

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20827

研究課題名（和文）骨髄線維症におけるCAMK2Gの機能的役割の解明

研究課題名（英文）functional roles of CAMK2G in myelofibrosis

研究代表者

佐々木 謙（Sasaki, Ken）

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：10907702

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではCAMK2Gノックアウトマウスを用いて、骨髄線維症におけるCAMK2Gの意義と治療標的としての可能性について検証を行った。野生型とCAMK2Gノックアウトマウスを用いて比較することによりCAMK2Gノックアウトによる生存延長がみられることが明らかになった。さらに詳細を調べるとまた脾腫の改善や白血球数の低下がみられ、骨髄線維症の症状の改善がみられた。このようにCAMK2Gのノックアウトにより骨髄線維症が改善することをin vivoで検証することができた。本研究は新規治療薬開発において意義のある研究であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではCAMK2Gノックアウトマウスを用いて、骨髄線維症におけるCAMK2Gの意義と治療標的としての可能性について検証を行った。骨髄線維症の治療には経口JAK2阻害剤が臨床において使用されている。症状改善効果を示すが、腫瘍細胞を排除はできないため治療効果限定的で予後不良である。また、長期投与による耐性化があり完治は見込めないことや、骨髄抑制などの副作用も問題となる。現在さまざまな方法で治療標的の同定、解析が行われているが、新規治療薬の開発は進んでおらず、本研究は新規治療薬開発において意義のある研究であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Myelofibrosis (MF) is a myeloproliferative neoplasm which is associated with bone marrow fibrosis and extramedullary hematopoiesis, followed by progressive hematopoietic failure and leukemic transformation. Although JAK1/2 inhibition is effective to alleviate symptoms of MF, it does not result in eradicating MPN clones, and the inhibitor-resistant clones emerge during the treatment. To overcome this problem, we need to develop a new therapeutic strategy. The previous study revealed CAMK2G inhibition significantly prolonged the survival of MF model mice and ameliorated splenomegaly. CAMK2G inhibition is effective in the JAK2 inhibitor-resistant cells. In this study, we will confirmed the effectiveness of CAMK2G inhibition with CAMK2G knockout mice. By using these mice we can perform transcriptome analyses including RNA seq to identify the signaling pathways related to CAMK2G, and these results can lead to the development of new strategies of new treatments of MF.

研究分野：血液内科

キーワード：骨髄線維症

## 1. 研究開始当初の背景

骨髄線維症 (MF) の発症には造血幹細胞における JAK2, CALR, MPL 遺伝子の変異による JAK-STAT 経路の恒常的活性化が関わっている。現在、経口 JAK2 阻害剤 ruxolitinib が臨床において使用されており、症状改善効果を示すが、線維化改善効果は限定的で、ruxolitinib 投与下においても全生存期間の中央値 5.3 年と予後不良である。また、長期投与による耐性化があり完治は見込めないことや、骨髄抑制などの副作用も問題となる。同種造血幹細胞移植が根治治療として知られているが、治療関連死亡率が高く、HLA 一致血縁ドナーからの移植で 18%、非血縁ドナーからの移植では 35%との報告もある。また、高齢患者の場合、全身状態や併存疾患により造血幹細胞移植の適応にならない場合も多い。このような理由から、現在新規治療方法の確立のため、さまざまな研究が行われている。

## 2. 研究の目的

本研究では、骨髄線維症における CAMK2G の治療標的としての可能性について、CAMK2G ノックアウトマウスを使用して確認するとともに、CAMK2G ノックアウトマウスを使用した RNAseq などのトランスクリプトーム解析を行い、骨髄線維症におけるシグナル経路を明らかにする。また、シグナル経路を明らかにすることで、新規治療標的の探索も行うことができる。

今回研究対象とする CAMK2G と骨髄線維症の関連を示す報告は今までになく、CAMK2G が新規治療標的として妥当性の検証は本研究が初めてである。本研究は骨髄線維症の病態を明らかにすることができるのみならず、CAMK2G や CAMK2G 以外の新規治療標的の探索を行うことが可能であり、難治性疾患である骨髄線維症患者に対し、利益をもたらすことができる可能性のある重要な研究である。

## 3. 研究の方法

CAMK2G ノックアウトマウスは心臓や筋肉の研究で用いられ、論文報告されている。本研究者は CAMK2G ノックアウトマウスを用いた論文報告を行った海外研究室より CAMK2G ノックアウトマウスを取り寄せ繁殖を行っている。In vivo での検証では、マウス骨髄の c-kit 陽性細胞に GFP で標識された MPL 変異体や JAK2 変異体を過剰発現させた細胞を移植する骨髄線維症マウスモデルを用いる。CAMK2G ノックアウトマウスを用いることにより、CAMK2G ノックアウトによる生存、脾腫、白血球数、貧血などの変化を確認する。比較のため同様の実験を野生型マウスを用いて行う。また、骨髄線維症を発症後の野生型マウス由来の細胞と

CAMK2G ノックアウトマウス由来の造血細胞を採取し、RNAseq を提出し、網羅的遺伝子発現解析を行う。これら 2 種類の細胞において発現量に差のみられた遺伝子を絞り込み、in vitro での実験を行い、骨髄線維症における CAMK2G 関連の下流のエフェクターを同定する。具体的には 32D 細胞に MPL 変異体を過剰発現させた細胞に対し、shRNA で各候補遺伝子をノックダウンし、細胞増殖の変化、関連シグナル経路の変化を確認する。本実験により、骨髄線維症の発症メカニズムの解明と新規治療標的の探索が可能となる。

#### 4 . 研究成果

本研究では CAMK2G ノックアウトマウスを用いて、骨髄線維症における CAMK2G の意義と治療標的としての可能性について検証を行った。野生型と CAMK2G ノックアウトマウスを用いて比較することにより CAMK2G ノックアウトによる生存延長がみられることが明らかになった。さらに詳細を調べるとまた脾腫の改善や白血球数の低下がみられ、骨髄線維症の症状の改善がみられた。このように CAMK2G のノックアウトにより骨髄線維症が改善することを in vivo で検証することができた。本研究は新規治療薬開発において意義のある研究であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Miyachi Masashi, Sasaki Ken, Kagoya Yuki, Taoka Kazuki, Masamoto Yosuke, Yamazaki Sho, Arai Shunya, Mizuno Hideaki, Kurokawa Mineo	4. 巻 6
2. 論文標題 CAMK2G is identified as a novel therapeutic target for myelofibrosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 1585 ~ 1597
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2020003303	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐々木謙
2. 発表標題 eIF4B interacts with CAMK2G and promotes proliferation of malignant cells in myelofibrosis.
3. 学会等名 日本血液学会
4. 発表年 2022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
---------	---------