

令和 6 年 5 月 15 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08418

研究課題名(和文) リジンアセチル化酵素TIP60を標的する造血器悪性腫瘍の新規治療法の開発

研究課題名(英文) Targeting lysine acetyltransferase TIP60 in hematological malignancies

研究代表者

沼田 晃彦 (Numata, Akihiko)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：60423563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：急性骨髄性白血病(AML)や、悪性リンパ腫では、転写因子MYCの発現レベルが予後と相関する。近年、造血幹細胞でMYCの主要なコアクチベーターとして、TIP60が同定された。本研究ではMYCを高発現する造血器腫瘍において、TIP60が治療標的となりうるかを検証した。まず、MYCを高発現している細胞株を用いて、Myc標的遺伝子におけるTIP60のゲノム上での局在を、ChIP-seqを行い分布に関するデータを得た。次に複数のAMLやリンパ腫細胞株を用いてTIP60ノックアウト造血器腫瘍細胞株の樹立を試みたが、TIP60ノックアウトが細胞に致死的な影響を与えてしまい、樹立が困難であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の遂行により、ヒト造血器腫瘍におけるTIP60分布に関する基礎的なデータが得られた。現在、in silicoでの解析を継続しており、腫瘍細胞の種類ごとにTIP60が制御する重要な遺伝子群が異なっている可能性を見出した。今後はこのデータを元に疾患ごとに治療標的となりうるTIP60の標的遺伝子の同定に取り組む予定であり、本研究の果たした基盤的研究としての役割は大きいものであったと考える。

研究成果の概要(英文)：In hematological malignancies, the high expression of MYC, a critical transcription factor for proliferation should be correlated with clinical outcomes of the patients. Recent studies have identified TIP60 as a major co-activator of MYC. In the current study, we sought to test whether inhibition of TIP60 could have a therapeutic potential against human hematological malignancies. We first performed ChIP-seq analysis to clarify the TIP60 distribution. We further tried to delete TIP60 in human cell lines by CRISPR/CAS9 system targeting KAT5 gene which encoded human TIP60. However, we could not establish appropriate TIP60-knocked out cell lines.

研究分野：血液内科学

キーワード：TIP60 AML

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性骨髄性白血病や、悪性リンパ腫では、腫瘍細胞での転写因子である MYC の発現レベルが予後と相関する。近年、造血幹細胞で MYC の主要なコアクチベーターとして、リジンアセチル化酵素 TIP60 が同定された。そこで、MYC を高発現する造血器腫瘍において、TIP60 が治療標的となりうるかを検証する。まず、MYC と TIP60 のゲノム上の位置関係や標的遺伝子を、次世代シーケンスを用いて同定し、TIP60 を標的とすること意義を証明する基礎的データを集積する。次に、悪性リンパ腫、急性骨髄性白血病モデルマウスを用い、TIP60 遺伝子ノックアウトや TIP60 阻害剤の臨床効果を検討する。

2. 研究の目的

造血器腫瘍（びまん大細胞 B 細胞性リンパ腫や急性骨髄性白血病）で、腫瘍細胞での MYC の発現レベルが予後と相関することが明らかにされ、様々なアプローチから MYC を標的とした治療開発の研究が行われている。本研究では、造血幹細胞で MYC のコアクチベーターとして同定されたエピジェネティック因子、リジンアセチル化酵素 TIP60(TAT-interacting protein 60kD) が、悪性リンパ腫や急性骨髄性白血病での治療標的となるかを検証し、造血器悪性腫瘍に対する新規の治療法の開発のための基盤データの構築を目的とする。

3. 研究の方法

これまでの先行研究データに基づき、以下の 2 つの研究を本研究の柱として TIP60 分子の機能解明に取り組み、同時に治療モデルの構築に取り組んだ。

1. TIP60 分子のヒト造血器腫瘍における標的遺伝子の同定

2. TIP60 ノックアウト細胞株作成による、TIP60 を標的としたヒト造血器腫瘍の治療モデル構築

4. 研究成果

1. TIP60 分子のヒト造血器腫瘍における標的遺伝子の同定

先行研究の結果から TIP60 欠損マウスは、造血幹細胞 (HSC) が維持されず、造血不全に伴う胎生致死であることが明らかとなった(図 1)。

このマウスは HSC 以下の全ての分化した血液細胞の著明な減少を呈することから TIP60 が HSC の維持に非常に重要であると考えられた。そのメカニズムとして我々は、TIP60 欠損マウス HSC を順化し、網羅的遺伝子発現変化をおこなったところ、TIP60 欠損マウス HSC では MYC 標的遺伝子発現が低下することを見出した(図 2A)。さらにその詳細なメカニズムとして、TIP60 が転写因子 MYC の標的遺伝子発現制御において、co-activator として作用することを明らかにした(図 2B)。このように HSC における幹細胞集団維持に TIP60 発現が必要であること、同時に MYC 標的遺伝子の制御に重要な役割を担うことを考慮すると、TIP60 がヒト造血器腫瘍においても重要な役割を担う可能性について、本研究で解明を試みた。

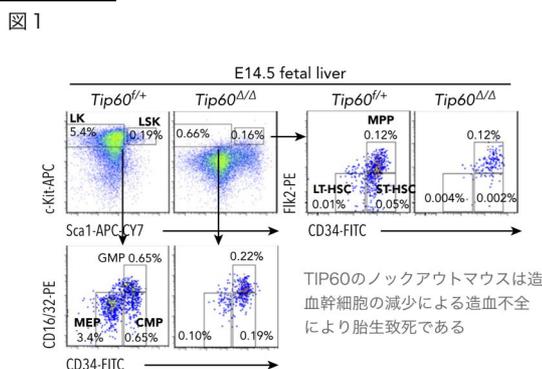
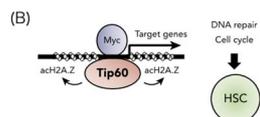
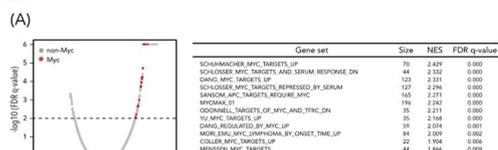


図 1
TIP60 のノックアウトマウスは造血幹細胞の減少による造血不全により胎生致死である

図 2



まず、MYC を高発現している悪性リンパ腫や白血病細胞での、Myc のゲノム上での局在を、クロマチン構造と共に解析に取り組んだ (c-Myc, TIP60, H3K4me1, H3K27ac, acH2A.Z 抗体を用いた、クロマチン免疫沈降 + 次世代シーケンス [ChIP-seq])。まず、最初に急性骨髄性白血病細胞株を用いて研究を行い、MYC、TIP60 の全ゲノム上での位置、それぞれどのような遺伝子をプロモーターまたエンハンサーを介して制御しているのかの解明に取り組んだ。現在、in silico での解析を継続している。今後は異なる細胞株を用いて、同様の解析を行い、

腫瘍の種類ごとに TIP60 が制御する標的遺伝子の差について解明を試みる。

2. TIP60 ノックアウト細胞株作成による、TIP60 を標的としたヒト造血器腫瘍の治療モデル構築

MYC 遺伝子は多くの造血器腫瘍の病態形成において重要な役割を担う転写因子である。そこで、TIP60 による MYC 標的遺伝子発現制御機構がヒト造血器腫瘍における新規の治療標的になる可能性を検証するべく研究を行った。複数の AML やリンパ腫細胞株を用いて TIP60 ノックアウト造血器腫瘍細胞株の樹立を試みたが、TIP60 ノックアウトが細胞に致命的な影響を与えてしまい、アッセイ可能な細胞株樹立が困難であった。これは上述のように TIP60 ノックアウトマウスが造血不全で胎生致死であるように、血液細胞の生存増殖に MYC, TIP60 の機能が重要であることを示唆する所見であると考えられた。そこで現在は、AML 細胞株を中心に、shRNA による TIP60 ノックダウン細胞株の樹立に取り組んでいる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉尾 健志、内田 直之、宮脇 恒太、森 康雄、吉本 五一、沼田 晃彦 ほか
2. 発表標題 HLA-B supertype mismatch is associated with a higher rate of relapse in cord blood transplantation
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山内 拓司、加藤光二、中尾 文彦、入船秀俊、沼田晃彦 ほか
2. 発表標題 Venetoclax and azacitidine maintenance therapy for patients with high-risk AML after allogeneic HSCT
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 沼田晃彦	4. 発行年 2022年
2. 出版社 血液疾患診療ハンドブック	5. 総ページ数 296
3. 書名 中外医学社	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------