

平成 22 年 4 月 15 日現在

研究種目：若手研究 (S)

研究期間：2007～2011

課題番号：19679004

研究課題名 (和文) 難治性造血器腫瘍の分子病態と治療標的の解明

研究課題名 (英文) Elucidation of molecular pathogenesis and therapeutic targets for refractory hematological malignancies

研究代表者 黒川 峰夫 (KUROKAWA MINEO)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：80312320

研究代表者の専門分野：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：白血病、造血幹細胞、白血病幹細胞、血液腫瘍学

1. 研究計画の概要

造血器腫瘍の治癒率を格段に向上させるためには、難治性造血器腫瘍の病態解明とそれに立脚した分子標的療法の開発が重要である。白血病細胞を生み出している白血病幹細胞は、抗がん剤も効きにくく、難治性の鍵を握ると考えられるが、不明な点が多い。そこで、本研究では、難治性白血病遺伝子の機能解明を通して、白血病幹細胞の存立機構を明らかにするとともに、実際の症例からも新たな難治性白血病の鍵分子を同定する。難治性造血器腫瘍の分子病態を統合的に解明し、画期的な新規分子標的療法の基盤を確立する。

2. 研究の進捗状況

(1) 個体造血の制御機構の解明

われわれはこれまでに条件的 Evi-1 欠失マウスを樹立・解析し、Evi-1 が造血幹細胞の維持に必須の遺伝子であることを示した。今回われわれはマイクロアレイを用いて、ノックアウトマウスの造血細胞で Evi-1 欠失により発現の変化する遺伝子をゲノムワイドに探索した。その結果、Evi-1 により発現が誘導される遺伝子として Pbx1 を同定した (Shimabe M, et al. Oncogene 28:4364-74, 2009)。Pbx1 は造血幹細胞に発現する遺伝子

であり、本研究は Evi-1 による Pbx1 制御が、造血幹細胞で重要な役割を果たす可能性を提起したものとして注目される。

(2) 白血病幹細胞の生成機構の解明

われわれは白血病マウスモデルを利用し、ドナーマウスに Evi-1 欠失マウスを用いると白血病の発症が遅延し、生存期間が有意に延長することを見いだした。このことは Evi-1 が個体レベルでの白血病発症に重要な役割を果たすことを示している (Goyama S, et al. Cell Stem Cell 3:207-20, 2008)。造血細胞のコロニー形成アッセイを用いて、Evi-1 による造血細胞の形質転換能を解析することができる。上で Evi-1 の標的として同定した Pbx1 を siRNA によりノックダウンすると、Evi-1 によるコロニー形成能は著明に減少し、Pbx1 が Evi-1 の白血病原性にも重要な役割を果たすことが明らかとなった。一方、われわれは Evi-1 がヒストンメチル化酵素 G9a および Suv39H1 と複合体を形成することを見いだした。そして Evi-1 導入骨髓細胞において G9a をノックダウンすると、コロニー形成能が著明に低下し、G9a もまた Evi-1 の白血病原性に重要な役割を果たしていることが明らかとなった (Goyama S, et al. Leukemia 22:1241-9, 2008)。

(3) 新規難治性白血病遺伝子の探索と同定白血病再発症例において、初発時の細胞と遺伝子発現を網羅的に比較した。再発例で高発現する遺伝子を同定し、現在その病態形成における意義を解析している。このように、われわれは遺伝子改変マウスモデルを用い、正常および白血病幹細胞の重要な制御機構を明らかにし、難治性である Evi-1 高発現白血病に対する治療標的を同定することができた。さらに、実際のヒト症例においても難治化に関わる重要な鍵因子を特定することができた。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

個体造血の制御機構の解明では、Evi-1 が成体の造血幹細胞に必須の遺伝子であることを明らかにし、Cell Stem Cell 誌に発表することができた。またこれは国際的なレビュー誌やメディアに取り上げられ、社会的にも注目を集めた。一方、造血細胞における Evi-1 の標的遺伝子として Pbx1 を同定したが、Pbx1 が造血だけでなく、Evi-1 の白血病原性にも深く関わることを見だし、予想以上の成果を得た。

Evi-1 による白血病発症機構の研究としては、個体白血病モデルでの Evi-1 の役割の証明をめざした。in vitro のコロニーアッセイで MLL-ENL や E2A-HLF 白血病における Evi-1 の重要性は示唆されていたが、一見 Evi-1 とは無関係な c-myc/bcl2 による白血病においても、Evi-1 が個体レベルで必要であることを見いだした。これは Evi-1 が Evi-1 陽性白血病のみならず、さらに広くさまざまな白血病の発症に重要な役割を果たすことを示しており、当初の予想を上回る成果である。

4. 今後の研究の推進方策

われわれは Evi-1 以外の難治性白血病遺伝子についても、条件的欠失マウスを作出し、現在解析を進めている。このように、マウスモデルとヒト症例から得られた知見を随時相互活用・統合しながら、難治性造血器腫瘍の分子病態と治療標的の解明という目標を達

成することをめざす。

5. 代表的な研究成果

(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 45 件)

Evi-1 interacts with histone methyltransferases SUV39H1 and G9a for transcriptional repression and bone marrow immortalization. Goyama S, Nitta E, Yoshino T, Kako S, Watanabe Okochi N, Shimabe M, Imai Y, Takahashi K, Kurokawa M. **Leukemia** 24:81-8, 2010.

Pbx1 is a downstream target of Evi-1 in hematopoietic stem/progenitors and leukemic cells. Shimabe M, Goyama S, Watanabe Okochi N, Yoshimi A, Ichikawa M, Imai Y, Kurokawa M. **Oncogene** 28:4364-74, 2009.

Evi-1 is a critical regulator for hematopoietic stem cells and transformed leukemic cells. Goyama S, Yamamoto G, Shimabe M, Sato T, Ichikawa M, Ogawa S, Chiba S, Kurokawa M. **Cell Stem Cell** 3:207-20, 2008.

AML1/Runx1 negatively regulates quiescent hematopoietic stem cells in adult hematopoiesis. Ichikawa M, Goyama S, Asai T, Kawazu M, Nakagawa M, Takeshita M, Chiba S, Ogawa S, Kurokawa M. **Journal of Immunology** 180:4402-8, 2008.

AML1-Evi-1 specifically transforms hematopoietic stem cells through fusion of the entire Evi-1 sequence to AML1. Takeshita M, Ichikawa M, Nitta E, Goyama S, Asai T, Ogawa S, Chiba S, Kurokawa M. **Leukemia** 22:1241-9, 2008.

[学会発表](計 15 件)