

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19554

研究課題名(和文) 骨髄増殖性腫瘍における重複遺伝子異常の意義及び急性転化メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of significance of multiple genetic abnormalities and mechanism of acute transformation in myeloproliferative neoplasms

研究代表者

亀田 拓郎 (Kameda, Takuro)

宮崎大学・医学部・医員

研究者番号：30468029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子改変マウス、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入法、骨髄移植法などの材料・手法を用いて、JAK2変異(JAK2V617F)、TET2欠損、CBFb-MYH11融合遺伝子の遺伝子異常を2重～3重で有するマウスモデルを作成した。「JAK2変異+TET2欠損」、「JAK2変異+CBFb-MYH11融合遺伝子」の2重異常モデルでは急性転化は生じなかった。つまり、JAK2変異骨髄増殖性腫瘍の急性転化には2つ以上の付加的異常が必要である。上記遺伝子異常の3重異常モデルを作成し解析に着手した。

研究成果の概要(英文)：We generated mouse models having genetic abnormalities of JAK2 mutation (JAK2V617F), TET2 deficiency, CBFb-MYH11 fusion gene in double to triple. In the double abnormal models (JAK2/TET2 compound model and JAK2/CBFb-MYH11 compound model), acute transformation did not occur. In conclusion, two or more additional abnormalities are required for the acute transformation of JAK2 mutant myeloproliferative neoplasms. The triple abnormal model was created and analysis was started.

研究分野：血液内科学

キーワード：骨髄増殖性腫瘍 急性転化 JAK2

1. 研究開始当初の背景

骨髄増殖性腫瘍 (Myeloproliferative Neoplasms; MPN) は、分化した骨髄系血球細胞がクローン性に増殖し、髄外造血に伴う脾腫、血球増多に伴う血栓症、骨髄の線維化などを呈する疾患群である。MPN は増殖する細胞の系統により、真性多血症 (赤血球の増殖)、本態性血小板血症 (血小板の増殖)、原発性骨髄線維症 (巨核球の増殖) に分類されるが、一定の頻度で急性骨髄性白血病へ転化するという共通の特徴を有する。ヒト症例の検討から、慢性期 MPN の病態の責任変異として造血幹細胞における JAK2 変異や TET2 欠損が報告されている。一方、急性転化に関連する変異としては、CBFb-MYH11 融合遺伝子や慢性期にも見られる TET2 欠損などが示唆されているが、未だマウスモデルでそれらの意義を証明した報告はない。

2. 研究の目的

MPN の病態解明の大きな課題は、未だ不明である急性転化機序の解明である。MPN の急性転化症例ではシグナル伝達異常 (JAK2 変異) 以外にエピゲノム異常や転写因子異常が高率に認められ、急性転化には機能の異なる 2 重 ~ 3 重の変異の蓄積が必要であると推測される。本研究では、遺伝子改変マウス、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入法、骨髄移植法などの材料・手法を用いて、機能の異なる遺伝子異常を 2 重 ~ 3 重で有するマウスモデルを作成し、急性転化に至る必要条件を探ること、急性転化メカニズムを明らかにすることを目的とする。

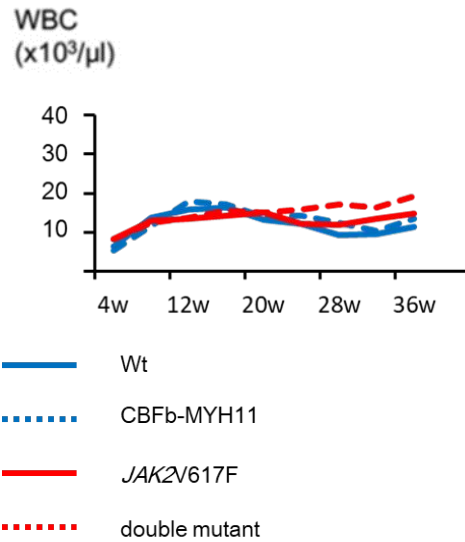
3. 研究の方法

2 重 ~ 3 重変異モデルの作成に際しては、JAK2 変異および TET2 欠損の遺伝子改変マウス同士の交配、骨髄細胞に対するレトロウイルスベクターを用いた融合遺伝子の導入、および骨髄移植などの実験手法を用いた。具体的には、TET2 欠損マウスと JAK2 変異マウスを交配し得た胎仔肝から、単独または 2 重の変異をもつ胎仔肝細胞を採取する。造血幹細胞を高頻度を含む c-kit 陽性細胞分画に、レトロウイルスベクターで CBFb-MYH11 融合遺伝子を導入し、2 重変異 ~ 3 重変異の造血幹細胞を作成する。この変異造血幹細胞をマウスに移植しどのような病態を呈するかを観察した。

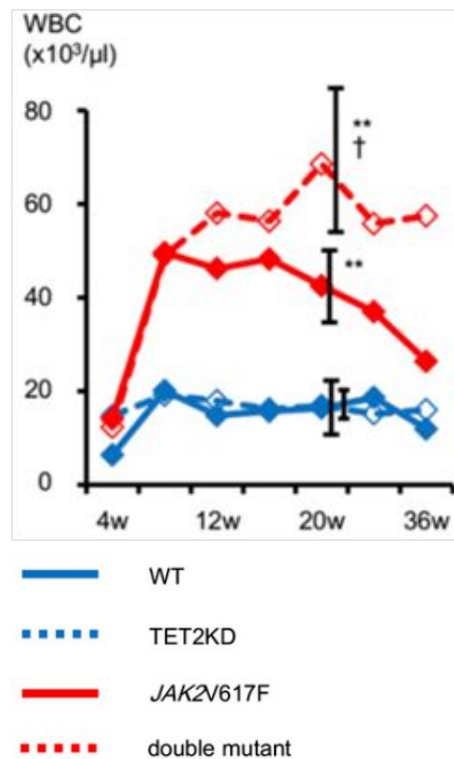
4. 研究成果

「JAK2 変異 + CBFb-MYH11 融合遺伝子」、および「JAK2 変異 + TET2 欠損」による 2 重

変異モデルにおいては、12 ヶ月の長期観察で急性転化は認められなかった (Blood. 2015 Jan 8; 125(2):304-15.) (図 1、図 2)。



(図 1) 「JAK2 変異 + CBFb-MYH11 融合遺伝子」による 2 重変異モデル (遺伝子導入骨髄移植モデル) においては、成熟白血球の数に異常なく、急性転化はみられなかった。



(図 2) 「JAK2 変異 + TET2 欠損」による 2 重変異モデル (胎仔肝移植モデル) においては、成熟白血球の慢性的増多はみられたが、急性転化はみられなかった。

そのため、「TET2 欠損 + CBFb-MYH11 融合遺伝子」による 2 重変異モデル、および「JAK2 変異 + TET2 欠損 + CBFb-MYH11 融合遺伝子」による 3 重変異モデルを作成した。骨髓細胞に対するレトロウイルスベクターを用いた CBFb-MYH11 融合遺伝子の導入は約 20% の効率で可能であり、遺伝子導入後の全骨髓細胞をレシピエントマウスに移植し、上記モデルマウスを作成した。作成したモデルマウスにおいて、現在までの約 2 ヶ月の観察期間内では急性転化は認められなかった。また本研究から派生して、MPN で高頻度にみられる CALR 変異に注目して、シグナル伝達異常と慢性血小板増多を呈する CALR 変異マウス、および CALR 変異と TET2 欠損の 2 重変異マウスを作成し、急性転化の有無について検討を開始した (Leukemia. 2017 May;31(5):1136-1144.)。これらの作成済みのモデルにおいて急性転化が生じるかについては、引き続き観察が必要である。

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 5 件)

Kubuki Y, Yamaji T, Hidaka T, Kameda T, Shide K, Sekine M, Kamiunten A, Akizuki K, Shimoda H, Tahira Y, Nakamura K, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Yamamoto S, Hasuike S, Nagata K, Kitanaka A, Shimoda K, TET2 mutation in diffuse large B-cell lymphoma., Journal of clinical and experimental hematopathology, 査読有, 56, 2017, 145-149, 10.3960/jslrt.56.145

Kubuki Y, Shide K, Kameda T, Yamaji T, Sekine M, Kamiunten A, Akizuki K, Shimoda H, Tahira Y, Nakamura K, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Hashimoto K, Yamamoto S, Hasuike S, Hidaka T, Nagata K, Kitanaka A, Shimoda K, Differences in Hematological and Clinical Features Between Essential Thrombocythemia Cases With JAK2- or CALR-Mutations., Annals of laboratory medicine., 査読有, 37, 2017, 159-161, 10.3343/alm.2017.37.2.159.

Sekine M, Kubuki Y, Kameda T, Takeuchi M, Toyama T, Kawano N, Maeda K, Sato S, Ishizaki J, Kawano H, Kamiunten A, Akizuki K, Tahira Y, Shimoda H, Shide K, Hidaka T, Kitanaka A, Yamashita K, Matsuoka H, Shimoda K, Effects of mogamulizumab in adult T-cell leukemia/lymphoma in clinical practice., European journal of haematology., 査読有, 98, 2017, 501-507, 10.1111/ejh.12863.

Shide K, Kameda T, Yamaji T, Sekine M, Inada N, Kamiunten A, Akizuki K, Nakamura K, Hidaka T, Kubuki Y, Shimoda H, Kitanaka A, Honda A, Sawaguchi A, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Hasuike S, Yamamoto S, Nagata K, Shimoda K, Calreticulin mutant mice develop essential thrombocythemia that is ameliorated by the JAK inhibitor ruxolitinib., Leukemia., 査読有, 308, 2016, 1-21, 10.1038/leu.2016.308

亀田拓郎、下田和哉、白血病における遺伝子ゲノム研究の動向 骨髓増殖性腫瘍、日本臨床増刊号、査読無、74、2016、468-472、

http://www.nippon-rinsho.co.jp/backnum/z_mokuji/7412Z.html

[学会発表](計 4 件)

Kotaro Shide, Takuro Kameda, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Tomonori Hidaka, Yoko Kubuki, Arata Honda, Akira Sawaguchi, Akira Kitanaka, Kazuya Shimoda, Physiological Expression of Calr Mutant Increases Cell Growth and Cytokine Independency in Human Cell Lines Expressing Mpl, and Develops Essential Thrombocythemia in Mice., 58th ASH Annual Meeting & Exposition, 2016/12/3-6, アメリカ合衆国

Masaaki Sekine, Yoko Kubuki, Takuro Kameda, Masaki Takeuchi, Takanori Toyama, Noriaki Kawano, Kouichi Maeda, Siichi Sato, Junzo Ishizaki, Hiroshi Kawano, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Haruko Shimoda, Kotaro Shide, Tomonori Hidaka, Akira Kitanaka, Kiyoshi Yamashita, Hitoshi Matsuoka, Kazuya Shimoda, Mogamulizumab for adult T-cell leukemia/lymphoma in clinical practice., 58th ASH Annual Meeting & Exposition, 2016/12/3-6, アメリカ合衆国

亀田拓郎、幣光太郎、関根雅明、山路卓巳、田平優貴、秋月溪一、上運天綾子、下田晴子、日高智徳、久富木庸子、北中明、下田和哉、TET2 欠損は HBZ トランスジェニックマウスの病態を増悪させる、第 3 回日本 HTLV-1 学会学術集会、2016 年 8 月 27 日、鹿児島市

Kotaro Shide, Takuro Kameda, Masaaki Sekine, Ayako Kamiunten, Keiichi Akizuki, Yuki Tahira, Haruko Shimoda, Tomonori Hidaka, Yoko

Kubuki, Arata Honda, Akira Kitanaka,
Kazuya Shimoda, CALRdel52
mutation activates the JAK-STAT
pathway in coordination with MPL,
and causes ET in mice., 第 78 回日本血
液学会学術集会, 2016 年 10 月 15 日, 横
浜市

〔図書〕(計 2 件)

亀田拓郎、下田和哉、株式会社最新医学
社、診断と治療の ABC113 慢性骨髓背白
血病 骨髓増殖性腫瘍、2016、223
亀田拓郎、下田和哉、日本臨牀社、白血
病学(下) - 最新の基礎, 臨床研究 -、
2016、582

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称: 該当なし
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: 該当なし
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

亀田 卓郎 (KAMEDA, Takuro)
宮崎大学・医学部・医員
研究者番号: 30468029

(2) 研究分担者

該当なし()

(3) 連携研究者

該当なし()

(4) 研究協力者

該当なし()