

令和元年6月20日現在

機関番号：12601
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：16K09841
研究課題名（和文）選択的スプライシングAML1-MTG8による白血病発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidating mechanisms of leukemogenesis by AML1-MTG8

研究代表者

福山 朋房（Fukuyama, Tomofusa）

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：10300906

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：t(8;21)染色体転座によって引き起こされる急性骨髄性白血病(AML)の発症メカニズムは未だ不明な点が多い。私達は、AML1-MTG8の選択的スプライシングバリエントが腫瘍化を引き起こすことをマウスモデルにて見いだした。その選択的スプライシングバリエントの標的遺伝子や結合蛋白質を解析し、腫瘍化を引き起こすメカニズムを明らかにしつつある。さらにその阻害によって、新しい白血病の治療法の開発を研究している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性骨髄性白血病(AML)の中で最も多い染色体転座t(8;21)によって引き起こされるAMLの原因を探求した。これにより新規のメカニズムを明らかにした。さらに詳しい解析により、t(8;21)AMLにとどまらず、他のAMLにも重要な遺伝子を特定しつつある。このことにより、この遺伝子産物を阻害することが、新たな白血病の治療の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The mechanisms of leukemogenesis for acute myeloid leukemia (AML) with chromosomal translocation of t(8;21) is still obscure. We are now elucidating the mechanisms of this AML type by searching target genes and interacting proteins.

研究分野：血液腫瘍内科

キーワード：急性骨髄性白血病 t(8;21)染色体転座 選択的スプライシングバリエント

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性骨髄性白血病(AML)において、染色体転座は高頻度に認められるが、その中で t(8;21) 染色体転座は最も多く認められる。これにより AML1-MTG8(RUNX1-RUNX1T1/ETO)の融合遺伝子が生成される。t(8;21)AML では芽球の増加と好中球系への分化傾向を持ち、異形成を伴って時に髄外腫瘍を来す、という臨床的な特徴を持つ。AML1 は他の様々な遺伝子とも融合遺伝子を形成して、それぞれ特有な臨床的特徴を持つ。よって t(8;21)AML の臨床病態は、AML1 の機能異常だけでは説明できず、MTG8 と融合していることが重要であると考えられる。

しかしマウスモデルにて全長の AML1-MTG8 cDNA のみでは白血病化を引き起こすことができないという報告や、長期完全寛解を来す t(8;21)AML の患者の中には、AML1 と MTG8 の融合部位を PCR にて検出できる症例があり、未だ白血病化を来すメカニズムは不明な点が多い。

2. 研究の目的

AML1-MTG8 の選択的スプライシングバリエントが白血病を引き起こすかを明らかにする。その発症メカニズムを明らかにし、将来の白血病治療へと展開する基盤を築く。

3. 研究の方法

- (1) マウス胎児肝造血細胞に、全長の AML1-MTG8 や選択的スプライシングバリエントをレトロウイルスにて導入し、コロニーアッセイやマウスへの移植を行う。
- (2) 標的遺伝子を網羅的に探索するため、マウス胎児肝造血細胞に上記と同じ cDNA を導入した細胞をソーティングし RNA-seq を行う。
- (3) 以前に私達が見いだした yeast two-hybrid screening による MTG8 結合蛋白質が、白血病化に寄与するのかを検証する。

4. 研究成果

AML1-MTG8 の選択的スプライシングバリエントはマウス移植モデルにおいて AML を引き起こした。その標的遺伝子と結合蛋白質を絞り込み、白血病化に寄与していることを明らかにしつつあり、その阻害が新しい治療に結びつけるかを検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

- (1) Takeda R, Yokoyama K, Ogawa M, Kawamata T, Fukuyama T, Kondoh K, Takei T, Nakamura S, Yamazaki M, Yusa N, Shimizu E, Ohno N, Uchimaru K, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano, Tojo A. The first case of elderly TCF3-HLF-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia and lymphoma*. In press.
- (2) Asada S, Goyama S, Inoue D, Shikata S, Takeda R, Fukushima T, Yonezawa T, Fujino T, Hayashi Y, Kawabata KC, Fukuyama T, Tanaka Y, Yokoyama A, Yamazaki S, Kozuka-Hata Hiroko, Oyama M, Kojima S, Kawazu M, Mano H, Kitamura T. Mutant ASXL1 cooperates with BAP1 to promote myeloid leukaemogenesis. *Nat Communications*. 2733, 2018.
- (3) Kawabata KC, Hayashi Y, Inoue D, Meguro H, Sakurai H, Fukuyama T, Tanaka Y, Asada S, Fukushima T, Nagase R, Takeda R, Harada Y, Kitaura J, Goyama S, Harada H, Aburatani H, Kitamura T. High expression of ABCG2 induced by EZH2 disruption plays pivotal roles in MDS pathogenesis. *Leukemia*. 419-428, 2018.
- (4) Yonezawa T, Takahashi H, Shikata S, Liu X, Tamura M, Asada S, Fukushima T, Fukuyama T, Tanaka Y, Sawasaki T, Kitamura T, and Goyama S. The ubiquitin ligase STUB1 regulates stability and activity of RUNX1 and RUNX1-RUNX1T1. *J Biol Chem*. 12528-12541, 2017.
- (5) Moritake H, Obara M, Saito Y, Kashimada A, Takagi M, Funakoshi-Tago M, Fukuyama T, Yoshioka M, Inoue A, Komatsu, Nishitoh H, Kataoka H, Nuno H. Mouse model identifies major facilitator superfamily domain containing 2a as a critical transporter in the response to tunicamycin. *Human Cell*. 88-97, 2017.

- (6) Kitamura T, Watanabe-Okochi N, Enomoto Y, Nakahara F, Oki T, Komeno Y, Kato N, Doki N, Uchida T, Kagiya Y, Togami K, Kawabata KC, Nishimura K, Hayashi Y, Nagase R, Saika M, Fukushima T, Asada S, Fujino T, Izawa Y, Horikawa S, Fukuyama T, Tanaka Y, Ono R, Goyama S, Nosaka T, Kitaura J, Inoue D. Novel working hypothesis for pathogenesis of hematological malignancies: combination of mutations-induced cellular phenotypes determines the disease. *J Biochem.* 17-25, 2016.

〔学会発表〕（計 14 件）

- (1) 米澤大志, 高橋宏隆, 四方紫織, 福山朋房, 田中洋介, Kenneth Kassenbrock, 澤崎達也, 北村俊雄, 合山進. ユビキチン化 E3 リガーゼ DTX2 及び RNF38 は転写因子 RUNX1 の活性を調整する. 第 80 回日本血液学会学術集会. 2018 年
- (2) 林康貴, 合山進, 劉瀟瀟, 四方紫織, 田中洋介, 福山朋房, 松本明子, 山崎智, 柴田龍弘, 滝澤仁, 北村俊雄. p53 の活性化は抗腫瘍免疫と協調して MLL 白血病の進展を抑制する. 第 80 回日本血液学会学術集会. 2018 年
- (3) 藤野起至, 合山進, 杉浦悠毅, 井上大地, 山崎智, 松本明子, 佐藤成, 森永浩伸, 四方紫織, 永瀬玲奈, 福山朋房, 田中洋介, 浅田修平, 福島剛, 本田浩章, 西村栄美, 柴田龍弘, Omar Abdel-Wahab, 末松誠, 北村俊雄. ASXL1 変異は造血幹・前駆細胞におけるミトコンドリアの機能亢進と DNA 損傷を惹起する. 第 80 回日本血液学会学術集会. 2018 年
- (4) 米澤大志, 高橋弘隆, 四方紫織, 福山朋房, 田中洋介, ケッセンブロック ケネス, 澤崎達也, 北村俊雄, 合山進. ユビキチン E3 リガーゼ DTX2 及び RNF38 は RUNX1 の転写活性を制御する. 第 41 回日本分子生物学会年会. 2018 年
- (5) Fujino T, Goyama S, Sugiura Y, Inoue D, Yamasaki S, Matsumoto A, Sato N, Morinaga H, Shikata S, Nagase R, Fukuyama T, Tanaka Y, Asada S, Fukushima T, Honda H, Nishimura E, Shibata T, Abdel-Wahab O, Suematsu M, Kitamura T. Mutant ASXL1 induces mitochondrial dysregulation and ROS-mediated DNA damage in haematopoietic stem and progenitor cells. The 9th JSH international symposium. 2018
- (6) Yonezawa T, Takahashi H, Shikata S, Fukuyama T, Tanaka Y, Kassenbrock K, Sawasaki T, Kitamura T, Goyama S. E3 Ubiquitin ligases DTX2 and RNF38 modulate the activities of transcription factor RUNX1. The 9th JSH international symposium. 2018
- (7) Hayashi Y, Kawabata K, Uehara Y, Tanaka Y, Kiryu S, Ota Y, Fukuyama T, Kinisaki Y, Arai F, Goyama S, Kitamura T. Abcg2-induced MDS/AML cells inhibited hematopoiesis through blocking osteoblastic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. The 9th JSH international symposium. 2018
- (8) Goyama S, Hayashi Y, Liu X, Shikata S, Tanaka Y, Fukuyama T, Matsumoto A, Yamasaki S, Shibata T, Kitamura T. A p53-MDM2 Interaction Inhibitor, DS-5272, Inhibits the Development of MLL-Fusion Leukemia with the Assistance of Tumor Immunity. The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. 2017
- (9) 米澤大志, 高橋宏隆, 四方紫織, 劉瀟瀟, 浅田修平, 福島剛, 福山朋房, 田中洋介, 澤崎達也, 北村俊雄, 合山進. The ubiquitin ligase STUB1 regulates stability and activity of RUNX1 and RUNX1-RUNX1T1. 第 17 回東京大学生命科学シンポジウム. 2017
- (10) 斎賀真言, 井上大地, 永瀬玲奈, 田中洋介, 福山朋房, 川畑公人, 林康貴, 浅田修平, 福島剛, 合山進, 落谷孝広, 北村俊雄. Down regulation of TGFβ pathway is the crux of leukemogenesis by SETBP1 mutation in ASXL1-mutated MDS. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年
- (11) 永瀬玲奈, 井上大地, 金井昭教, 斎賀真言, 藤野起至, 川畑公人, 田中洋介, 福山朋房, 原田浩徳, 合山進, 本田浩章, 北村俊雄. Analysis of Asxl1-MT conditional knock-in mice. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年
- (12) 竹田玲奈, 中村聡介, 島田直樹, 川俣豊隆, 福山朋房, 横山和明, 大田泰徳, 小川弥穂, 越智清純, 武井智美, 大野伸広, 内丸薫, 東條有伸. Three cases of therapy-related and MLL-rearranged myeloid neoplasms following adult T-cell leukemia. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年
- (13) 越智清純, 横山和明, 遊佐希, 伊藤美香, 小林真之, 小川弥穂, 竹田玲奈, 武井智美, 川俣豊隆, 福山朋房, 大野伸広, 高橋聡, 山口類, 内丸薫, 井元清哉, 古川洋一, 宮野悟, 大田泰徳, 東條有伸. MYD88 L265P mutated splenic marginal zone lymphoma associated with cold agglutinin disease. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年
- (14) 武井智美, 大野伸広, 小川弥穂, 越智清純, 竹田玲奈, 川俣豊隆, 横山和明, 福山朋房, 内丸薫, 東條有伸. Analysis of severe opportunistic infections after mogamulizumab therapy for aggressive ATL. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年

6 . 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名：神津知子、北村俊雄

ローマ字氏名：Tomoko Kozu, Toshio Kitamura

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。