

機関番号：14501

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課第番号：20591125

研究課題名 (和文) 転写メディエーターによる造血器腫瘍の増殖・分化の制御

研究課題名 (英文) Growth and differentiation of hematopoietic tumor cells through transcriptional Mediator complex

研究代表者

伊藤 光宏 (ITO MITSUHIRO)

神戸大学・大学院保健学研究科・教授

研究者番号：50362794

研究成果の概要 (和文)：

哺乳類転写メディエーターは私達が発見したRNAポリメラーゼIIホロ酵素複合体の構成成分であり、多くの細胞内シグナルを最終的に統合して基本転写因子に伝える役割を果たす。本研究で私達は、メディエーターのサブユニットMED1が造血を司る核内受容体やGATA1の特異的転写共役因子として、正常造血の他、白血病細胞の各種血球系への分化や白血病細胞の増殖に重要な役割を果たすことを示すと同時に、その分子機序を提唱した。

研究成果の概要 (英文)：

The transcriptional Mediator complex, subcomplex of the RNA polymerase II holoenzyme complex, ultimately integrates many intracellular signals and conveys these signals to the RNA polymerase II core enzyme complex. In this study, we have shown that the Mediator subunit MED1 plays an important role in malignant, as well as normal, hematopoietic cell differentiation as a specific coactivator for nuclear receptors and GATA1, key activators for hematopoiesis. MED1 appears to promote proliferation of these cells as well. We also propose the molecular mechanisms underlying these processes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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、転写メディエーター、MED1/TRAP220

## 1. 研究開始当初の背景

メディエーターは1998年に私達が最初に核内受容体特異的コアクチベーター複合体としてクローニングしたが(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 7939-44, 1998)、当時の学界の評価は懐疑的であった。しかしその後、私達(Mol. Cell 3, 97-108, 1999; Mol. Cell 3, 361-370, 1999)の他にも複数の施設で同時に

本複合体が酵母メディエーターの相同体であることが示され、全世界の転写研究者が一斉に注目したものである。

元来、基本転写因子の研究は生化学者の手で進められたため、メディエーター研究においても多くは生化学的/細胞生物学的解析であり、個体レベルの生理的研究は少ない。その中で研究代表者によるMED1とMED24の

ノックアウトマウスによる研究 (Mol. Cell 5, 683-693, 2000; EMBO J. 21, 3464-3475, 2002 など)はユニークな位置づけにある。同マウスを使った研究により、私達はこれまでに MED1 が核内受容体特異的コアクチベーターとして白血球分化を司ることを示した他に (Genes Cells 10, 1127-1137, 2005)、ドイツの研究者により GATA-1 特異的コアクチベーターとして赤芽球分化にも重要な役割を果たすことも示された(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 18504-18509, 2006)。

## 2. 研究の目的

TRAP/メディエーター複合体 (以下メディエーター) は、私達が最初核内受容体と RNA ポリメラーゼ II を直接結ぶコアクチベーターとして発見し、続いて酵母メディエーターの相同体で RNA ポリメラーゼ II ホロ酵素の構成成分であることを証明したものであり、広範な細胞内シグナルを統合するシグナル伝達の終点である。メディエーターはグローバルな基本転写因子としての性格と空間・時間・機能等の特異性を併せ持つユニークな二面性があり、サブユニット構造が作る特異性が個体や細胞の増殖・分化・恒常性維持に決定的な役割を果たす。そしてその破綻は乳癌などの発癌・癌の増殖・分化の破綻に寄与することがわかりつつあり、または予想されている。

本研究は、造血器等におけるメディエーターの生理的役割を研究したこれまでの私達の基盤をもとにして、メディエーター (特に MED1 サブユニット) が造血器悪性腫瘍の発癌、腫瘍細胞の増殖や分化停止にどのように関与するのかを細胞生物学、分子生物学、マウス遺伝学を用いて明らかにすることを主目的とする。

## 3. 研究の方法

癌には脂溶性リガンドにより増殖や分化が制御されるものがあることが知られており、これらのリガンドやその生理機能を変化させる薬剤が治療に応用されている。例えば急性前骨髄性白血病に対する ATRA や乳癌に対するタモキシフェンである。また、メディエーターが MED1 を介して乳癌の増殖やホルモン依存性の白血病細胞の分化に重要であることが示唆されている (Mol. Cell 19, 89-100, 2005; Genes Cells 10, 1127-1137, 2005)。本研究では第一に、メディエーターの機能について、①白血球細胞のホルモン依存性および非依存性の増殖における役割、②白血球細胞のホルモン依存性および非依存性の分化における役割、を主に MED1 サブユニットに焦点をあて、他のサブユニットも検討しながら、詳細に解析する。第二に、メディエーターの機能を変化させることによって治療法に結びつけられるか、検討を加える。

## 4. 研究成果

本研究では、そのサブユニットMED1がこれまでに知られているような核内受容体のシグナルを統合するのと同様、GATA1シグナルをも同じ核内情報伝達の機序で統合することにより、赤芽球分化を担うことを赤白血病細胞K562を用いて実証した。本研究で、GATA1結合部位を含まないMED1のN端のみでGATA1誘導性の赤芽球分化が強く誘導されること、またルシフェラーゼレポーターアッセイなどでGATA1誘導性の転写活性化にMED1とGATA1の直接結合が必ずしも必要ないこと、しかしMED1分子の存在は必須であることから、GATA1とMED1が直接結合する経路の他にバイパス分子を介する別経路があることが強く示唆された。

一方、MED1は核内受容体VDRのコアクチベーターとして、RUNX2と協調的に、造血ニッチにおいてオステオポンチンプロモーターの転写活性化に重要な役割を担うこと、それにより造血細胞の増殖や造血幹細胞の維持に (おそらくは白血病幹細胞の維持にも) 重要な役割を果たすことを見だし、最終年度に主要英文雑誌に報告した。

加えて、MED1の核内受容体特異的コアクチベーターとしての機能は、造血以外にも乳腺の発生で極めて重要な役割を果たすことをMED1の核内受容体結合部位廃絶遺伝子改変マウスを作製してたまたま見だし、これも主要英文雑誌に報告した。このように、造血など個体の様々な生理的局面において、細胞の増殖・分化・恒常性維持にMED1 (またはメディエーター) が非常に重要な役割を担うことが示された。

## 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6件)

- ① \*P. Jiang, \*Q. Hu, \*M. Ito, S. Meyer, S. Waltz, S. Khan, R.G. Roeder, X. Zhang. Key roles for MED1 LxxLL motifs in pubertal mammary gland development and luminal-cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 6765-6770, 2010. (\*は同等を示す、査読あり)
- ② A. Sumitomo, R. Ishino, N. Urahama, K. Inoue, K. Yonezawa, N. Hasegawa, O. Horie, H. Matsuoka, T. Kondo, R.G. Roeder, M. Ito. Transcriptional Mediator subunit MED1/TRAP220 in stromal cells is involved in hematopoietic stem/progenitor cell

- support through osteopontin expression. *Mol. Cell. Biol.* 30, 4818-4827, 2010. (査読あり)
- ③ K. Yonezawa, O. Horie, A. Yoshioka, S. Matsuki, T. Tenjin, Y. Tsukamura, M. Yoneda, K. Shibata, Y. Koike, T. Nomura, M. Yokoyama, N. Urahama, M. Ito. Association between the neutrophil myeloperoxidase index (MPXI) and subsets of bacterial infections. *Int. J. Lab. Hematol.* 32, 598-605, 2010. (査読あり)
- ④ 三浦靖史、立石耕司、高橋完靖、黒坂昌弘、伊藤光宏、大月直樹、丹生健一、林祥剛. リツキシマブ投与が奏功したMTX治療中に悪性リンパ腫を合併したRAの一症例. 臨床リウマチ 21 (4), 390-395, 2009. (査読あり)
- ⑤ K. Ge, Y.-W. Cho, H. Guo, T.B. Hong, M. Guermah, M. Ito, H. Yu, M. Kalkum, and R.G. Roeder. Alternative mechanisms by which Mediator subunit MED1/TRAP220 regulates PPAR $\alpha$ -stimulated adipogenesis and target gene expression. *Mol. Cell. Biol.* 28, 1081-1091, 2008. (査読あり)
- ⑥ 伊藤光宏、村山徹. 同種造血幹細胞移植後GVHDにおける細胞傷害因子グランザイムBとその内因性阻害物質PI-9 の診断的役割. 神緑会学術雑誌 24, 92-93, 2008. (査読あり)
- [学会発表] (計33件)
- ① 招待講演 M. Ito. Physiological role of transcriptional Mediator in differentiation of hematopoietic cells and adipocytes. The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010) March 26-30, 2010, Kyoto, Japan.
- ② K. Yonezawa, O. Horie, A. Yoshioka, S. Matsuki, T. Tenjin, Y. Tsukamura, M. Yoneda, K. Shibata, Y. Koike, T. Nomura, M. Yokoyama, N. Urahama, M. Ito. Association between the neutrophil myeloperoxidase index (MPXI) and subsets of bacterial infections. 23rd International Symposium on Technological Innovations in Laboratory Hematology, Brighton, U.K. 10-12, May, 2010.
- ③ 見坂恒明、伊藤光宏、橋本正良. e-ラーニングを用いた若手医師に対する臨床教育への試み. 第42回日本医学教育学会大会. 平成22年7月30, 31日、東京。
- ④ R. Ishino, A. Sumitomo, N. Urahama, K. Inoue, K. Yonezawa, N. Hasegawa, C. Kaminaga, N. Seki, R.G. Roeder, M. Ito. Transcriptional Mediator subunit MED1/TRAP220 in stromal cells is involved in hematopoietic stem/progenitor cell support through osteopontin expression. The 8th Stem Cell Research Symposium. May 13-15, 2010, Tokyo.
- ⑤ R. Ishino, A. Sumitomo, N. Urahama, R.G. Roeder, M. Ito. Transcriptional Mediator subunit MED1 in stromal cells is involved in hematopoietic stem/progenitor cell support through VDR- and Runx2-mediated osteopontin expression. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Nuclear Receptors & Disease. August 31 – September 4, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- ⑥ S. Mizuta, T. Minami, C. Kaminaga, K. Oda, K. Matsui, A. Sumitomo, R. Ishino, M. Ito. Dual mode of involvement of transcriptional Mediator subunit MED1 in GATA1-mediated erythroid differentiation of K562 erythroleukemia cells. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 4-7, 2010, Orlando, USA.
- ⑦ R. Ishino, A. Sumitomo, N. Urahama, K. Inoue, K. Yonezawa, N. Aritome, S. Mizuta, K. Matsui, N. Seki, M. Ito. Transcriptional Mediator in stromal cells is involved in hematopoietic stem/progenitor cell support. 第72回日本血液学会総会、平成22年9月24-26日、横浜。
- ⑧ 堀江修、米澤賢二、南佳織、野瀬淳子、五明広志、前田彰男、水野石一、村山徹、伊藤光宏. 造血幹細胞移植後患者の末梢血細胞傷害性因子の測定を用いたGVHDおよびGVL効果の出現予測の可能性. 第72回日本血液学会総会、平成22年9月24-26日、横浜。
- ⑨ A. Sumitomo, R. Ishino, N. Urahama, K. Inoue, K. Yonezawa, N. Hasegawa, O. Horie, H. Matsuoka, T. Kondo, R.G. Roeder, M. Ito. Mediator subunit MED1/TRAP220 in stromal cells is involved in hematopoietic stem/progenitor cell support through osteopontin expression. 第33回日本分子生物学会年会第83回日本生化学会大会合同大会、平成22年12月7-10日、神戸。
- ⑩ 松井啓治、長谷川菜摘、石野瑠璃、水田駿平、住友明子、藤田あずさ、森本由紀、

- 浦浜憲永、Robert G. Roeder、伊藤光宏。転写メディエーターサブユニットMED1のPPAR $\gamma$ 結合能を廃絶したマウスでインスリン抵抗性が改善する。第33回日本分子生物学会年会第83回日本生化学会大会合同大会、平成22年12月7-10日、神戸。
- ⑪  $\square$  水田駿平、南智也、神永千尋、織田華澄、松井啓治、石野瑠璃、浦浜憲永、伊藤光宏。赤白血病細胞K562のGATA1誘導性赤芽球分化におけるMED1/TRAP220の役割。第33回日本分子生物学会年会第83回日本生化学会大会合同大会、平成22年12月7-10日、神戸。
- ⑫  $\square$  有留奈見、長谷川菜摘、藤田あずさ、石野瑠璃、松井啓治、伊藤光宏。MediatorのサブユニットMED1とMED24はエストロゲン受容体機能と乳腺の発達に協調的に寄与する。第33回日本分子生物学会年会第83回日本生化学会大会合同大会、平成22年12月7-10日、神戸。
- ⑬  $\square$  堀江修、南佳織、野瀬淳子、米澤賢二、五明広志、前田彰男、水野石一、村山徹、伊藤光宏。リンパ球細胞傷害性因子のmRNAの測定を用いたGVHDおよびGVL効果の出現予測の可能性。第33回日本分子生物学会年会、第33回日本分子生物学会年会第83回日本生化学会大会合同大会、平成22年12月7-10日、神戸。
- ⑭  $\square$  Akiko Sumitomo, Kana Inoue, Ruri Ishino, Kenji Yonezawa, Norinaga Urahama and Mitsuhiro Ito. Transcriptional Mediator in niche cells plays a role to support hematopoietic stem/progenitor cells. The 7th Stem Cell Research Symposium. May 15-16, 2009, Tokyo.
- ⑮  $\square$  南智也、水田俊平、松井啓治、田路紗和子、木村美南、堀江修、浦浜憲永、伊藤光宏。赤白血病細胞K562の増殖・分化における基本的転写共役因子MED1/TRAP220の役割。(口演)第71回日本血液学会総会、平成21年10月23-25日、京都。
- ⑯  $\square$  住友明子、井上佳奈、石野瑠璃、長谷川菜摘、有留、星野、野瀬淳子、南佳織、伊藤光宏。マウスOsteopontinプロモーターの機能解析。第71回日本血液学会総会、平成21年10月23-25日、京都。
- ⑰  $\square$  米澤賢二、堀江修、松木慎一郎、吉岡亜矢、竹内文絵、天神貴子、東村義志、米田雅子、柴田邦彦、小池祐三、野村哲彦、横山光宏、伊藤光宏。細菌感染症における平均好中球 $\times$ エロペルオキシダーゼ活性指数(MPXI)。第71回日本血液学会総会、平成21年10月23-25日、京都。
- ⑱  $\square$  長谷川菜摘、石野瑠璃、有留奈見、星川祐子、松井啓治、田路紗和子、堀江修、Xiaoting Zhang、Robert G. Roeder、伊藤光宏。MED1/TRAP220の核内受容体結合能は個体レベルで正常の脂肪代謝に必要である。第32回日本分子生物学会年会、平成21年12月9-12日、横浜。
- ⑲  $\square$  K. Yonezawa, O. Horie, A. Yoshioka, S. Matsuki, T. Tenjin, Y. Tsukamura, M. Yoneda, K. Shibata, Y. Koike, T. Nomura, Y. Yokoyama, M. Ito. Association of neutrophil myeloperoxidase index (MPXI) with subsets of bacterial infection. European Hematology Association 14th Annual Congress. June 7, 2009.
- ⑳  $\square$  口演 A. Sumitomo, N. Urahama, K. Inoue, R. Ishino, K. Yonezawa, N. Hasegawa, C. Iwasaki, O. Horie, N. Seki, M. Ito. Transcriptional Mediator subunit MED1/TRAP220 acts in stromal cells to support hematopoietic stem/progenitor cells through coactivation of osteopontin transcription. 51st Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 4-7, 2009, New Orleans, L.A., USA.
- 21  $\square$  南智也、井上佳奈、辻友恵、田路紗和子、浦浜憲永、堀江修、伊藤光宏。白血病細胞の赤芽球分化における基本的転写共役因子MED1/TRAP220の役割。第70回日本血液学会総会、平成20年10月10-12日、京都。
- 22  $\square$  井上佳奈、住友明子、岩崎智沙、長谷川菜摘、笠井愛友子、堀江修、浦浜憲永、伊藤光宏。造血ニッチの転写コアクチベーターMED1/TRAP220による造血細胞の支持。第70回日本血液学会総会、平成20年10月10-12日、京都。
- 23  $\square$  田路紗和子、堀江修、村山徹、米澤賢二、南智也、西郷勝康、寮隆吉、伊藤光宏。健常人白血球のパフォーマンスインジケータPI-9の発現とその意義。第70回日本血液学会総会、平成20年10月10-12日、京都。
- 24  $\square$  川野裕子、小野香奈子、船越洋平、川野宏樹、川森有里子、西川真一郎、皆川健太郎、薬師神公和、岡村篤夫、下山学、定明子、山本克也、片山義雄、松井利充、伊藤光宏、尾形哲、具英成(神戸大学 血液内科、神戸大学 肝胆膵外科)。原発性硬化胆肝炎(PSC)経過中に発症し、生体肝移植後に貧血の改善を示した赤芽球癆(PRCA)の一例。第70回日本血液学会総会、平成20年10月10-12

- 日、京都。
- 25「 Natsumi Hasegawa & Mitsuhiro Ito. MED1 and MED24 subunits of transcriptional Mediator are important for mammary epithelial cell growth. 第 67 回日本癌学会学術総会、平成 20 年 10 月 28-30 日、名古屋。
- 26「 井上佳奈、住友明子、岩崎智沙、南智也、長谷川菜摘、米澤賢治、浦浜憲永、伊藤光宏。造血ニッチの転写コアクチベーターMED1/TRAP220 による造血細胞の支持。第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会、平成 20 年 12 月 9 日-12 日、神戸。
- 27「 南智也、井上佳奈、住友明子、田路紗和子、辻友恵、堀江修、浦浜憲永、伊藤光宏。転写メディエーターのサブユニットMED1/TRAP220 はK562 赤白血病細胞においてGATA-1 を介する赤芽球分化を誘導する。第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会、平成 20 年 12 月 9 日-12 日、神戸。
- 28「 長谷川菜摘、笠井愛友子、森近舞、田路紗和子、井上佳奈、堀江修、浦浜憲永、伊藤光宏。乳腺発育における転写メディエーターサブユニットMED1 とMED24 の役割。第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会、平成 20 年 12 月 9 日-12 日、神戸。
- 29「 Kana Inoue, Akiko Sumitomo, Chisa Iwasaki, Natsumi Hasegawa, Kenji Yonezawa, Osamu Horie, Norinaga Urahama, Mitsuhiro Ito. Role of transcriptional coactivator MED1/TRAP220 in hematopoietic niche. The 32nd World Congress of The International Society of Hematology, October 19-23, 2008, Bangkok, Thailand.
- 30「 Tomoya Minami, Kana Inoue, Sawako Toji, Ayuko Kasai, Norinaga Urahama, Osamu Horie, Mitsuhiro Ito. Role of transcriptional coactivator MED1/TRAP220 in hemin-induced erythroid differentiation of K562 erythroleukemia cells. The 32nd World Congress of The International Society of Hematology, October 19-23, 2008, Bangkok, Thailand.
- 31「 Sawako Toji, Osamu Horie, Tohru Murayama, Kenji Yonezawa, Katsuyasu Saigo, Ryukichi Rho, Mitsuhiro Ito. The ratio of granzyme B and proteinase inhibitor 9 (PI-9) expressions in leukocytes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. The 32nd World

Congress of The International Society of Hematology, October 19-23, 2008, Bangkok, Thailand.

- 32「 Kana Inoue, Akiko Sumitomo, Natsumi Hasegawa, Ayuko Kasai, Kenji Yonezawa, Norinaga Urahama, and Mitsuhiro Ito. Involvement of transcriptional Mediator subunit TRAP220/MED1 in action of niche cells to support hematopoietic stem/progenitor cells. 50th Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 6-9, 2008, San Francisco, CA, USA.
- 33「 Tomoya Minami, Osamu Horie, Kana Inoue, Sawako Toji, Norinaga Urahama, and Mitsuhiro Ito. GATA-1-specific coactivator MED1/TRAP220, transcriptional Mediator subunit, mediates erythroid differentiation in K562 erythroleukemia cells. 50th Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 6-9, 2008, San Francisco, CA, USA.

[図書] (計0件)  
期間内の該当なし。

[その他]  
ホームページ等  
<http://www2.kobe-u.ac.jp/~itomi/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊藤光宏 (ITO MITSUHIRO)  
研究者番号：50362794

### (2) 研究分担者

該当者なし。

### (3) 連携研究者

該当者なし。