

様 式 C - 7 - 1

平成 2 9 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	1 4 6 0 3
研究 代表者	部局	バイオサイエンス研究科		
	職	特別研究員(DC2)		
	氏名	伊藤 秀矩		

1. 研究種目名 特別研究員奨励費 2. 課題番号 17J07454

3. 研究課題名 造血前駆細胞から白血病幹細胞への転換機構の解明

4. 研究期間 平成 2 9 年度 ~ 平成 3 0 年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

本研究では、白血病幹細胞の骨髄内位置情報の取得と増殖促進・分化阻害・代謝異常の分子レベルでの転換機構の解明を同時に行うことで、位置特異的な細胞内外のシグナル環境を考慮したCOP1-Trib1-C/EBP 経路を介したAML発症機構を解明することが目的である。本年度は、COP1-Trib1-C/EBPaを介したAML発症マウスモデル系の解析から、C/EBPaとの協調因子として代謝制御因子Aに着目し、COP1-Trib1を介したタンパク質分解の標的となることを明らかにした。このことから、COP1-Trib1は増殖・分化を制御する因子C/EBPaと代謝を制御する因子Aの分解を誘導することで、正常細胞に対し増殖・分化・代謝に異常を与え、AMLの悪性を誘導することが考えられる。今後、マウスのCOP1-Trib1を介したAML発症実験を通して、白血病細胞内の特異的増殖・分化・代謝機構の解析を白血病幹細胞の位置情報を含めて行っていく。具体的には、正常マウスから骨髄を採取後、COP1-Trib1、因子AをGFPで標識したレトロウイルスベクターを用いて取り込ませた骨髄由来細胞を作成し、X線照射したマウスに投与することでAMLを発症するマウスモデルを構築し、因子Aのノックダウンあるいは過剰発現を行う系で解析を進める。本研究の成果により、COP1-Trib1経路を介したAML発症の新たな原因因子の特定が可能となり、新しい白血病治療薬開発や白血病幹細胞に特異的な幹細胞維持機構あるいは細胞分化制御機構に関わる生物学的知見の獲得が期待できる。また、白血病幹細胞の骨髄内位置情報が取得できることで、放射線を用いた標的位置の特定など薬剤治療以外の領域における癌の治療・診断にも貢献が期待でき、白血病根治に向けた幹細胞レベルでの新しい治療指針を拓く鍵となる。

7. キーワード

AML がん代謝 白血病幹細胞

8. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由
本年度は、当研究室で扱うCOP1-Trib1-C/EBPaを介したAML発症マウスモデル系から、骨髄球系の増殖・分化を制御する転写因子C/EBPaの協調因子として代謝を制御する因子Aに着目し、COP1-Trib1が関わる代謝制御因子Aのタンパク質分解機構を解明した。因子AがCOP1-Trib1によって、タンパク質分解作用を受けるのかを明らかにするため、細胞にCOP1, Trib1, 因子Aを共発現させ、ウエスタンブロッティング・ユビキチン化アッセイを行い、細胞内の因子Aタンパク質発現レベル・ユビキチン化レベルを解析した。結果、COP1とTrib1, 因子Aを共発現させると、細胞内の因子Aタンパク質発現レベルは顕著に抑制され、ユビキチン化が促進することが分かり、因子AはCOP1-Trib1によるタンパク質分解作用を受けていることが明らかとなった。実際に、Trib1と因子A間のタンパク質結合領域を特定後、結合領域を欠かさせた因子A変異体を作成し、細胞にCOP1, Trib1, 因子A変異体を共発現させ、ウエスタンブロッティングを行ったところ、細胞内の因子Aタンパク質発現レベルは維持され、COP1-Trib1による分解作用の影響が少なかった。これらの結果から、AML内では増殖・分化を制御するC/EBPaと共に代謝を制御する因子Aのタンパク質分解が促進することで、白血病細胞が特異的がん機能制御機構を獲得し、AMLの悪性を誘導していることが示唆される。

1版

9. 今後の研究の推進方策

前年度は、当研究室で扱うCOP1-Trib1-C/EBPaを介したAML発症マウスモデル系から、骨髄球系の増殖・分化を制御する転写因子C/EBPaの協調因子として代謝を制御する因子Aに着目し、COP1-Trib1が関わる代謝制御因子Aのタンパク質分解機構を解明した。
 本年度では、因子Aの分解がAMLの発症にとって重要なのか、また、因子Aの分解はどういった側面からAMLの悪性化を導くのか、AML発症マウスモデル系を用いて研究を進める。現在、正常マウスから骨髄を採取後、COP1-Trib1-因子AをGFPで標識したレトロウイルスベクターを用いて取り込ませた骨髄由来細胞を作成し、X線照射したマウスに投与することでAMLを発症するマウスモデルを構築し、因子Aのノックダウンあるいは過剰発現を行う系で解析を進めている。特に、1. 因子AのノックダウンはAMLの早期発症を誘導するのか、逆に過剰発現はAMLの発症を遅延させるのか、2. ノックダウン系あるいは過剰発現系のマウス体内において、白血球細胞の増殖、分化、代謝機構はどのような変化を受けているのか、3. AMLを発症したマウスの骨髄内における、白血病幹細胞の位置情報と因子Aの発現分布に相関があるのか、に焦点を当てる。AMLを発症したマウスに対し、フローサイトメトリーを用いて、白血病幹細胞を含めた各分化段階の細胞回収・機能解析、ギムザ染色による芽球数、形態比較、輪切り化した骨髄内における代謝因子Aと白血病幹細胞の発現位置解析等を通じて、造血前駆細胞から位置特異的に出現する白血病幹細胞への具体的な転換機構を分子レベルで明らかにしていく。

10. 研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ikuko Nakamae, Jun-ya Kato, Takashi Yokoyama, Hidenori Ito, and Noriko Yoneda-Kato	4. 巻 1(20)
2. 論文標題 Myeloid leukemia factor 1 stabilizes tumor suppressor C/EBPa to prevent Trib1-driven acute myeloid leukemia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Blood Adv.	6. 最初と最後の頁 1682-1693
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2017007054.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hidenori Ito
2. 発表標題 COP1-Trib1 targets ACC1 for degradation and protects leukemic cells from metabolic stress in acute myeloid leukemia
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年～2019年

〔図書〕 計0件

11. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

12. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

14. 備考

-