

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09457

研究課題名(和文) HMGA2による骨髄線維症の新たな診断・治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel diagnostics and treatments using HMGA2 mRNA in patients with myeloproliferative neoplasms

研究代表者

原田 佳代 (Harada-Shirado, kayo)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00722521

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄増殖性腫瘍(MPN)では、JAK2V617F変異が高率で認められる。我々は腫瘍遺伝子のHMGA2がMPN、特にPMF患者ではほぼ100%発現していることを明らかにした。PMFでは白血病へ移行が問題となり、ETからの二次性骨髄線維化の鑑別が難しいため、簡便な診断や治療法の開発が望まれていた。今回HMGA2を高発現するマウスとJAK2V617F変異マウスを交配してHMGA2のMPNにおける役割を検討した。Hmga2はJAK2V617F変異と協調してMPNの増悪に関与することが示唆された。更にEZH2やASXL1などPRC2の遺伝子変異とも関連してHMGA2が過剰発現していた症例が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Myeloproliferative neoplasm (MPNs) are clonal haematological disorders. JAK2 V617F mutations lead to haematopoietic cell proliferation. High Mobility Group AT-hook 2 (HMGA2) is a non-histone chromatin protein, contributing to chromatin modification and epigenetic regulation. Previously, we showed that HMGA2 mRNA expression was frequently elevated in patients with MPNs, especially PMF. It may be progressing to AML and having difficulty to distinguish between PMF and secondary MF in patients with ET. Therefore, it is preferable to develop simple diagnostics and treatments using HMGA2 mRNA. We evaluated the impact of HMGA2 on MPNs by generated Hmga2/JAK2V617F mice, which exhibited exacerbations disease(1). This study also showed most patients with PMF highly expressed HMGA2 mRNA with mutations in PRC2, EZH2 or ASXL1. These findings suggest the crucial role of HMGA2 with correlated to PRC2 in diagnostics and targets of treatment in patient with MPNs. (1)Ueda, et al, blood advances, 2017)

研究分野：骨髄増殖性腫瘍

キーワード：HMGA2 MPN JAK2V617F EZH2 ASXL1

### 1. 研究開始当初の背景

真性赤血球増加症(PV), 本態性血小板血症(ET)およびPMFを含むMPNは成熟した造血細胞がクローン性に増加する疾患群である。MPNの一部は急性骨髄性白血病(AML)に移行し、特にPMFではその頻度が高い。PMFが進行すると肝脾腫、体重減少、発熱、盗汗、皮膚掻痒、さらに貧血と血小板減少を来し、易感染性、出血、急性白血病への進展などにより、平均生存期間は約3年間と予後不良である。PMFではJAK2V617FやCALR変異等、細胞増殖に関与するJAK-STAT系を活性化するドライバー変異が大半の症例で検出される(Klampf et al, N Engl J Med, 2013)。このためJAK2阻害薬が開発され、脾腫やquality of life (QOL)の改善などをもたらした。しかし、JAK2阻害薬はJAK2V617F変異のアリル量には影響を及ぼさないことが判明しており、根本的な治療法が開発が望まれている。我々の研究室では以前よりHMGA2高発現マウスを開発し(Ikeda et al, Blood, 2011), MPN様の造血と造血幹細胞の強い自己複製能を呈することを報告してきた(Ikeda, Harada-Shirado, et al, Blood, 2013 [abstract]他)。また、ごく最近、PMF症例では大部分のPMFにlet-7低下を伴うHMGA2 mRNAの高発現が認められることを見いだした(Harada-Shirado et al, Brit J Haematol, 2015)。PMFではdry tapのために骨髄血を吸引できず、診断や治療効果判定および白血化の予測は困難なことが多い。また、PMFの病初期においてはしばしばPVやETとの鑑別に苦慮する。一方、PMFにおいてHMGA2高発現ほど大多数の症例で認められる分子異常は他には報告されていない。

### 2. 研究の目的

原発性骨髄線維症(PMF)は骨髄増殖性腫瘍(MPN)に含まれ平均生存期間約3年と予後不良である。PMFは他のMPN(本態性血小板血症、真性多血症)と比較し急性白血病への移行頻度が高く、骨髄線維化も進行すると不可逆性となるため早期の診断・治療が望まれる。しかし病初期にはPMFと他のMPNとの鑑別はしばしば困難である。最近我々は大部分のPMF症例で、マイクロRNAのlet-7発現低下に伴い、癌遺伝子のHMGA2が高発現していること、さらにその発現量はLDH増加など病態とも相関することを示唆した。本研究では、HMGA2がPMFの鑑別診断マーカー、並びに線維化の進行や白血化を含む予後予測マーカーとなり得るか、またlet-7/HMGA2調節系が新たな薬物療法の治療標的となる可能性を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、以下の2点に着目して内容を検討する。

HMGA2の発現増加はPMF鑑別や病勢診断、予後予測のマーカーとなり得るか

HMGA2発現がPMFにおける治療の標的となり得るかをテーマに調査する。

については、新たなPMF症例の蓄積に加え、経時的なHMGA2発現の変化とPVやETにおける骨髄線維症への進行など臨床所見の相関を解析する。については、複数の細胞株を利用し、HMGA2を薬剤で抑制した場合、およびHMGA2をRNA干渉によりノックアウトした場合とlet-7を強制発現させた場合のHMGA2の発現変化並びにシグナル伝達経路の変化について解析する。この解析でHMGA2の観点から効果の期待される薬剤をスクリーニングされれば、HMGA2を発現するJAK2V617Fトランスジェニックマウスに対し投与して骨髄線維化が改善するか検証する。

### 3. 研究の方法

4. 研究成果

MPNの中でも特にPMFでHMGA2 mRNAが高発現

MPNの中でも特にPMFでHMGA2 mRNAが高発現

MPNの中でも特にPMFでHMGA2 mRNAが高発現

### 4. 研究成果

MPNの中でも特にPMFでHMGA2 mRNAが高発現

していた。我々のこれまでの研究で (Harada-Shirado et al, Bri J Haematol. 2015)、このような症例ではマイクロ RNA の *let-7* が低値となっていたが、今回、HMGA2 mRNA が過剰発現しているにも拘わらず、*let-7* が低値を取っていない症例があり、その中にポリコム遺伝子群 (PRC2) の EZH2 や ASXL1 に変異の認められた症例が含まれていた (Ueda et al, blood advances. 2017)。

一方、JAK2V617F トランスジェニックマウスと HMGA2 過剰発現マウスを交配させて Hmga2/ JAK2<sup>V617F</sup> マウスを作成し、HMGA2 の MPN に対する影響を評価した。その結果、Hmga2/ JAK2<sup>V617F</sup> マウスは JAK2V617F トランスジェニックマウスと比較して、白血球減少や貧血、脾腫がより重篤で、予後も短かった。継代造血幹細胞移植結果から、Hmga2/ JAK2<sup>V617F</sup> マウスは JAK2V617F トランスジェニックマウスよりも重篤な MPN を生じさせることが判った。以上より、MPN 症例では、*let-7* が抑制されているか、あるいはポリコム遺伝子の EZH2 や ASXL1 に変異があるかによって HMGA2 が過剰発現し、JAK2V617F と関連することで重篤な MPN を発現させていることが示唆された。そしてこの際 HMGA2 は重要な役割を担っていることが推察された。

以上より HMGA2 は、MPN 特に PMF において重要な予後予測、診断の際のマーカーと期待された。また、我々の既報告 (Harada-Shirado, Bri J Haematol. 2015) でも指摘された通り、HMGA2 過剰発現と DNA のメチル化の機点も着目され、治療標的として期待される。

#### 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3件)

1. Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Takayuki Ikezoe, Kayo Harada-Shirado, Kazuei Ogawa, Yuko Hashimoto, Takahiro Sano, Hiroshi

Ohkawara, Satoshi Kimura, Akiko Shichishima-Nakamura, Yuichi Nakamura, Yayoi Shikama, Tsutomu Mori, Philip J. Mason, Monica Bessler, Soji Morishita, Norio Komatsu, Kotaro Shide, Kazuya Shimoda, Shuhei Koide, Kazumasa Aoyama, Motohiko Oshima, Atsushi Iwama, Yasuchika Takeishi

Hmga2 collaborates with JAK2V617F in the development of myeloproliferative neoplasms

blood advances 1 (15), 1001-1015, 2017

2. Kazuhiko Ikeda, Kayo Harada-Shirado, Hayato Matsumoto, Hideyoshi Noji, Kazuei Ogawa, Yasuchika Takeishi

Molecular response of e19a2 BCR-ABL1 chronic myeloid leukemia with double Philadelphia chromosome by dasatinib  
Journal of Clinical Oncology 34 (14), e130-e133, 2016

3. Kayo Harada-Shirado, Kazuhiko Ikeda, Kazuei Ogawa, Hiroshi Ohkawara, Hideo Kimura, Tatsuyuki Kai, Hideyoshi Noji, Soji Morishita, Norio Komatsu, Yasuchika Takeishi

Dysregulation of the MIRLET7/HMGA2 axis with methylation of the CDKN2A promoter in myeloproliferative neoplasms

British Journal of Haematology 168 (3), 338-349, 2015

〔学会発表〕(計3件)

1. 58th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (2016.12.3-12.6, San Diego, USA)

Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Takayuki Ikezoe, Kazuei Ogawa, Yuko Hashimoto, Kayo Harada-Shirado, Hiroshi Ohkawara, Norio

Komatsu, Kotaro Shide, Kazuya Shimoda,  
Shuhei Koide, Motohiko Oshima, Atsushi  
Iwama, Yasuchika Takeishi

HMGA2 orchestrates the tumorigenesis of  
myeloproliferative neoplasms (MPN) in  
corporation with JAK2V617F

2. 第 77 回 日本血液学会学術集会  
(2015.10.16-10.18, 金沢)

Kayo Harada-Shirado, Kazuhiko Ikeda,  
Kazuei Ogawa, Hiroshi Ohkawara, Yasuchika  
Takeishi

Dysregulation of let-7/HMGA2 axis can be  
a target of histone deacetylase inhibitor  
in MPNs

3. 第 77 回 日本血液学会学術集会  
(2015.10.16-10.18, 金沢)

Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Yumiko Mashimo,  
Hiroshi Ohkawara, Hiroshi Takahashi,  
Akiko Shichishima-Nakamura, Kayo  
Harada-Shirado, Miki Furukawa, Satoshi  
Kimura, Hideyoshi Noji, Kazuei Ogawa,  
Hitoshi Ohto, Yasuchika Takeishi

Transfusions after engraftment associate  
with non-relapse mortality in the setting  
of allo-HSCT

〔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：  
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

原田 佳代 (Harada Kayo)  
福島県立医科大学医学部  
血液内科学講座・助教  
研究者番号：00722521

(2) 研究分担者

小川 一英 (Ogawa Kazuei)  
福島県立医科大学  
新医療系学部設置準備室・教授  
研究者番号：40423800

池田 和彦 (Ikeda Kazuhiko)  
福島県立医科大学医学部  
輸血・移植免疫学講座・教授  
研究者番号：90381392

(3) 連携研究者

植田 航希 (Ueda Koki)  
福島県立医科大学医学部  
血液内科学講座・助教  
研究者番号：80632190

(4) 研究協力者

( )