

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24249054

研究課題名(和文) エピジェネティック異常による造血器腫瘍発症機構の解明

研究課題名(英文) Role of epigenetic dysregulation in the pathogenesis of hematological malignancies

研究代表者

岩間 厚志 (Iwama, Atsushi)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70244126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,600,000円

研究成果の概要(和文)：ポリコム遺伝子Ezh2がマウス急性白血病モデルにおいて白血病幹細胞の維持と分化抑制に機能することを明らかにした (Blood 120:1107, 2012)。一方で、実際骨髓球系腫瘍で機能喪失型変異が認められるEzh2遺伝子をマウスで欠損させるとMDS/MPNあるいはMDSを発症すること、Tet2変異やRUNX1変異と合わせると、その病態が優位に促進されることを確認し (J Exp Med 210:2627, 2013; Nat Commun 5:4177, 2014)、EZH2機能不全のMDS、MDS/MPNにおける病因論的意義を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that the polycomb gene Ezh2 is required to promote MLL-AF9-driven acute myeloid leukemia (AML) in mice (Blood 120:1107, 2012). In contrast, we also found that the hematopoietic-specific deletion of Ezh2 in mice induced heterogeneous hematopoietic malignancies, including myelodysplastic syndrome (MDS), MDS/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN), and T-ALL after a long latency. Furthermore, the concurrent depletion of Ezh2 and Tet2 in mice markedly accelerated the development of MDS and MDS/MPN and Ezh2 loss significantly promoted RUNX1S291fs-induced MDS (J Exp Med 210:2627, 2013; Nat Commun 5:4177, 2014). These findings support the tumor suppressor function of EZH2 in the context of myelodysplastic disorders and well correspond to the identification of recurrent inactivating mutations in EZH2 in patients with MDS, MPN, MDS/MPN, and T-ALL.

研究分野：血液内科学

キーワード：エピジェネティクス 造血器腫瘍 ポリコム群遺伝子 骨髓異形成症候群

1. 研究開始当初の背景

ポリコーン群複合体はヒストンの化学的修飾を介して転写を抑制的に制御する。ポリコーン群複合体は幹細胞制御に重要な分子群として解析されてきたが、近年、癌における機能が注目されている。特に、*EZH2* の酵素活性化型変異が、濾胞性リンパ腫やびまん性大細胞型B細胞リンパ腫で報告された一方で、*EZH2* の機能喪失型変異が MDS、MPN、MDS/MPN で同定された。以上の報告は *EZH2* がリンパ腫では癌遺伝子として、MDS、MPN、MDS/MPN では癌抑制遺伝子として機能することを示しており、他のポリコーン群遺伝子も同様な機能を有する可能性が示唆されていた。

2. 研究の目的

本研究では、ポリコーン群遺伝子の機能の増強または破綻が *TET2* 遺伝子変異に代表される他のエピジェネティック異常とどのように協調して造血器腫瘍の発症・進展に関わるのかを解析し、造血器腫瘍におけるエピジェネティック制御異常の意義を明らかにするとともに、得られた知見をもとに新規エピジェネティック治療法開発の可能性を追求する。

3. 研究の方法

造血器腫瘍における *Ezh2* の癌遺伝子としての機能解析

前述のように、AML、リンパ腫において *Ezh2* は癌遺伝子として機能するものと想定される。*Ezh2* の過剰発現による造腫瘍活性を、現在作成中の *Ezh2* および活性型変異体 (*Ezh2*^{Y641F}) をコンディショナルに発現するマウス (*R26Stop^{FL}Ezh2*) を血液特異的 Cre マウスと交配し検証する。また、このマウス造血細胞に白血病やリンパ腫の原因遺伝子を共発現した際の造血器腫瘍の発症様式を検証するとともに、クロマチン免疫沈降 (ChIP) シークエンスによるゲノムワイドな解析を行い、癌遺伝子としての *Ezh2* の標的遺伝子を同定する。さらに、H3K27 トリメチル化酵素阻害剤の治療薬としての可能性を検証する。

造血器腫瘍における *Ezh2* の癌抑制遺伝子としての機能解析

Tet2^{hypo/hypo} マウスの MDS/MPN 様病態が *Ezh2* の欠損によって著明に増強される現象の詳細な観察とともに、その機序を明らかにする。*Tet2* 機能異常による DNA メチル化異常が *Ezh2* 欠損により増強されるのか、逆に *Tet2* 機能異常による DNA メチル化異常が *Ezh2* 欠損によるヒストンメチル化異常を増強するのは、造血器腫瘍におけるエピジェネティック異常を理解する上できわめて重要なポイントである。*Tet2*^{hypo/hypo}*Ezh2*^{ΔΔ} マウスの DNA メチル化とヒストンメチル化 (H3K27me3, H3K9me3) を ChIP シークエンスによりゲノムワイドに解析し、*Tet2* による

DNA 脱メチル化制御と *Ezh2* によるヒストンメチル化制御の異常がどのように機能的に協調するのかを理解する。

4. 研究成果

ポリコーン遺伝子 *Ezh2* がマウス急性白血病モデルにおいて白血病幹細胞の維持と分化抑制に機能することを明らかにした (**Blood** 120:1107, 2012)。一方で、造血細胞特異的にポリコーン群遺伝子 *Ezh2* を欠損 (*Ezh2*^{ΔΔ}) させると MDS、MDS/MPN を発症すること、*Ezh2* 欠損を *Tet2* 低発現マウス (*Tet2*^{KD/KD}) や *RUNX1* 変異と合わせると MDS、MDS/MPN の病態が著明に促進されることを見だし、その癌抑制遺伝子としての機能を明らかにしてきた (**J Exp Med** 2013; **Nat Commun** 2014)。特に *Ezh2* 欠損 *Tet2* 低発現マウス (*Tet2*^{KD/KD}*Ezh2*^{ΔΔ}) は早期に MDS を発症することから、MDS の病態解析には優れており、この系を用いて様々な解析が可能である。これまでに、MDS マウスにおいて、*Ezh2* により触媒される H3K27 のトリメチル化状態をクロマチン免疫沈降と大規模シークエンス法を組み合わせた ChIP シークエンス法を用いて解析し、*Ezh2* が欠損することにより H3K27me3 レベルが減少あるいは消失する遺伝子をゲノムワイドに同定した。

また、この際、*Ezh2* のファミリー分子である *Ezh1* が部分的な代償機能を発揮し、癌遺伝子様に機能することが MDS 病態の維持に必須であることを明らかにした (**J Exp Med** 2013; 論文投稿準備中)。注目すべきことに、PRC2 遺伝子異常に加えて、近年、non-canonical PRC1 複合体構成遺伝子 *BCOR*, *BCORL1* にも機能喪失型変異が MDS、AML のみならず再生不良性貧血においても同定され、ポリコーン群遺伝子の造血腫瘍への関与はより広範かつ複雑であることが明らかになった。non-canonical PRC1 複合体は H2Aub1 の修飾を担うとされているが、その機能は未だ十分解析されておらず、不明な点が多い。その解析を開始している。

また、MDS で変異が見られるスプライシング分子 *Sf3b1* の欠損だけでは、マウスに MDS 様病態は生じないこと、造血幹細胞機能が低下することを報告した (**Blood** 123:3336, 2014)。

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 18 件)

Kameda T, Shide K, Yamaji T, Kamiunten A, Sekine M, Taniguchi Y, Hidaka T, Kubuki Y, Shimoda H, Marutsuka K, Sashida G, Aoyama K, Yoshimitsu M, Harada T, Abe H, Miike T, Iwakiri H, Tahara Y, Sueta M, Yamamoto S, Hasuike S, Nagata K, Iwama A, Kitanaka A, Shimoda K. Loss-of-TET2 has dual roles in murine myeloproliferative neoplasms: disease sustainer and disease accelerator. **Blood** 125:304-315, 2015. 査読有

Mishima Y, Wang C, Miyagi S, Saraya A, Hosokawa H, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Koide S, Negishi M, Sashida G, Naito T, Ishikura T, Onodera A, Nakayama T, Tenen DG, Yamaguchi N, Koseki H, Taniuchi I, and Iwama A. Histone acetylation mediated by Brd1/Brpf2 is crucial for *Cd8* gene activation during early thymocyte development. **Nat Commun** 5:5872, 2014. 査読有

Oshima M, Iwama A. Epigenetics of hematopoietic stem cell aging and disease. **Int J Hematol** 100:326-334, 2014. 査読有

Nitta E and Iwama A. Diploid not polyploid: new platelet producers. (Inside Blood) **Blood** 124:2620-2622, 2014. 査読有

Mimura N, Hideshima T, Suzuki R, Ohguchi H, Cottini F, Tai U-T, Cirstea D, Gorgun G, Minami J, Shimomura T, Utsugi T, Richardson PG, Iwama A, and Anderson KC. Preclinical activity of a novel selective Akt inhibitor TAS-117 in multiple myeloma. **Cancer Res** 74:4458-4469, 2014. 査読有

Sashida G, Harada H, Matsui H, Oshima M, Yui M, Harada Y, Tanaka S, Mochizuki-Kashio M, Wang C, Saraya A, Muto T, Inaba T, Koseki H, Huang G, Kitamura T, and Iwama A. *Ezh2* loss promotes development of myelodysplastic syndrome but attenuates its predisposition to leukemic transformation. **Nat Commun** 5:4177, 2014. 査読有

Muto T, Sashida G, Hasegawa N, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K and Iwama A. MDS with extramedullary erythroid hyperplasia induced by loss of *Tet2* in mice. **Leuk Lymphoma** 17:1-4, 2014. 査読有

Wang C, Sashida G, Saraya A, Ishiga R, Koide S, Oshima M, Ishono K, Koseki H, and Iwama A. Depletion of *Sf3b1* impairs proliferative capacity of hematopoietic stem cells but is not sufficient to induce myelodysplasia. **Blood** 123:3336-3343, 2014. 査読有

Nobuhisa I, Osawa M, Uemura M, Kishikawa Y, Anani M, Harada K, Takagi H, Saito K, Kanai-Azuma M, Kanai Y, Iwama A and Taga T. Sox17-mediated maintenance of fetal intra-aortic hematopoietic cell clusters. **Mol Cell Biol** 34:1976-1990, 2014. 査読有

Miyagi S, Koide S, Saraya A, Wendt GR,

Oshima M, Konuma T, Yamazaki S, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Wang C, Chiba T, Kitabayashi I, Nakauchi H and Iwama A. The Tif1 β -Hp1 system maintains transcriptional integrity of hematopoietic stem cells. **Stem Cell Reports** 2:145-152, 2014. 査読有

Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt GR, Mochizuki-Kashio M, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S, and Iwama A. Concurrent loss of *Ezh2* and *Tet2* cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders. **J Exp Med** 210:2627-2639, 2013. 査読有

Wang C, Nakamura S, Oshima M, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Kusunoki Y, Kyoizumi S, Imai K, Nakachi K, and Iwama A. Compromised hematopoiesis and increased DNA damage following non-lethal ionizing radiation of a human hematopoietic system reconstituted in immunodeficient mice. **Int J Rad Biol** 89, 132-137, 2013. 査読有

Harada Y, Inoue D, Ding Y, Imagawa J, Doki N, Matsui H, Yahata T, Matsushita H, Ando K, Sashida G, Iwama A, Kitamura T, and Harada H. RUNX1/AML1 mutant collaborates with BMI1 overexpression in the development of human and murine myelodysplastic syndromes. **Blood** 121, 3434-3446, 2013. 査読有

Nakajima-Takagi Y, Osawa M, Oshima M, Takagi H, Miyagi S, Endoh M, Endo TA, Takayama N, Eto K, Toyoda T, Koseki H, Nakauchi H, and Iwama A. Role of SOX17 in hematopoietic development from human embryonic stem cells. **Blood** 121, 447-458, 2013. 査読有

Sashida G and Iwama A. Epigenetic regulation of hematopoiesis. **Int J Hematol** 96:405-412, 2012. 査読有

Tanaka S, Miyagi S, Sashida G, Chiba T, Yuan J, Mochizuki-Kashio M, Suzuki Y, Sugano S, Nakaseko C, Yokote K, Koseki H, and Iwama A. *Ezh2* augments leukemogenicity by reinforcing differentiation blockage in acute myeloid leukemia. **Blood** 120, 1107-1117, 2012. 査読有

Sakai S, Nakaseko C, Takeuchi M, Ohwada

C, Shimizu N, Tsukamoto S, Kawaguchi T, Jiang M, Sato Y, Ebinuma H, Yokote K, Iwama A, Fukamachi I, Schneider WJ, Saito Y, and Bujo H. Circulating soluble LR11/SorLA levels are highly increased and ameliorated by chemotherapy in acute leukemias. **Clinica Chemica Acta** 413, 1542-1548, 2012. 査読有

Shide K, Kameda T, Shimoda H, Yamaji T, Abe H, Kamiunten A, Sekine M, Hidaka T, Katayose K, Kubuki Y, Yamamoto S, Miike T, Iwakiri H, Hasuike S, Nagata K, Iwama A, Matsuda T, Kitanaka A and Shimoda K. TET2 is essential for survival and hematopoietic stem cell homeostasis. **Leukemia** 26:2216-2223, 2012. 査読有

[学会発表](計 17 件)

Iwama A. “Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells” in Symposium “Connecting Scientists across Borders and Disciplines”. IRCMS Kickoff Symposium, January 15, 2015 (くまもと県民交流館バレア、熊本県・熊本市).

Iwama A. “Epigenetic Regulation of Hematopoiesis and disease” in Symposium “Hematopoiesis”. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, February 22-27, 2015 (Keystone, U.S.A.)

Iwama A. “Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells” in Conference “Chromatin Decoding”. IAS Research Conference, May 12-15, 2014 (公益財団法人国際高等研究所、京都府・木津川市).

Iwama A. “Role of polycomb group genes in the pathogenesis of myeloid malignancies” in Hong Kong University “Stem Cells and Epigenetics in Cancer”. EMBO Workshop, October 16-18, 2014 (Hong Kong, China).

Iwama A. “Stem cell maintenance and amplification” The 76th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 31-November 2, 2014 (大阪国際会議場、大阪府・大阪市).

Iwama A. “Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells” International Forum on Stem Cells, November 1-3, 2014 (Tianjin, China).

Iwama A. “Role of polycomb group genes in hematological malignancies” International Conference on the 19th Annual Meeting of Korean Society of Cancer Prevention, December 12-13, 2014 (Seoul, Korea)

Iwama A. (2014) Role of polycomb-group genes in myeloid malignancies originating from hematopoietic stem cells. 2014 Seoul National University Cancer Research Institute Cancer Symposium “Exploring innovative approaches for cancer prevention and treatment”. April 16-19, (Mopko, Korea)

Iwama A. “Concurrent loss of *Ezh2* and *Tet2* cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders” in Symposium “Epigenetics in cancer”. The 72th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, October 3-5, 2013 (パシフィコ横浜, 神奈川県・横浜市)

Iwama A. (2013) Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells. The 10th Nikko International Symposium 2013 “Translational Epigenomics” October 17, (自治医科大学、栃木県・下野市)

Iwama A. Tumor Suppressor Role of the Polycomb Genes in Myelodysplasia. 2013 USA-Japan Science Conference. March 24-26 (Makena Beach and Golf Resort, Maui, Hawaii).

Iwama A. (2013) Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells. 2nd IGAKUKEN International Symposium on Hematopoietic Stem Cell Development. February 8 (東京大学医学総合研究所、東京都・世田谷区).

Iwama A. (2013) Tumor suppressor function of the polycomb-group genes in myelodysplastic disorders. The 7th Joint G-COE Symposium, “Current and future trends in genome-based immunity, infection and cancer”. January 28 (ステーションコンファレンス東京、東京都・千代田区)

Iwama A. (2012) Lethal myelofibrosis induced by *Bmi1*-deficient hematopoietic cells unveils a tumor suppressor function of the polycomb group genes. The 10th Stem Cell Research Symposium. May 31-June 2 (淡路夢舞台国際会議場、兵庫県・淡路市)

Iwama A. (2012) Role of the polycomb group proteins in the maintenance of hematopoietic stem cells and restriction of tumor development. IMSUT & RCAST Global COE Program Mini-Symposium. June 18 (東京大学医科学研究所、東京都・港区)

Iwama A. (2012) Role of the polycomb group proteins in the maintenance of

hematopoietic stem cells and restriction of tumor development. 41st Annual Scientific Meeting of the ISEH. August 23-26 (Amsterdam, Netherlands)

Iwama A. (2012) Role of the polycomb group proteins in the maintenance of hematopoietic stem cells and restriction of tumor development. The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. October 19-21 (国立京都国際会館、京都府・京都市)

〔図書〕(計 9 件)

- 岩間厚志 (2015) 「造血幹細胞のエピジェネティクス」Annual Review 呼吸器 2015 (永井厚志、巽浩一郎、桑野和善、高橋和久編) pp.15-23, 中外医学社、東京
- 指田吾郎、岩間厚志 (2015) 「骨髓異形成症候群におけるエピジェネティック異常」臨床血液 56(2):111-117. 日本血液学会、東京
- 武藤朋也、岩間厚志 (2015) 「ポリコーム群遺伝子と骨髓異形成」医学のあゆみ 252(9): 964-966. 医歯薬出版株式会社、東京
- 指田吾郎、岩間厚志 (2014) 「癌細胞におけるエピゲノム制御異常」医学のあゆみ 250:52-58. 医歯薬出版株式会社、東京
- 長谷川渚、指田吾郎、岩間厚志 (2014) 「造血器悪性疾患におけるエピゲノム異常」血液フロンティア 24:1755-1762. 医薬ジャーナル社、大阪
- 中島やえ子、岩間厚志 (2013) 「ポリコーム群複合体の機能低下と造血幹細胞老化」内分泌・糖尿病・代謝内科 37(2):212-216. (有) 科学評論社、東京
- 岩間厚志 (2013) 「造血幹細胞のエピジェネティクス」Annual Review 血液 (高久史磨、小澤敬也、坂田洋一、金倉謙、小島勢二編) pp.1-8, 中外医学社、東京
- 岩間厚志 (2013) 「幹細胞老化とエピジェネティクス」アンチ・エイジング医学-日本抗加齢医学会雑誌 9(1):16-22. pp.1-8. (株) メディカルレビュー社、大阪
- 岩間厚志 (2013) 「造血器腫瘍における癌抑制遺伝子としてのポリコーム群遺伝子の機能」臨床血液 54(7):642-648. 日本血液学会、東京

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/molmed/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩間 厚志 (IWAMA ATSUSHI)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号 : 70244126

(2) 研究分担者

指田 吾郎 (SASHIDA GORO)
熊本大学・国際先端医学研究機構・特別招聘
準教授
研究者番号 : 70349447