胞の静止期維持や増殖の制御に関与していることが報告されており、巨核球が白血病幹細胞を静止期にとどめることが白血病の予後不良に関与している可能性が考えられる。本研究で確立した3q21q26-EVI1::Gata2+/gfpマウスモデルを活用してEVI1による巨核球分化の制御機構を知ることが予後不良の白血病の治療につながる知見をもたらすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Leukemia caused by chromosome 3 inversions/translocations is characterized by thrombocytosis. In this leukemia, overexpression of the EVI1 gene and decreased expression of GATA2 occur. In this study, we investigated the mechanism of thrombocytosis using a mouse model and found that overexpression of EVI1 caused an increase in megakaryocytes and their progenitors even before the onset of leukemia. In addition, the simultaneous reproduction of EVI1 gene overexpression and GATA2 gene downregulation reproduced leukemia with thrombocytosis. This study revealed that the EVI1 and GATA2 genes cooperatively leads to the development of leukemia with thrombocytosis.

研究分野：血液および腫瘍内科学

キーワード：EVI1 GATA2 巨核球 血小板 白血病

## 1. 研究開始当初の背景

*EVII* 遺伝子は造血幹細胞の維持に重要な役割を果たしており、*EVII* 遺伝子の機能欠失変異がヒト造血不全の原因として報告されている。一方、*EVII* 遺伝子の過剰発現は、極めて予後不良な急性骨髄性白血病の原因となることが知られており、その代表例が 3 番染色体長腕の 3q21 と 3q26 との間の転座および逆位を伴う急性骨髄性白血病である。この転座・逆位では、3q21 側に存在する *GATA2* 遺伝子のエンハンサーが、3q26 側に存在する *EVII* 遺伝子の近傍に移動することによって、*EVII* 遺伝子の高発現が誘導される。3q 転座・逆位による急性骨髄性白血病は巨核球・血小板増多を伴うことが特徴である。一方、*EVII* 遺伝子の機能欠失変異では先天性の血小板減少から造血不全が進行するように、*EVII* 遺伝子は巨核球造血に重要な働きを担っていることが推測されるがその詳細なメカニズムは解明されていない。

血小板産生を促進するサイトカインであるトロンボポエチンの受容体をコードする *MPL* 遺伝子の機能欠失変異は、先天性無巨核球性血小板減少症の原因として同定されており、*EVII* 遺伝子変異と同様、血小板減少症からやがて三系統の骨髄造血不全の病態を呈する。一方で、*MPL* 遺伝子の活性化型変異は骨髄増殖性腫瘍の原因として報告されており、*EVII* 遺伝子と *MPL* 遺伝子の発現異常は共に類似した病態をとる。*EVII* 遺伝子と *MPL* 遺伝子ともに巨核球造血において重要な因子であることは知られているが、互いの発現制御に関与しているのかなどのメカニズムについては不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、*EVII* 遺伝子異常による血液疾患発症メカニズムに *MPL* シグナルがどのように関与しているのかを含め、*EVII* 遺伝子による巨核球造血の制御機構を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

*EVII* 遺伝子の過剰発現による白血病発症機構の解析を目的として、3 番染色体逆位による *EVII* 遺伝子高発現白血病のモデルマウスである 3q21q26-*EVII* マウスの解析を行なった(図 1)。このマウスはヒト 3 番染色体逆位アレルを再現したトランスジーンを持ち、*GATA2* 遺伝子エンハンサーの制御下に、*EVII* 遺伝子を高発現する。また、ヒト 3q 転座・逆位による急性骨髄性白血病では転座・逆位アレルにおいて、*GATA2* 遺伝子が自身のエンハンサーを失うために、*GATA2* 遺伝子の発現が低下する。そこで、*GATA2* 発現低下を再現するために、*Gata2* 遺伝子ヘテロ欠失マウス (*Gata2*+/*gfp* マウス) と 3q21q26-*EVII* マウスとを交配して得られた 3q21q26-*EVII*::*Gata2*+/*gfp* マウスの解析を合わせて行なった。

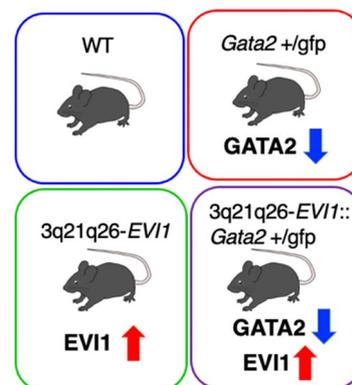


図 1 実験に用いたマウス

## 4. 研究成果

(1) *EVII* 遺伝子の過剰発現により巨核球・血小板数が増加し、*GATA2* 遺伝子発現低下により巨核球・赤血球系の前駆細胞の増加が促進された

3q21q26-*EVII* マウスは 24 週齢を超えると白血病を発症する。白血病発症前 12 週齢の末梢血血球数、骨髄細胞数について解析を行なったところ、野生型マウスと *Gata2*+/*gfp* マウスと比較して 3q21q26-*EVII* マウスと 3q21q26-*EVII*::*Gata2*+/*gfp* マウスでは末梢血血小板数

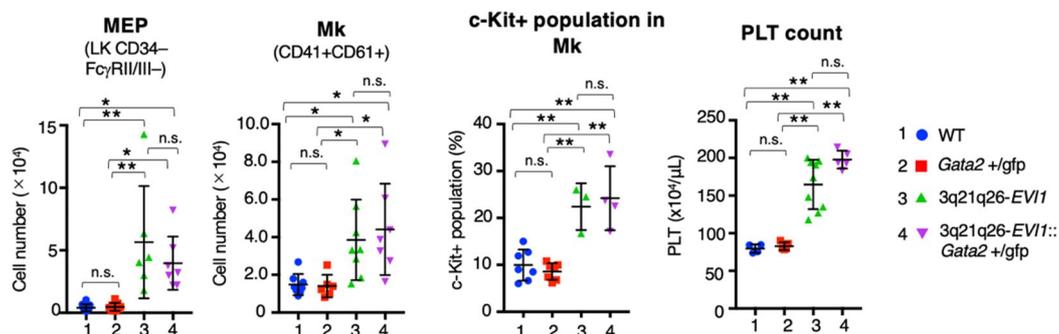


図 2 *EVII* 遺伝子高発現により血小板および巨核球系列の細胞が増加する

(PLT count)と骨髄巨核球数(Mk)が有意に増加しており、*EVII* 遺伝子の過剰発現により巨核球・血小板の増多が生じることがわかった(図2)。この増加は、未熟な巨核球(c-Kit+ positive population in Mk)や巨核球・赤血球共通前駆細胞(MEP)の段階から起こっていた。そこで、造血幹細胞・前駆細胞画分についてみると、3q21q26-*EVII* マウスでは多能性前駆細胞(MPP)の中でも骨髄系への分化バイアスを有するMPP3と赤芽球・巨核球系への分化バイアスを有するMPP2が増加していた。さらに3q21q26-*EVII*::*Gata2*+/*gfp* マウスでは3q21q26-*EVII* マウスと比較してMPP3には変化がないが、MPP2が増加する傾向があった。このことから*EVII* 遺伝子による巨核球造血にはGATA2も関与していることが示唆された。

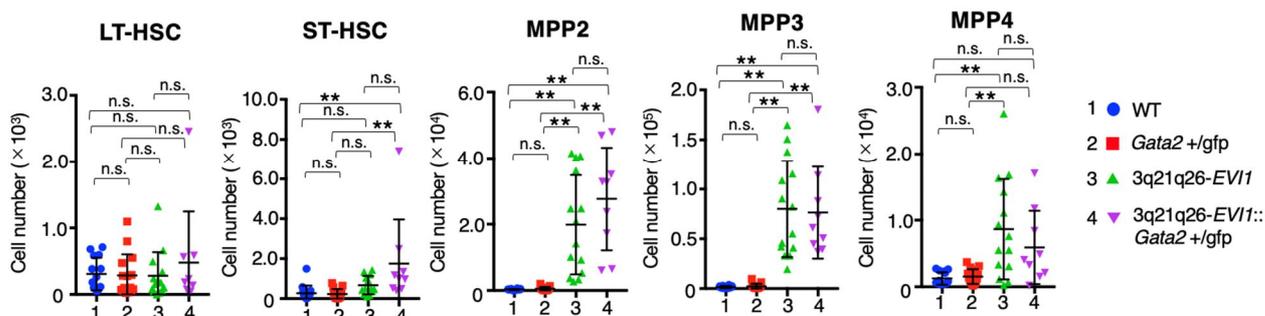


図3 *EVII* 遺伝子高発現により造血前駆細胞 MPP2 と MPP3 が増加する

(2) *EVII* 遺伝子の過剰発現と *GATA2* 遺伝子発現低下により巨核球・血小板数増多を伴う白血病の発症が促進された

3q21q26-*EVII* マウスは24週齢を超えると白血病を発症するが、白血病を発症した個体は血小板減少を伴うものが大部分である(図4)。一方で、3q21q26-*EVII*::*Gata2*+/*gfp* マウスでは血小板数増加を伴う白血病を発症する個体が多く、白血病発症時に血小板数が野生型マウスの血小板数の平均値より高値を示すものは3q21q26-*EVII* マウスと比較して6倍と多かった。血小板増多を示す個体では、骨髄中の巨核球数も増加していた。このことから*EVII* 遺伝子過剰発現による白血病での血小板数増加の病態には*GATA2* 遺伝子のハプロ不全も深く関与していることがわかった。白血病の発症時期は、血小板増多を伴うか否かによる差はみられなかった。現在、これらのマウスにおいてMPLシグナルの貢献を解析している。

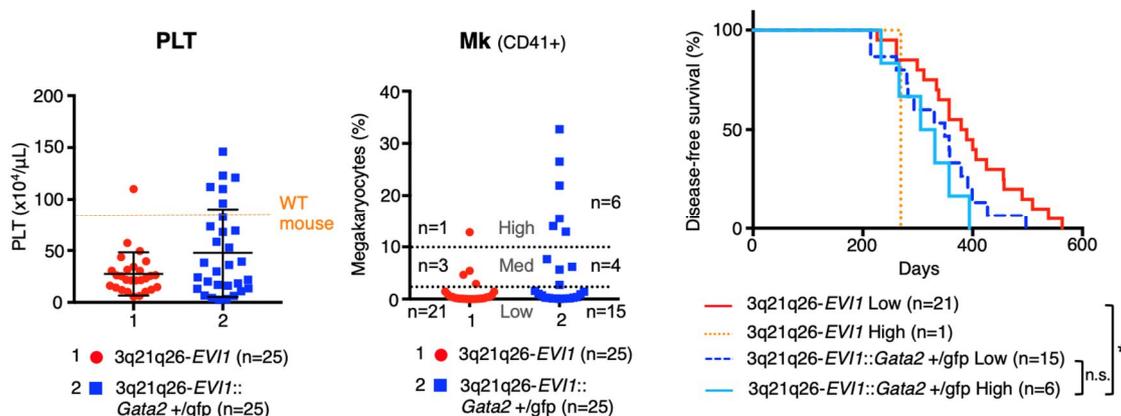


図4 *EVII* 遺伝子高発現と *GATA2* 遺伝子ヘテロ欠失により血小板増加を伴う白血病が発症する

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 1件）

1. 著者名 Ayaka Yamaoka Mikiko Suzuki, Saori Katayama, Daiki Orihara, James Douglas Engel and Masayuki Yamamoto	4. 巻 -
2. 論文標題 EVI1 and GATA2 misimpression induced by inv(3)(q21q26) contribute to megakaryocytic-lineage skewing and leukemogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 blood advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2019000978	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Mikiko, Katayama Saori, Yamamoto Masayuki	4. 巻 72
2. 論文標題 Two effects of GATA2 enhancer repositioning by 3q chromosomal rearrangements	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 IUBMB Life	6. 最初と最後の頁 159 ~ 169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/iub.2191	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 片山 紗乙莉、鈴木 未来子、笹原 洋二、呉 繁夫、山本 雅之	4. 巻 56
2. 論文標題 GATA2ハプロ不全はEVI1誘導性白血病の発症を促進する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本小児血液・がん学会雑誌	6. 最初と最後の頁 159 ~ 162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11412/jspho.56.159	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片山紗乙莉、鈴木未来子、山岡彩香、Nadine Keleku-Lukwete、勝岡史城、大槻晃史、呉繁夫、James Douglas Engel、山本雅之
2. 発表標題 GATA2ハプロ不全はEVI1誘導性白血病の発症を促進する
3. 学会等名 第14回血液学若手研究者勉強会（麒麟塾）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Saori Katayama, Mikiko Suzuki, Yoji Sasahara, Shigeo Kure and Masayuki Yamamoto
2. 発表標題 GATA2 haploinsufficiency accelerates EVI1-driven leukemogenesis in an inv(3)(q21q26) mouse model
3. 学会等名 第60回日本小児血液・がん学術集会
4. 発表年 2018年

〔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