

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17876

研究課題名（和文）DNAメチル化制御の異常がもたらす骨髄増殖性腫瘍の機能解明

研究課題名（英文）Elucidation of mechanism of myeloproliferative neoplasm induced by abnormal DNA methylation

研究代表者

宮井 優里奈（宮島優里奈）（Miyai, Yurina）

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・特別研究員

研究者番号：70838218

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）：本研究では、骨髄増殖性腫瘍(MPN)発症に至るまでの骨髄中前駆細胞群の遺伝子発現変化および発症後の細胞動態解析を中心に解析を行った。MPNの病態を示す骨髄系細胞の異常増殖を認めるTet2欠損マウスを用い、骨髄中の各前駆細胞を単離しトランスクリプトーム解析を行った。その結果、当該マウスにおいてこれまでに報告のない特徴的な細胞表面マーカーパターンを有する前駆細胞集団が骨髄中に増加していることが明らかとなった。さらに、この前駆細胞集団は、野生型マウス由来の同細胞集団と比べて分化能および増殖能が高いことや加齢性に著しく増加することを見出し、MPN病態の形成を担う重要な細胞である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、新たに見出した前駆細胞集団がMPNの発症に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。MPN発症には、造血系前駆細胞における遺伝子の変異が重要であると考えられているが、発症に至るメカニズムは不明な点が多い。本研究では、その分子メカニズムの一端として骨髄系細胞への分化能が高い細胞集団を見出すことができた。今後、本細胞群の性質および病態への寄与を詳細に解析することで、MPNの治療に有用な新たな治療戦略の創出が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on the gene expression changes of progenitors in bone marrow leading to the onset of myeloproliferative neoplasms (MPN) and the cell dynamics after the development of MPN. We generated hematopoietic cell specific Tet2 deficient mice which show abnormal proliferation of myeloid cells and have symptoms of MPN and isolated each progenitor cells in bone marrow for transcriptome analysis. As a result of transcriptome analysis of progenitors from bone marrow of hematopoietic cell specific Tet2 deficient mice, we identified a novel group of progenitor cells which are expected to contribute to MPN pathogenesis. These cells show a characteristic pattern of surface markers that has not been reported previously and increase as aging. Furthermore, these cells have higher ability of proliferation and differentiation into myeloid cells compared to control mice. These results suggested that these progenitors are important cells which play a role in the MPN pathogenesis.

研究分野：血液および腫瘍内科学

キーワード：骨髄増殖性腫瘍 DNA脱メチル化

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨髄増殖性腫瘍 (Myeloproliferative Neoplasms : MPN) は、骨髄中の前駆細胞の遺伝子発現異常によって顆粒球を始めとする骨髄系細胞の腫瘍性増殖や骨髄線維化、および骨髄不全を引き起こす造血器腫瘍である。MPN 患者の多くの割合で変異が見られる JAK2 を標的とした治療薬が用いられてきたが (A Quintas-Cardama *et al.*, *Blood*. 2010)、JAK2 阻害剤の過剰な投与は正常造血を抑制し、貧血や血小板減少などの副作用が生じる (S Verstovsek *et al.*, *NEJM*. 2012)。さらに、この阻害剤の単剤投与のみでは遺伝子変異を生じた腫瘍クローンの著名な減少や消失は見られず、MPN の治癒が実現できていない (KJ Newberry *et al.*, *Blood*. 2017)。一方で、DNA メチル化やヒストンメチル化などエピジェネティックな遺伝子制御に関わる TET2 や DNMT3、EZH2 などの分子の遺伝子変異も認められているが、MPN 発症に至る分子メカニズムは十分に検証されていない。このことから、DNA 脱メチル化因子 *TET2* の変異による MPN でのエピジェネティックな制御を理解することで MPN の寛解・根治の実現に向けた新たな道筋を拓くと期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、*TET2* 変異から MPN 病態の形成に至るまでの遺伝子発現制御機構および分子・組織動態をバイオインフォマティクス解析およびマウスモデルの解析によって明らかにすることを目的とした。*TET2* 変異による DNA メチル化異常に伴う MPN 発症機序は不明な点が多く、その詳細な遺伝子発現制御機構を解明することで MPN のより良い治療戦略を提案することを目指としている。

3. 研究の方法

MPN で高頻度に変異が認められる DNA 脱メチル化酵素 TET2 の病態への寄与を明らかにするために、骨髄系細胞の異常増殖を認める血球系細胞特異的 *Tet2* 欠損マウスを作製し、トランスクリプトーム解析およびメチローム解析により疾患関連因子とその遺伝子発現制御機構を検討した。また、トランスクリプトーム解析から明らかとなった MPN 関連因子が、MPN 病態である骨髄線維化や骨髄不全、および骨髄系細胞の増殖にどのように関与するのかを調べるために、分子・細胞動態の詳細な観察を行った。

4. 研究成果

MPN 病態を示す血球系細胞特異的 *Tet2* 欠損マウス由来の骨髄系列の細胞種および前駆細胞を用いたトランスクリプトーム解析を行った。すると、これまで病変の原因の1つだと考えられてきた Lineage (Lin)⁻Sca-1⁺c-Kit⁺(LSK) 細胞や骨髄系共通前駆細胞 (Common myeloid progenitor : CMP)、顆粒球・マクロファージ前駆細胞 (Granulocyte macrophage

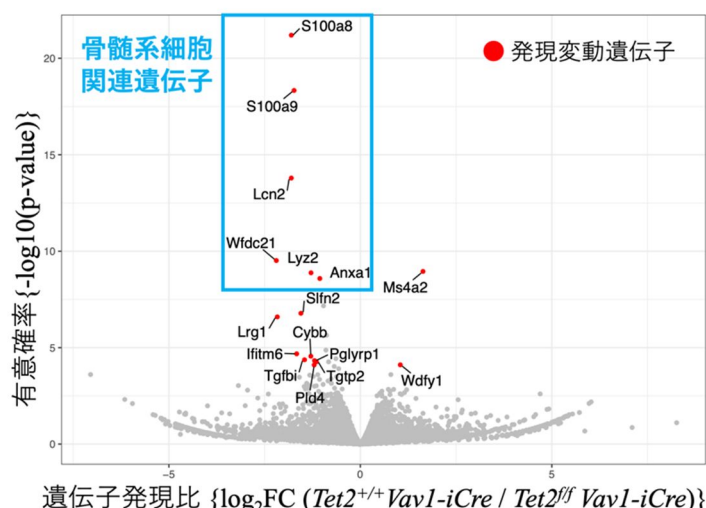


図. MEPにおける*Tet2*欠損による遺伝子発現変化

progenitor : GMP) のクローン性増殖および遺伝子発現の異常だけでなく、巨核球・赤芽球前駆細胞 (Megakaryocyte-erythroid progenitor : MEP) 系列の増殖および遺伝子発現の異常を検出した。MEP は通常、血小板を産生する巨核球や赤血球への分化能を持つが、血球系細胞特異的 *Tet2* 欠損マウス由来の MEP は GMP から分化し細胞内に顆粒を持つ好中球やマクロファージ、樹状細胞への分化能を持つ単球で高い発現を持つ *S100a8*、*S100a9*、*Lcn2* や *Lyz2* などの遺伝子が野生型マウスに比べて高いことを見出した (図)。この結果は、*Tet2* 欠損による DNA メチル化制御の異常により、正常状態では巨核球や赤血球に分化する MEP が単球を介して骨髄系細胞への分化能を獲得する可能性を示唆している。さらに、MEP 分画に含まれる細胞種の詳細な解析を行ったところ、MPN 病態でこれまでに認識されていない細胞表面マーカーパターンを有する前駆細胞集団を見出した。当該細胞集団は血球系細胞特異的 *Tet2* 欠損マウスで加齢性に増加し、野生型マウス由来の同細胞集団と比べて骨髄系細胞への分化能および増殖能が高いことが明らかとなった。これらの結果は、当該細胞集団が MPN 病態の形成において重要な役割を担う可能性を示唆している。今後、本細胞集団の性質および病態への寄与を詳細に解析することで、エピジェネティック因子を標的とした MPN に対する新たな治療戦略の創出が期待できる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------