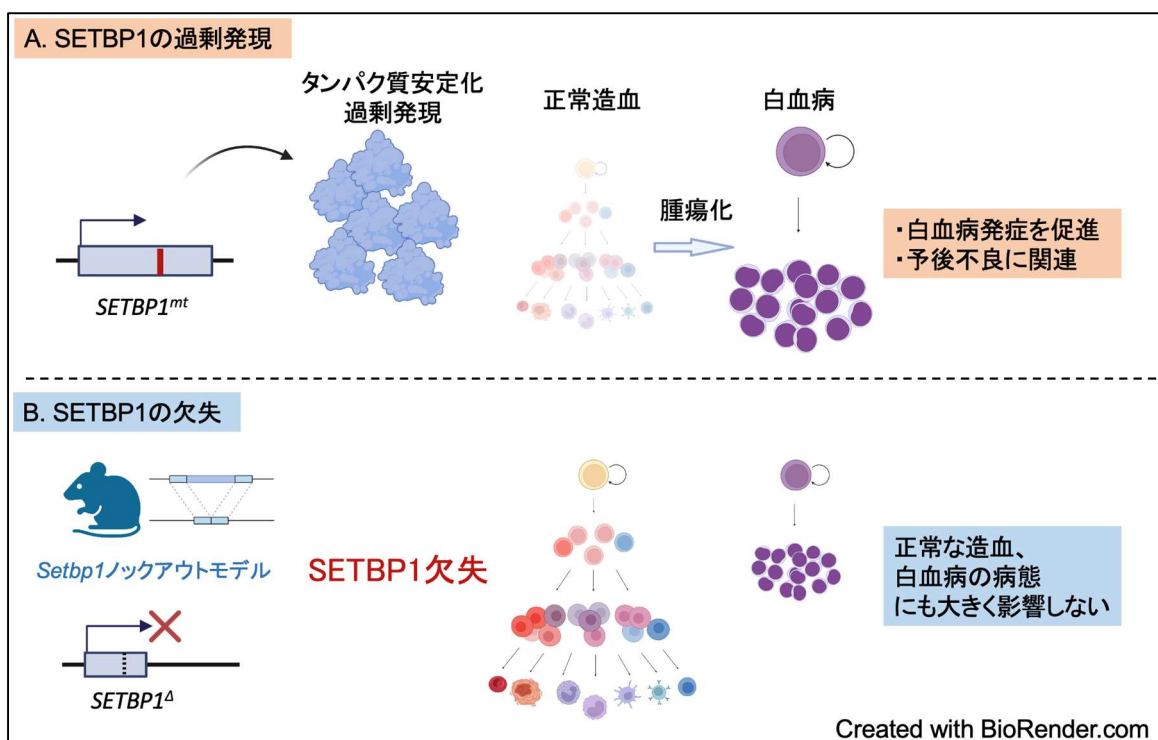




高発現が予後不良因子となる SETBP1 遺伝子の 造血における内因的役割を解明

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構（理事長：本庶佑）は、先端医療研究センター血液・腫瘍研究部の田中淳特任研究員（研究当時、京都大学医生物学研究所より出向）・井上大地部長らの研究チームが、理化学研究所（古関明彦チームリーダー）、かずさ DNA 研究所（中山学主任研究員）、京都大学（小川誠司教授、河本宏教授、高折晃史教授）との共同研究により、急性骨髄性白血病（AML）において高い発現量が予後不良因子となる SETBP1 遺伝子について、正常造血および腫瘍性造血における内因的な役割を探索し、その研究成果が 2023 年 7 月 18 日 17 時（日本時間）に国際学術誌『*Leukemia*』オンライン版に掲載されましたので、お知らせします。



【本研究のポイント】（具体的な内容につきましては、添付資料をご参照ください）

- SETBP1 のタンパク質レベルでの過剰発現は白血病発症を促進し、急性骨髄性白血病（AML）を含む種々の血液悪性腫瘍において予後不良因子となることが報告されてきました（図 A）。
- 今回我々は SETBP1 遺伝子の mRNA レベルでの高発現も予後不良とされる臨床的特徴や遺伝子変異と相関し、生存期間の短縮とリンクすることを新たに見出しました。
- ヒト・マウスともに血液細胞における SETBP1 遺伝子の mRNA 発現は造血幹細胞分画で最も高く、幹細胞の機能に不可欠な MECOM 遺伝子と発現が相関していました。<次頁につづく>

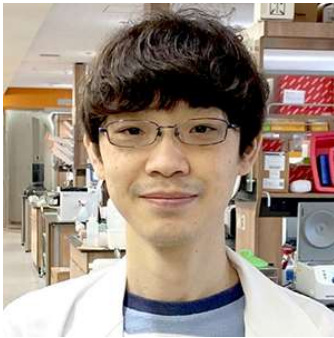
- そこで、発現量により細胞形質が変化する **SETBP1** 遺伝子の内因的な役割について、ヒト **AML** 症例、ヒト **AML** 細胞株、および新規に作成した造血細胞特異的ノックアウトマウスモデルを用いて詳細に解析を進めました。
- 正常造血幹細胞・**AML** 細胞両者において内因性レベルの **SETBP1** 遺伝子の発現が果たす役割は非常に限定的で、ノックアウトしても造血にほとんど影響しないという予想外な結果を得ました (図 B)。

このたびの研究成果は「発現量が重要な意味を持つがん遺伝子が必ずしも生理的に重要な役割を有する遺伝子とは限らない」という新しい概念を提唱するものとして、白血病を含む今後のがん生物学の発展に寄与することが期待されます。

■ 発表者

田中 淳

(研究当時) 公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター血液・腫瘍研究部
特任研究員、京都大学大学院博士課程 (医生物学研究所 再生免疫学講座)



神戸市立西神戸医療センター・神戸市立医療センター中央市民病院に計5年間勤務後、2019年より京都大学の大学院生として先端医療研究センター血液・腫瘍研究部へ出向し研究に従事。
2023年4月より京都桂病院血液内科副医長として臨床に従事。

井上 大地

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター血液・腫瘍研究部 部長



神戸市立医療センター中央市民病院に5年間勤務後、東京大学医科学研究所、米国メモリアルスローンケタリングがんセンターで計9年間白血病研究に従事し、2019年より血液・腫瘍研究部上席研究員(グループリーダー)、2021年より同部長に就任した。京都大学・神戸大学客員准教授兼任。

■お問合せ

研究に関すること

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構
先端医療研究センター血液・腫瘍研究部
研究部長 井上 大地
TEL: 078-515-6228 FAX: 078-306-0898
E-mail: d-inoue (末尾に@fbri.org)

報道・取材等に関すること

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構
経営企画部広報戦略課 太田・森口
TEL: 078-306-2231
E-mail: kbic-pr (末尾に@fbri-kobe.org)

2023年7月27日

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

高発現が予後不良因子となる SETBP1 遺伝子の 造血における内因的役割を解明

概要

1. 背景

急性骨髄性白血病（Acute Myeloid Leukemia: AML）（注 1）は、骨髄の造血幹細胞（注 2）に染色体異常や遺伝子変異が蓄積することによって生じる、血液悪性腫瘍の一種で、我が国では年間約 4000 人が新規に発症するとされています。近年の解析技術の発展により、AML の中でも予後不良な病型には特定の遺伝子異常の合併がみられることが報告されてきました。D868N に代表される SETBP1 遺伝子変異（注 3）はそうした予後不良 AML に関連する遺伝子変異のひとつであり、SETBP1 タンパク質は、DNA やクロマチン修飾因子への結合能を有することから、エピゲノム制御への寄与が予想されています。AML において報告されている SETBP1 の遺伝子変異は、SETBP1 の分解を阻害することによってタンパク質レベルでの過剰発現をきたします。SETBP1 変異に限らず SETBP1 の転写活性化もまた予後不良に関連することや、正常なマウスの造血幹細胞に SETBP1 を過剰発現させると白血病発症が誘導されることも踏まえると（図 A）、SETBP1 の過剰発現が白血病の病態に重要な役割を果たしていると考えられます。その一方で、生理的な発現レベルでの SETBP1 が正常造血あるいは白血病の発症・維持においてどのような役割を担っているのかについてはこれまでよく知られていませんでした。

2. 研究手法・成果

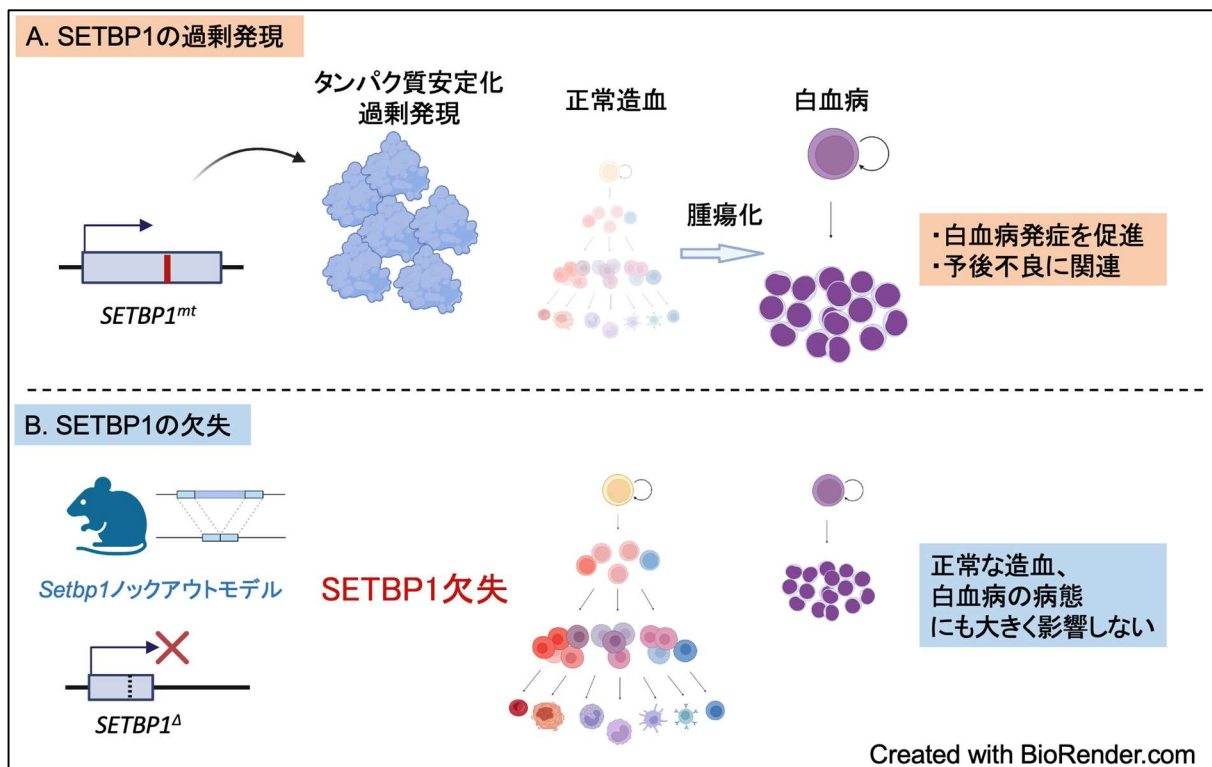
まず我々はヒト AML 349 症例のデータベースを利用して、SETBP1 mRNA の発現が特に高い群・低い群をそれぞれ抽出して臨床データを比較・検討しました。その結果、やはり SETBP1 mRNA 発現の高い群は発現が低い群よりも生存期間が短縮し、また予後不良に関連する他の遺伝子異常も高頻度に合併することを見出しました。さらに、健常人の骨髄細胞を用いた単一細胞レベルでの遺伝子発現解析の結果から、造血幹細胞分画で特に SETBP1 mRNA 発現量が高く、造血幹細胞のプログラムに不可欠な MECOM 遺伝子と発現レベルが相関していることがわかりました。

上記の結果から、SETBP1 遺伝子は造血において内因的に重要な役割を担っていると予想されました。そこで我々は Cre が発現されている細胞でのみ SETBP1 の発現が欠失される SETBP1^{Cre} マウスを新たに作成し、更に胎生期から造血細胞特異的に Cre が発現される Vav1-iCre マウスと交配することで、胎生期から造血細胞特異的に SETBP1 の発現が欠失するモデルマウスを作出し、その表現形質の解析を行いました。

予想に反して、このモデルマウスは正常に発育・繁殖し、造血幹細胞の自己複製能・分化能・再構築能といった造血を維持する機能に障害を示しませんでした。また、ATAC-seq（注 4）を含む解析では、造血幹細胞における転写活性化領域（クロマチンアクセシビリティ）や遺伝子発現に関しても顕著な変

化は認められませんでした。これらの結果により、SETBP1 の発現が正常造血に必須ではないことが示されました (図 B)。

次に、前述のモデルマウスの造血幹細胞に白血病を強く誘導する融合遺伝子 MLL-AF9 を導入したところ、対照群の造血幹細胞を用いた場合と比べて白血病発症までの期間に明らかな差は認められませんでした。また、対照群から誘導されたマウス白血病細胞またはヒト AML 細胞株において後から SETBP1 を欠失させても、対照細胞と比べて増殖に明らかな変化はみられませんでした。MLL-AF9 以外の遺伝子異常を有するあらゆる AML 細胞株においても同様であり、がん細胞株の大規模データベース DepMap (<https://depmap.org/portal/>) においても我々の知見が支持されました。これらの結果により、SETBP1 は白血病の発症・維持にも必須ではないことが示されました。



3. 波及効果および今後の予定

これまでも造血細胞における SETBP1 の表現形質や分子機構についての報告はいくつも存在しますが (注5)、それらはいずれもレトロウイルスベクターなどにより SETBP1 を人工的に過剰発現させる実験系から得られた知見です。生理的な発現量の SETBP1 が造血に果たす役割が非常に限定的であったという今回の研究成果も踏まえると、既報の実験系で示されてきた SETBP1 の分子機構が本当にヒト AML 症例の病態を反映しているのかについては慎重に解釈していく必要があります。一方で、ヒト AML 症例において SETBP1 の高発現が予後不良に関連しているという知見は今回の研究でも確認しており、SETBP1 発現亢進が白血病発症に重要な役割を果たしている可能性は依然として十分に考えられます。そこで我々は SETBP1 変異を再現するモデルマウスを新たに作出し、より生理的な発現量における SETBP1 変異体の機能解析に現在取り組んでいます。こうした解析を通じてヒト AML における SETBP1 の役割をより正確かつ詳細に解明し、今後の予後不良 AML のより深い病態理解、ひいては予後改善につながる治療標的の同定へ繋げていきたいと考えています。

■ 用語解説

(注1) 急性骨髄性白血病 (Acute Myeloid Leukemia: AML)

造血の場である骨髄中で未熟な造血幹細胞ががん化した悪性疾患。骨髄芽球とよばれる幼若な細胞に占拠され、機能的な細胞への分化が抑制されるため、免疫機能の低下、貧血、出血傾向などを呈する。

(注2) 造血幹細胞

主に骨髄中に存在する造血系の組織幹細胞であり、自己複製能と多分化能を有し、赤血球や白血球、血小板といった成熟血球細胞を産生する。

(注3) SETBP1 変異

D868N に代表される AML でみられる SETBP1 変異は、SETBP1 タンパク質の分解を促進する配列 (デグロンモチーフ) に集中している。また生殖細胞系列における SETBP1 変異は神経学的異常や特異顔貌を含む多彩な全身合併症 (Schinzel-Giedion 症候群) を引き起こすが、本症における SETBP1 変異もまた AML と同様のデグロンモチーフに集中している。

(注4) ATAC (Assay for Transposase-Accessible Chromatin)-seq

クロマチン構造の三次元的な構造変化は遺伝子発現を調節する機構のひとつであり、転写が活性化している遺伝子はクロマチンの凝集が比較的緩まっている (オープンクロマチン) 領域に存在する。ATAC-seq とは Tn5 トランスポザラーゼという酵素を利用してこのオープンクロマチン領域を網羅的に同定することで、転写が活性化している領域や遺伝子について網羅的に解析する手法である。

(注5) 造血細胞における SETBP1 の表現形質や分子機構についての参考文献

- Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y, et al. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. *Nat Genet.* 2013;45(8):942-6.
- Inoue D, Kitaura J, Matsui H, Hou HA, Chou WC, Nagamachi A, et al. SETBP1 mutations drive leukemic transformation in ASXL1-mutated MDS. *Leukemia.* 2015;29(4):847-57.
- Oakley K, Han Y, Vishwakarma BA, Chu S, Bhatia R, Gudmundsson KO, et al. Setbp1 promotes the self-renewal of murine myeloid progenitors via activation of Hoxa9 and Hoxa10. *Blood.* 2012;119(25):6099-108.
- Nguyen N, Vishwakarma BA, Oakley K, Han Y, Przychodzen B, Maciejewski JP, et al. Myb expression is critical for myeloid leukemia development induced by Setbp1 activation. *Oncotarget.* 2016;7(52):86300-12.
- Nguyen N, Gudmundsson KO, Soltis AR, Oakley K, Roy KR, Han Y, et al. Recruitment of MLL1 complex is essential for SETBP1 to induce myeloid transformation. *iScience.* 2022;25(1):103679.
- Piazza R, Magistroni V, Redaelli S, Mauri M, Massimino L, Sessa A, et al. SETBP1 induces transcription of a network of development genes by acting as an epigenetic hub. *Nat Commun.* 2018;9(1):2192.
- Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, Redaelli S, Spinelli R, Pirola A, et al. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. *Nat Genet.* 2013;45(1):18-24.
- Vishwakarma BA, Nguyen N, Makishima H, Hosono N, Gudmundsson KO, Negi V, et al. Runx1 repression by histone deacetylation is critical for Setbp1-induced mouse myeloid leukemia development. *Leukemia.* 2016;30(1):200-8.

■ 論文タイトルと著者

掲載誌：*Leukemia*

英文タイトル：**SETBP1 is dispensable for normal and malignant hematopoiesis**

タイトル和訳：**SETBP1 は正常造血・腫瘍性造血いずれにおいても必須ではない**

著者名：田中淳^{1,2,3}、西村耕太郎¹、雑賀渉^{1,4}、昆彩奈⁵、小池優依¹、辰巳宏美⁶、竹田淳恵⁵、野村真樹^{1,7}、臧維嘉^{1,3}、中山学⁸、松田正史⁶、山崎博未¹、福本未記¹、伊藤裕美¹、林康貴¹、北村俊雄¹、河本宏²、高折晃史³、古関明彦⁶、小川誠司^{5,9,10}、井上大地^{1,3*}

所属：¹公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター血液・腫瘍研究部

²京都大学医生物学研究所 再生免疫学分野

³京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学講座

⁴滋賀医科大学 内科学講座 血液内科

⁵京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学講座

⁶理化学研究所 生命医科学研究センター免疫器官形成研究チーム

⁷京都大学 iPS 細胞研究所

⁸公益財団法人かずさ DNA 研究所 先端研究開発部

⁹京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点

¹⁰Department of Medicine, Center for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska Institute

*責任著者

DOI：<https://doi.org/10.1038/s41375-023-01970-5>

特記事項

本研究は日本血液学会、米国血液学会、内藤記念科学振興財団、上原記念生命科学財団、化学及血清療法研究所、高松宮妃癌研究基金、SGH 財団、母子健康協会、加藤記念バイオサイエンス振興財団、日本学術振興会（JP23H00430, JP20H00537, JP20H03717, JP21J15620, JP19H05656, JP26221308, JP21K08394, JP18K16084）、日本医療研究開発機構（AMED）（21ck0106697h0001, 21cm0106501h0006, 22ama221508h0001）の支援によって行われました。

先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部

“加齢やがん化に伴う造血細胞の特質を理解して新規治療応用へ”

高齢化に伴い二人に一人ががんになる時代です。2019年に発足した血液・腫瘍研究部は、ゲノム、エピゲノム、転写、スプライシング、代謝、細胞間クロストークの観点から未知のメカニズムを追求し、国内外の研究機関との連携ならびに産学官連携の上、治療応用へとつなげることを目標とします。特に急性骨髄性白血病（AML）や骨髄異形成症候群（MDS）など予後不良な悪性疾患に対して、腫瘍学の常識にとらわれず、様々な視点から「がん」を捉えることで新しいサイエンスの扉を開き医療へ還元することを目指します。

<https://www.fbri-kobe.org/laboratory/research5/>

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 <https://www.fbri-kobe.org>

FBRI : Foundation for **B**iomedical **R**esearch and **I**nnovation at **K**obe

神戸医療産業都市推進機構（理事長：本庶佑）は、阪神・淡路大震災からの創造的復興プロジェクト「神戸医療産業都市」の中核的支援機関および先端医療研究機能を併せ持つ財団法人として2000年3月に設立されました。2018年4月、神戸医療産業都市推進機構へと組織を発展的に改組、「健康長寿社会に向けた課題解決策を神戸から世界へ発信していく」ことを掲げ事業を推進しています。

■お問合せ

研究に関すること

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部

研究部長 井上 大地

TEL: 078-515-6228 FAX: 078-306-0898

E-mail: d-inoue（末尾に @fbri.org をつけてください）

報道（取材等）に関すること

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

経営企画部 広報戦略課 太田・森口

TEL: 078-306-2231 E-mail: kbic-pr（末尾に @fbri-kobe.org をつけてください）