

(2) 造血器悪性腫瘍における基礎研究

診療の中で得られた疑問について、分子生物学的手法を用いて解答を導き出すことも、私達が大事にしている研究姿勢です。

特に、急性骨髄性白血病および成人T細胞白血病・リンパ腫に関しては、原研内科が最も力を入れてきたテーマです。

多様化・高度化する基礎研究ですが、他の研究室との共同作業を行うことも大切にしています。そして、そこで得られた数多くの知見は、国際的な一流雑誌からも認められています。

(2-1) 急性骨髄性白血病におけるmyeloperoxidaseの分子生物学的意義

Myeloperoxidase(MPO)は急性骨髄性白血病(AML)の診断根拠として用いられています。私達は、MPOが抗癌剤の治療成績と深い関係があることを見出しました。

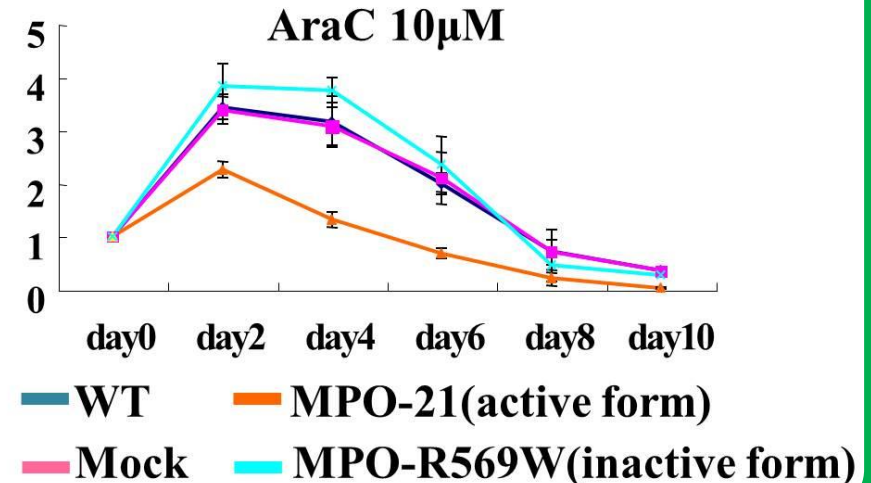
なぜ治療成績に影響を及ぼしうるのかという臨床的な疑問に対して、分子生物学的な側面からの解答を探索しています。

MPOの存在はAML細胞の化学療法感受性に寄与する(文献3)

目的：MPO発現AML細胞株を用いて化学療法感受性を検討し、MPO高発現AML症例が予後良好であることの分子機構を検証する。

結果：野生型MPOを強制発現させたAML細胞株はシタラビン感受性が上昇した。活性酸素の集積が野生型MPO高発現AML細胞にのみ認められ、シタラビン感受性の上昇に参与していることが示唆された。

結論：活性酸素の集積を介することで、MPOは化学療法感受性を亢進する。



AML細胞におけるMPO発現はDNAメチル化と相関する(文献1)

目的：MPO発現とDNAメチル化の関係を検証する。

結果：AML検体のCD34陽性細胞のMPO遺伝子のDNAメチル化とMPO発現は逆相関関係にあった。また、MPO発現はDNMT3Bを含む重要な遺伝子群の特異的なDNAメチル化の状態と相関していた。

結論：MPO発現はAML幹細胞のDNAメチル化状態の指標となる。



【最近発表された論文】

- 1) Itonaga H, et al. Expression of myeloperoxidase in acute myeloid leukemia blasts mirrors the distinct DNA methylation pattern involving the downregulation of DNA methyltransferase DNMT3B. *Leukemia*. 2014;28(7):1459-1466.
- 2) Tominaga-Sato S, et al. Expression of myeloperoxidase and gene mutations in AML patients with normal karyotype: double CEBPA mutations are associated with high percentage of MPO positivity in leukemic blasts. *Int J Hematol*. 2011;94(1):81-89.
- 3) Sawayama Y, et al. Expression of myeloperoxidase enhances the chemosensitivity of leukemia cells through the generation of reactive oxygen species and the nitration of protein. *Leukemia*. 2008;22(5):956-964.
- 4) Taguchi J, et al. Expression of the myeloperoxidase gene in AC133 positive leukemia cells relates to the prognosis of acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2006;1105-1112.

(2-2) 多系統の形態異常を伴う急性骨髄性白血病の 分子生物学的背景

私たちは以前より、WHO分類でも独立した項目として取り扱われる ” 多系統に形態異常を伴う急性骨髄性白血病 ” の臨床的な意義について、臨床研究を重ねてきました。

近年ではその発症に、どのような分子生物学的背景が関与しているのかについて研究を行っています。

AML-TLDの染色体異常は多様である (文献2)

目的：三系統に異形成を有する急性骨髄性白血病 (AML-TLD) の染色体異常の特徴を検証する。

結果：JALSG-AML92試験に登録された症例を解析した。AML-TLDの78例中1例が予後良好核型であり、残りの77例は予後中間または不良核型であった。

結論：TLDの有無は、AMLの生物学的特徴の違いを示している可能性がある。

Chromosome	Non-TLD	TLD	All
Favourable	92.3	(one patient)	92.4*
Intermediate	79.4**	67.7**	75.5*
Adverse	41.7	50	45.5*
	80.2	65.5	75.9

* $P = 0.001$.

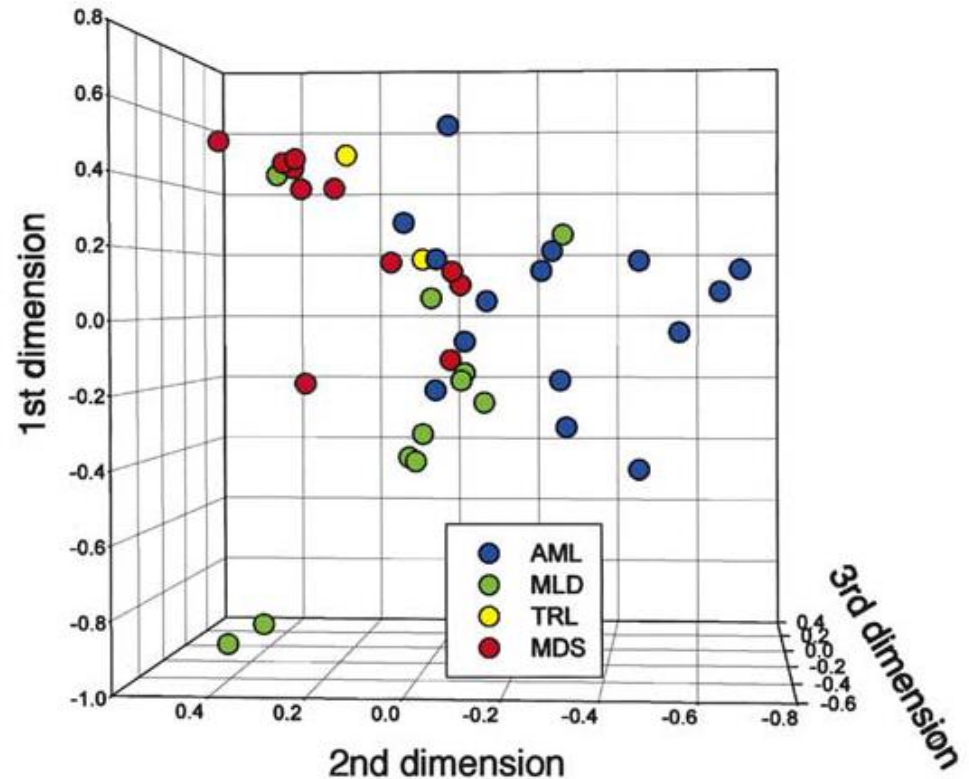
** $P = 0.011$.

AML-MLDとMDSの遺伝子発現パターンは異なる (文献1)

目的：多系統に異形成を有する急性骨髄性白血病（AML-MLD）とMDS由来のAMLの遺伝子発現の違いを検証する。

結果：CD133陽性分画のAML細胞（＝AML幹細胞）においてDNAマイクロアレイを行った。そして、遺伝子発現パターンを3次元展開することで、その違いを視覚化した（右図）。

結論：AML-MLDとMDS由来のAMLの遺伝子発現パターンは異なり、DNAマイクロアレイはその違いを識別するために有用である。



【最近発表された論文】

- 1) Tsutsumi C, et al. DNA microarray analysis of dysplastic morphology associated with acute myeloid leukemia. *Exp Hematol.* 2004;32(9):828-835.
- 2) Miyazaki Y, et al. Cytogenetic heterogeneity of acute myeloid leukaemia (AML) with trilineage dysplasia: Japan Adult Leukaemia Study Group-AML 92 study. *Br J Haematol.* 2003;120(1):56-62.
- 3) Taguchi J, et al. Allogeneic bone marrow transplantation improves the outcome of de novo AML with trilineage dysplasia (AML-TLD). *Leukemia.* 2000;14(11):1861-1866.

(2-3) 急性骨髄性白血病における転写因子MEF/ELF4の意義

転写因子MEF/ELF4は宮崎教授が同定したことに始まり、現在ではいろいろな癌腫・血液疾患におけるがん遺伝子として研究が行われています。

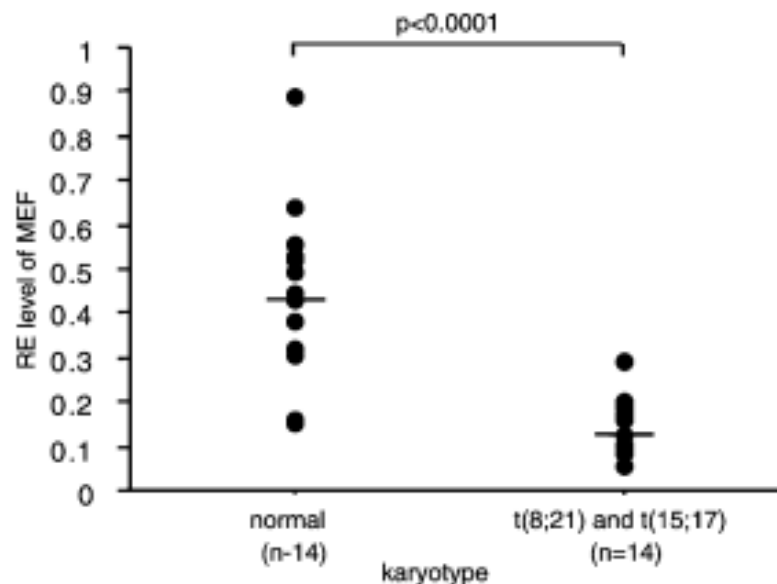
私達は急性骨髄性白血病の発症機序において、MEF/ELF4が関与している可能性を見出しました。

MEF/ELF4の発現はAMLのFAB分類の病型と関係がある(文献2)

目的：ETS familyは造血において重要な遺伝子群である。その遺伝子群に属するMEF/ELF4とELF1のAML細胞における遺伝子発現を検証する。

結果：MEF/ELF4は、正常核型と比較してt(8;21)やt(15;17)を有するAML細胞での遺伝子発現は低下していたが、ELF1では遺伝子発現に違いを認めなかった。

結論：MEF/ELF4遺伝子発現低下は、予後良好核型AMLの特徴である可能性がある。

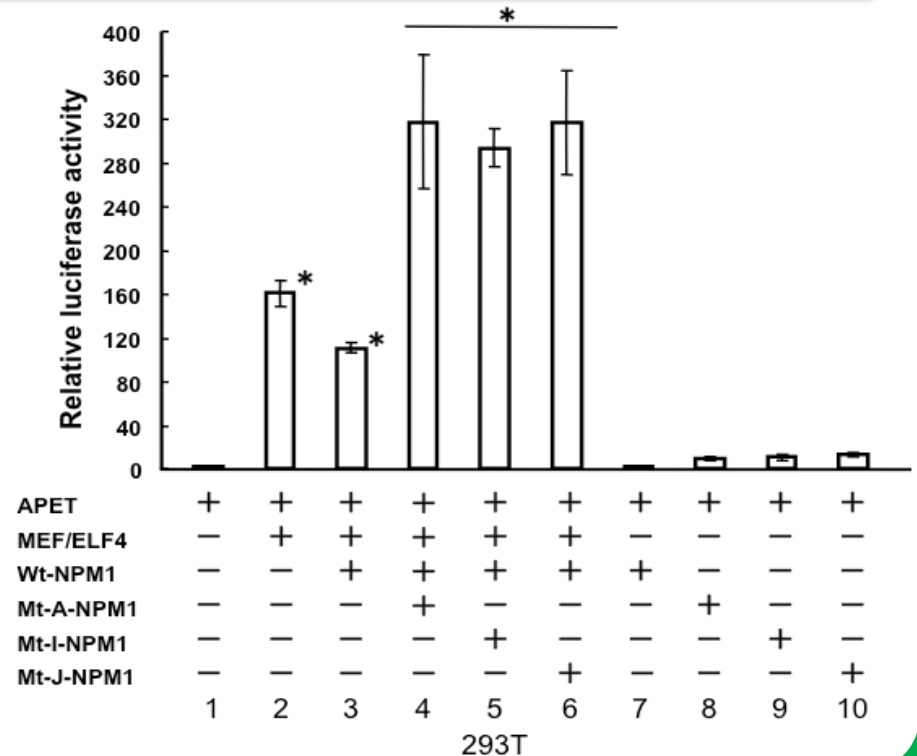


変異型NPMはMEF/ELF4の発現を促し、腫瘍化を増強する(文献3)

目的：急性骨髄性白血病における
MEF/ELF4の関与を検証する。

結果：野生型NPM1はHDM2プロモータ
領域におけるMEF/ELF4の結合を阻害
することで転写活性の低下をもたらす。
一方で、変異型NPM1はMEF/ELF4
の転写活性を増強する。

結論：変異型NPM1は、MEF/ELF4が
関与する白血病細胞としての腫瘍化に
おいて重要である。



【最近発表された論文】

- 1) Ando K, et al. Mutations in the nucleolar phosphoprotein, nucleophosmin, promote the expression of the oncogenic transcription factor MEF/ELF4 in leukemia cells and potentiates transformation. J Biol Chem. 2013;288(13):9457-9467.
- 2) Fukushima T, et al. The level of MEF but not ELF-1 correlates with FAB subtype of acute myeloid leukemia and is low in good prognosis cases. Leuk Res. 2003;27(5):387-392.
- 3) Miyazaki Y, et al. Cyclin A-dependent phosphorylation of the ETS-related protein, MEF, restricts its activity to the G1 phase of the cell cycle. J Biol Chem. 2001;276(44):40528-40536.
- 4) Miyazaki Y, et al. MEF, a novel transcription factor with an Elf-1 like DNA binding domain but distinct transcriptional activating properties. Oncogene. 1996;13(8):1721-1729.

(2-4) 成人T細胞白血病・リンパ腫の進展における分子生物学的背景

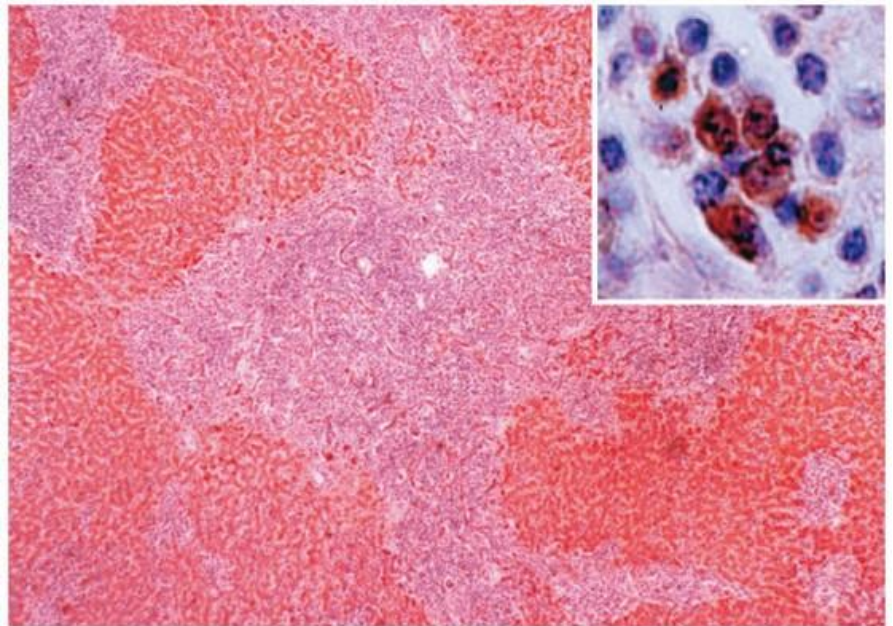
成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)は難治性の疾患です。なぜ発症するのか、どのような特徴をもつ症例が治療抵抗性を獲得しやすいのかという点に着目し、分子生物学的な背景を明らかにすべく研究を行っています。

ATL細胞のc-Met発現は肝浸潤に関与する (文献2)

目的：多くの癌の腫瘍化に関与するc-Metの発現を、ATLにおいて検討する。

結果：HTLV-1陽性T細胞腫瘍株でc-Metの発現を認める一方で、HTLV-1陰性T細胞腫瘍株では発現を認めなかった。肝臓に浸潤しているATL細胞においてc-Metの発現を認めた(右図)。c-Met高発現のATL症例では肝障害を来す傾向にあった。

結論：ATLにおけるc-Metの発現は、肝浸潤と関連する可能性がある。

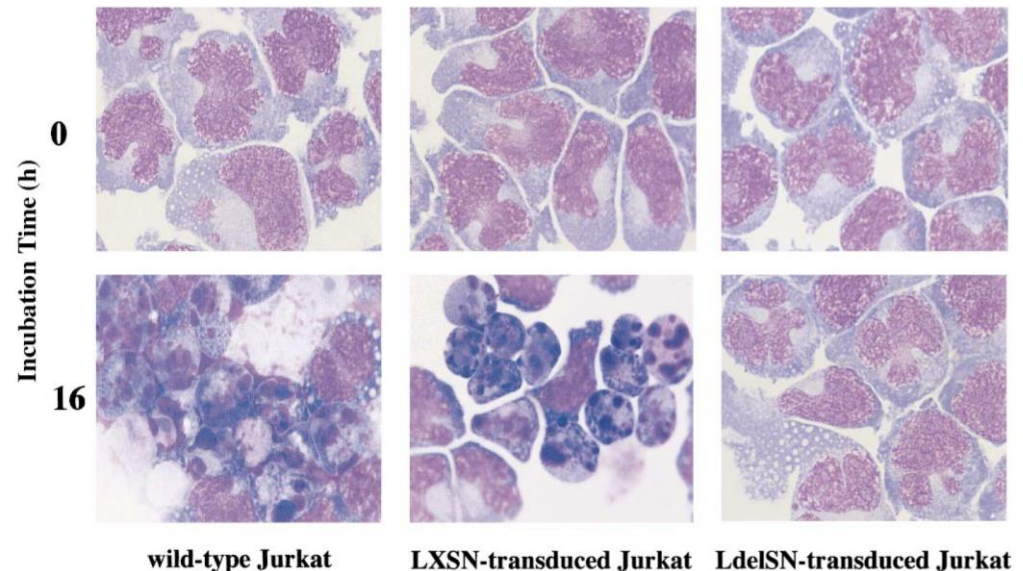


ATL細胞におけるFas遺伝子変異によるアポトーシス抵抗性の獲得 (文献5)

目的：ATL細胞株にて、Fas遺伝子変異によるアポトーシス抵抗性の機序を解析する。

結果：ATL細胞株においてFas遺伝子変異を見出した。その変異型Fas抗原を遺伝子導入にて強制発現させた細胞株がアポトーシス抵抗性の性質を獲得することを示した（右図）。

結論：ATLの病態形成において、Fas遺伝子変異は関与している。



【最近発表された論文】

- 1) Onimaru Y, et al. Autocrine and/or paracrine growth of aggressive ATLL cells caused by HGF and c-Met. *Int J Oncol.* 2008;33(4):697-703.
- 2) Imaizumi Y, et al. Expression of the c-Met proto-oncogene and its possible involvement in liver invasion in adult T-cell leukemia. *Clin Cancer Res.* 2003;9(1):181-187.
- 3) Tawara M, et al. Aberrant processing of Fas transcripts in adult T-cell leukemia: a possible role in tumor cell survival. *Cancer Lett.* 2003;193(2):235-242.
- 4) Imaizumi Y, et al. Possible involvement of interferon regulatory factor 4 (IRF4) in a clinical subtype of adult T-cell leukemia. *Jpn J Cancer Res.* 2001;92(12):1284-1292.
- 5) Maeda T, et al. Fas gene mutation in the progression of adult T cell leukemia. *J Exp Med.* 1999; 189(7): 1063-1071.
- 6) Hata T, et al. Multi-clonal expansion of unique human T-lymphotropic virus type-I-infected T cells with high growth potential in response to interleukin-2 in prodromal phase of adult T cell leukemia. *Leukemia.* 1999;13(2):215-221.