

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24年6月13日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659181

研究課題名（和文） 中心体成熟プロセスを標的とする骨髄異形成症候群の治療法開発に向けた探索的検討

研究課題名（英文） Isolation and characterization of genes involved in the abnormalities of mitosis and nuclear morphology found in myelodysplastic syndromes.

研究代表者

稲葉 俊哉（INABA TOSHIYA）

広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授

研究者番号：60281292

研究成果の概要（和文）：骨髄異形成症候群（MDS）では、分裂像や核形態異常が特徴的である。われわれは、これらの異常の原因遺伝子候補として同定した Miki や CG-NAP が、傍中心体物質を輸送するシステムのメンバーであることを解明し、Molecular Cell 誌に発表した。一方、分裂中期の中心体機能を維持する蛋白質として dynactin-3 を同定し、J. Biol. Chem 誌に発表した。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this study is isolation and characterization of genes involved in the abnormalities of mitosis and nuclear morphology frequently found in myelodysplastic syndromes (MDS). We identified Miki and CG-NAP as crucial members of the transportation system for pericentriolar materials (Mol. Cell), and dynactin-3 that maintains centrosome function in the metaphase (JBC).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	0	2,100,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	240,000	3,140,000

研究分野：血液学

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：(1)MDS (2)エピゲノム制御 (3)骨髄異形成症候群 (4)7番染色体欠損 (5)発がん抑制遺伝子 (6)遺伝子欠損マウス (7)エンドソーム代謝

1. 研究開始当初の背景

病期の進行した MDS では、ほぼ全例に、疾患の進行に深く関与する分裂像や核形態の異常が認められる。これらは、異

数体（染色体本数の異常）をもたらし、疾患の進行を促進し、予後に大きな影響を与えることに疑問の余地はないが、関与する遺伝子など、その分子生物学的な

背景はほとんど解明されていない。

2. 研究の目的

病期の進行したMDSで分裂像や核形態の異常をもたらす遺伝子異常をリストアップし、そのメカニズムを解明する。われわれはMDSで高頻度に欠失する7番染色体長腕(7q)より単離した、*LOC253012 = Miki* や *CG-NAP* 遺伝子の機能解析を行い、これらの遺伝子産物が分裂期中心体に局在し、MDS病態に関与している可能性を示唆する結果を得ていた。また、この研究の経過中に、分裂中期の中心体機能を維持する蛋白質として dynactin-3 を同定した。本研究では、これらの遺伝子産物の機能とMDS病態への関与を解明する。

3. 研究の方法

細胞系としてはHeLa細胞や、U2OS細胞等、株化がん細胞以外に、市販のヒト正常初代培養細胞や *Miki* 遺伝子欠損マウスから樹立した細胞を用いた。発現抑制はRNA干渉法を用い、レトロウイルスを用いた遺伝子導入を行った。

4. 研究成果

Miki や *CG-NAP* は、分裂期中心体に局在し、間期にはゴルジ体に、分裂期には中心体や紡錘糸に局在し、分裂期に必要な傍中心体物質(PCM)を中心体に輸送するシステムのメンバーであることを解明した。*Miki* や *CG-NAP* の発現抑制は、前中期中心体の不明瞭化と紡錘糸張力低下の結果、染色体が赤道面に整列せず、染色体散乱(コルヒチンミトーゼ)などの顕著な染色体整列異常が生じた。このため、分裂細胞は中期に入れずに遅滞し、染色体早期脱凝集現象を生じて、二核・多核・小核細胞などMDSに特徴的な形態

異常を生じた。これらの成果は *Mol. Cell* 誌に発表した

一方、分裂中期の中心体機能を維持する蛋白質として dynactin-3 を同定した。本蛋白質は p150^{Glued} や dynamitin と複合体を形成し、分子モーターとして機能することが知られていたが、われわれの研究結果は dynactin-3 が中期中心体に単独で存在し、その機能維持を司ることを示唆するものであり、その発現低下によって *Miki/CG-NAP* とは異なる機序による分裂異常をもたらすものであった。これらの成果をまとめて、*J. Biol. Chem.* 誌に掲載した。

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 15 件)

1. Shi, L., Fujioka, K., Sun, J., Kinomura, A., Inaba, T., Ikura, T., Ohtaki, M., Yoshida, M., Kodama, Y., Livingston, G.K., Kamiya, K., and Tashiro, S. (2012) A modified system for analyzing ionizing radiation-induced chromosome abnormalities. *Radiat Res.* 177: 533-538.
2. Zhang, X., Inukai, T., Hirose, K., Akahane, K., Kuroda, I., Honna-Oshiro, H., Kagami, K., Goi, K., Nakamura, K., Kobayashi, M., Endo, M., Yagita, H., Kurosawa, H., Look, A.T., Honda, H., Inaba, T., Nakazawa, S., and Sugita, K. Oncogenic Fusion E2A-HLF Sensitizes t(17;19)-positive Acute Lymphoblastic Leukemia to TRAIL-Mediated Apoptosis by Upregulating the Expression of Death Receptors. *Leukemia*, *in press*
3. Li, Q., Guo, H., Matsui, H., Honda, H., Inaba, T., Sundberg, J.P., Sprecher, E., and Uitto, J. Mouse Samd9l is not a functional paralogue of the human SAMD9, the gene mutated in normophosphataemic familial tumoral calcinosis. *Exp. Dermatol.*, *in press*
4. Ueda, T., Sanada, M., Matsui, H., Yamasaki, N., Honda, Zi., Shih, L.Y.,

- Mori, H., Inaba, T., Ogawa, S., and Honda, H. EED mutants impair polycomb repressive complex 2 in myelodysplastic syndrome and related neoplasms. *Leukemia*, *in press*
5. Ozaki, Y., Matsui, H., Asou, H., Nagamachi, A., Aki, D., Honda, H., Yasunaga, S., Takihara, Y., Yamamoto, T., Izumi, S., Ohsugi, M., and Inaba, T. Poly-ADP ribosylation of Miki by tankyrase-1 promotes centrosome maturation. *Mol. Cell*, *in press*
 6. Jin, L., Tabe, Y., Kimura, S., Zhou, Y., Kuroda, J., Asou, H., Inaba, T., Konopleva, M., Andreeff, M., and Miida, T. (2011) Antiproliferative and proapoptotic activity of GUT-70 mediated through potent inhibition of Hsp90 in mantle cell lymphoma. *Br. J. Cancer* 104: 91-100. 査読有
 7. Ozaki, Y., Matsui, H., Nagamachi, A., Asou, H., Aki, D., and Inaba, T. (2011) The dynactin complex maintains the integrity of metaphasic centrosomes to ensure transition to anaphase. *J. Biol. Chem* 286: 5589-5598. 査読有
 8. Jiang, Q., Quaynor, B., Sun, A., Li, Q., Matsui, H., Honda, H., Inaba, T., Sprecher, E., and Uitto, J. (2011) The Samd9L Gene: Transcriptional Regulation and Tissue-Specific Expression in Mouse Development. *J Invest Dermatol* 131: 1428-1434. 査読有
 9. Hiraga, N., Imamura, M., Abe, H., Hayes, C.N., Kono, T., Onishi, M., Tsuge, M., Takahashi, S., Ochi, H., Iwao, E., Kamiya, N., Yamada, I., Tateno, C., Yoshizato, K., Matsui, H., Kanai, A., Inaba, T., Tanaka, S., and Chayama, K. (2011) Rapid emergence of telaprevir resistant hepatitis C virus strain from wildtype clone in vivo. *Hepatology*. 54: 781-788. 査読有
 10. Seo, S., Nakamoto, T., Takeshita, M., Lu, J., Sato, T., Suzuki, T., Kamikubo, Y., Ichikawa, M., Noda, M., Ogawa, S., Honda, H., Oda, H. and Kurokawa, M. (2011) Cas-L regulates myeloid cell motility and suppresses progression of leukemia induced by p210Bcr/Abl. *Cancer Sci* 102, 2109-2117.
 11. Okuya, M., Kurosawa, H., Kikuchi, J., Furukawa, Y., Matsui, H., Aki, D., Matsunaga, T., Inukai, T., Goto, H., Altura, R. A., Sugita, K., Arisaka, O., Look, A. T., and Inaba, T. (2010) Upregulation of survivin by the E2A-HLF chimera is indispensable for the survival of t(17;19)-positive leukemia cells. *J. Biol. Chem.* 285: 1850-1860. 査読有
 12. Yamasaki, N., Miyazaki, K., Nagamachi, A., Koller, R., Oda, H., Miyazaki, M., Sasaki, T., Honda, Zi., Wolff, L., Inaba, T., and Honda, H. (2010) Identification of *Zfp521/ZNF521* as a cooperative gene for *E2A-HLF* to develop acute B-lineage leukemia. *Oncogene* 29: 1963-1975. 査読有
 13. Akahane, K., Inukai, T., Inaba, T., Kurosawa, H., Look, A.T., Kiyokawa, N., Fujimoto, J., Goto, H., Endo, M., Zhang, X., Hirose, K., Kuroda, I., Honna, H., Kagami, J., Goi, K., Nakazawa, S., and Sugita K. (2010) Specific induction of CD33 expression by E2A-HLF: the first evidence for aberrant myeloid antigen expression in ALL by a fusion transcription factor. *Leukemia* 24:865-869. 査読有
 14. Hirose, K., Inukai, T., Kikuchi, J., Furukawa, Y., Ikawa, T., Kawamoto, H., Oram, S.H., Göttgens, B., Kiyokawa, N., Miyagawa, Y., Okita, H., Akahane, K., Zhang, X., Kuroda, I., Honna, H., Kagami, K., Goi, K., Kurosawa, H., Look, A.T., Matsui, H., Inaba, T., and Sugita K. (2010) Aberrant induction of LM02 by the E2A-HLF chimeric transcription factor and its implication in leukemogenesis of B-precursor ALL with t(17;19). *Blood* 116: 962-970. 査読有
 15. Nagamachi, A., Htun, P.W., Ma, F., Miyazaki, K., Yamasaki, N., Kanno, M., Inaba, T., Honda, Z.I., Okuda, T., Oda, H., Tsuji, K., and Honda, H. (2010) A 5' untranslated region containing the IRES element in the Runx1 gene is required for angiogenesis, hematopoiesis and leukemogenesis in a knock-in mouse model. *Dev. Biol.* 345: 226-236. 査読有
- [学会発表] (計 11 件)
1. 松井 啓隆 Analysis of epigenetic changes by 5-Azacytidine that induces erythroid differentiation using a next generation sequencer. 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月5日 名古屋市

2. 松井 啓隆 Development of myeloid neoplasia in mice deficient for endosome fusion facilitator (eff)-2 gene that mimic human-7/7q- 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月5日名古屋市
 3. 松井 啓隆 Analysis of epigenetic alterations by 5-Azacitidine that induces erythroid differentiation using a next generation sequencer. 第73回日本血液学会学術集会2011年10月15日名古屋市
 4. Matsui, H. Titan (Samd9L), a candidate -7/7q- responsible gene product, downregulates cytokine signals by facilitating formation of early endosome. 第53回アメリカ血液学会2011年12月12日サンディエゴ 米国
 5. 松井啓隆, 長町安希子, 尾崎佑子, 安藝大輔^{*1}, 麻生博也^{*2}, 本田浩章^{*3}, 稲葉俊哉 (*¹La Jolla Inst for Allerg & Immunol, *²AstraZeneca, *³疾患モデル解析) 稲葉俊哉 7q 欠失責任遺伝子候補 *Titan* によるサイトカイン受容体分解制御 第51回原子爆弾後障害研究会 2010年6月6日 長崎
 6. 長町安希子, 松井啓隆, 安藝大輔^{*1}, 尾崎佑子, 麻生博也^{*2}, 山崎憲政^{*3}, 小田秀明^{*4}, 稲葉俊哉, 本田浩章^{*3} (*¹La Jolla Inst for Allerg & Immunol, *²AstraZeneca, *³疾患モデル解析, *⁴東京女子医大病理) 7q-欠損白血病における *Evil*, *Fbx110* の関与 第51回原子爆弾後障害研究会 2010年6月6日 長崎
 7. 尾崎佑子, 松井啓隆, 安藝大輔^{*1}, 長町安希子, 稲葉俊哉 (*¹ La Jolla Inst for Allerg & Immunol) 放射線誘発白血病の関連遺伝子 *Miki*/CG-NAP の分裂期中心体における機能 第51回原子爆弾後障害研究会 2010年6月6日 長崎
 8. 松井啓隆, 長町安希子, 尾崎佑子, 麻生博也^{*1}, 本田浩章^{*2}, 稲葉俊哉 (*¹AstraZeneca, *²疾患モデル解析) Titan (Samd9L), a candidate 7q-responsible gene product, promotes degradation of cytokine receptors. 第69回日本癌学会総会 2010年9月23日, 大阪
 9. 松井啓隆, 長町安希子, 尾崎佑子, 麻生博也^{*1}, 本田浩章^{*2}, 稲葉俊哉 (*¹AstraZeneca, *²疾患モデル解析) Titan (Samd9L), a candidate 7q-responsible gene product, promotes degradation of cytokine receptors. 第72回日本血液学会総会 2010年9月24日, 横浜
 10. 松井啓隆 7番染色体長腕欠損による白血病発症メカニズム: 責任遺伝子の単離と機能解析 第53回放射線影響学会大会 (招待講演) 2010年10月20日, 京都
 11. Matsui H, Nagamachi A, Ozaki Y, Asou H^{*1}, Honda H^{*2}, Inaba T. (*¹AstraZeneca, *²Dept Dev Biol) Titan (Samd9L), a candidate -7/7q-responsible gene product, downregulates cytokine signals by facilitating formation of early endosomes. 第52回米国血液学会総会 2010年12月6日, 米国 オーランド
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
稲葉 俊哉 (INABA TOSHIYA)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授
研究者番号: 60281292
 - (2) 研究分担者
松井 啓隆 (MATSUI HIROTAKA)
広島大学・原爆放射線医科学研究所・准教授
研究者番号: 60379849