

令和 4 年 4 月 28 日現在

機関番号：14202
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2019～2021
課題番号：19K08811
研究課題名(和文)急性白血病におけるスーパーエンハンサーを介した転写因子ネットワーク異常の解明

研究課題名(英文)Alteration of transcription network via super-enhancer in acute leukemia

研究代表者
河原 真大(Kawahara, Masahiro)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：80617449
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：急性白血病は予後不良の疾患で、新たな治療法開発にむけた病態の解明が必要である。転写因子がネットワークを作って血球産生を調節するが、その異常は急性白血病の原因となる。本研究では、転写因子同士のネットワークがスーパーエンハンサーと呼ばれる遺伝子発現調節領域を介して行われることを明らかにした。さらに、スーパーエンハンサーの異常な抑制や変異が転写因子ネットワークを壊して急性白血病発症の一因となることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ヒトの設計図とされるゲノムには、遺伝子をコードする部分(CDS領域)とそれ以外(非CDS領域)の部分がある。これまで白血病の発症には、CDS領域の変異により遺伝子の機能がおかしくなることが重要とされてきた。一方でCDS領域は全ゲノムの約2%未満に過ぎず、非CDS領域の異常については解明が進んでいなかった。今回の研究で、非CDS領域の特定の部分に異常があると、遺伝子そのものに異常がなくとも遺伝子同士のネットワークがおかしくなって白血病の発症に関与することが明らかとなった。そしてその異常を是正する薬剤が白血病治療に役立つ可能性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Acute leukemia is a disease with a poor prognosis, and it is necessary to elucidate the pathophysiology for the development of new treatment methods. Transcription factors form a network to regulate blood cell production, whereas the abnormalities cause acute leukemia. In this study, we revealed that the network of transcription factors is mediated by a gene expression regulatory region called a super-enhancer. Furthermore, it was clarified that abnormal suppression and mutation of super-enhancers disrupt the transcription factor network and contribute to the development of acute leukemia.

研究分野：Hematology

キーワード：Leukemia Transcription Factor Super-enhancer

1. 研究開始当初の背景

急性白血病の主病態は、造血幹細胞・前駆細胞レベルでの、分化異常・増殖亢進・自己複製能力亢進である。特に、造血分化や自己複製は、複数のマスター転写因子が相互に影響しあう「転写因子ネットワーク」により支配される。最近、マスター転写因子の発現調節は、「スーパーエンハンサー(Super-Enhancer; SE)」の制御を介して行われることが明らかになった。SEとは、遺伝子発現を調節するエンハンサーが密集する遺伝子非コードゲノム領域で、エピゲノム機構の一つであるヒストン修飾によって主に制御される。さらに、SE内には転写因子結合モチーフが存在するので、SE自身もマスター転写因子によって制御される。つまり、転写因子ネットワークの調節は、マスター転写因子群がヒストン修飾因子と協調して別のマスター転写因子のSEを制御することで行われていると考えられる。

最近我々は、赤血球系幼弱細胞において、赤血球分化に必須のマスター転写因子 GFI1B が、抑制性ヒストン修飾因子 LSD1 と複合体を形成し、幹細胞性を司るマスター転写因子 ERG や好中球分化に必須のマスター転写因子 GFI1 のSEを抑制して、その発現を抑制することを明らかにした(Oncotarget 9:21007-21021 (2018))。すなわち、転写因子間拮抗作用(クロス・アンタゴニズム)には、マスター転写因子と LSD1 が協調して、拮抗する別のマスター転写因子のSEを抑制することが重要であることが示唆された。また、現在世界中で LSD1 阻害剤の開発が進められ、そのいくつかは急性白血病に対する治療薬として臨床研究段階に到達している。

しかしながら、SE制御異常が急性白血病発症の直接のトリガーとなるのか?については未解決のままである。

2. 研究の目的

以上の背景を踏まえて、本研究の主目的はSEの制御異常による白血球発症機構を解明することとした。具体的には次の2点を明らかにすることを目標とした。

「マスター転写因子のSEの欠失」が、白血球発症に寄与すること。

「キメラ転写因子 - ヒストン修飾因子 LSD1 相互作用」によるマスター転写因子のSE抑制が、白血球発症に寄与すること

3. 研究の方法

SE欠失細胞の作成と解析

先述の通り同定したマスター転写因子 GFI1 のSE(GFI1-SE)をCRISPR-CAS9で欠失させた白血球細胞を作成し、分化誘導や遺伝子発現プロファイリングを解析した。

キメラ転写因子陽性白血球の全ゲノム解析

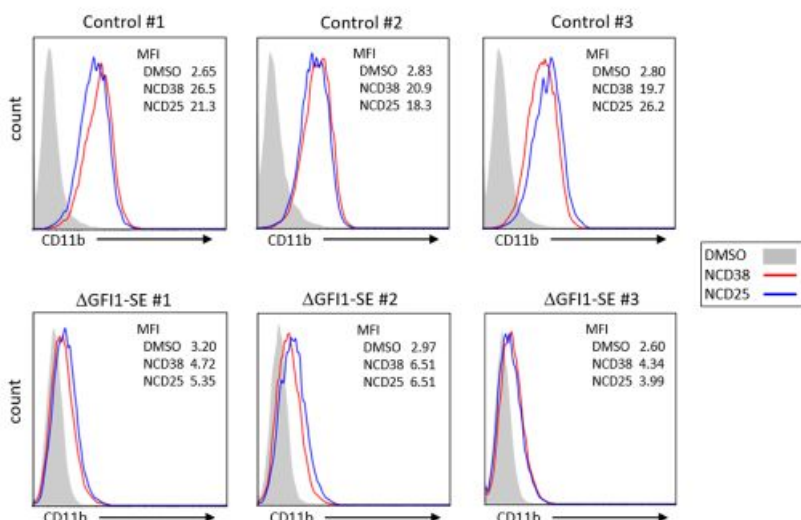
マスター転写因子である ERG が関わるキメラ転写因子 FUS-ERG 陽性で骨髄異形成症候群から急性白血球に進展した症例において全ゲノム解析を行った。

4. 研究成果

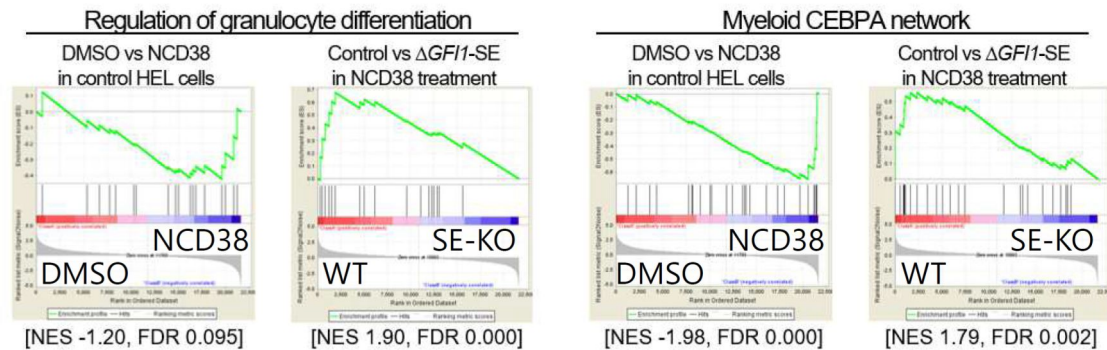
SE欠失細胞の作成と解析

赤白血球細胞株 HEL において GFI1-SE を CRISPR-CAS9 で欠失させた細胞株を樹立した。この細胞株に LSD1 阻害剤(NCD25 ないし NCD38)を作用させると、抗白血球効果が減弱し、好中球への分化誘導が減弱した。

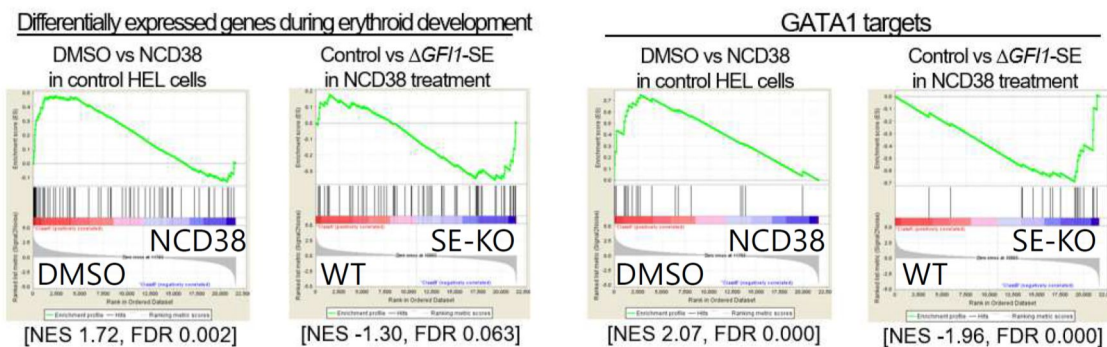
<Myeloid differentiation: CD11b>



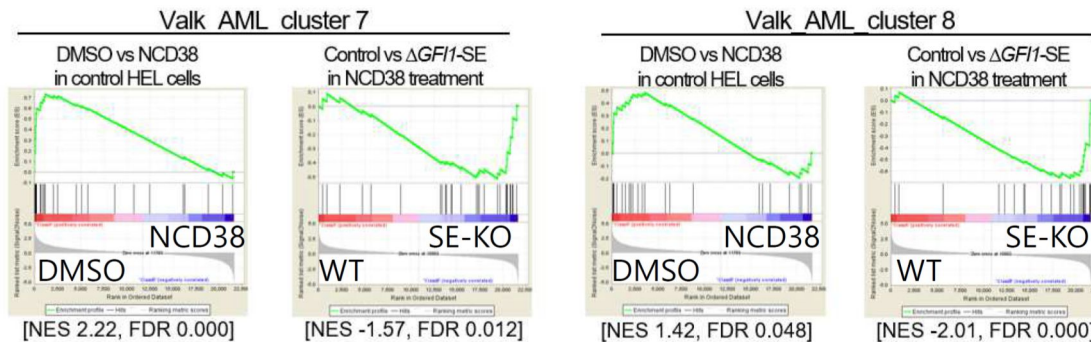
次に、遺伝子プロファイリング解析を行った。LSD1 阻害剤(NCD38)によって誘導される顆粒球分化に関わる分子群や顆粒球分化に必須の転写因子 CEBPA によって影響を受ける分子群が、GF11-SE をノックアウトすると誘導されなくなった。



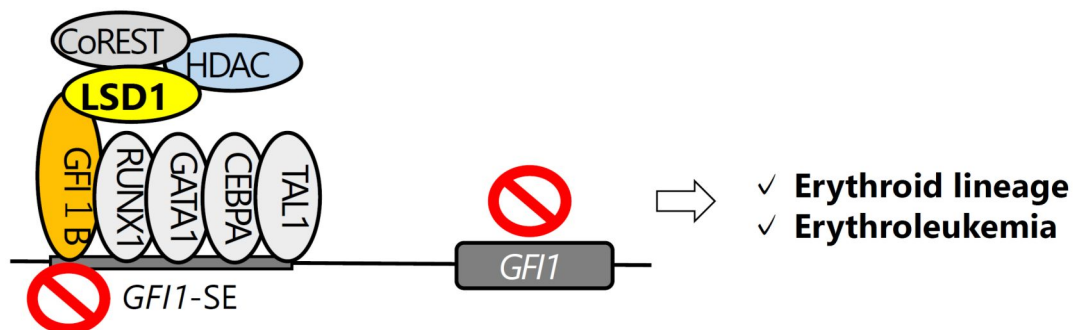
一方で、赤血球系統への分化中に発現してくる分子群や赤血球分化に必須の転写因子 GATA-1 によって影響を受ける分子群は、LSD1 阻害剤によって抑制されるどころ、GF11-SE をノックアウトすると抑制されなくなった。



さらに、Valk らによる急性骨髄性白血病の遺伝子発現パターンに関する報告において赤白血病が多く分類される cluster を特徴づける分子群が LSD1 阻害剤で抑制されるどころ、GF11-SE をノックアウトすると抑制されなくなった。



以上のことから、GF11-SE は、少なくとも赤白血病を維持する上で重要なゲノム領域であり、GF11B を中心とした転写因子群が LSD1 らゲノム修飾因子と協調して制御を受けていることが明らかとなった。



キメラ転写因子陽性白血病の全ゲノム解析

最近我々は、予後不良とされる転座 t(16;21)により発生する転写因子 ERG が関連する融合遺伝子 FUS-ERG を有する MDS から AML M7 に転化した興味深い症例を経験した。初診時と AML 時の全ゲノムシーケンスを行い比較したところ、遺伝子がコードされる領域内に 29 個のミスセンス変異が新たに加わっていることが判明した。BCOR などの既知の遺伝子変異も含まれていたが、M7 との関連性は不明であった。また、非コードゲノム領域内の転写因子結合領域に 100 以上の変異が確認された。特に GATA や CEBPB, TAL1 などの転写因子結合領域の変異が多く含まれていた。さらにこれらのいくつかは、SE のマーカーである H3K27ac のデータベース上の集積部位と合致していた。以上の結果から、SE 上の変異が AML 発症に関与している可能性が窺われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Andoh Akira, Kawahara Masahiro, Imai Takayuki, Tatsumi Goichi, Inatomi Osamu, Kakuta Yoichi	4. 巻 56
2. 論文標題 Thiopurine pharmacogenomics and pregnancy in inflammatory bowel disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 881 ~ 890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-021-01805-z	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 Imai T., Kawahara M., Tatsumi G., Yamashita N., Nishishita-Asai A., Inatomi O., Masamune A., Kakuta Y., Andoh A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Thiopurine Use During Pregnancy Has Deleterious Effects on Offspring in Nudt15R138C Knock-In Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 335 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2021.03.006	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 Yokota Yoshihiro, Inatomi Osamu, Nakagawa Minami, Kakuda Kazuki, Hiroe Kousuke, Sakai Shigeki, Osaki Rie, Iwasa Masaki, Kawahara Masahiro, Kito Katsuyuki, Andoh Akira, Bamba Hiromichi	4. 巻 60
2. 論文標題 Acquired Coagulation Factor V Inhibitor That Was Successfully Treated with Oral Corticosteroid Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2663 ~ 2666
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.7453-21	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 Nishino Kyohei, Nishida Atsushi, Inatomi Osamu, Imai Takayuki, Kume Shinji, Kawahara Masahiro, Maegawa Hiroshi, Andoh Akira	4. 巻 68
2. 論文標題 Targeted deletion of Atg5 in intestinal epithelial cells promotes dextran sodium sulfate-induced colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 156 ~ 163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcbrn.20-90	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 Sugitani Yoshihiko, Inoue Ryo, Inatomi Osamu, Nishida Atsushi, Morishima So, Imai Takayuki, Kawahara Masahiro, Naito Yuji, Andoh Akira	4. 巻 68
2. 論文標題 Mucosa-associated gut microbiome in Japanese patients with functional constipation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 187 ~ 192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.20-93	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 Nishino, K., Nishida, A., Inatomi, O., Imai, T., Kume, S., Kawahara, M., Maegawa, H., Andoh, A.	4. 巻 68
2. 論文標題 Targeted deletion of Atg5 in intestinal epithelial cells promotes dextran sodium sulfate-induced colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 156-163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.20-90	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 Sugitani, Y., Inoue, R., Inatomi, O., Nishida, A., Morishima, S., Imai, T., Kawahara, M., Naito, Y., Andoh, A.	4. 巻 68
2. 論文標題 Mucosa-associated gut microbiome in Japanese patients with functional constipation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 187-192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.20-93	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 Murata, M., Inatomi, O., Ono, K., Imai, T., Iwasa, M., Kawahara, M., Kito, K., Andoh, A.	4. 巻 13
2. 論文標題 A case of life-threatening small intestinal bleeding accompanied by lower coagulation factor XIII activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1178-1182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-020-01195-4	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 Sugitani, Y., Nishida, A., Inatomi, O., Ohno, M., Imai, T., Kawahara, M., Kitamura, K., Andoh, A.	4. 巻 55
2. 論文標題 Sodium absorption stimulator prostasin (PRSS8) has an anti-inflammatory effect via downregulation of TLR4 signaling in inflammatory bowel disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 408-417
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-019-01660-z	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 Tatsumi G, Kawahara M*, Yamamoto R, Hishizawa M, Kito K, Suzuki T, Takaori-Kondo A, Andoh A	4. 巻 34
2. 論文標題 LSD1-mediated repression of GF11 super-enhancer plays an essential role in erythroleukemia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 746-758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-019-0614-6.	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 Tatsumi G, Kawahara M*, Imai T, Nishishita-Asai A, Nishida A, Inatomi O, Yokoyama A, Kakuta Y, Kito K, Andoh A	4. 巻 34
2. 論文標題 Thiopurine-mediated impairment of hematopoietic stem and leukemia cells in Nudt15R138C knock-in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 882-894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-019-0583-9.	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 Andoh A, Inoue R, Kawada Y, Morishima S, Inatomi O, Ohno M, Bamba S, Nishida A, Kawahara M, Naito Y	4. 巻 65
2. 論文標題 Elemental diet induces alterations of the gut microbial community in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Clin. Biochem. Nutr.	6. 最初と最後の頁 118-124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcbrn.19-8.	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 浅井愛、田代晴加、雑賀渉、口分田美奈、永井詩穂、岩佐磨佐紀、藤城綾、西村理恵、河原真大、南口仁志、北村憲一、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 t(16;21) (p11;q22)を認めたAMLとMDSの2症例
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西村理恵、田代晴加、雑賀渉、口分田美奈、永井詩穂、浅井愛、岩佐磨佐紀、藤城綾、河原真大、南口仁志、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 当院で経験した特発性多中心性 キャッスルマン病の 4 症例
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 口分田美奈、田代晴加、雑賀渉、岩佐磨佐紀、藤城綾、西村理恵、河原真大、南口仁志、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 中枢神経病変を伴う悪性リンパ腫に対するR-MPV療法の6症例
3. 学会等名 第118回日本内科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今井隆行、河原真大、稲富理、角田洋一、安藤朗
2. 発表標題 マウスモデルからみたNUDT15遺伝子多型と妊娠中のチオプリン服用
3. 学会等名 第12回日本炎症性腸疾患学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下典亮、今井隆行、河原真大、馬場重樹、稲富理、安藤朗
2. 発表標題 潰瘍性大腸炎患者におけるDrug-tolerant assayを用いたベドリズマブ免疫原性の検討
3. 学会等名 第12回日本炎症性腸疾患学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 磯野哲一郎、平大樹、河原真大、稲富理、安藤朗、寺田智祐、森田真也
2. 発表標題 チオプリン製剤投与患者におけるNUDT15遺伝子多型c.416G>A (Arg139His) 変異の臨床的影響
3. 学会等名 第12回日本炎症性腸疾患学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤城綾、雑賀渉、口分田美奈、川畑徳浩、岩佐磨佐紀、西村理恵、河原真大、南口仁志、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫を発症したモルキオ症候群の1例
3. 学会等名 第115回近畿血液学地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿部和樹、白井亜沙子、川畑徳浩、岩佐磨佐紀、藤城綾、西村理恵、河原真大、南口仁志、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 難治性皮膚原発末梢性T細胞リンパ腫・非特定型に対して全身皮膚電子線照射が有効であった症例
3. 学会等名 第115回近畿血液学地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田代晴加、岩佐磨佐紀、雑賀渉、寺本由加子、永井詩穂、浅井愛、藤城綾、西村理恵、河原真大、南口仁志、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 当院で経験した本態性血小板血症合併妊娠の3例
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田代晴加、藤城綾、永井詩穂、浅井愛、岩佐磨佐紀、西村理恵、河原真大、南口仁志、木藤克之、安藤朗
2. 発表標題 当院で経験したIgD- 型多発性骨髄腫の4症例
3. 学会等名 第117回日本内科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今井隆行、河原真大、辰巳剛一、大野将司、稲富理、角田洋一、安藤朗
2. 発表標題 NUDT15遺伝子多型を有するチオプリン による骨髄抑制は造血幹細胞の障害を引き起こす
3. 学会等名 第57回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Goichi Tatsumi, Masahiro Kawahara, Takayuki Imai, Ai Nishishita-Asai, Atushi Nishida, Osamu Inatomi, Akihiko Yokoyama, Yoichi Kakuta, Katsuyuki Kito, and Akira Andoh
2. 発表標題 Thiopurine-mediated impairment of hematopoietic stem and progenitor cells in NUDT15R138C knock-in mice and potentiality of Nudt15 genotype-based precision medicine for acute leukemia.
3. 学会等名 The 24th European hematology association (EHA) congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saika W, Tashiro H, Teramoto Y, Nagai S, Iwasa M, Asai A, Fujishiro A, Nishimura R, Kawahara M, Minamiguchi H, Moritani S, Kito K, Andoh A.
2. 発表標題 BCL-2 expression in acute myeloid leukemia and blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019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
研究協力者	辰巳 剛一 (Tatsumi Goichi)		
研究協力者	安藤 朗 (Andoh Akira)		

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
---------	---------