

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591405

研究課題名(和文) HMGA2の造血器腫瘍異常クローン拡大・増殖における役割の解明

研究課題名(英文) The role of HMGA2 in expansion of an abnormal hematopoietic clone

研究代表者

池田 和彦 (Ikeda, Kazuhiko)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90381392

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄増殖性腫瘍(MPN)は真性多血症、本態性血小板血症および原発性骨髄線維症(PMF)を含み、成熟した骨髄系細胞の増殖から骨髄線維化や急性白血病への進展を来すが、その進展機序の多くは不明である。今回の研究によって、MPNの中でも、HMGA2は特にPMFにおいて高発現していること、HMGA2高発現にはlet-7マイクロRNAの低下が関与していることが示唆された。一方、HMGA2発現はDNAメチル化などにも関与し、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬によって制御されることも判明した。さらに、HMGA2発現が長期間持続することによって無効造血など病態の進展が見られることがマウスの検討で示された。

研究成果の概要(英文)：Myeloproliferative neoplasms (MPNs), including polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis (PMF), are clonal hematological disorders characterized by proliferation of mature blood cells. In this study, we found deregulated HMGA2 mRNA expression due to reduced let-7 micro RNA (miRNAs) in granulocytes from patients with almost all of PMF and over 20% of PV and ET, being associated with splenomegaly, elevated serum LDH values, and methylation of p16 promoter. Since association of histone deacetylase (HDAC) with HMGA2 has been reported in cord blood-derived cells, we next studied effects of an HDAC inhibitor panobinostat on expressions of HMGA2 and let-7 in HMGA2-expressing myeloid cells including PMF-derived CD34+ cells. The panobinostat decreased expression of HMGA2 through 3' UTR of HMGA2 mRNA by increasing expressions of let-7 miRNAs. Thus, deregulated expression of HMGA2 due to downregulation of let-7 miRNAs is a possible therapeutic target of HDACi in MPNs.

研究分野：血液内科学

キーワード：骨髄増殖性腫瘍 原発性骨髄線維症 HMGA2 マイクロRNA エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

真性多血症(polycythemia vera; PV)、本態性血小板血症(essential thrombocythemia; ET) および原発性骨髄線維症(primary myelofibrosis; PMF)を含む骨髄増殖性腫瘍(myeloproliferative neoplasms; MPN)は、主として成熟した骨髄系細胞がクローン性に増加する疾患群である。2005年、MPNにおいて JAK2V617F 変異が同定され、JAK-STAT 系の恒常的な活性化による造血細胞増殖機序に関する一端が明らかになった。一方で、JAK2 変異以外に TET2 等様々な遺伝子変異が報告されたが、当時それら変異の役割の多くは不明であった。

High mobility group A2 (HMGA2) は、MPN 症例において JAK2 変異陽性例と陰性例の両者に過剰発現し、特に JAK2 変異陽性例での発現が高いことが一部で報告されていた(Stem Cells, 2007)。HMGA2 の発現は、正常では HMGA2 mRNA の 3'非翻訳領域(UTR)と let-7 マイクロ RNA の結合により抑制されている(Science, 2007)。我々は先行研究において 3'UTR を欠く HMGA2 を過剰発現するトランスジェニックマウス(Δ Hmga2 マウス)を開発し、MPN 様造血と造血クローンの拡大を起こすことを見いだした(Ikeda et al, **Blood**, 2011;117:5860-69)。以上から、MPN において、JAK2 変異や TET2 変異に加え、HMGA2 高発現が病態に関与している可能性が考慮された。

2. 研究の目的

本研究は HMGA2 や let-7 の発現が MPN の臨床像や病態進展に与える影響、造血におよぼす分子機構を明らかにし、MPN および類縁の造血器腫瘍に対する治療応用への基盤を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

MPN と類縁疾患症例の臨床像と HMGA2 や let-7 発現の相関に関する検討、 Δ Hmga2 マウスにおける造血の分子機構と分子標的薬剤が及ぼす影響の調査、HMGA2 を発現する造血細胞 cell line を用いたシグナル伝達経路の解析を行う。

4. 研究成果

MPN の病態における異常クローンの拡大や維持、二次性の骨髄線維症(MF)や急性骨髄性白血病(AML)への病態進展については、JAK2V617F 等 JAK-STAT 系を促進する変異のみで説明することは困難である。実際、JAK2V617F 陽性 MPN 症例の造血では JAK2V617F 変異陰性の細胞もクローン性であり、MPN から AML への移行において JAK2V617F 変異が消失する例もみられる。競合的造血再構築実験において、JAK2V617F 変異陽性のみでは、必ずしもクローンが優位性を示さないことも報告されている。2009年に TET2 変異が発見されて

以降、MPN においてもクロマチン制御やヒストンおよび DNA のメチル化に関連するエピジェネティクスに関連した遺伝子、さらにマイクロ RNA を含め、遺伝子発現調節において重要な働きをする様々な異常も注目されてきた。HMGA2 は様々な遺伝子の発現を調節し、クロマチン修飾にも関与する癌遺伝子である。これまで、HMGA2 の高発現が MPN において認められることなどが散発的に報告されてきた。

本研究において、我々は MPN における HMGA2 mRNA 発現量を検討した。健常者コントロール(n=13)の平均+2SD を上回る HMGA2 mRNA の発現を示した症例は PV で 22% (5/23)、ET 27% (9/33)だったのに対し、PMF では 100% (10/10)と有意に高頻度であった($P < 0.01$)。HMGA2 mRNA 発現量は血清 LDH 値 ($r = 0.4687$, $P < 0.01$)、JAK2 V617F アリル量は白血球数 ($r = 0.4219$, $P < 0.01$) とそれぞれ有意に相関していたことから、HMGA2 発現が JAK2 変異とは異なる経路で MPN の病態に関与していることが示唆された。一方、HMGA2 は let-7 群マイクロ RNA による発現調節を受けることから、HMGA2 mRNA 発現量が高い症例と正常な症例における let-7 発現量を比較したところ、前者において let-7 群マイクロ RNA の発現が有意に低下していた。以上から、MPN において JAK2 V617F 等のドライバー変異とマイクロ RNA などの異常に伴う HMGA2 発現増加が MPN の病態に関与していることが示唆された。次いで、エピジェネティクスの関連について検討を行った。HMGA2 の高発現例では CDKN2A プロモーターメチル化の頻度が高いことがわかった。このため、HMGA2 を発現する U937 細胞において siRNA で HMGA2 をノックダウンしたところ、CDKN2A プロモーターは脱メチル化された。さらに、HMGA2 が治療標的となり得るか、検討した。HDAC 阻害薬の panobinostat は let-7 の発現量を増加させ、その結果 3' UTR 依存性に HMGA2 を低下させることが分かった。

次いで、HMGA2 発現が長期間持続した場合の造血への影響を明らかにする目的で、我々は Δ Hmga2 マウスを1年間以上観察した。若齢では全血球系の血球増加を来していたのに対し、高齢マウスでは無効造血を含む骨髄異形成症候群様の病態を来することが判明し、HMGA2 発現持続が MPN 病態の進展にも関与しうることが示唆された。

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19件)

1. Ngoma AM, Ikeda K, Hashimoto Y, Mochizuki K, Takahashi H, Sano H,

- Matsumoto H, Noji H, Ohtsuka M, Kikuta A, Ogawa K, Abe M, Nollet KE, Ohto H. Impaired regulatory T cell reconstitution in patients with acute graft-versus-host disease and cytomegalovirus infection after allogeneic bone marrow transplantation. **Int J Hematol**. 2012;95(1):86-94.
2. Hu H, Shikama Y, Shichishima T, Ikeda K, Akutsu K, Ono T, Kimura H, Ogawa K, Noji H, Takeishi Y, Kimura J. Maturity-dependent fractionation of neutrophil progenitors: a new method to examine in vivo expression profiles of differentiation-regulating genes. **Exp Hematol**. 2012;40(8):675-681.
 3. Ikeda K, Ogawa K, Takeishi Y. The role of HMGA2 in the proliferation and expansion of a hematopoietic cell in myeloproliferative neoplasms. **Fukushima J Med Sci**. 2012;58:91-100.
 4. Harada K, Ikeda K, Matsumoto H, Furukawa M, Takahashi H, Ohkawara H, Noji H, Tasaki K, Abe M, Ogawa K, Takeishi Y. A Japanese case of chronic lymphocytic leukemia with t(1;6). **Exp Hematol Oncol**, 2012;1:28.
 5. 池田和彦. 骨髄増殖性腫瘍の分子病態 -High mobility group AT-hook 2 (HMGA2) の役割-. 日本輸血細胞治療学会誌. 2012;58(3):441-447.
 6. Feng X, Shikama Y, Shichishima T, Noji H, Ikeda K, Ogawa K, Kimura H, Takeishi Y, Kimura J. Impairment of FOS mRNA stabilization following translation arrest in granulocytes from myelodysplastic syndrome patients. **PLOS One**. 2013;8(4):e61107.
 7. Ikeda K*, Ohto H, Kanno T, Gonda K, Suzuki Y, Ono T, Saito S, Takahashi H, Kimura S, Harada-Shirado K, Yamauchi H, Hoshino Y, Mashimo Y, Nollet KE, Kikuta A, Ogawa K, Takeishi Y. Peripheral blood progenitor cell collection by two programs for autologous and allogeneic transplantation. **Transfusion**. 2014; 54(5):1235-42.
 8. Harada-Shirado K, Ikeda K, Matsumoto H, Shiga Y, Furukawa M, Takahashi H, Ohkawara H, Noji H, Hashimoto Y, Waguri S, Watanabe S, Ogawa K, Takeishi Y. Somatic 15q Break after Long-Term Stable Disease in Acute Myeloid Leukemia. **Clin Lymphoma Myeloma Leuk**. 2014; 14(2):e69-72.
 9. Ohkawara H, Ishibashi T, Sugimoto K, Ikeda K, Ogawa K, Takeishi Y. Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase/Akt Signaling Axis Modulates TNF-alpha-Induced Procoagulant Activity and Apoptosis in Endothelial Cells. **PLOS One**. 2014;9(8):e105697.
 10. Hu H, Shikama Y, Shichishima T, Ikeda K, Akutsu K, Ono T, Kimura H, Ogawa K, Noji H, Takeishi Y, Kimura J. A new method for maturity-dependent fractionation of neutrophil progenitors applicable for the study of myelodysplastic syndromes. **Biomark Res**. 2014;2(1):2.
 11. Harada-Shirado K, Ikeda K, Furukawa M, Sukegawa M, Takahashi H, Shichishima-Nakamura A, Noji H, Kawabata K, Saito S, Ohto H, Ogawa K, Takeishi Y. Anti-Influenza Viral Agent Peramivir Possibly Elicited Severe Immune Thrombocytopenia. **Intern Med**. 2014;53(20):2369-71.
 12. Takahashi H, Ohkawara H, Ikeda K, Harada-Shirado K, Furukawa M, Sukegawa M, Shichishima-Nakamura A, Noji H, Wakamatsu S, Tasaki K, Suzuki H, Ogawa K, Takeishi Y. Pleural solitary fibrous tumor complicated with autoimmune hemolytic anemia. **Intern Med**. 2014;53(14):1549-52.
 13. 池田和彦. 骨髄増殖性腫瘍における HMGA2 (high mobility group AT-hook2) の役割. 血液フロンティア 2014;24(7):997-1003.
 14. 池田和彦. マイクロ RNA と血液疾患: エピジェネティクス(クロマチン制御)と マイクロ RNA. 血液内科 2014;68(6):742-746.
 15. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, Ohkawara H, Kimura H, Kai T, Noji H, Morishita S, Komatsu N, Takeishi Y. Dysregulation of the MIRLET7/HMGA2 axis with methylation of the CDKN2A promoter in myeloproliferative neoplasms. **Brit J Haematol**. 2015;168(3):338-49.
 16. Ikeda K, Harada-Shirado K, Matsumoto H, Noji H, Ogawa K, Takeishi Y. Molecular response of e19a2 BCR-ABL1 chronic myeloid leukemia with double Philadelphia chromosome by dasatinib. **J Clin Oncol**. Epub ahead of print.
 17. Minemura H, Ikeda K, Tanino Y, Hashimoto Y, Nikaido T, Fukuhara A, Yokouchi H, Sato S, Tanino M, Oka T, Hebisawa A, Suzuki H, Ogawa K, Takeishi Y, Munakata M. Multicentric Castleman's Disease with Impaired Lymphocytic Apoptosis. **Allergy Int**. 2015;64(1):112-114.

18. Nakamura Y, Suzuki S, Shimizu T, Miyata M, Ikeda K, Saitoh S, Kubota I, Takeishi Y. High mobility group box 1 promotes angiogenesis from bone marrow-derived endothelial progenitor cells after myocardial infarction. **J Atheroscler Thromb.** Epub ahead of print.
 19. Furukawa M, Ikeda K, Ohkawara H, Saito S, Takahashi H, Ueda K, Matsumoto H, Hashimoto Y, Ohto H, Ogawa K, Takeishi Y. Persistent complete remission of acute leukemic-phase CCR4-positive gamma-delta peripheral T-cell lymphoma by autologous stem cell transplantation with mogamulizumab. **Int J Hematol.** In press.
- [学会発表](計20件)
1. 原田佳代, 池田和彦, 志賀 隆, 松本勇人, 高橋裕志, 七島晶子, 大河原浩, 橋本優子, 野地秀義, 小川一英, 阿部正文, 竹石恭知. 極めて緩徐な経過を辿っている急性骨髄性白血病(AML)くすぶり型AML. 第114回 日本血液学会東北地方会(2012.9.8, 仙台)
 2. 高橋裕志, 池田和彦, 原田佳代, 松本勇人, 七島晶子, 大河原浩, 野地秀義, 七島 勉, 小川一英, 竹石恭知. 鉄キレート療法が有効であった再生不良性貧血の2症例. 第197回 日本内科学会東北地方会(2012.9.8, 仙台)
 3. Ikeda K, Harada-Shirado K, Ogawa K, Mason P, Bessler M, Takeishi Y. Expression of let-7 micro RNAs in transgenic Hmga2 mice. 第74回 日本血液学会学術集会(2012.10.19-10.21, 京都)
 4. Ikeda K, Mashimo Y, Ngoma A, Matsumoto H, Hashimoto Y, Kikuta A, Ogawa K, Abe M, Ohto H, Takeishi Y. Kinetics of regulatory T cell after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 第74回 日本血液学会学術集会(2012.10.19-10.21, 京都)
 5. Feng X, Shikama Y, Noji H, Shichishima T, Ikeda K, Ogawa K, Takeishi Y, Kimura J. Mechanism of impaired FOS mRNA induction by emetine in myelodysplastic syndrome granulocytes. 第74回 日本血液学会学術集会 2012.10.19-10.21, 京都)
 6. Harada-Shirado K, Ikeda K, Minemura H, Tanino Y, Hashimoto Y, Munakata M, Abe M, Ogawa K, Takeishi Y. Multicentric Castleman's disease in the familial autoimmune endocrine disorders. 第74回 日本血液学会学術集会 2012.10.19-10.21, 京都)
 7. Xiaomin F, Yayoi S, Shichishima T, Noji H, Ikeda K, Ogawa K, Takeishi Y, Kimura J. Impairment of HuR-mediated FOS mRNA stabilization in granulocytes from myelodysplastic syndrome patients. 2012 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (2012.12.8-12.11, Atlanta, Georgia, USA)
 8. Ikeda K, Harada-Shirado K, Ogawa K, Mason PJ, Bessler M, Takeishi Y. Expression of Let-7 micro RNAs in transgenic mice overexpressing truncated Hmga2. 2012 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (2012.12.8-12.11, Atlanta, Georgia, USA)
 9. 池田和彦, 原田佳代, 古川未希, 助川真純, 高橋裕志, 七島晶子, 大河原浩, 野地秀義, 小川一英, 竹石恭知. ダサチニブにより良好な治療反応が得られた-BCR/ABL陽性慢性骨髄性白血病(CML). 第116回 日本血液学会東北地方会(2013.8.31, 青森)
 10. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, Noji H, Kimura H, Kai T, Morishita S, Komatsu N, Takeishi Y. Expression of HMGA2 in granulocytes from patients with myeloproliferative neoplasms (MPNs). 第75回 日本血液学会学術集会(2013.10.11-10.13, 札幌)
 11. Ikeda K, Ogawa K, Harada-Shirado K, Shiga Y, Furukawa M, Takahashi H, Matsumoto H, Ohkawara H, Noji H, Takeishi Y. Expression of NECDIN in acute myeloid leukemia (AML). 第75回 日本血液学会学術集会(2013.10.11-10.13, 札幌)
 12. Shikama Y, Feng X, Cao M, Kimura H, Noji H, Ogawa K, Ikeda K, Shichishima T, Takeishi Y, Kimura J. Impaired stabilization of FOS mRNA in myelodysplastic syndrome-derived neutrophils. 第75回 日本血液学会学術集会(2013.10.11-10.13, 札幌)
 13. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, Noji H, Kimura H, Kai T, Morishita S, Komatsu N, Takeishi Y. The role of deregulated HMGA2 expression with promoter methylation of p16 in myeloproliferative neoplasms. 2013 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (2013.12.7-12.10, New Orleans, Louisiana, USA)
 14. Ikeda K, Mason PJ, Harada-Shirado K, Ogawa K, Bessler M, Takeishi Y. Ineffective erythropoiesis with increased neutrophils in old mice overexpressing Hmga2 cDNA. 2013

- American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (2013.12.7-12.10, New Orleans, Louisiana, USA)
15. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, Noji H, Ohkawara H, Kimura H, Kai T, Morishita S, Komatsu N, Takeishi Y. The role of deregulated HMGA2 expression due to repressed let-7 micro RNA in myeloproliferative neoplasm (MPNs). The 5th JSH International Symposium 2014 (2014.5.24-5.25, Hamamatsu, Japan)
16. Ikeda K, Mason P, Harada-Shirado K, Ogawa K, Bessler M, Takeishi Y. Neutrophilia and ineffective erythropoiesis in old mice overexpressing Hmga2. 第76回 日本血液学会学術集会 (2014.10.31-11.2, 大阪)
17. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, Noji H, Ohkawara H, Kimura H, kai T, Morishita S, Komatsu N, Takeishi Y. Correlation of HMGA2 mRNA and let-7 micro RNAs with Methylation of p16 in MPNs. 第76回 日本血液学会学術集会 (2014.10.31-11.2, 大阪)
18. Nakamura Y, Suzuki S, Shimizu T, Miyata M, Shishido T, Ikeda K, Saitoh S, Kubota I, Takeishi Y. High mobility group box 1 promotes angiogenesis from bone marrow-derived endothelial progenitor cells after myocardial infarction. Scientific Sessions of American Heart Association 2014 (2014.11.15-11.19, Chicago, USA)
19. Ikeda K, Mashimo Y, Ohkawara H, Takahashi H, Shichishima-Nakamura A, Harada-Shirado K, Furukawa M, Noji H, Ogawa K, Ohto H, Takeishi Y. Impact of red blood cell and platelet transfusions at early after engraftment on outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 2014 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition(2014.12.6-12.9, San Francisco, USA)
20. Harada-Shirado K, Ikeda K, Ogawa K, Ohkawara H, Takeishi Y. Dysregulation of the let-7/HMGA2 axis with methylation of p16 promoter as a possible target of histone deacetylase inhibitor in myeloproliferative neoplasms. 2014 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (2014.12.6-12.9, San Francisco, USA)

〔図書〕(計0件)

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
http://www.fmu.ac.jp/home/int-med1/research_announce.htm#blood1

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田和彦 (IKEDA Kazuhiko)
福島県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90381392

(2) 研究分担者

竹石恭知 (TAKEISHI Yasuchika)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：40272067

小川一英 (OGAWA Kazuei)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：40423800

(3) 連携研究者

()

研究者番号：