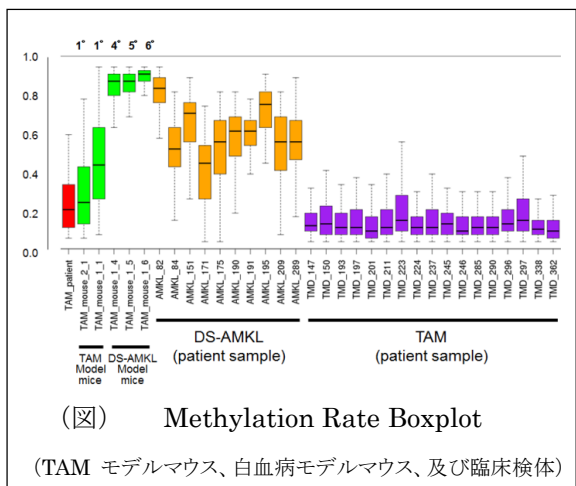


平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出
2. 研究開発課題名： ダウン症に合併する TAM をモデルとしたがんの発症と退縮に関わるエピジェネティクスの解析
3. 研究開発代表者： 京都大学 iPS 細胞研究所 特定拠点教授 中畑龍俊
4. 研究開発の成果

本研究では、自然退縮する白血病様反応である、ダウン症に合併する一過性骨髄異常増殖症 (TAM) をモデルとして、1)発がんとその退縮に関わるエピジェネティックな変化、2)真の白血病である急性巨核芽球性白血病(DS-AMKL)に至るヒットとそれに伴うエピジェネティックな変化、及び3)ダウン症における胎児期のゲノム不安定性をもたらすメカニズムを明らかにする、ことを目標としている。具体的な分担としては、伊藤 G はダウン症の臨床検体の収集と解析、平家 G はヒト細胞を NOG マウスに移植し、ヒト細胞の肝造血環境の再現と解析、中畑 G は患者由来ヒト細胞から iPS 細胞を樹立し、造血分化課程の解析、清水 G はマウスモデルにおける造血環境の解析を行う。これらの各グループの解析によって得られた試料のエピゲノム状態について、渡辺 G が一括して解析を行う体制で研究を進めている。

今年度の成果としては、伊藤グループでは、臨床検体の収集を継続するとともに、42例の DS-AMKL 検体を用いてエクソーム解析を行った結果、繰り返し変異の認められる数個の新規遺伝子を見出した。DNA



メチル化解析の結果を確認するために、さらに40例の TAM 症例と5例の nonDS-AMKL の DNA メチル化解析を行った。その結果、TAM と DS-AMKL は別のクラスターに分類されることが確認され、nonDS-AMKL は TAM や DS-AMKL と異なるクラスターに分類された。平家グループでは、高度免疫不全マウスである NOG マウスを用いた異種移植により、患者検体由来 TAM 臨床検体を移植した TAM モデルマウスと、そこから継代が可能であった白血病モデルマウスを確立した。さらに TAM モデルマウスと白血病モデルマウスのそれぞれについて DNA メチル

化解析を施行したところ、TAM モデルマウスと白血病モデルマウスでは、異なるメチル化パターンが観察された。また、以上の2グループ結果を合わせてクラスタリング解析を行ったところ、TAM モデルマウス及び白血病モデルマウスは、それぞれ TAM 患者及び DS-AMKL 患者検体と同じカテゴリーに分類される結果となった。これらの結果から、TAM から白血病へと進展する過程において、エピジェネティックな修飾が加わっている可能性が示唆された。これらのメチル化解析は渡辺グループによって実施された結果である。

中畑グループでは、前年度までに作製した TAM 患者由来の isogenic な iPS 細胞を用いて、単層培養で step-wise に血球分化を誘導し、TAM の病態再現を試みた。現在までの検討で、TAM 関連 iPS 細胞 (21 番 トリソミー+GATA1 変異あり) は in vitro の表現型として、赤芽球系、巨核芽球系及び、顆粒球系への分化異常を呈することが明らかになった。この表現型は患者内で見られるものと相関している。

清水グループでは、TAM/AMKL モデルマウスの胎児肝臓サンプルを用いて前年度までに抽出した TAM/AMKL 病態形成に関わる候補遺伝子群が GATA1s 変異およびその発現量により影響を受けるかどうかを解析した。その結果、Ras シグナルを調節する *Rasall* 遺伝子のプロモーター領域に機能的 GATA 結合配列が複数存在すること、GATA1 が *Rasall* 遺伝子の発現を制御しており、その制御には GATA1s 変異で欠失しているアミノ末端転写活性化領域が重要であることを明らかにした。これらの結果は、GATA1 による Ras シグナルの修飾機構が TAM/AMKL 形成に寄与している可能性を示唆している。