

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17404

研究課題名（和文）IFN シグナル伝達および腎病変の形成機構に着目した骨髄増殖性腫瘍の病態制御

研究課題名（英文）Regulation of the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms with a focus on IFN α signaling and the mechanism of renal dysfunction.

研究代表者

田平 優貴 (Tahira, Yuki)

宮崎大学・医学部・医員

研究者番号：10868243

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：IFN は骨髄増殖性腫瘍に対する細胞減少療法として用いられてきたが、詳細なシグナル伝達メカニズムは不明である。シグナル下流にJAK1とTYK2が存在しており、各分子の役割を明らかにするために、ノックアウトマウスを使用し検討した。TYK2欠損マウスにおいて、IFN の治療効果およびシグナル減弱が見られ、TYK2が必須の分子であると判明した。また、JAK2 V617Fマウスにおいて、ヒトで報告されているMPN関連腎症に類似した腎病変が再現できることを確認した。腎病変形成メカニズムを明らかにするためのマウスモデルとして、今後解析を進めていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MPNの中でもprimary myelofibrosis (PMF)の生存期間中央値は4年と短く、極めて予後不良である。同種造血幹細胞移植を除き、JAK阻害薬など現行の治療法では治癒を望めない。腎病変を合併した場合、移植さえ行うことができないのが現状であり、臨床的なunmet needsがある。本研究により、腎病変メカニズムが明らかになり、かつ腫瘍幹細胞を標的とした新規IFN/JAK阻害薬併用療法の開発ができれば、多くの症例で予後の改善につながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：IFN has been used as a cytoreductive therapy for myeloproliferative neoplasms, but the detailed signaling mechanisms are unknown. To elucidate the roles of JAK1 and TYK2 downstream of the signaling, we used knockout mice and investigated the role of each molecule. In TYK2-KO mice, the therapeutic effect and signal attenuation of IFN were observed, indicating that TYK2 is an essential molecule. We also confirmed that Jak2V617F transgenic mice can exhibit renal dysfunction similar to those reported in humans with MPN-associated nephropathy. We plan to further analyze this mouse model to elucidate the mechanism of renal dysfunction.

研究分野：血液内科学

キーワード：MPN IFN TYK2 MPN関連腎症

1.研究開始当初の背景

骨髄増殖性腫瘍(myeloproliferative neoplasms : MPN)は Janus kinase 2 (JAK2)遺伝子や Calreticulin (CALR)遺伝子などに造血幹細胞(hematopoietic stem cell : HSC)レベルで変異が生じることにより、JAK-STAT 系が活性化し、造血細胞のクローン性増殖を来す疾患群である。

活性化した JAK-STAT 経路を抑制する JAK 阻害薬 Ruxolitinib は、原発性骨髄線維症患者の脾腫や全身症状を改善するが、変異 HSC には作用しておらず治癒は望めない。IFN α は MPN の細胞増殖抑制治療に用いられてきたが、近年腫瘍 HSC に作用し、治癒をもたらす治療として注目されている。IFN α は JAK 阻害薬と同じく JAK-STAT 系に作用し、JAK1、2、3、Tyk2 の 4 種類の JAK キナーゼのうち、Tyk2 と JAK1 を活性化し HSC の分裂を促進する。しかし、Tyk2 と JAK1 のうち、いずれが主な作用メカニズムを担っているか不明である。

MPN は慢性の経過をたどり、長期罹患した MPN 患者では腎障害を合併する症例が報告されている。中には末期腎不全、透析に至る症例もある。多くの症例でメサンギウム細胞の増加と糸球体領域の硬化がみられ、MPN 腎症として定義されるようになったが、詳細な病態メカニズム、治療法は未だ確立されていない。

2.研究の目的

テーマ 1: IFN α の抗腫瘍作用を担う JAK の同定と新規 IFN α /JAK 阻害薬併用療法の開発

JAK 阻害薬と IFN α は、両者とも JAK-STAT 系を介して抗腫瘍効果を発揮するが、それぞれ作用は抑制と促進であり拮抗する。IFN α 下流にある Tyk2、JAK1 のどちらが抗腫瘍効果を担っているかを明らかにすることで、両薬剤を併用した際により作用が拮抗しない新規併用療法の開発を行う。

テーマ 2 : MPN 腎病変における血球由来間質支持細胞の同定と分化メカニズムの解明

近年、腎臓のメサンギウム細胞が血球由来である可能性や、単球から分化した fibrocyte が腎線維化に寄与する報告がなされた。我々はこれらの報告に着目し、遺伝子異常を持つ腫瘍細胞がメサンギウム細胞や fibrocyte に分化し、MPN 腎症を惹起しているのではないかと考えた。この仮説の検証を行うことで、MPN 腎症の責任細胞を同定し、治療応用を目指す。

3.研究の方法

テーマ 1

当研究室で作出した *Jak2V617F* トランスジェニック(*Jak2VF*)マウスと *TYK2* 欠損マウスを交配し、2 重変異マウスを作成する。それぞれのマウスに対し、IFN α と Vehicle 群には PBS を投与する。血球や脾腫などの MPN の表現型に改善がみられるか比較を行う。また、腫瘍

幹細胞を含む HSC、前駆細胞に対する影響や IFN 下流におけるシグナル伝達について併せて検討する。

テーマ 2

Jak2VF マウスを用いて、週令を経るごとにヒトにおける MPN 腎症の特徴とされる、メサンギウム細胞の増加と糸球体領域の硬化といった病理変化がみられるか、経時的に評価を行う。さらに、EGFP で変異細胞がマーキングされた *Jak2VF/EGFP-TG* マウスを作出し、正常マウスに骨髄移植を行う。血液細胞のみ変異を有するマウスモデルを作成し、EGFP を用いて、腫瘍細胞がメサンギウム細胞などの間質細胞に分化するか、fibrocyte に分化し線維化を惹起するか明らかにする。

4.研究成果

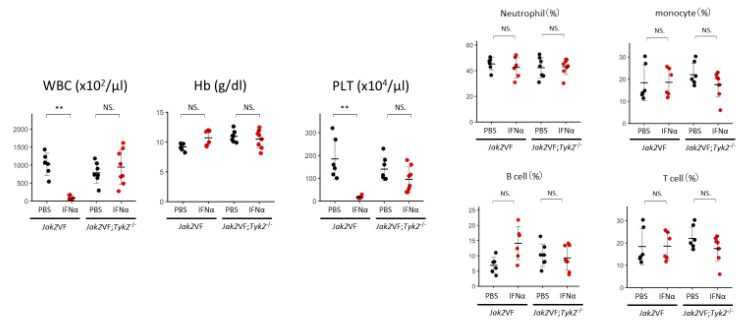
テーマ 1

Jak2VF マウスでは、白血球、血小板増多、貧血を呈し、骨髄や脾臓の繊維化、脾腫を認め、*Jak2V617F;Tyk2* マウスでも同様の表現型がみられた。*Jak2VF* マウスでは IFN α 投与後に白血球増多などの改善に加え、骨髄の線維化改善がみられたのに対し、*Jak2V617F;Tyk2* マウスではいずれも改善がみられなかった。*Jak2VF* マウスでは IFN 投与後に前駆細胞の減少がみられ、IFN α 下流の STAT1 のリン酸化など、シグナル伝達がみられるのに対し、*Jak2V617F;Tyk2* マウスでは前駆細胞の減少はなく、下流のシグナル減弱および細胞増殖抑制に関係する遺伝子の発現亢進がみられなくなっていた。

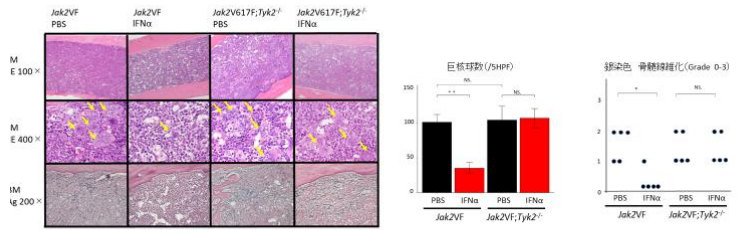
テーマ 2

Jak2VF マウスでは、週令を経るごとにメサンギウム細胞の数が増加し、線維化がみられた。ヒトの MPN 腎症と同様の病態が再現されている可能性が高く、病態解明のためのモデルマウスとして使用することが可能である (*Jak2VF/EGFP-TG* マウスを用いた移植モデルについては、現在計画進行中である)。

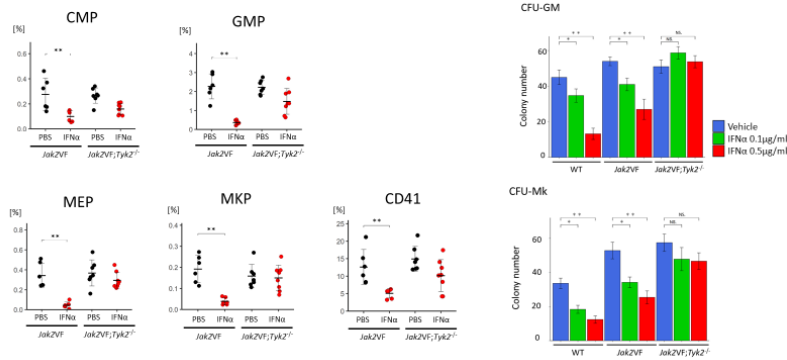
IFNa投与による血球増殖抑制にはTYK2が必要



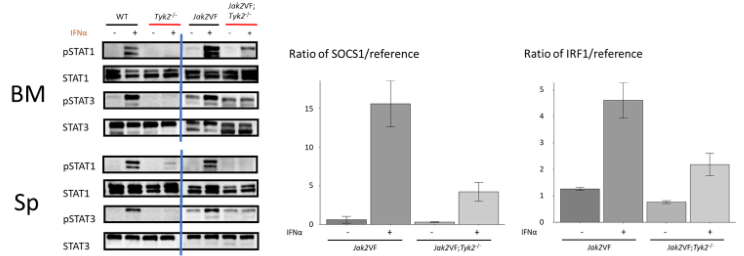
IFNaによる骨髄線維化改善にはTYK2が必要である



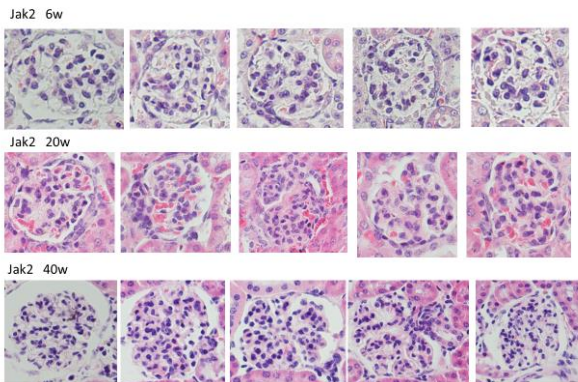
IFNa投与による前駆細胞への影響



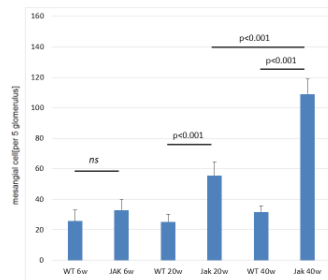
TYK2欠損によるIFNa下流シグナルの減弱



Jak2V617F Tgマウス mesangial cell (HE染色)



Jak2V617F Tg / WT mesangial cell count



・20週以降からWTマウスに対し、*Jak2V617F* Tgマウスでは有意なmesangial cellの増加が見られる。
 ・*Jak2V617F* Tgマウスでは週齢が進むにつれ、mesangial cellの増加が見られる。

<one way anova>
 F value 100.7
 Pr(>F) 5.4e-11 (p<0.001)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 2件）

1. 著者名 Yoshinori Ozono, Kotaro Shide, Takuro Kameda, Ayako Kamiunten, Yuki Tahira, Masaaki Sekine, Keiichi Akizuki, Kenichi Nakamura, Hisayoshi Iwakiri, Mitsue Sueta, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Shojiro Yamamoto, Satoru Hasuike, Akira Sawaguchi, Kenji Nagata, Kazuya Shimoda	4. 巻 36巻
2. 論文標題 Neoplastic fibrocytes play an essential role in bone marrow fibrosis in Jak2V617F-induced primary myelofibrosis mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 454-467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-020-0880-3	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 Kotaro Shide, Takuro Kameda, Ayako Kamiunten, Yoshinori Ozono, Yuki Tahira, Takako Yokomizo-Nakano, Sho Kubota, Masaya Ono, Kazuhiko Ikeda, Masaaki Sekine, Keiichi Akizuki, Kenichi Nakamura, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Hisayoshi Iwakiri, Satoru Hasuike, Kenji Nagata, Goro Sashida, Kazuya Shimoda	4. 巻 136巻
2. 論文標題 Calreticulin haploinsufficiency augments stem cell activity and is required for onset of myeloproliferative neoplasms in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 106-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/blood.2019003358	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田平優貴、幣光太郎、上運天綾子、亀田拓郎、秋月溪一、日高智徳、久富木庸子、下田和哉
2. 発表標題 TYK2 is essential for inhibition of cell proliferation by IFN
3. 学会等名 第84 回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田平優貴、幣光太郎、上運天綾子、亀田拓郎、秋月溪一、日高智徳、久富木庸子、下田和哉
2. 発表標題 Myeloproliferative neoplasm (MPN) nephropathy in a Jak2V617F induced MPN mouse model
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 田平優貴、幣光太郎、大園芳範、上運天綾子、亀田拓郎、秋月溪一、関根雅明、日高智徳、久富木庸子、下田和哉
2. 発表標題 マウスモデルにおいてJak2V617F 変異によって誘導される骨髄増殖性腫瘍に伴う腎障害
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 幣光太郎、上運天綾子、大園芳範、亀田拓郎、田平優貴、秋月溪一、関根雅明、日高智徳、久富木庸子、下田和哉
2. 発表標題 JAK2V617F による炎症性サイトカインIL1 の産生亢進メカニズム
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 小川紗葵、幣光太郎、上運天綾子、久富木庸子、竹内正美、末永孝生、下村泰三、鈴島仁、河野徳明、山下清、安見正人、烏野隆博、今滝修、門脇則光、米澤昭仁、大塚英一、日高智徳、亀田拓郎、秋月溪一、関根雅明、田平優貴、下田和哉
2. 発表標題 骨髄増殖性腫瘍におけるSRSF2, U2AF1, IDH 変異の頻度と予後への影響
3. 学会等名 第82 回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020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
---------	---------