

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：34513

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591385

研究課題名(和文) DNA修復経路におけるRUNX1/AML1の機能解析

研究課題名(英文) Roles for RUNX1/AML1 in DNA damage-repair pathway

研究代表者

佐藤 友亮 (Sato, Yusuke)

神戸松蔭女子学院大学・人間科学部・准教授

研究者番号：20506307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：RUNX1の癌抑制遺伝子としての機能を解明することを目的として本研究を実施した。その結果、造血幹細胞において、RUNX1のC端欠失変異はDNA二重鎖切断への修復能を低下させることがわかった。また、RUNX1は、DNA損傷応答分子Gadd45aを転写レベルで制御していることがわかった。さらに、RUNX1のC端変異を有する骨髄異形成症候群患者では骨髄単核球中のGadd45の遺伝子発現量が低下していた。本研究を通してRUNX1は、DNA損傷、とくにDNA二重鎖切断からの修復過程に重要な働きを有しており、RUNX1の機能抑制型変異が、DNA損傷の蓄積と白血病の発症をもたらす可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：We found that the C-terminal deletion mutant of RUNX1 attenuates DNA-damage repair responses in hematopoietic stem/progenitor cells. Bone marrow cells from MDS/AML patients harboring the RUNX1-C-terminal mutation showed significantly lower levels of GADD45A expression compared with those from MDS/AML patients with wild-type RUNX1. As for this mechanism, we found that RUNX1 directly regulates the transcription of GADD45A. These results suggest Gadd45a dysfunction due to RUNX1 mutations can cause additional mutation(s) required for multi-step leukemogenesis.

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：RUNX1 MDS AML DNA損傷

### 1. 研究開始当初の背景

RUNX1 の機能抑制は造血器悪性腫瘍の発症および、疾患悪性度の決定に深くかかわっていると考えられる。しかしこれまでの研究において、RUNX1 の「がん抑制遺伝子」としての機能は不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

RUNX1 の「癌抑制遺伝子」としての機能を解明することを最終目的として、本研究では特に、DNA 損傷修復経路における RUNX1 の機能を明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

以下の点において、研究を実施した。

DNA の一本鎖損傷および、DNA 二重鎖切断修復における RUNX1 の役割。

DNA 損傷付与による、RUNX1 の転写標的の変化および、結合蛋白の変化の解析。

ストレス応答に関わる RUNX1 の転写標的の造血幹/前駆細胞における機能解析。

その他。

### 4. 研究成果

DNA の一本鎖損傷および、DNA 二重鎖切断修復における RUNX1 の役割。

造血幹細胞において、RUNX1 の C 端欠失変異は DNA 二重鎖切断への修復能を低下させることがわかった。とくに放射線照射やトポイソメラーゼ 阻害薬による DNA 損傷に対する修復能が低下することが明らかになった

DNA 損傷付与による、RUNX1 の転写標的の変化および、結合蛋白の変化の解析。

RUNX1 は、DNA 損傷応答分子 Gadd45a を転写レベルで制御していることがわかった。また RUNX1 の C 端変異を有する骨髓異形成症候群患者では骨髓単核球中の Gadd45 の遺伝子発現量が低下していたことなどから、RUNX1 変異を有する患者の白血病発症には Gadd45a の発現低下が DNA 損傷蓄積などを引き起こしていることが示唆

された(Leukemia, 2012)。

ストレス応答に関わる RUNX1 の転写標的の造血幹/前駆細胞における機能解析。

二次造血に必須の転写因子である RUNX1 の造血幹/前駆細胞における機能解析を行う上で、マウス胎児造血幹細胞と早期リンパ球前駆細胞の遺伝子発現プロファイルを比較したところ、クロマチン構造調節分子 SATB1 の発現が、リンパ球への分化とともに上昇することが分かった。平成 25 年度はこの研究を進めることで、造血幹細胞からのリンパ球初期分化における SATB1 の機能の重要性をあきらかにした(Immunity, 2013)。

その他。

新規の RUNX1 変異家系を見出し、その機能解析を行った。この変異は、野生型 RUNX1 が 453 アミノ酸配列を保持するのに対して、283 アミノ酸までしか有しない。機能解析の結果、この変異体が野生型に対してドミナントネガティブ体として働くことが明らかとなった。

以上の事から、本研究を通して RUNX1 は、DNA 損傷とくに DNA 二重鎖切断からの修復過程に重要な働きを有しており、RUNX1 の機能抑制型変異が、DNA 損傷の蓄積と白血病の発症をもたらす可能性が考えられた。

### 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)

Yokota T, Sudo T, Ishibashi T, Doi Y, Ichii M, Orirani K, Kanakura Y.

Complementary regulation of early B-lymphoid differentiation by genetic and epigenetic mechanisms. Int J Hematol. 98:382-389,2013. (査読あり)

Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y. The Satb1 protein directs hematopoietic stem cell differentiation toward lymphoid lineages. *Immunity*. 38:1105-1115,2013. (査読あり)

Sudo T, Yokota T, Oritani K, Satoh Y, Sugiyama T, Ishida T, Shibayama H, Ezoe S, Fujita N, Tanaka H, Maeda T, Nagasawa T, Kanakura Y. The endothelial antigen ESAM monitors hematopoietic stem cell status between quiescence and selfrenewal. *Journal of Immunology*. 189:200-210,2012. (査読あり)

Satoh Y, Matsumura I, Tanaka H, Harada H, Harada Y, Matsui K, Shibata M, Mizuki M, Kanakura Y. C- terminal mutation of RUNX1 attenuates the DNA- damage repair response in hematopoietic stem cells. *Leukemia*. 26:303-311,2012. (査読あり)

Matsui K, Ezoe S, Oritani K, Shibata M, Tokunaga M, Fujita N, Tanimura A, Sudo T, Tanaka H, McBurney MW, Matsumura I, Kanakura Y. NAD-dependent histone deacetylase, SIRT1, plays essential roles in the maintenance of hematopoietic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 418:811-817,2012. (査読あり)

Fujita J, Mizuki M, Otsuka M, Ezoe S, Tanaka H, Satoh Y, Fukushima K, Tokunaga M, Matsumura I, Kanakura Y. Myeloid neoplasm- related gene abnormalities differentially affect dendritic cell differentiation from murine hematopoietic stem/progenitor

cells. *Immunol Lett*. 136:61-73,2011  
(査読あり)

[学会発表](計5件)

Ishibashi T, Yokota T, Ichii M, Satoh Y, Sudo T, Doi Y, Fujita N, Nagate Y, Hamanaka Y, Matsui K, Tanimura A, Saitoh N, Ezoe S, Shibayama H, Kincade PW, Oritani K, Kanakura Y. Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule Marks Human Hematopoietic Stem Cells Regardless Of The HSC Sources. The American Society of Hematology 55th Annual Meeting. 2013.12.08. ニューオリンズ

Tanimura A, Hamanaka Y, Fujita N, Doi Y, Ishibashi T, Sudo T, Matsui K, Ichii M, Saitoh N, Satoh Y, Ezoe S, Yokota T, Oritani K, Shibayama H, Kanakura Y. An Anti-Apoptotic Molecule, Anamorsin, Is Essential for Erythropoiesis Through the Regulation of Cellular Labile Iron Pool. The American Society of Hematology 54th Annual Meeting. 2012.12.10. アトランタ

Satoh Y, Yokota T, Kondo M, Lai A, Kincade P, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Sudo T, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y. Satb1 promotes hematopoietic stem cell differentiation toward the lymphoid lineages. The American Society of Hematology 53rd Annual Meeting. 2011. 12. 12. サンディエゴ

Satoh Y, Yokota T, Tanaka H, Kokame K, Miyata T, Matsumura I, Oritani K, Kanakura Y. SATB1 Induces Early Lymphocyte Differentiation From Primitive Hematopoietic Progenitors.

第73回日本血液学会学術集会、2011.  
10.15. 名古屋国際会議場（名古屋）  
Satoh Y, Matsumura I, Tanaka H,  
Kanakura Y. RUNX1 C- terminal Mutation  
Attenuates The DNA- damage Repair  
Response in Hematopoietic  
Stem/Progenitor Cells. JSH  
International Symposium 2011 in  
Nagasaki. 2011.4.23. 長崎ブリックホー  
ル（長崎）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 友亮 ( SATOH YUSUKE )  
神戸松蔭女子学院大学・人間科学部・准教授  
研究者番号：20506307

### (2) 研究分担者

金倉 譲 ( KANAKURA YUZURU )  
大阪大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：20177489

織谷 健司 ( ORITANI KENJI )  
大阪大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：70324762