

研究助成 2022 – がん領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

現 所 属	九州大学大学院医学研究院プレジジョン医療学分野
氏 名	平林 茂樹
研 究 テーマ	家族性骨髄系腫瘍の遺伝子発現制御機構の解明
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 （図表、写真等の貼付を含む） 	
<p>家族性急性骨髄性白血病（AML）/骨髄異形成症候群（MDS）の原因遺伝子として、ATP 依存性 RNA ヘリカーゼである <i>DDX41</i> が同定された。<i>DDX41</i> の変異を有する家系では高齢で造血細胞の分化・増殖異常や AML/MDS を発症するリスクが極めて高い。<i>DDX41</i> 変異を有する AML/MDS では、胚細胞変異として D140fs や A500fs のような機能喪失型の変異を有し、もう一方のアリルに R525H を主とした体細胞変異を有することが多いが、それぞれの変異がどのような役割を果たし、AML/MDS の発症をきたしているかは十分にはわかっていない。エンハンサーが血液腫瘍やがんにおいて重要な機能を担うことがわかっているにもかかわらず、これまで <i>DDX41</i> の機能喪失によるエンハンサーが果たす役割は報告されていない。したがって、血液腫瘍・がんにおけるエンハンサーの重要性を鑑み、本研究では胚細胞変異と体細胞変異の相違について遺伝子発現だけでなくエンハンサー活性の変化にも着目して解析する。本研究の目的はエンハンサー活性定量の解析を含むマルチオミクス解析により <i>DDX41</i> の機能喪失型変異と R525H 変異のそれぞれの遺伝子発現制御機構を明らかにすることで、疾患発症メカニズムの解明に寄与することである。</p> <p>本研究では、1 倍体の白血病細胞株である HAP1 の <i>DDX41</i> 遺伝子にタンパク質分解タグである FKBP12^{F36V} をノックインし、dTAG 存在下で迅速かつ特異的かつ高効率に <i>DDX41</i> を分解する系を確立した。この細胞株に、野生型を含む 12 種類の <i>DDX41</i> 変異体を外因性に発現させ、内因性の <i>DDX41</i> を dTAG で分解し、<i>DDX41</i> 変異体が増殖に与える影響を評価したところ、D140fs、T227M、A500fs、R525H、G530D で細胞数の著しい減少を認めた。内因性の <i>DDX41</i> を発現させた状態で 12 種類の外因性の <i>DDX41</i> 変異体を発現させ評価したところ、体細胞変異で高頻度に見られる R525H と T227M では細胞数の低下を認め、体細胞変異では dominant negative effect があると考えられた。次に、エンハンサー活性を含む遺伝子の転写量に関してゲノムワイドに解析するために、NET-CAGE 法を dTAG 投与後の <i>DDX41</i> WT, A500fs, R525H, empty 発現細胞に適用したところ A500fs と R525H 変異は異なる転写活性を示した。WT と A500fs、WT と R525H 発現細胞の転写活性を比較すると、A500fs および R525H 発現細胞の両者とも mRNA splicing、Ribosome biogenesis、mRNA processing に関わる遺伝子の転写活性が有意に増加していた。さらに、R525H と A500fs 発現細胞の転写を比較すると、R525H 発現細胞では Regulation of cholesterol metabolic process、Regulation of cholesterol biosynthetic process に関わる遺伝子の転写活性が有意に増加していた。一方、mRNA modification に関わる遺伝子の転写活性が R525H 発現細胞では有意に低下していた。エンハンサー活性も同時に測定し、有意に転写変動したエンハンサーを複数同定した。</p> <p>本研究では、当初体細胞変異と胚細胞変異の両方を有する細胞株の樹立を複数の細胞株で試みたが、安定的な細胞株は樹立できなかった。そこで dTAG 投与時のみに速やかな <i>DDX41</i> タンパク質分解を行う系で外因性の <i>DDX41</i> 変異体を発現させた状態で解析を行い、体細胞変異と胚細胞変異の遺伝子とエンハンサーの転写活性の相違について見出した。今後臨床検体を用いた解析を組み合わせ、AML/MDS の発症・維持の鍵となる遺伝子発現制御機構を明らかにしたいと考えている。</p>	

研究助成 2022 – がん領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

現 所 属	九州大学大学院医学研究院プレジジョン医療学分野
氏 名	平林 茂樹
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 	
1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めない。 	
1	Oguchi A, Suzuki A, Komatsu S, Yoshitomi H, Bhagat S, Son R, Bonnal R J P, Kojima S, Koido M, Takeuchi K, Myouzen K, Inoue G, Hirai T, Sano H, Takegami Y, Kanemaru A, Yamaguchi I, Ishikawa Y, Tanaka N, <u>Hirabayashi S</u> , Konishi R, Sekito S, Inoue T, Kere J, Takeda S, Takaori-Kondo A, Endo I, Kawaoka S, Kawaji H, Ishigaki K, Ueno H, Hayashizaki Y, Pagani M, Carninci P, Yanagita M, ITEC consortium, Parrish N, Terao C, Yamamoto K, Murakawa Y. An atlas of transcribed enhancers across helper T cell diversity for decoding human diseases. Science ,385(6704):eadd8394, 2024, 査読有
2	Imanaga H, Semba Y, Sasaki K, Setoguchi K, Maniriho H, Yamauchi T, Terasaki T, <u>Hirabayashi S</u> , Nakao F, Nogami J, Izraeli S, Akashi K, Maeda T. Central role of the mTORC1 pathway in glucocorticoid activity against B-ALL cells. Blood Neoplasia 1 (2): 100015, 2024, 査読有
3	<u>Hirabayashi S</u> , Kondo T, Nishiwaki S, Mizuta S, Doki N, Fukuda T, Uchida N, Ozawa Y, Kanda Y, Imanaka R, Takahashi S, Ishikawa J, Yano S, Nakamae H, Eto T, Kimura T, Tanaka J, Ichinohe T, Atsuta Y, Kako S. Impact of MRD on clinical outcomes of unrelated hematopoietic stem cell transplantation in patients with Ph ⁺ ALL: a retrospective nationwide study. American Journal of Hematology 98(10):1606-1618, 2023, 査読有
4	Sakurada-Aono M, Sakamoto T, Kobayashi M, Takiuchi Y, Iwai F, Tada K, Sasanuma H, <u>Hirabayashi S</u> , Murakawa Y, Shirakawa K, Sakamoto C, Shindo K, Yasunaga JI, Matsuoka M, Pommier Y, Takeda S, Takaori-Kondo A. HTLV-1 bZIP factor impairs DNA mismatch repair system. Biochemical and Biophysical Research Communications 657:43-49, 2023, 査読有
5	Nakao F, Setoguchi K, Semba Y, Yamauchi T, Nogami J, Sasaki K, Imanaga H, Terasaki T, Miyazaki M, <u>Hirabayashi S</u> , Miyawaki K, Kikushige Y, Masuda T, Akashi K, Maeda T. Targeting a mitochondrial E3 ubiquitin ligase complex to overcome AML cell-intrinsic Venetoclax resistance. Leukemia 37(5):1028-1038, 2023 査読有

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。 ● 国内外を問わない。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2024/10/11	第 86 回日本血液学会学術集会、平林 茂樹、鶴原 百香、福士 恭子、辻村 太郎、宮田 喜代子、前田 高宏、DDX41 バリエントの機能的なアノテーションを行うシステムの開発
2	2024/12/8	66th ASH Annual Meeting, Shigeki Hirabayashi, Momoka Tsuruhara, Kyoko Fukushi, Shoko Tarumoto, Moe Shinagawa, Yuichiro Semba, Takuya Yamamoto, Yuichi Shiraishi, Kiyoko Miyata, Taro Tsujimura, Takahiro Maeda, Functional Annotation of DDX41 Variants Using Base-Editing and cDNA Expression Library Screenings
3		
4		
5		
6		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		