

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2012

課題番号：20390275

研究課題名(和文) 転写因子による造血制御機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of mechanisms in hematopoietic regulation
by transcription factors

研究代表者

三谷 絹子 (MITANI KINUKO)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：50251244

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：TEL, RUNX1, RUNX1/EVI1, microRNA, MIR9, ES, マウス, 白血病

1. 研究計画の概要

12p13及び21q22転座型白血物の発症機構を解明することを目的に、転座標的遺伝子 TEL 及び RUNX1 の機能と機能制御機構を解析するとともに、キメラ遺伝子の機能を明らかにする。

(1)野生型 TEL の機能制御機構を翻訳後修飾の観点から解析する。

(2)野生型 TEL の機能をノックアウト及びトランスジェニック ES 細胞を用いて、in vitro 及びマウス個体で解析する。

(3)野生型 RUNX1 の翻訳制御機構を microRNA レベルで解析する。

(4)RUNX1/EVI1 の標的遺伝子を同定する。

2. 研究の進捗状況

(1)抗アセチル化リジン抗体を用いた実験で、「野生型 TEL は Lys-99 でアセチル化されている」との知見を得たが、[1-14C]アセチル基の TEL 蛋白への取り込みが観察されなかったため、この実験は中止した。

(2)TEL ノックアウトマウスを作製することは出来なかったが、GATA1 プロモーター下に野生型 TEL を発現するトランスジェニックマウス(GATA1/TEL Tg)及び ES 細胞(GATA1/TEL ES)を得た。GATA1/TEL Tg はコントロールマウスに比べてヘモグロビン値が有意に高く、骨髓細胞を EPO+SCF の存在下で培養すると、CD71^{high}/TER119⁺細胞がより高率に誘導された。また、GATA1/TEL 及びコントロール ES 細胞由来の day 7 の embryoid body を用いてコロニー・アッセイを施行した所、GATA1/TEL ES 細胞には数倍の CFU-E の形成能が観察された。

(3)RUNX1 mRNA の 3' 非翻訳領域に結合配列を有する microRNA、MIR27A, MIR27B, MIR9,

MIR199A, MIR18A, MIR30A, MIR30B, MIR30C, MIR30D 及び MIR30E、の発現レベルの変化を急性白血病及び骨髓異形成症候群の骨髓細胞を用いて検討した所、1.5～2 割の症例で、正常骨髓細胞では発現していない MIR9 の過剰発現が観察された。RUNX1 mRNA の 3' 非翻訳領域を用いたレポーター・アッセイを施行した所、MIR9 は蛋白翻訳を負に制御することが確認された。

(4) RUNX1/EVI1 のレトロウイルスをマウス一次培養骨髓細胞に感染させると、継代可能なコロニーが形成される。この系に RUNX1/EVI1 の分子機能を抑制するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤を添加すると、コロニー形成が完全に抑制された。マイクロアレイ法を用いて、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤添加前後で発現が回復する遺伝子を検索し、RUNX1/EVI1 の標的候補遺伝子を同定した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

野生型 TEL のアセチル化による機能制御に関しては否定的な結論となったが、その赤芽球分化の促進機能に関しては、発生工学的手法により証明することが出来た。RUNX1 の翻訳制御に関しては、白血病及び骨髓異形成症候群の発症・進展との関連が強く示唆される MIR9 を同定した。RUNX1/EVI1 の標的遺伝子の同定に関しても順調に進行している。

4. 今後の研究の推進方策

(1)MIR9 の機能を細胞生物学的・発生工学的に解析する。また、RUNX1 以外の標的を同定する。

(2)RUNX1/EVI1 の標的遺伝子を、CHIP アッセ

イ及びレポーター・アッセイにより確定する。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計 14 件)

- ① 牧 和宏、三谷絹子(2011) : 骨髄異形成症候群 (MDS) 関連遺伝子. 血液フロンティア 21:109-116. 査読なし
- ② 中村由香、三谷絹子(2010) : 骨髄異形成症候群の染色体・遺伝子異常と予後. 血液・腫瘍科 61:398-402. 査読なし
- ③ Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Ohyashiki K, Yamagata T, Mitani K. (2009): Enhanced expression of the EVI1 gene in NUP98/HOXA-expressing leukemia cells. Int J Hematol 89:253-256. 査読あり
- ④ Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Maki K, Porcher C, Shimizu R, Yamamoto M, Mitani K. (2009): Leukaemia-related transcription factor TEL/ETV6 expands erythroid precursors and stimulates haemoglobin synthesis. Cancer Sci 100: 689-697. 査読あり
- ⑤ Sasaki K, Yamagata T, Mitani K. (2008): Histone deacetylase inhibitors trichostatin A and valproic acid circumvent apoptosis in human leukemic cells expressing the RUNX1 chimera. Cancer Sci 99: 414-422. 査読あり

〔学会発表〕(計 11 件)

- ① Maki K, Mitani K : Dysregulated gene and microRNA expression of MDS. JSH International Symposium 2011 in Nagasaki. 長崎 2011/4/23
- ② Maki K, Sasaki K, Yamagata T, Mitani K : Molecular pathogenesis of MDS and its clinical implication. 第 72 回日本血液学会総会. 横浜 2010/9/26
- ③ Maki K, Yamagata T, Sasaki K, Mitani K : Abnormal expression of mir-9 indicates poor prognosis in AML patients. 15th Congress of EHA. Barcelona 2010/6 月
- ④ Yamagata T, Sasaki K, Maki K, Mitani K : High expression of microRNA-9 is a hallmark for poor prognosis in acute leukemia patients. 第 71 回日本血液学会総会. 京都 2009/10/24
- ⑤ 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 回日本癌学会総会. 名古屋 2008/10/29

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願・取得ともになし