

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591026

研究課題名（和文） コアバインディングファクター白血病発症機構の解明と治療薬の開発

研究課題名（英文） Studying the CBF leukemogenesis and developing anti-cancer agents.

研究代表者 上久保 靖彦

(KAMIKUBO YASUHIKO)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：60548527

研究成果の概要（和文）：今まで Inv16 白血病（CBF 白血病）において造血に必須の転写因子 RUNX1 が強く抑制されることが発症の原因とされていたが、むしろ反対に RUNX1 が白血病発症に必須であることを証明した。RNAi や抑制剤によって RUNX1 や HATs を抑制することにより CBF 白血病細胞にアポトーシスが誘導されることが解明され、RUNX1、HATs が新規の治療薬ターゲットとなりうることを解明した。

研究成果の概要（英文）：RUNX1 Dominant Inhibition has been proposed as a central dogma of CBF leukemogenesis. The project has clarified that RUNX1 is required for CBF leukememogenesis and RUNX1 and HATs maybe good therapeutic targets.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：血液内科学

科研費の分科・細目：7209

キーワード：動物 癌 遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

Inv16 白血病をはじめとする CBF 白血病は、RUNX1 (AML1) のドミナントな抑制が主原因と考えられてきた。そのため従来 RUNX1 複合体を活性化することが治療に結びつくと考えられてきた。申請者は Inv16 白血病ノックインマウスを樹立し、RUNX1 をドミナントに抑制する機能ドメインを除去した、すなわち RUNX1 がさほど抑制されない Inv16 白血病ノックインマウスのシリーズ 5 種を樹立した結果、RUNX1 のドミナントな抑制は Inv16 白血病にさほど重要ではなく、GATA2 や CSFrb などの強発現による RUNX1 抑制非依存的な白血病発症機構を発見した。

Blood. 2010 Feb 18;115(7):1433-43.

## 2. 研究の目的

申請者は Inv16 白血病発症機構において、RUNX1 のドミナントな抑制は必須ではなく、ヒト及びマウス Inv16 白血病細胞において、RUNX1 はむしろ機能保持していることを解明したことから、本研究では RUNX1 活性が Inv16 白血病発症、白血病幹細胞には必須であること、RUNX1 複合体活性を抑制する事が特異的治療戦略となることを明らかにし、それをもとにした新規治療薬を開発することを目的にする。

## 3. 研究の方法

(1) RUNX1 複合体各構成因子を RNAi 法や特異的抑制剤にてダウンレギュレートし、Inv16 白血病増殖抑制的に働く事を証明する。最も

効率的に増殖抑制する因子を単離し、特異的薬剤を開発する。

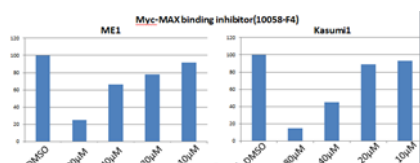
(2)マウスジェネティクスを駆使することにより、生理的条件下(過剰発現系、人工的ジーンサイレンシングではない)にてRUNX1ノックアウト状態としRUNX1活性の保持がInv16白血病発症において必要不可欠であることを証明する。

(3)Inv16ノックインマウスにおいて、Cbfβ-MYH11のヒュージョン遺伝子のC端を除去したノックインマウスを樹立完成し、C末端が治療ターゲットになりうるかどうか評価する。

#### 4. 研究成果

(1)RUNX1Inhibitor、p300Inhibitor、C-Myc InhibitorによりAML細胞はアポトーシスをおこす。HIPK2Inhibitorはその作用を増強する。

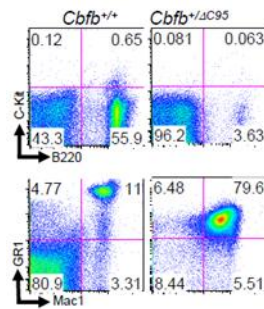
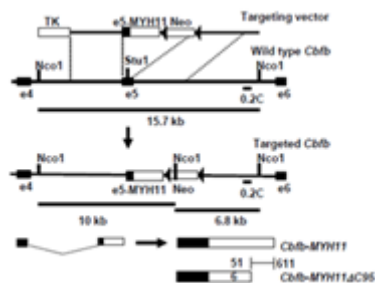
Inhibitorsにより、RUNX1の構成要素は全てmRNAレベル及び蛋白レベルで減少する。おそらく構成要素が抑制されることにより、コンプレックスの安定性が極度に減弱し、コンプレックスを維持することができなくなると考えられた。



Kamikubo et.al. Cancer Cell. 2010 May 18;17(5):455-68.

(2)RUNX1が生理的範囲内で段階的に(ヘテロホモ)減少することにより、Inv16白血病発症率は低下する。

(3)Cbfβ-MYH11のヒュージョン遺伝子のC端を除去したノックインマウスは、MPNフェノタイプを示したが、芽球様変化を示さず白血病を発症しなかったことより、Cbfβ-MYH11のC末端95アミノ酸配列は、芽球様変化に重要であることが判明した



Kamikubo Y et.al. Blood 2013 Jan 24;121(4):638-42. doi: 10.1182/blood-2012-06-434688. Epub 2012 Nov 14

#### 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 14件)

機関リポジトリ

[http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gts/research\\_arch\\_d.html](http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gts/research_arch_d.html)

A case of CD20-Positive peripheral T-cell lymphoma treated with rituximab and mutiagent chemotherapy.

Kamata M, Sugaya M, Miyagaki T, Sonoda K, Ichimura Y, Mitsui H, Sato S, Kamikubo Y, Kurokawa M.

Int J Dermatol 2013 Mar3 doi: 10.1111/j.1365-4632.2012.05483.x. [Epub ahead of print]

2. A Case of splenic abscess due to Propionibacterium acnes

Kiriya S, Sugimoto M, Kamikubo Y, Kurokawa M, Norihiro Kokudo CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY in press

3. The C-terminus of CBFβ-SMMHC is required to induce embryonic hematopoietic defects and leukemogenesis.

Kamikubo Y, Hyde RK, Zhao L, Alemu L, Rivas C, Garrett LJ, Liu PP.

Blood 2013 Jan 24;121(4):638-42. doi: 10.1182/blood-2012-06-434688. Epub 2012 Nov 14

Corresponding Author

4. Primary gastrointestinal follicular lymphoma with histological transformation.

Hangai S, Nakamura F, Kamikubo Y, Ichikawa M, Suzuki H, Yoshida S, Yamada A, Takazawa Y, Fukayama M, Koike K, Kurokawa M.

Ann Hematol. 2012 Dec 28.

5. Acute myeloid leukemia with cryptic CBFβ-MYH11 type D.

Kobayashi T, Ichikawa M, Kamikubo Y, Kurokawa M.

Int J Clin Exp Pathol. 2013;6(1):110-2. Epub 2012 Nov 20.

6. Erythroleukemia showing early erythroid and cytogenetic responses to azacitidine therapy.

Hangai S, Nakamura F, Kamikubo Y, Honda A, Arai S, Nakagawa M, Ichikawa M, Kurokawa M.

Ann Hematol. 2012 Oct 16.

7. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples

Keiki Kumano, Shunya Arai, Masataka Hosoi, Kazuki Taoka, Naoya Takayama, Makoto Otsu, Genta Nagae, Koki Ueda, Kumi Nakazaki, Yasuhiko Kamikubo, Koji Eto, Hiroyuki Aburatani, Hiromitsu Nakauchi and Mineo Kurokawa

Blood. 2012 May 16. [Epub ahead of print]

8. Pituitary lymphoma developing within pituitary adenoma

Ken Morita, Fumihiko Nakamura, Yasuhiko Kamikubo, Naoaki Mizuno, Masashi Miyauchi, Yasuhito Nannya, Motoshi Ichikawa, Mineo Kurokawa

Int J Hematol. 2012 Jun;95(6):721-4. Epub 2012 Apr 21

9. C-KIT with D816Y/V Mutations Cooperate with CFBF-MYH11 to Accelerate Leukemogenesis in Mice.

Ling Zhao, JJ Melenhorst, Lemlem Alemu, Martha Kirby, Stacie Anderson, Shelly H Miller, Yasuhiko Kamikubo, Gary Gilliland, and Pu Paul Liu

Blood. 2012 Feb 9;119(6):1511-21. Epub 2011 Dec 7

10. Lymphoma with specific affinity to endocrine organs.

Morita K, Nakamura F, Nannya Y, Kamikubo Y, Ichikawa M, and Kurokawa M.

Ann Hematol. 2011 Nov 22. [Epub ahead of print]

11. Crk-associated substrate lymphocyte type regulates myeloid cell motility and suppresses the progression of leukemia induced by p210Bcr/Abl.

Sachiko Seo, Tetsuya Nakamoto, Masataka Takeshita, Jun Lu, Tomohiko Sato, Takahiro Suzuki, Yasuhiko Kamikubo, Motoshi Ichikawa, Masaki Noda, Seishi Ogawa, Hiroaki Honda, Hideaki Oda and Mineo Kurokawa

Cancer Science. 2011 Aug 16  
doi:10.1111/j.1349-7006.2011.02066.

12. Loss of AML1/Runx1 accelerates the development of MLL-ENL leukemia through downregulation of p19ARF

Nahoko Nishimoto, Shunya Arai, Motoshi Ichikawa, Masahiro Nakagawa, Susumu Goyama, Keiki Kumano, Tsuyoshi Takahashi, Yasuhiko Kamikubo, Yoichi Imai, and Mineo Kurokawa

Blood. 2011 Sep 1;118(9):2541-50. Epub 2011 Jul 14.

13. Composite diffuse large B-cell lymphoma and CD20-positive peripheral T-cell lymphoma.

Sho Yamazaki, Yosei Fujioka, Fumihiko Nakamura, Satoshi Ota, Aya Shinozaki, Go Yamamoto, Yasuhiko Kamikubo, Yasuhito Nannya, Motoshi Ichikawa, Masashi Fukayama, Mineo Kurokawa

Pathol Int. 2011 Nov;61(11):662-6. doi:10.1111/j.1440-1827.2011.02713.x. Epub 2011 Aug 30.

14. Accelerated leukemogenesis by truncated CBF beta-SMMHC defective in high-affinity binding with RUNX1

Kamikubo Y, Zhao L, Wunderlich M, Corpora T, Hyde RK, Paul TA, Kundu M, Garrett L, Compton S, Huang G, Wolff L, Ito Y, Bushweller J, Mulloy JC, Liu PP.

Cancer Cell. 2010 May 18;17(5):455-68.

〔学会発表〕(計 7 件)

(1)2013 年第 32 回南大阪血液疾患・幹細胞移植研究会特別講演

『CBF 白血病新規発症機構及び造血器悪性腫瘍共通発症機構解明の試み』

(2)2012 年第 33 回日本臨床薬理学会学術総会シンポジウム「Unfit population に対するがん化学療法の現状とエビデンス構築のための臨床試験」

特別招待講演

「米国における unmet population を対象とした開発治験の動向とわが国の取り組み」

(3)2012 年日米医学医療交流セミナー招待講演

「遥かなるワシントン DC: 私の NIH 研究留学活用法」

(4)2012 年独立行政法人医薬基盤研究所研究振興部セミナー招待講演

「新規白血病発症機構解明と NIH MLP/HTS による抗癌剤開発について」

注) MLP: Molecular Libraries Program, HTS: high-throughput screening

(5)2012 年大阪大学大学院医学研究科セミナー招待講演

『コアバインディングファクター (CBF) 白血病新規発症機構: RUNX1 Dominant Inhibition Independent Leukemogenesis』

(6)2011 年 JACLS (日本小児白血病研究会) 総会招待講演

『コアバインディングファクター（CBF）白血病新規発症機構：RUNX1 Dominant Inhibition Independent Leukemogenesis』  
(7)2011年 Kyoto Hematology Forum 特別招待講演

『コアバインディングファクター（CBF）白血病新規発症機構：RUNX1 Dominant Inhibition Independent Leukemogenesis』

〔図書〕（計 3件）

平成 24 年度造血器疾患治療マニュアル平成 24 年 4 月版

上久保担当一般事項、付録、HLA 項目

東京大学医学部企画情報部出版

平成 23 年度造血器疾患治療マニュアル平成 23 年 4 月版

上久保担当急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、特発性血小板減少性紫斑病

東京大学医学部企画情報部出版

平成 22 年度東京大学医学部 M2PBL チュートリアル資料分担

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gts/research\\_d.html](http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gts/research_d.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上久保 靖彦

(KAMIKUBO YASUHIKO)

研究者番号：60548527

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

熊野恵城

(KUMANO KEIKI)

研究者番号：90396721

連携研究者

今井陽一

(IMAI YOICHI)

研究者番号：10345209