

平成 22 年 4 月 21 日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2007 ~2008  
 課題番号：19790737  
 研究課題名 (和文) MLLAF4 ファミリー融合蛋白の白血病発症機序に関する検討  
 研究課題名 (英文) Analysis of leukemogenic mechanism of MLL-AF4 family fusion protein  
 研究代表者  
 今村 俊彦 (Imamura Toshihiko)  
 京都府立医科大学・医学研究科・助教  
 研究者番号：30444996

## 研究成果の概要：

乳児急性リンパ性白血病において最も多く見られる、MLL-AF4 ファミリー融合蛋白の白血病発症機序についてレトロウイルス遺伝子発現系を用い解析した。本研究では MLL-AF4, MLL-AF5q31 について機能解析を行い、AF4 ファミリー蛋白に共通して保存されている C-terminal homology domain (CHD)がマウス造血幹細胞の不死化に必須の領域である事を明らかにした。また、本領域の機能としては、AF4CHD と AF5q31CHD 間の結合能を明らかにした。AF4, AF5q31 は ENL, hDot1L と結合し、H3K79dimethyltransferase 活性をもつ、蛋白複合体を形成する事が知られており、白血病発症との関わりについて、次期研究で検討中である。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	480,000	3,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：【1】 MLL 【2】 AF4 【3】 白血病発症機序 【4】 レトロウイルス 【5】 乳児白血病

## 1. 研究開始当初の背景

近年、小児の白血病の治療成績の向上は目覚ましいものがあるが、1歳未満発症の乳児白血病の予後は依然不良である。特に乳児期発症の急性リンパ性白血病 (infant ALL) は化学療法抵抗性であり、早期の造血幹細胞移植が唯一の根治的治療とされている。Infant

ALL の最大の特徴は MLL 遺伝子の再構成を伴う点であり、特に MLL-AF4 融合蛋白を発現している例が最多である。MLL-AF4 融合蛋白の白血病発症機序については、世界中で精力的に研究が進められているが現在のところ不明であり、その解明が急務である。

## 2. 研究の目的

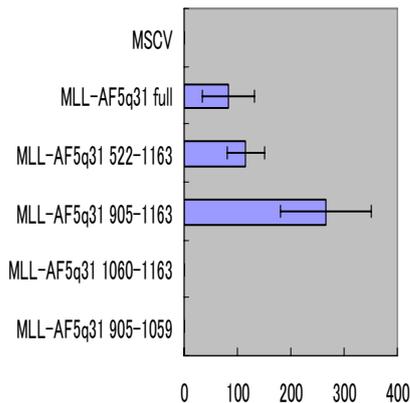
MLL-AF4 ファミリー融合遺伝子の白血病発症機序の検討を行い、AF4 ファミリー蛋白の白血病発症における役割を解明し、合わせてその分子標的療法への応用の可能性を探る。

## 3. 研究の方法

レトロウイルスベクターによる遺伝子発現系とコロニーアッセイの実験系を用いて、MLL-AF4 ファミリー蛋白のマウス造血幹細胞の不死化に関わる領域を同定し、その機能を解析する。

## 4. 研究成果

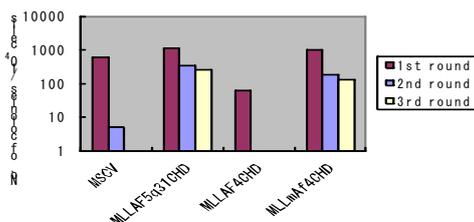
(1) レトロウイルスベクターを用い、MLL-AF5q31 融合蛋白をマウス造血幹細胞に発現させると、マウス造血幹細胞の不死化が起こる事をメチルセルロースを用いたコロニーアッセイの系で証明した (図1)。不死化能の獲得に重要な領域を同定するため、MLL-AF5q31 の deletion mutant による解析を行ったところ、AF5q31 905-1163 (CHD) が必要十分な領域である事が明らかとなった。



Number of colonies in tertiary passage / 10<sup>4</sup> cells

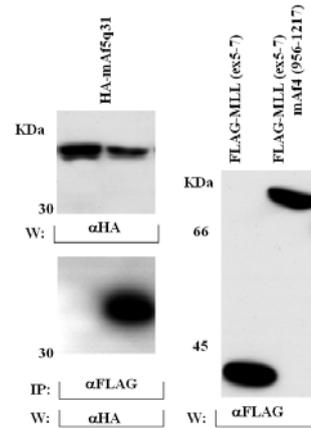
(図1)

(2) MLL-AF4 はマウス造血幹細胞を不死化する事はできないが、MLL-mAf4 はマウス造血幹細胞を不死化する事を明らかにした (図2)。また、不死化能の獲得には、mAf4 CHD 領域が必要十分である事を明らかにした。

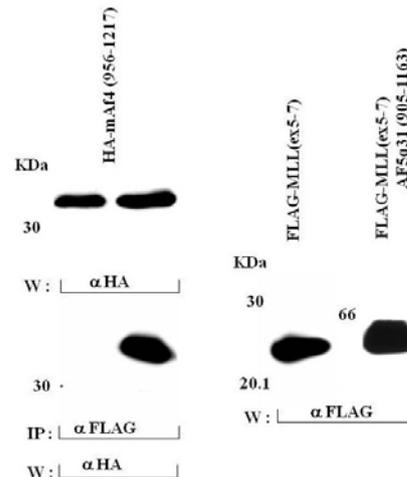


(図2)

(3) AF5q31 および mAf4 の CHD 領域 (905-1163, mAf4 956-1217) は mAf4 / の heterodimer を形成する上で重要な事を、免疫沈降法にて明らかにし (3, 4)



(図3)



(図4)

## 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 10 件)

- Morimoto A, Imamura T, Ishii R, Nakabayashi Y, Nakatani T, Sakagami J, Yamagami T. Successful management of severe L-asparaginase-associated pancreatitis by continuous regional arterial infusion of protease inhibitor and antibiotic. *Cancer*. 113(6): 1362-1369, 2008
- Nakatani T, Imamura T, Ishida H, Wakaizumi

- K, Yamamoto T, Otabe O, Ishigami T, Adachi S, Morimoto A. Frequency and clinical features of the JAK2 V617F mutation in pediatric patients with sporadic essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer* 51(6): 802-5, 2008
3. Yagyu S, Gotoh T, Iehara T, Miyachi M, Katsumi Y, Tsubai-Shimizu S, Kikuchi K, Tamura S, Tsuchiya K, Imamura T, Misawa-Furihata A, Sugimoto T, Sawada T, Hosoi H. Circulating methylated-DCR2 gene in serum as an indicator of prognosis and therapeutic efficacy in patients with MYCN nonamplified neuroblastoma. *Clin Cancer Res.* 14(21): 7011-9, 2008
  4. Furutani A, Imamura T, Ueda I, Takanashi M, Hirashima Y, Nakatani T, Inaba T, Morimoto A. Hemophagocytic lymphohistiocytosis during maintenance treatment of precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol.* 88(5): 610-2, 2008
  5. Yoshida H, Ishida H, Yoshihara T, Kamesaki T, Kuwana M, Imamura T, Morimoto A. Complications of Evans' syndrome in an infant with hereditary spherocytosis: a case report. *J Hematol Oncol.* 10;2(1):40. 2009
  6. Imashuku S, Kinugawa N, Matsuzaki A, Kitoh T, Ohki K, Shioda Y, Tsunematsu Y, Imamura T, Morimoto A; Japan LCH Study Group. Langerhans cell histiocytosis with multifocal bone lesions: comparative clinical features between single and multi-systems. *Int J Hematol.* 90 (4): 506-512, 2009.
  7. My LT, Lien LB, Hsieh WC, Imamura T, Anh TN, Anh PN, Hung NT, Tseng FC, Chi CY, Dao NT, Le DT, Thinh LQ, Tung TT, Imashuku S, Thuong TC, Su IJ. Comprehensive analyses and characterization of haemophagocytic lymphohistiocytosis in Vietnamese children. *Br J Haematol.* 148(2): 301-310, 2010
  8. Zhao M, Kanegane H, Ouchi K, Imamura T, Latour S, Miyawaki T. A novel XIAP mutation in a Japanese boy with recurrent pancytopenia and splenomegaly. *Haematologica.* 95(4): 688-689, 2010.
  9. Imashuku S, Shioda Y, Tsunematsu Y, Imamura T, Morimoto A; Japan LCH Study Group. VCR/AraC chemotherapy and ND-CNS-LCH. *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Mar 22. [Epub ahead of print]
  10. Imamura T, Sato T, Shiota Y, Kanegane H, Kudo K, Nakagawa S, Nakadate H, Tauchi H, Kamizono J, Morimoto A. Outcome of pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis treated with 2 chlorodeoxyadenosine: a nationwide survey in Japan. *Int J Hematol.* 2010 Apr 2. [Epub ahead of print]
- [学会発表] (計 33 件)
1. Fujiki A, Imamura T, Hirashima Y, Miyachi M, Yagyu S, Nakatani T, Sugita K, Hosoi H: Monocytic differentiation of myeloid leukemia cell lines induced by ATRA and 5-Aza-2'-Deoxycytidine. American Society of Hematology, 51st Annual Meeting. 2009.12.5-8; New Orleans, Louisiana, U.S.A.
  2. Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Kanegane H, Sato T, Kudo K, Nakagawa S, Nakadate N, Tauchi H, Nagatoshi Y, Kinoshita A, Miyaji R, Asano T, Yabe M, Kamizono J: Bisphosphonate therapy for children with Langerhans cell histiocytosis:

- A Nationwide survey in Japan. 25th Annual Meeting of the Histiocyte Society. 2009.9.15-17; Bilbao, Spain.
3. 今村俊彦. C-terminal region of AF5q31 is required for immortalization activity of MLL-AF5q31. 第10回乳児白血病講演会. 東京. 2007.4.14.
  4. 今村俊彦, Luo Roger, Thirman Michael. MLL-GPHN融合蛋白の白血病発症機序の検討. 第110回日本小児科学会. 京都. 2007.4.21.
  5. 中谷拓也, 今村俊彦, 若泉克次, 小田部修, 石田宏之, 山本徹, 森本哲. JAK2 遺伝子 V617F 解析を行った本態性血小板血症の4例. 第49回日本小児血液学会. 仙台. 2007.12.15.
  6. 平嶋良章, 中谷拓也, 今村俊彦, 森本哲, 東道伸二郎. B前駆型ALLの維持療法中に発症したITPの一例. 第49回日本小児血液学会. 仙台. 2007.12.15.
  7. 東道公人, 矢野未央, 久保田樹里, 伊藤陽里, 渡部玉蘭, 長村敏生, 清澤伸幸, 今村俊彦, 森本哲, 上田モオセ, 今宿晋作. ヘリコバクターピロリ感染と委縮性胃炎を伴い重度鉄欠乏性貧血を示した1女児例. 第49回日本小児血液学会. 仙台. 2007.12.14.
  8. 東道公人, 篠塚健, 長村敏生, 清澤伸幸, 今村俊彦, 森本哲, 東道伸二郎, 柏木浩和, 富山佳昭, 今宿晋作. PAIgG高値を認めたGPVI欠損症の1女児例. 第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会. 横浜. 2007.10.12.
  9. 中谷拓也, 今村俊彦, 柴田真弓, 平嶋良章, 森本哲, 細井創. 寛解導入療法直後にL-asparaginase関連脂肪性肝炎をきたしたALLの1例. 第50回日本小児血液学会. 幕張. 2008.11.14.
  10. 平嶋良章, 今村俊彦, 青木智史, 浅井大介, 中谷拓也, 大曾根眞也, 野崎友子, 石田宏之, 吉原隆夫, 森本哲, 細井創. 7番染色体の異常を伴い治療に難渋したALLの2例. 第50回日本小児血液学会. 幕張. 2008.11.14.
  11. 平嶋良章, 今村俊彦, 中谷拓也, 石田宏之, 吉原隆夫, 黒田啓史, 今宿晋作, 細井創, 森本哲. Biphenotypic acute leukemiaの3例. 第70回日本血液学会. 京都. 2008.10.10.
  12. 藤木敦, 今村俊彦, 古谷明代, 羽多野わか, 平嶋良章, 中谷拓也, 宮地充, 柳生茂希, 土屋邦彦, 家原知子, 細井創. 左卵巣腫瘍治療後に発症したMOZ-CBP陽性の急性骨髄性白血病の1女児例. 第50回日本小児血液学会. 幕張. 2008.11.14.
  13. 石田宏之, 古川奈央子, 堀雅之, 田村真一, 内藤岳史, 吉原隆夫, 今村俊彦, 森本哲. 小児造血細胞移植後のタクロリムス投与量および血中濃度の経時的変化と急性GVHD. 第50回日本小児血液学会. 幕張. 2008.11.15.
  14. 北村綾香, 大曾根眞也, 坂本謙一, 古川泰平, 勝見良樹, 今村俊彦, 黒田啓史: 広汎な骨髄壊死を伴った、急性リンパ性白血病の1例. 第50回日本小児血液学会. 幕張. 2008.11.14.
  15. 早川貴裕, 森本哲, 柏井良文, 郡司勇治, 四元茂, 今村俊彦, 桃井真里子. 血球貪食性リンパ組織球症(HLH)で発症したB前駆細胞型ALLの1例. 第50回日本小児血液学会. 幕張. 2008.11.14.
  16. 今村俊彦, 森本哲, 古谷明代, 柴田真弓, 森岡茂巳, 平嶋良章, 中谷拓也, 細井創. 2-chlorodeoxyadenosine (2-CdA)と6-MPの併用療法が有効であった難治性ランゲルハンス細胞組織球症の一例. 第28回LCH研究会. 大阪. 2009.3.28.
  17. 神菌淳司, 今村俊彦, 金兼弘和, 工藤寿子, 佐藤貴, 塩田曜子, 田内久道, 中川慎一郎, 仲舘尚也, 森本哲. LCH骨病変・再発症例に対するBisphosphonateとCOX II inhibitor併用療法 ~JPLSG・LCH委員会全国アンケート調査結果と臨床研究の問題点~. 第28回LCH研究会. 大阪. 2009.3.28.
  18. 藤木敦, 今村俊彦, 羽多野わか, 古谷明代, 平嶋良章, 中谷拓也, 柳生茂希, 土屋邦彦, 家原知子, 細井創. Real time PCR analysis of the MOZ-CBP fusion transcript

- in therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13). 第 12 回日本乳児白血病講演会. 東京. 2009.4.11.
19. 羽多野わか, 古谷明代, 今村俊彦, 平嶋良章, 中谷拓也, 内藤岳史, 石田宏之, 吉原隆夫, 森本哲, 細井創. Nelarabineを含む多剤併用化学療法が著効した再発 T-ALL の 1 例. 第 112 回日本小児科学会. 奈良. 2009.4.18.
  20. 今村俊彦, 佐藤貴, 塩田曜子, 金兼弘和, 工藤寿子, 中川慎一郎, 仲舘尚哉, 田内久道, 神菌淳司, 森本哲. 本邦におけるランゲルハンス細胞組織球症に対する 2-chlorodeoxyadenosine の治療成績. 第 51 回日本小児血液学会. 東京. 2009.11.27.
  21. 平嶋良章, 今村俊彦, 中谷拓也, 藤木敦, 宮地充, 細井創, Luo RT, Thirman MJ. レトロウイルス遺伝子発現系を用いた *MLL-AF4* 融合遺伝子の機能解析. 第 51 回日本小児血液学会. 東京. 2009.11.27.
  22. 藤木敦, 今村俊彦, 平嶋良章, 宮地充, 柳生茂希, 中谷拓也, 杉田完爾, 細井創. *MLL* 再構成陽性急性骨髄性白血病細胞株における ATRA, 5-Aza 併用による分化誘導療法の試み. 第 71 回日本血液学会. 京都. 2009.10.24.
  23. 藤木敦, 今村俊彦, 吉田秀樹, 平嶋良章, 田村真一, 大曾根眞也, 石田宏之, 吉原隆夫, 黒田啓史, 森本哲, 日比成美, 東道伸二郎, 今宿晋作, 細井創. 当院における急性リンパ性白血病中枢神経系単独再発例のまとめ. 第 51 回日本小児血液学会. 東京. 2009.11.27.
  24. 柴田真弓, 今村俊彦, 吉田路子, 波多野わか, 古谷明代, 戸澤雄紀, 矢野未央, 平嶋良章, 千代延友裕, 石井るみ子, 貫名貞之, 森本哲, 細井創. 難治性慢性血小板減少症に対し Rituximab 投与を行った 3 例. 第 51 回日本小児血液学会. 東京. 2009.11.28.
  25. 東道公人, 藤本一途, 幸道和樹, 山本茜, 大前禎毅, 長村敏生, 猪田浩理, 杉本充彦, 嶋緑倫, 清沢伸幸, 今村俊彦. 抜歯後の止血困難を契機に診断された後天性血友病 A の 1 女児例. 第 51 回日本小児血液学会. 東京. 2009.11.28.
  26. 石田宏之, 内藤岳史, 堀雅之, 古川奈央子, 田村真一, 吉原隆夫, 森本哲, 今村俊彦. 骨髄移植により完全キメラ達成後も長期造血不良のため PBSC boost を必要とした再生不良性貧血. 第 51 回日本小児血液学会. 東京. 2009.11.29.
  27. 大曾根眞也, 田畑千尋, 橋本有紀子, 河北重希子, 中島文明, 今村俊彦, 黒田啓史. 骨髄非破壊的前処置を用いて臍帯血移植を行なった Kostmann 症候群の 1 例. 第 31 回日本造血細胞移植学会, 札幌, 2009.2.6.
  28. 田村真一, 石田宏之, 吉原隆夫, 今村俊彦, 近藤統, 井上雅美, 河敬世. 重度のうつ状態を伴い重症蛋白露出性胃腸症を呈した消化管 GVHD に対して infliximab を投与した CAEBV の 1 例. 第 32 回日本造血幹細胞移植学会. 浜松. 2010.2.20.
  29. 古谷明代, 今村俊彦, 波多野わか, 平嶋良章, 千代延友裕, 内藤岳史, 石田宏之, 吉原隆夫, 森本哲, 細井創. Rituximab が奏効した薬剤性脾炎合併慢性 GVHD の男児例. 第 32 回日本造血幹細胞移植学会. 浜松. 2010.2.20.
  30. 宮地充, 浅井大介, 八木加奈恵, 柳生茂希, 菊地颯, 土屋邦彦, 今村俊彦, 家原知子, 細井創. 自己造血幹細胞移植後に発症した conditioning associated hemolytic uremic syndrome (HUS) の 3 小児例. 第 32 回日本造血幹細胞移植学会. 浜松. 2010.2.20.
  31. 大内一孝, 今村俊彦, 細井創, 納谷真由美, 金兼弘和, 趙美娜, 宮脇利男. XIAP 欠損症 (X連鎖性リンパ増殖性疾患 2 型) の 1 例. 第 3 回日本免疫不全症研究会. 東京. 2010.1.30.
  32. 大内一孝, 今村俊彦, 納谷真由美, 金兼弘和, 趙美娜, 宮脇利男, 細井創. XIAP 欠損症 (X連鎖性リンパ増殖 2 型) の 1 例.

第 6 回血球貪食症候群研究会. 東京.  
2010.3.6.

33. 今村俊彦. LCHに対する 2-CdA療法. 第  
30 回LCH研究会. 東京. 2010.3.27.

〔図書〕 (計 1 件)

1. 今村俊彦. 3 ヶ月健診で顔色不良と肝脾  
腫を指摘された女兒. *New* 専門医を目指  
すケース・メソッド・アプローチ 3 血液  
疾患. 嘉数直樹, 岡本真一郎 編, 143-151.  
日本医事新報, 東京, 2010.3.1.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

今村 俊彦 (Imamura Toshihiko)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号 : 30444996