

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591251

研究課題名（和文）遺伝子発現パターンに基づく急性白血病のヒエラルキーの解明

研究課題名（英文）Gene expression of hematopoietic transcription factors in pediatric acute megakaryocytic leukemia

研究代表者

谷ヶ崎 博 (YAGASAKI HIROSHI)

日本大学・医学部・助教

研究者番号：90378141

研究成果の概要（和文）：急性巨核芽球性白血病(AMKL)は、形態学的に、未分化型、細胞質にグレブ形成をみる中間型、成熟傾向のある異常巨核球の増加を伴う成熟型に分類可能であった。また、ダウン症関連の AMKL(DS-AMKL)では好塩基性の強い細胞質を有し赤芽球に類似した芽球が特徴的であった。これらの形態分類が分子学的なレベルでの分化段階を反映しているのかを検討するため、巨核球、赤血球の分化に関連する 11 種類の転写因子の発現量を解析した結果、AMKL の形態的異質性には分子学的な根拠があることが証明された。

研究成果の概要（英文）：Acute megakaryoblastic leukemia (AMKL) has a diverse heterogeneity of the disease including morphology and cytogenetic studies. In children, 2 major subgroups have been described: AMKL developing in patients with Down syndrome (DS-AMKL) and AMKL in patients without Down syndrome (non-DS-AMKL). To compare the biological characteristics of blast cells with DS-AMKL and non-DS-AMKL, we compared the expression of hematopoietic transcription factors in blast cells derived from 19 children with AMKL (DS-AMKL: 11, non-DS-AMKL: 9). The morphology of blast cells was categorized into four groups: type 1, completely undifferentiated blasts; type 2, intermediately differentiated blasts with cytoplasmic blebs; type 3, blasts with dysmegakaryocytopoiesis; type 4, blasts with deep blue cytoplasm. To define the differentiation stage by molecular level, we quantified the expression of transcription factors related to megakaryo-erythroid cell lineages; *GATA1*, *GATA2*, *FOG-1*, *NF-E2*, *SCL*, *PU.1*, *C/EBP α* , *c-mpl*, *Epo-R*, *CD41b*, *β globin*. In conclusion, blasts of DS-AMKL differentiated into not only megakaryocyte but also erythroid lineage because of overexpression of glycophorin A and *β globin* under the *GATA1* gene mutations. DS-AMKL should be classified into other categories apart from non-DS-AMKL considering the totally different patterns in gene alterations and levels of transcription factors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：急性巨核芽球性白血病、転写因子、ヒエラルキー

1. 研究開始当初の背景

急性巨核芽球性白血病 (AMKL) は CD41, CD42 などの血小板関連抗原の発現が特徴的とされている。自験例 45 例を形態学的に観察した結果、AMKL の芽球は未分化型、細胞質にブルベ形成をみる中間型、成熟傾向のある異常巨核球の増加を伴う成熟型に細分類が可能であった。また、ダウン症関連 AMKL (DS-AMKL) では好塩基性の強い細胞質を有し、赤芽球に類似した芽球がみられるという特徴を有していた (文献 1)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、巨核球、赤血球の分化に関連する 11 種類の転写因子の発現量を解析することにより、上記のような形態的分類が芽球の分化段階を反映していることを分子生物学的に明らかにすることである。

3. 研究の方法

DS-AMKL:11 例および非 DS-AMKL:8 例の骨髄あるいは末梢血から FACS を用いて芽球のみを分離し、RNA を抽出した。RT-PCR 法で cDNA を合成した後、real-time PCR 法により、GATA1、GATA2、FOG-1、NFE2、SCL、PU.1、C/EBP α 、c-mpl、Epo-R、CD41b、 β globin の発現量を測定し、GAPDH 発現量の値を用いて補正した。

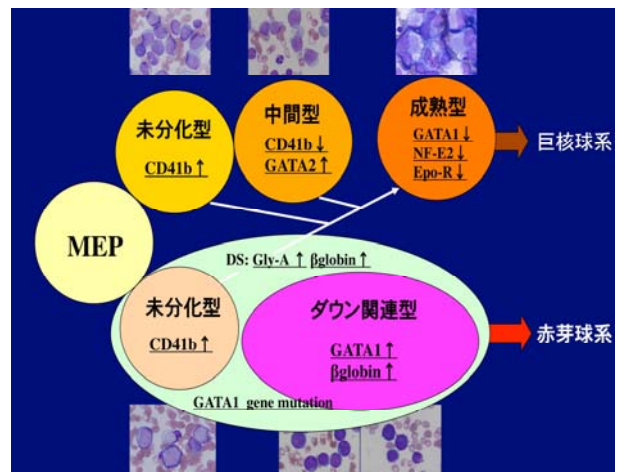
4. 研究成果

DS-AMKL は非 DS-AMKL と比較して GATA1 および β globin が有意に高値であった。また、中間型は未分化型と比較して CD41b が有意に低値であり、GATA2、C/EBP α が有意に高値であった。また、成熟型はその他と比較して GATA1、NFE2、Epo-R が有意に低値であった (下表)。

	未分化型 (n=11)	中間型 (n=8)	P
CD41b	1.72	0.59	0.021
NF-E2	1.08	2.06	0.457
c-mpl	0.70	0.87	0.322
GATA1	0.18	0.68	0.186
GATA2	0.35	0.77	0.006
FOG1	0.47	0.59	0.650
Epo-R	1.72	3.44	0.409
β globin	2.03	4.77	0.741
SCL	0.55	1.03	0.215
PU.1	0.94	1.23	0.117
C/EBP α	0.20	1.15	0.032

	non-DS-AMKL (n=8)	DS-AMKL (n=11)	P
CD41b	1.41	0.85	1.000
NF-E2	1.53	0.96	0.332
c-mpl	3.74	0.70	0.137
GATA1	0.53	0.18	0.563
GATA2	0.43	0.37	0.679
FOG1	1.19	0.37	0.083
Epo-R	6.98	1.63	0.283
β globin	0.42	36.36	0.006
SCL	0.83	0.51	0.283
PU.1	0.94	1.49	0.967
C/EBP α	0.06	0.37	0.283

	それ以外の群 (n=15)	成熟型 (n=4)	P
CD41b	0.95	1.50	1.000
NF-E2	2.07	0.17	0.036
c-mpl	2.66	0.27	0.317
GATA1	0.68	0.02	0.003
GATA2	0.63	0.23	0.316
FOG1	0.59	0.43	0.764
Epo-R	4.99	0.10	0.028
β globin	4.77	0.56	0.549
SCL	1.03	0.69	0.484
PU.1	1.58	0.91	0.177
C/EBP α	0.37	0.23	1.000



5. 結論:未分化型および中間型では GATA1、GATA2 に加えて NFE2 などの巨核球関連因子と Epo-R などの赤芽球関連因子の発現が確認され、芽球は megakaryo-erythrocyte progenitor 由来と考えられた。とりわけ DS-AMKL では、成熟した赤芽球に発現する β globin の発現量が有意に高く、より赤血球系に分化した芽球であることが推測された。一方で、非 DS-AMKL では Epo-R の発現量が有意に低下しており、より純粋な巨核球系芽球であると考えられた。本研究により、

AMKL の中にも分化段階のヒエラルキーが存在することを分子生物学的に証明することができた。これらの結果は、現在論文投稿中である。

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 4 件)

- ① Yagasaki H, Kato M, Ishige M, Shichino H, Chin M, Mugishima H. Successful cord blood transplantation in a 42-day-old boy with infantile Krabbe disease. *Int J Hematol.* 2011; 94(4): 566-568. 査読あり
- ② Yagasaki H, Kato M, Shimizu N, Shichino H, Chin M, Mugishima H. Autoimmune hemolytic anemia and autoimmune neutropenia in a child with erythroblastopenia of childhood (TEC) caused by human herpesvirus-6 (HHV-6). *Ann Hematol.* 2010 (in press) 査読あり
- ③ Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Kudo K, Nishio N, Muramatsu H, Tanaka M, Yoshida N, Matsumoto K, Watanabe N, Kato K, Horibe K, Kojima S. Comparison of matched-sibling donor BMT and unrelated donor BMT in children and adolescent with acquired severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45(10): 1508-1513. 査読あり
- ④ Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Muramatsu H, Morishima Y, Kodera Y. Tacrolimus/Methotrexate versus cyclosporine/methotrexate as graft-versus-host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia who received bone marrow transplantation from unrelated donors: results of

matched pair analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009; 15(12):1603-1608. 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

- ① 谷ヶ崎博、加藤麻衣子、七野浩之、陳基明、麦島秀雄 非血縁骨髄ドナー由来の Chromosomal integrated HHV-6 (CIHHV-6) の 1 女児例 日本造血細胞移植学会 松山 2011. 3. 9-10
- ② 谷ヶ崎博、加藤麻衣子、七野浩之、陳基明、麦島秀雄 非血縁者間骨髄移植後の完全ドナータイプの造血不全に対し、2 回目の非血縁者間骨髄移植を実施した再生不良性貧血の 1 例 日本小児血液がん学会 大阪 2010. 12. 17-19
- ③ 谷ヶ崎博、加藤麻衣子、平井麻衣子、七野浩之、陳基明、麦島秀雄 小児 DIC に対する遺伝子組換えトロンボモデュリンの有効性・安全性 日本血液学会 横浜 2010. 9. 24-26
- ④ H Yagasaki, H Ohashi, M Ito, M Kato, H Shichino, M Chin, H Mugishima. Novel mechanism of transplacental cancer transmission: natural-killer/T cell lymphoma in the paratesticular region of an infant is maternal origin. 15th Congress of the European Hematology Association Barcelona 2010. 6. 10-13
- ⑤ H Yagasaki, M Kato, H Shichino, M Chin, H Mugishima. A favorable outcome of disseminated intravascular coagulation in children using recombinant thrombomodulin. 15th Congress of the European Hematology Association Barcelona 2010. 6. 10-13
- ⑥ A Hama, H Yagasaki, H Muramatsu, N Nishio, A Abe, Y Takahashi and S Kojima. Gene

Alterations and Expression of
Hematopoietic Transcription Factors in
Pediatric Acute Megakaryoblastic
Leukemia (AMKL): A Comparison of Down
Syndrome (DS)-Associated AMKL with
Non-DS-AMKL. American Society of
Haematology, Annual Meeting
SanFrancusco 2008. 12. 6-9

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷ヶ崎 博 (YAGASAKI HIROSHI)
日本大学・医学部・助教
研究者番号：90378141

(2) 研究分担者

小島勢二 (KOJIMA SEIJI)
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：20313992

【H20】

(3) 連携研究者

なし