

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：17601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890177

研究課題名(和文) 骨髄系腫瘍における造血幹細胞腫瘍化メカニズムの解明、および新規治療標的分子の探索

研究課題名(英文) Pathogenesis and new drug targets in Myeloid cancer stem cells

研究代表者

幣 光太郎 (SHIDE, KOTARO)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：20468028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄系腫瘍の異常造血幹細胞に共通して生じているTET2変異の役割について、TET2機能が低下した細胞にどのような変化が生じているかを、マウスモデルを用いた解析により明らかにした。成果は今後の新規治療法開発の研究へつなげていく予定である。

また、真性多血症、本態性血小板血症、原発性骨髄線維症からなる骨髄増殖性腫瘍では、疾患特異的な遺伝子異常であるJAK2V617F変異がしばしばTET2変異と同時に生じている。TET2変異マウスと、JAK2V617Fトランスジェニックマウスの2種類のマウスモデルを用いて、TET2変異の併存が「疾患の重症化」、「発症能の増強」といった意義をもつ可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Role of TET2 mutations that occur commonly in abnormal hematopoietic stem cells of the myeloid tumors is unclear.

By analyzing TET2 deficient mice, we revealed what changes are occurred in the hematopoietic progenitor cells in which TET2 function is reduced. Application of the result to development of novel therapies for myeloid tumors is expected.

In addition, by using the JAK2V617F transgenic mice and TET2 deficient mice, we revealed that co-existence of TET2 mutations affect "severity of disease" and "enhancement of the onset ability" of JAK2V617F transgenic mice.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：血液内科学

キーワード：骨髄系腫瘍 エピゲノム異常

1. 研究開始当初の背景

骨髄増殖性腫瘍(Myeloproliferative neoplasms:MPN)、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病などの骨髄系腫瘍では、骨髄系細胞がクローナルに増殖しているという共通点がある。しかし、異なる疾患として定義されているように各々病態は異なっており、それぞれの疾患群ごとに、疾患特異的な遺伝子変異も同定されてきた。2009年、骨髄系腫瘍の造血幹細胞には共通して、TET2 遺伝子に機能欠失型の変異が見られることが発見された(Delhommeau F. N Engl J Med 2009)。変異による TET2 機能の低下が、骨髄系腫瘍の発症と進展にどのように関わっているかについては、まだよく解っていない。

2. 研究の目的

(1) TET2 低発現細胞の特性解析

骨髄系腫瘍に共通の TET2 変異からは、『疾患群に共通する腫瘍化メカニズム』の存在が示唆される。本研究では TET2 低発現マウスの表現型をもとに、骨髄系腫瘍共通の腫瘍化メカニズムを解明し、有効な新規治療法の開発へとつなげることが目的である。

(2) TET2 変異の疾患形成における役割解明
MPN における JAK2V617F 変異のような疾患特異的な遺伝子変異は、単独でマウスにヒトと酷似した病態を再現できることから、疾患の発症に十分であると考えられる。一方で TET2 変異のような疾患をまたぐ共通の異常は、疾患特異的な変異としばしば併存しているが、疾患の発症と進展における意義が未解明である。本研究では、疾患特異的な変異のモデルマウスと TET2 変異マウスを用いて、TET2 変異の疾患形成における意義を解明する。

3. 研究の方法

(1) TET2 低発現細胞の特性解析

メチル化パターン解析

TET2 は DNA の脱メチル化に関わる酵素であることから、TET2 変異は、血液細胞のメチル化パターン変化を介して腫瘍化に関わると考えた。まず、野生型マウス、TET2 低発現マウスの 2 群のマウスから末梢血好中球をカラムを用いて純化し、そのゲノム DNA を抽出した。次に抽出したゲノム DNA のメチル化パターンを、MeDIP 法とマイクロアレイ法を用いて比較した。

遺伝子発現解析

まず、野生型マウス、TET2 低発現マウスの 2 群のマウスからそれぞれ多能性前駆細胞分画 (Lineage-, cKit+, Sca-1+分画) の細胞をセルソーターを用いて純化した。次にその遺

伝子発現パターンをマイクロアレイによって比較した。また、発現が変動している遺伝子群について、その機能的意義を検討した。

(2) TET2 変異の疾患形成における役割解明

ヒト MPN 様の疾患を発症する JAK2V617F 変異マウスと、TET2 低発現マウスの 2 種類のマウスを用いて、2 つの異常の相乗作用の検討を行った。「野生型マウス、TET2 低発現マウス、JAK2V617F 変異マウス、JAK2V617F 変異・TET2 低発現 2 重変異マウス」の 4 種類のマウスを作製した。次に表現型を相互に比較し、TET2 変異の共存による表現型の変化を解析した。

4. 研究成果

(1) TET2 低発現細胞の特性解析

野生型マウス、TET2 低発現マウスの好中球ゲノム DNA メチル化パターンの差異、多能性前駆細胞分画の遺伝子発現プロファイルの差異、について解析した。TET2 低発現マウスで有意に発現が亢進、低下している遺伝子について、遺伝子の機能に関する既知の知見等を参考に解析を進めている。

(2) TET2 変異の疾患形成における役割解明

JAK2V617F 変異・TET2 低発現 2 重変異マウスは、JAK2V617F 変異マウスと比較すると、血球増多や臓器腫大などが重症化し、早期に死亡した。TET2 変異の併存の一つの意義は、疾患の重症化であることが明らかになった。

さらに 2 重変異マウスの細胞は、JAK2V617F 変異マウスの細胞と比較して、野生型細胞との競合移植実験におけるクローン拡大、維持の能力が高いことが明らかになった。

(3) 成果の位置づけと今後の展望

TET2 変異のような骨髄系腫瘍共通の変異は、多くの場合疾患特異的な変異に先行して生じている。骨髄系腫瘍の治療標的を考える場合、疾患特異的な変異のみを標的とする従来の方法では治療効果に限界があることが示されつつある。

本研究で同定したような骨髄系共通の変異による細胞の変化に注目することで、新たな治療標的が同定できれば、より治療効果の高い治療法開発が可能であると考え、本研究の成果から次の研究を展開していく方針である。

また、JAK2V617F 変異と TET2 変異マウスを用いた研究は、不明であった TET2 変異の「疾患の重症化」「発症能力の増強」といった意義を明らかにした重要な成果である。

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 1 件)

Nakaya Y, Shide K, Naito H, Niwa T, Horio T, Miyake J and Shimoda K

Effect of NS-018, a selective JAK2V617F inhibitor, in a murine model of myelofibrosis Blood Cancer Journal. 1, e174; doi:10.1038/bcj.2013.73, 2014 [査読有]

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Shide K, Kameda T, Shimoda K, Shimoda H, Kamiunten A, Sekine M, Hidaka T, Kubuki Y, Kitanaka A, Shimoda K
Development of new therapies for myelofibrosis that target the transcription factor USF1
(口演、査読有)
第 75 回日本血液学会, OS-2-74 札幌, 2013 年 10 月
2. Kameda T, Shide K, Sekine M, Kamiunten A, Hidaka T, Kubuki Y, Kitanaka A, Marutsuka K, Shimoda K
The Impact Of TET2 Deficiency On MPN Induced by JAK2V617F Mutation
(口演、査読有)
第 75 回日本血液学会, OS-2-72 札幌, 2013 年 10 月
3. Kameda T, Shide K, Sekine M, Kamiunten A, Hidaka T, Kubuki Y, Kitanaka A, Marutsuka K, Shimoda K
Impact Of TET2 Deficiency On MPN Harboring JAK2V617F Mutation
(口演、査読有)
American Society of Hematology 55th Annual Meeting, Abstract no.478, New Orleans LA, 米国, Dec. 2013
4. Nakaya Y, Shide K, Naito H, Niwa T, Horio T, Miyake J, Shimoda K
NS-018, a Selective JAK2V617F Inhibitor, Improves JAK2V617F-Induced Murine Myelofibrosis Without Decreasing The Erythrocyte Or Platelet Count
(ポスター発表、査読有)
American Society of Hematology 55th Annual Meeting, Abstract no.3847, New Orleans LA, 米国, Dec. 2013

〔図書〕(計 5 件)

1. 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 54:1697-1703, 2013
2. 幣光太郎, 久富木庸子 「JAK2 阻害剤に対する耐性化のメカニズム」
血液内科 66:710-717, 2013
3. 幣光太郎 「骨髄線維症の診断と治療」
血液内科 66:384-391, 2013
4. 幣光太郎 「骨髄増殖性疾患に対する JAK 阻害薬の有効性と ruxolitinib の FDA 承認」
血液内科 66:7-14, 2013
5. 幣光太郎, 下田和哉 「骨髄増殖性腫瘍のモデル動物を用いた解析」
Annual Review 血液, 高久史磨, 溝口秀昭, 坂田洋一, 金倉讓, 小島勢二編
中外医学社, 116-124, 2013

〔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
該当なし

6. 研究組織
(1) 研究代表者

幣 光太郎 (SHIDE, Kotaro)
宮崎大学・医学部・助教
研究者番号：20468028

(2)研究分担者
該当なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者
該当なし ()

研究者番号：