

平成 21 年 5 月 21 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2009

課題番号：18591086

研究課題名 (和文) Runx1 の標的遺伝子の網羅的スクリーニングおよび発生工学的機能解析

研究課題名 (英文) Target gene screening and functional analysis of Runx1

研究代表者

山形 哲也 (YAMAGATA TETSUYA)

獨協医科大学・内科学 (血液)・准教授

30424047

研究分野：医歯薬学

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：血液内科学

1. 研究計画の概要

Runx1 は成体型造血において必須の遺伝子である。本研究は Runx1 がどのような遺伝子の発現を通して造血プログラムを制御しているのかを明らかにし、その破綻 (Runx1 遺伝子を標的とする染色体転座や点突然変異による Haploinsufficiency、microRNA の異常発現など) による白血病の発症機構を解明することを目的とする。

具体的目標として、本研究では特に近年注目を集めている microRNA に焦点を当て、Runx1 を制御する microRNA と骨髄性白血病の発症の関連について解析を行うこととする。

(1) Runx1 の翻訳を制御する microRNA をデータベース検索、文献検索などから絞り込む。

(2) 白血病患者検体において、Runx1 の翻訳を制御する microRNA の異常発現がないか解析する。

(3) 白血病患者検体において異常発現があった microRNA の個体内造血における機能を発生工学的手法を用いて解析する。

(4) 患者検体において異常発現があった microRNA のターゲット遺伝子をマイクロアレイを用いて解析する。

2. 研究の進捗状況

(1) 白血病患者検体を用いた microRNA の異常発現の有無の検索：

73 症例の白血病患者検体から small RNA を抽出し、Runx1 遺伝子の mRNA に作用すると予測される microRNA について、異常発現の有無について検索をおこなった。その結果、一部の白血病患者において、miR-9 が異常に高発現していることが明らかとなった。また骨髄異形成症候群 (MDS) の患者検体においても

miR-9 の異常高発現が認められた。この miR-9 の異常発現が白血病発症やその予後に影響するかどうかについて解析を進めている。

(2) 造血幹細胞分画に microRNA を発現させたトランスジェニック・マウスの作製：

患者検体において異常発現が確認された miR-9 を、トランスジェニックの系を用いてマウスの血液細胞に高発現させ、実際にマウスが白血病を発症するかどうかを検証した。miR-9 を造血幹細胞に高発現させるために、Tie2 プロモーターの下流に miR-9 を発現させたトランスジェニック・マウスを作製した。最も未熟な造血細胞分画とされる Lineage(-)cKit(+)Scal(+)分画 (KSL 分画) に目的とする miR-9 を発現させることに成功した。

(3) miR-9 の高発現によって発現に影響を受ける遺伝子の検索：

造血幹細胞における miR-9 の高発現による遺伝子発現の変化をマイクロアレイを用いて解析した。KSL 分画細胞で上昇している遺伝子としては cadherin-2, Cadm2 などの細胞接着因子、IL-1b receptor) などの受容体がある。発現が低下している遺伝子としては Srp3 や Wnk3 などの未知の protein kinase、などが同定された。

(4) miR-9 による Runx1 蛋白質の翻訳抑制が生化学的実験により確かめられた。

3. 現在までの達成度

<区分>①

miR-9 による Runx1 蛋白質の翻訳抑制が明らかとなった。また患者検体においてその異常発現が白血病や MDS 発症に深く関与している

可能性が示唆されつつある。発生工学的実験も順調にすすみ、標的遺伝子についてもデータが得られた。当初の計画以上に進展していると考えられる。

4. 今後の研究の推進方策

高発現している miR-9 がどのような機構で白血病発症やその進展に関与しているかを明らかにしていく必要がある。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計 8 件)

Arai H, Iso H, Arai Y, Tadokoro J, Nakamura Y, Yamagata T, Mitani K: Mediastinal large B-cell lymphoma associated with systemic sclerosis. *Rinsho Ketsueki* 査読有 50:2009, 97-101.

Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Ohyashiki K, Yamagata T, Mitani K: Enhanced expression of the EVI1 gene in NUP98/HOXA-expressing leukemia cells. *International Journal of Hematology* 査読有 89: 2009, 253-256.

Sasaki K, Yamagata T, Mitani K: Histone deacetylase inhibitors trichostatin A and valproic acid circumvent apoptosis in human leukemic cells expressing the RUNX1 chimera. *Cancer Science* 査読有 99: 2008, 414-422.

Yamagata T, Nakamura Y, Mitani K: Low-level expression of ETV6/TEL in patients with myelodysplastic syndrome. *International Journal of Hematology* 査読有 86:2007, 282-285.

Nakamura Y, Yamagata T, Maki K, Sasaki K, Kitabayashi I, Mitani K: TEL/ETV6 binds to corepressor KAP1 via the HLH domain. *International Journal of Hematology* 査読有 84:2006, 377-380.

Arai Y, Arai H, Aoyagi A, Yamagata T, Mitani K, Kubota K, Kawamata H, Imai Y: A solid tumor of donor cell-origin after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *American Journal of Transplantation* 査読有 6:2006, 3042-3043.

Yamagata T, Maki K, Waga K, Mitani K: TEL/ETV6 induces apoptosis in 32D cells through p53-dependent pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 査読有 347:2006, 517-526.

Maki K, Yamagata T, Yamazaki I, Oda H,

Mitani K: Development of megakaryoblastic leukaemia in Runx1-Evil knock-in chimaeric mouse. *Leukemia* 査読有 20:2006, 1458-1460.

山形哲也 マイクロ RNA と悪性造血器疾患
最新医学 第 64 巻, 第 3 号, 2009 年 p132-137

〔学会発表〕(計 6 件)

山形哲也・三谷絹子

白血病関連転写因子の microRNA による制御
第 67 回日本癌学会学術総会
平成 21 年 10 月 28 日 名古屋国際会議場

山形哲也、三谷絹子

MDS 症例における microRNA の発現解析
第 70 回日本血液総会
平成 20 年 10 月 10 日 京都国際会議場

佐々木光、山形哲也、牧和弘、三谷絹子
microRNA による TEL の発現制御機構の解析および MDS 発症への関与の検討

第 70 回日本血液総会
平成 20 年 10 月 10 日 京都国際会議場

山形哲也 中村由香 三谷絹子

MDS 症例における p53 関連経路の解析
第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会 (合同総会)
平成 19 年 10 月 11 日 パシフィコ横浜

佐々木光、山形哲也、三谷絹子

Runx1 キメラ型白血病細胞に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の作用機序の解析
第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会 (合同総会)
平成 19 年 10 月 11 日 パシフィコ横浜

牧和弘、山形哲也、北林一生、三谷絹子

アセチル化による TEL の機能制御
第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会 (合同総会)
平成 19 年 10 月 11 日 パシフィコ横浜