

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591397

研究課題名(和文) 原発性骨髄線維症におけるHOXB4の機能同定と、USFを標的とする治療法の開発

研究課題名(英文) The role of HOXB4 in myelofibrosis and new therapy targeting USF

研究代表者

下田 和哉 (SHIMODA, KAZUYA)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：90311844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄線維症を発症する変異JAK2発現マウスの造血幹細胞では、野生型と比べHOXB4、TGF- β 1の発現が亢進していた。これらは転写因子USF1/2による発現調節を受けており、その転写活性は、トロンボポエチン刺激により、あるいはJAK2 V617F変異を起点として、MAPKの活性化に引き続き生じていた。

TET2変異は、原発性骨髄線維症を含む骨髄増殖性腫瘍にみられる。TET2の発現が低下したマウスでは、末梢血単球数、脾臓重量のわずかな増大、肝脾、肺における軽度の髄外造血を認めることに加え、造血幹細胞活性が亢進していた。

研究成果の概要(英文)：We examined the gene expression patterns of Lineage-Sca1+ BM cells in JAK2V617F transgenic mice that developed myelofibrosis, and found that HOXB4 and TGF- β 1, the target genes of transcriptional factor USF1, were highly expressed. The transcriptional activity of USF1 is up-regulated by thrombopoietin stimulation or JAK2 V617F via activation of MAPK.

Somatic loss-of-function mutations of TET2 are frequently observed in patients with myeloproliferative neoplasms. Mice with low TET2 exhibited only mild monocytosis, splenomegaly, and extramedullary hematopoiesis compared to wild type mice. HSCs from TET2 low mice exhibit increased self-renewal ability in vivo. In competitive transplantation assays, HSCs from TET2 low mice possess a competitive growth advantage over wild type HSCs. These data indicate that TET2 plays a critical role in HSC homeostasis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：JAK2 TET2 MPN

1. 研究開始当初の背景

原発性骨髄線維症では、サイトカインのシグナル伝達に必須なキナーゼである JAK2 の変異が約 50% に認められる。遺伝子変異による JAK2 の恒常的活性化が原発性骨髄線維症の発症に重要であるにもかかわらず、JAK2 阻害剤の投与により腫瘍量の減少や骨髄の線維化、貧血の改善は認められない。その原因の一つとして、JAK2 を介するシグナル伝達経路は正常造血にも必須であり、JAK2 阻害剤は野生型 JAK2 も変異型 JAK2 と同等に阻害することから、その用量に限界があることが考えられる。JAK2 阻害剤では得られない腫瘍クローンの抑制や骨髄線維化の改善のためには、幹細胞レベルでの腫瘍クローンの維持と増幅、骨髄線維化などの分子機構を解明し、JAK2 と共に新たな治療標的に加えることが必要である。

2. 研究の目的

原発性骨髄線維症において、造血幹細胞レベルでの腫瘍クローンの維持と増幅、骨髄線維化に関与している因子を同定し、それを標的とする新たな治療法開発の礎とする。

3. 研究の方法

原発性骨髄線維症を発症する変異 JAK2 発現マウスと野生型マウスの造血幹細胞分画の遺伝子発現をマイクロアレイによって比較した。発現が変化する遺伝子の中から、造血幹細胞の増幅に関わるとの報告がある分子を対象に、その機能解析を行い、JAK2 以外の新たな治療標的となり得るかを検討した。また、原発性骨髄線維症を含む骨髄増殖性腫瘍に共通して TET2 の変異がみられることから、TET2 変異マウスの解析を行った。

4. 研究成果

骨髄線維症を発症するマウスの造血幹細胞では、野生型と比べ HOXB4、TGF- β 1 の発

現が増進していた。HOXB4、TGF β 1 はともに転写因子 USF1/2 による発現調節を受けることが知られているため、その細胞内シグナル伝達経路を検討した。USF1/2 の活性化は、トロンボポエチン(TPO)レセプター-MPL を発現する細胞に特異的にみられること、TPO 刺激、あるいは JAK2 V617F 変異の導入により生じること、MAPK の活性化に引き続き USF1 の転写能が増進することを明らかとした。

原発性骨髄線維症では、JAK2 変異以外に、TET2 変異が 10-17% にみられることが報告された。そこで、TET2 欠損マウスの造血能の解析を行った。TET2 欠損マウスでは、5mC を 5hmC に変換する酵素活性が低下していた。末梢血単球数、脾臓重量のわずかな増大、肝脾、肺における軽度の髄外造血を認めることに加え、造血幹細胞活性が増進していた。試験管内でのコロニー形成細胞を継代すると、野生型細胞では継代 2-3 代目にコロニー形成能を消失するのに対し、TET2 欠損細胞は 7 代以上の継代が可能であった。さらに、TET2 欠損造血幹細胞を野生型由来細胞と競合移植した場合、レシピエントマウスは末梢血の増加などは認めないものの、その造血の大部分は TET2 欠損細胞により占められていた。つまり、骨髄増殖性腫瘍のクロナリティの獲得には TET2 の機能喪失が重要であることを明らかにした。これに加え、変異 JAK2 発現マウスの造血幹細胞において発現が増進がみられる HOXB4 は、前述したようにその過剰発現により造血幹細胞の自己複製能を増進させることが知られており、TET2 変異による造血幹細胞活性増進とあわせて、骨髄増殖性腫瘍の発症に関与していると考えられた。

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 16 件)

1. Nakaya Y, Shide K, Naito H, Niwa T, Horio T, Miyake J, Shimoda K: Efficacy of NS-018, a potent and selective JAK2/Src inhibitor, in primary cells and mouse models of myeloproliferative neoplasms. *Blood Cancer J* 4: e174; doi:10.1038/bcj.2014. [査読有]
2. 下田和哉、竹中克斗、北中明、赤司浩一: 本邦における原発性骨髄線維症の臨床像. *臨床血液*:55(3), 289-294, 2014 [査読無]
3. Fukata M, Ishikawa F, Najima Y, Yamauchi T, Saito Y, Takenaka K, Miyawaki K, Shimazu H, Shimoda K, Kanemaru T, Nakamura K, Odashiro K, Nagafuji K, Harada M, Akashi K : Contribution of bone marrow-derived hematopoietic stem/progenitor cells to the generation of donor-marker+ cardiomyocytes in vivo. *PLoS One*.8(5), e62506, 2013 [査読有]
4. Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt GR, Mochizuki-Kashio M, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S, Iwama A : Concurrent of Ezh2 and Tet2 cooperates in the Pathogenesis of myelodysplastic disorders.*J.Exp.Med.* 210 (12) 2627-2639,2013 [査読有]
5. 北中明、幣光太郎、下田和哉: 骨髄増殖性腫瘍の分子機構と新規薬物療法. *臨床血液*:54 (10), 151-157, 2013 [査読無]
6. Matsunaga T, Imataki O, Torii E, Kameda T, Shide K, Shimoda H, Kamiunten A, Sekine M, Taniguchi Y, Yamamoto S, Hidaka T, Katayose K, Kubuki Y, Dobashi H, Bandoh S, Ohnishi H, Fukai F, Shimoda K: Elevated HIF-1 α expression of acute myelogenous leukemia stem cells in the endosteal hypoxic zone may be a cause of minimal residual disease in bone marrow after chemotherapy. *Leuk Res*36: e122-124. 2012 [査読有]
7. Matsunaga T, Yamashita K, Kubuki Y, Toyama T, Imataki O, Maeda K, Kawano N, Satou S, Kawano H, Ishizaki J, Yoshida S, Kameda T, Sasaki T, Sekine M, Kamiunten A, Taniguchi Y, Hidaka T, Katayose K, K-Shimoda H, Shide K, Yamamoto S, Moritake H, Nuno H, Makino S, Kitanaka A, Matsuoka H, Shimoda K : Acute myeloid leukemia in clinical practice: a retrospective population-based cohort study in Miyazaki Prefecture, Japan. *Int J Hematol.* 96:342-349. 2012 [査読有]
8. Matsunaga T, Fukai F, Kameda T, Shide K, Shimoda H, Torii E, Kamiunten A, Sekine M, Yamamoto S, Hidaka T, Kubuki Y, Yokokura S, Uemura M, Matsuoka A, Waki F, Matsumoto K, Kanaji N, Ishii T, Imataki O, Dobashi H, Bandoh S, Shimoda K: Potentiated activation of VLA-4 and VLA-5 accelerates proplatelet-like formation. *Ann Hematol* 91:1633-1643,2012 [査読有]
9. Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kurosawa G, Morishita K: Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in Adult T-cell leukemia/lymphoma.*Leukemia*26:1238-1246,2012[査読有]
10. Shide K, Kameda T, Shimoda H, Yamaji T, Abe H, Kamiunten A, Sekine M, Hidaka T, Katayose K, Kubuki Y, Yamamoto S, Miike T, Iwakiri H, Hasuike S, Nagata K, Marutsuka K, Iwama A, Matsuda T, Kitanaka A, Shimoda K. TET2 is essential for survival and hematopoietic stem cell homeostasis. *Leukemia.* 26: 2216-2223, 2012 [査読有]
11. Derecka M, Gornicka A, Koralov SB, Szczepanek K, Morgan M, Raje V, Sisler J, Zhang Q, Otero D, Cichy J, Rajewsky K, Shimoda K, Poli V, Strobl B, Pellegrini S, Hamis TE, Seale P, Russell AP, McAinch AJ, O'Brien PE, Keller SR, Croniger CM, Kordula T, Lamer AC: Tyk2 and stat3 regulate brown adipose tissue differentiation and obesity. *Cell Metabolism* 16:814-824, 2012 [査読有]
12. Shide K, Kameda T, Markovtsov V, Shimoda HK, Tonkin E, Fang S, Liu C, Gelman M, Lang W, Romero J, McLaughlin J, Bhamidipati S, Clough J, Low C, Reitsma A, Siu S, Pine P, Park G, Tomeros A, Duan M, Singh R, Payan DG, Matsunaga T, Hitoshi Y, Shimoda K: R723, a selective JAK2 inhibitor, effectively treats JAK2V617F-induced murine myeloproliferative neoplasma. *Blood* 117:6866-6875, 2011 [査読有]

13. Nakaya Y, Shide K, Niwa T, Homan J, Sugahara S, Horio T, Kuramoto K, Kotera T, Shibayama H, Hori K, Naito H, Shimoda K :Efficacy of NS-018, a potent and selective JAK2/Src inhibitor, in primary cells and mouse models of myeloproliferative neoplasms. *Blood Cancer J* 1: e29; doi:10.1038/bcj.2011.29, 2011 (published online 22 July 2011) [査読有]
 14. 下田晴子、下田和哉 : 骨髓増殖性疾患分子病態と治療. *血液内科*:62(5), 648-655, 2011 [査読無]
 15. 上運天綾子、下田和哉 : 血小板増加症. *診断と治療*:99(7), 1143-1147, 2011 [査読無]
 16. 関根雅明、下田和哉 : 骨髓増殖性腫瘍と J A K 2 変異. *日本検査血液学雑誌*:12(2), 224-229, 2011 [査読無]
- [学会発表] (計 1 3 件)
1. 下田和哉: 骨髓増殖性腫瘍の分子機構と新規薬物療法. 第 75 回日本血液学会学術集会 教育講演, 2013 年 10 月 11 日, 札幌
 2. Shide K, Kameda T, Shimoda H, Kamiunten A, Sekine M, Hidaka T, Kubuki Y, Kameda T, Kitanaka A, Shimoda K: Development of new therapies for myelofibrosis (MF) that target the transcription factor USF1. 第 75 回日本血液学会学術集会, 2013 年 10 月 12 日, 札幌
 3. Kameda T, Shide K, Sekine M, Kamiunten A, Hidaka T, Kubuki Y, Kameda T, Kitanaka A, Shimoda K, Marutsuka K: The impact of TET2 deficiency on MPN induced by JAK2V617F mutation. 第 75 回日本血液学会学術集会, 2013 年 10 月 12 日, 札幌
 4. Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt G, Kashio MM, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S, Iwama A: Concurrent depletion of Ezh2 and Tet2 accelerates development of myelodysplastic disorders in mice. 第 75 回日本血液学会学術集会, 2013 年 10 月 12 日, 札幌
 5. 下田和哉: Japanese survey of myelofibrosis. 第 75 回日本血液学会学術集会、Asian Joint Symposium, 2013 年 10 月 13 日, 札幌
 6. Kameda T, Shide K, Sekine M, Kamiunten A, Hidaka T, Kubuki Y, Kameda T, Kitanaka A, Shimoda K, Marutsuka K: Impact of TET2 deficiency on MPN harboring JAK2V617F mutation. 第 55 回 ASH Annual Meeting and Exposition, 2013 年 12 月 9 日, New Orleans
 7. 幣光太郎: JAK2 阻害薬による MPN の治療. 第 74 回日本血液学会学術集会, 2012 年 10 月 19 日, 京都
 8. Shide K, Kameda T, Shimoda H, Kamiunten A, Sekine M, Hidaka T, Kubuki Y, Marutsuka K, Iwama A, Kitanaka A, Shimoda K: TET2 is essential for survival and hematopoietic stem cell homeostasis. 第 74 回日本血液学会学術集会, 2012 年 10 月 19 日, 京都
 9. Kameda T, Shide K, Shimoda H, Kamiunten A, Hidaka T, Katayose K, Kubuki Y, Kitanaka A, Shimoda K, Marutsuka K: Cooperation of JAK2V617F and CBFb-MYH11 is insufficient for leukemic transformation of mouse MPNs. 第 74 回日本血液学会学術集会, 2012 年 10 月 20 日, 京都
 10. Shimoda K: Clinical management of primary myelofibrosis patients. 第 2 回日本血液学会国際シンポジウム シンポジウム, 2011 年 4 月 24 日, 長崎
 11. Shide K, Nakaya Y, Kameda T, Shimoda H, Hidaka T, Katayose K, Kubuki Y, Matsunaga T, Homan J, Kotere T, Shibayama H, Naito H, Shimoda K: NS-018, a potent novel JAK2 inhibitor, effectively treats murine MPN induced by JAK2V617F mutant. 第 73 回日本血液学会学術集会, 2011 年 10 月 15 日, 名古屋
 12. Nakaya Y, Shide K, Niwa T, Horio T, Homan J, Sugahara S, Kuramoto K, Hori K, Naito H, Shimoda K: Selective and

preferential inhibition of an activated form of JAK2 by a novel JAK2 inhibitor, NS-018.第73回日本血液学会学術集会, 2011年10月15日,名古屋

13. Shide K, Kameda T, Shimoda H, Kamiunten A, Sekine M, Hidaka T, Katayose K, Kubuki Y, Kitanaka A, Shimoda K: TET2 Is Essential for Survival in Mice, and Decreased TET2 Expression Enlarges HSC Compartment and Alters Cell Differentiation 第 American Society of Hematology 53th Annual Meeting, 2011年12月10日, サンディエゴ,

〔図書〕(計 14 件)

1. 上運天綾子, 下田和哉: 骨髄増殖性腫瘍に対する分子標的治療, 血液疾患最新の治療 2014-2016, 24-29, (直江知樹, 小澤敬也, 中尾眞二編), 南江堂, 東京, 2014
2. 幣光太郎, 下田和哉: 骨髄線維症に対する JAK 阻害薬. Annual Review 血液 2014, 高久史磨, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉讓, 小島勢二編, 中外医学社, 117-123, 2014
3. 下田和哉: 骨髄線維症 内科学書, 176-179, (小川聡総編), 中山書店, 東京, 2013
4. 薄井紀子, 木崎昌弘, 下田和哉, 高橋直人: 慢性骨髄性白血病/骨髄増殖性腫瘍 (Chronic myelogenous leukemia: CML/ myeloproliferative neoplasms: MPN) 造血器腫瘍診療ガイドライン 2013 年版, 77-104, (日本血液学会編), 金倉出版, 2013
5. 亀田拓郎, 下田和哉: 骨髄線維症, ここまでできた白血病/MDS 治療, 280-285, (金倉謙総編), 中山書店, 2013
6. 下田和哉: 真性赤血球増加症, 本態性血小板血症, 原発性骨髄線維症. 今日の治療指針 2012 年版 私はこう治療している, 山口徹, 北原光夫, 福井次夫編, 金原出版社, 574-576, 2012
7. 北中明, 下田和哉: 骨髄線維症に対する新規治療薬. Annual Review 血液 2012, 高久史磨, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉讓, 小島勢二編, 中外医学社, 124-130, 2012

8. 亀田拓郎, 下田和哉: MPN に対する分子標的療法の可能性. EBM 血液疾患の治療. 金倉讓, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸. 中外医学社, 216-219, 2012
9. 下田和哉: 慢性骨髄性白血病・骨髄増殖性腫瘍. 新臨床腫瘍学(改訂第3版)がん薬物療法専門医のために. 日本臨床腫瘍学会 編. (株)南江堂, 555-561, 2012
10. 幣光太郎, 下田和哉: 骨髄系 骨髄増殖性腫瘍のモデル動物を用いた解析. Annual Review 血液 2013. 高久史磨, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉讓, 小島勢二編. 中外医学社, 116-124, 2012
11. 幣光太郎, 下田和哉: 原発性骨髄線維症, 血液専門医テキスト, 日本血液学会編 (ア) 南江堂, 221-224, 2011
12. 谷口康博, 下田和哉: 原発性骨髄線維症, 専門医のための薬物療法 Q & A 血液, 編, 中外医学社, 116-126, 2011
13. 竹中克斗, 下田和哉, 赤司浩一: 骨髄線維症, 難治性貧血診療ガイド - 特発性造血障害の病態・診断・治療の最新動向, 難治性貧血診療ガイド編集委員会編集, 南江堂, 171-194, 2011
14. 北中明, 下田和哉: 原発性骨髄線維症の診断と治療, 白血病・リンパ腫・骨髄腫 - 今日の診断と治療, 木崎昌弘編, 中外医学社, 311-319, 2011

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 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 0 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

6. 研究組織

(1)研究代表者

下田和哉 (SHIMODA KAZUYA)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：90311844

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：