

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 3 月 31 日現在

機関番号：83901

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591054

研究課題名（和文） 「前」白血病性幹細胞」の成立機転の解明とその治療・予防への応用

研究課題名（英文） Investigation for molecular mechanisms underlying the establishment of “pre”-leukemic stem cells aiming for therapy and prevention of leukemia

研究代表者

都築 忍（TSUZUKI SHINOBU）

愛知県がんセンター（研究所）・遺伝子医療研究部・室長

研究者番号：00342965

研究成果の概要（和文）：白血病の成立上重要なステップが、前白血病段階である。この状態の成立機転を解明することで、新規治療法さらには予防法の開発が可能であると考えられる。本研究では、TEL-AML1 白血病の“前”白血病性幹細胞を、マウスを用いてモデリングし、その成立に必須の4つの遺伝子を同定した。同定した遺伝子は、白血病の維持にも必須であることが判明した。4遺伝子を標的とした治療法・予防法の開発が期待される。

研究成果の概要（英文）：“Pre”-leukemic stage is crucial for the establishment of leukemia. Elucidation of mechanisms underlying the pre-leukemic stage would pave the way to the development of therapy and preventive measures of leukemia. We have successfully modeled “pre”-leukemic stage of TEL-AML1 leukemia in mice, and thus identified 4 genes essential for the establishment of “pre”-leukemic cells. The 4 genes are also essential for the maintenance of leukemia, providing the rationale for strategy of targeting the genes for therapy and prevention of leukemia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：造血器腫瘍

科研費の分科・細目：血液内科

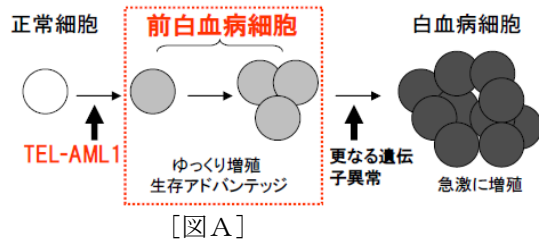
キーワード：前白血病、白血病性幹細胞

1. 研究開始当初の背景

白血病の成立機転を考えると、必ず考慮に入れなくてはならないのは、前白血病状態の存在である。ある遺伝子変化が増殖・生存に有利に働いてその細胞がクローンとして拡大し、しかしながらそれ自体では白血病を発症しない段階がここで言う前白血病状態であり、ここに更に遺伝子変化が加わることで白血病化する（下図参照）。白血病性幹細胞

（癌性幹細胞）が治療標的として近年注目されているのであれば、その元である前白血病性幹細胞の成立機序や性質を解明することが肝要であることは明らかである（下図A参照）。申請者はt(12;21)染色体転座に伴って生じる TEL-AML1 異常融合遺伝子に着目し、この異常を有する急性リンパ性白血病をモデルとしてその白血病化機構を解析してきた(Tsuzuki ら PNAS 2004, Tsuzuki ら Cancer

Science 2007)。すなわち、マウスモデルを用いた解析から TEL-AML1 単独では白血病を起こすことはないこと、しかしながら TEL-AML1 を有する血液細胞はマウスの体内で増殖・生存アドバンテージをもって徐々にゆっくり増えてくることを見出した。TEL-AML1 を細胞に発現させることによって獲得されるこの性質は、正に前白血病状態であるといえる。



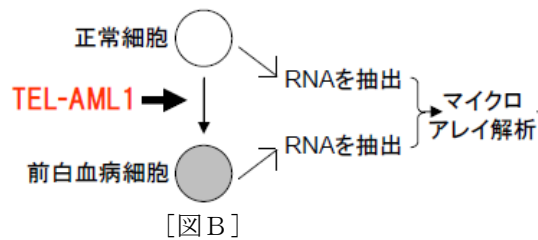
2. 研究の目的

本研究では、急性リンパ性白血病をとりあげ、その前白血性幹細胞の成立機転を解明することを通して白血性化機構を解明し、治療法さらには予防法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

上記のように申請者はすでに *in vitro* で TEL-AML1 遺伝子異常を有する前白血病細胞を作成することに成功しており、このシステムを用いて、

(1) 正常細胞と前白血病細胞のどこがどう違うのかについて、遺伝子発現マイクロアレイ解析を行う (図B)。

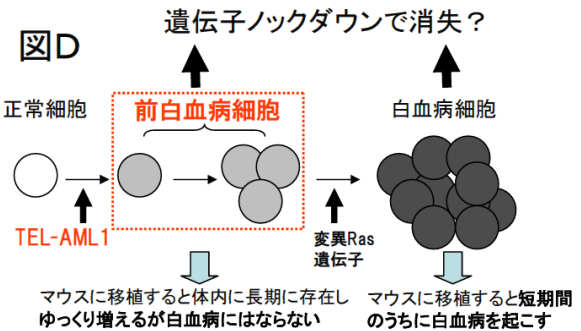
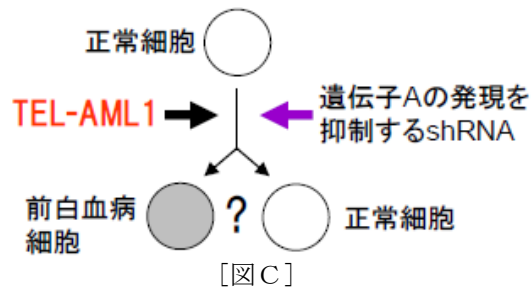


(2) (1) で得られた発現解析データをもとに、国内外ですでに多数蓄積され公開されているデータに照合し、どのような遺伝子パスウェイ・遺伝子セット・遺伝子モジュールが前白血病細胞で特異的に働いているのかを明らかにする。

(3) (2) で洗い出した遺伝子パスウェイ・遺伝子セット・遺伝子モジュールの中の具体的どの遺伝子が前白血病の成立に重要なのかを shRNA による遺伝子ノックダウンの手法により明らかにする。(図C)

(4) さらに、*in vitro* で作成した前白血病細胞をマウスに移植することによりその動態を追跡し、(3) で明らかにした「前白血

病細胞の成立に重要な遺伝子」をノックダウンすると本当に前白血病細胞が消失するのか、検証する (図D)。

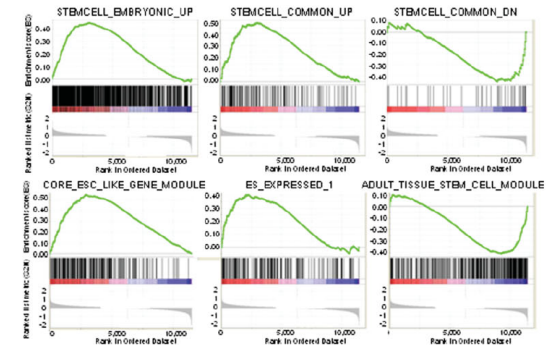


以上により、前白血病の成立機転を明らかにし、同時に前白血病細胞の成立を阻止する分子標的を明らかにする。

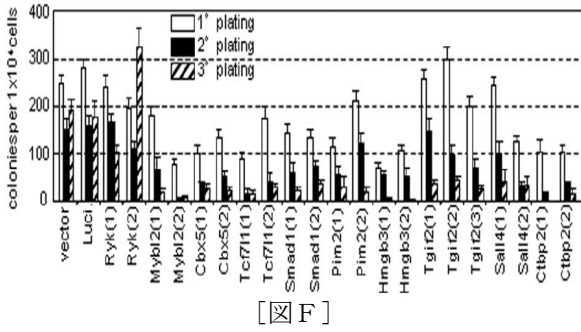
4. 研究成果

研究の方法の項で記した手法を用いることにより、次の点が明らかとなった。

(1) マウスの正常プロB細胞と、TEL-AML1 を発現させたプロB細胞を、遺伝子発現マイクロアレイで比較した結果、TEL-AML1 発現プロB細胞において、胚性幹細胞で発現の高い遺伝子群が有意に発現が高いこと (図E)。

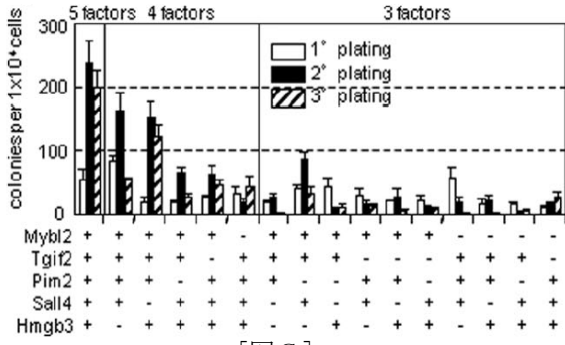


(2) (1) で見出した遺伝子のうち、上位に位置するものをノックダウンすると TEL-AML1 発現プロB細胞の生物活性 (自己複製能) が低下すること (図F)。



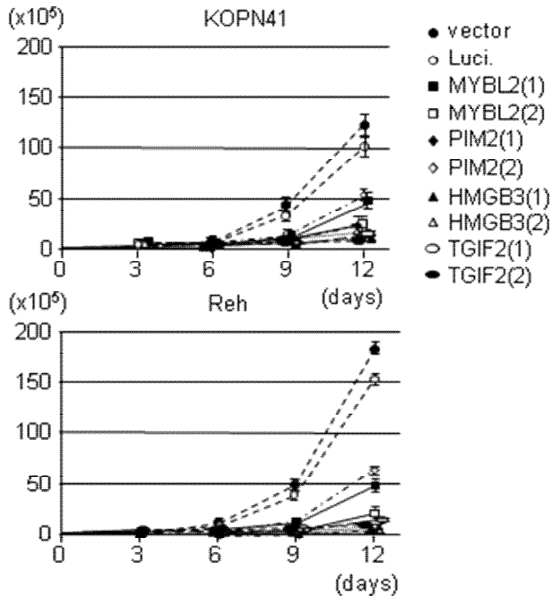
[図 F]

(3) この中から、Mybl2・Tgif2・Pim2・Hmgb3 の4 遺伝子が TEL-AML1 による自己複製能実現のために必須であること (図G)。



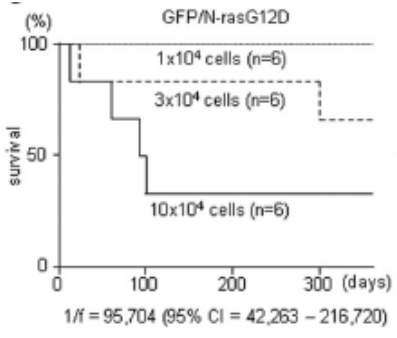
[図 G]

(4) Mybl2・Tgif2・Pim2・Hmgb3 の4 遺伝子はどの1つをノックダウンしても TEL-AML1 白血病細胞の増殖を大幅に抑制する (図H)。

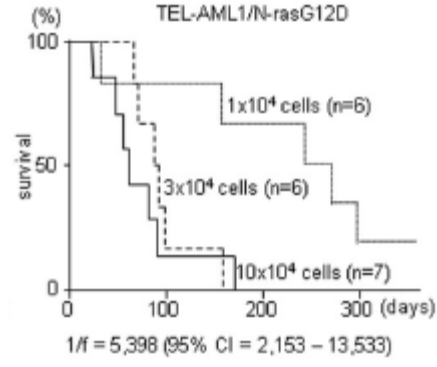


[図 H]

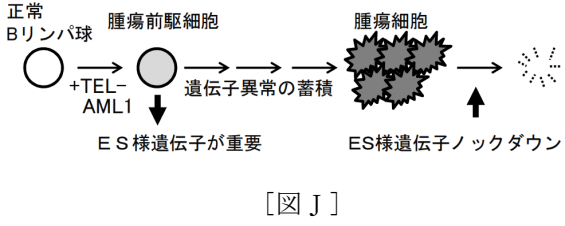
(5) TEL-AML1 は白血病性幹細胞数を増やす作用がある (図 I)。



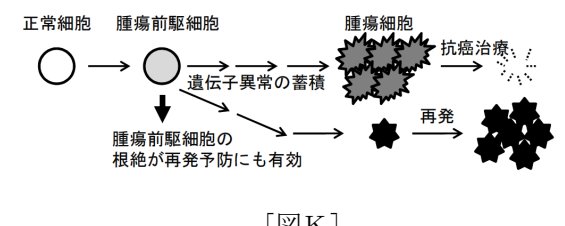
[図 I]



以上から TEL-AML1 は、白血病になる前の白血病「前駆」状態の成立に働くと同時に、白血病になった後の白血病「幹」細胞の維持・増幅にも働くことが明らかとなった。さらに、TEL-AML1 のこのような機能は、Mybl2・Tgif2・Pim2・Hmgb3 の4 遺伝子によって担われていることが明らかとなった。今後、この4 遺伝子を標的とした薬剤が開発されれば、白血病の治療に有効と考えられる (図 J)。4 遺伝子は白血病「前駆」状態にも必須であるので、4 遺伝子を標的とすれば、白血病の予防や再発予防にもつながることが期待できると考えられる (図 K)。



[図 J]



[図 K]

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 10 件)

(1) Tsuzuki S and Seto M.
TEL(ETV6)-AML1(RUNX1) Initiates
Self-renewing Fetal Pro-B Cells in
Association with a Transcriptional
Program Shared with Embryonic Stem Cells
in Mice. Stem Cells 31: 236-247, 2013. 査
読有 DOI 10.1002/stem.1277

(2) Tsuzuki S and Seto M.
Expansion of functionally defined mouse
hematopoietic stem and progenitor cells by
a short isoform of RUNX1/AML1.
Blood. 119(3):727-735, 2012. 査読有
doi: 10.1182/blood-2011-06-362277.

(3) Tsuzuki S, Taguchi O, Seto M.
Promotion and maintenance of leukemia by
ERG. Blood. 117(14):3858-3868, 2011. 査
読有 doi: 10.1182/blood-2010-11-320515.

[学会発表] (計 7 件)

(1) 都築 忍 Cooperation of altered AML1/
RUNX1 with BCR-ABL in inducing blast
crisis-like disease of chronic
myelogenous leukemia. 第 7 1 回日本癌学
会総会 2012 年 9 月 19 日 ロイトン札幌(札
幌)

(2) Shinobu Tsuzuki Altered
differentiation and enhanced self-renewal
activity of B cells by the
leukemia-associated
TEL(ETV6)-AML1(RUNX1) fusion gene. 第 70
回 2011 日本癌学会学術集会シンポジウム
(International Symposium: Dysregulated
differentiation program in cancer) 2011
年 10 月 3 日 名古屋国際会議場 (名古屋)

(3) 都築 忍 ERG 発現による白血病化 第
69 回日本癌学会学術総会. 2010 年 9 月 23 日
大阪国際会議場 (大阪)

[その他]

ホームページ等

<http://www.pref.aichi.jp/cancer-center/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

都築 忍 (TSUZUKI SHINOBU)
愛知県がんセンター (研究所)・遺伝子医
療研究部・室長
研究者番号: 00342965

(2) 研究分担者
()

研究者番号:

(3) 連携研究者
()

研究者番号:

