

新規転写伸長制御因子 Med26 の混合型急性白血病との関わりについての解析

高橋秀尚

北海道大学大学院医学研究科 生化学講座 医化学分野

【研究の背景】

遺伝子の発現は緻密に制御されており、その制御機構の破綻は、がんや白血病などのさまざまな腫瘍を引き起こす要因となる。近年、腫瘍発症に関連する多くの遺伝子領域において、RNA ポリメラーゼ II(以下 Pol II)が転写開始直後に一時停止しており、その一時停止が転写伸長因子によって解除され、腫瘍関連遺伝子が過剰に転写されることが、腫瘍発症のメカニズムに関与することがわかつてき。Pol II が一時停止を解除され RNA 合成を再開するためには、転写伸長因子が遺伝子領域にリクルートされることが必要である。これまでの研究で、メディエーター複合体のサブユニット Med26 が、転写伸長因子 ELL/EAF、P-TEFb を含む複合体“Super elongation complex”(SEC)を、*c-Myc*などの腫瘍関連遺伝子領域にリクルートし、それらの遺伝子の転写伸長を促進することがわかつた¹⁾。さらに最近、Med26 に結合するもう一つの転写伸長因子複合体“Little elongation complex”(LEC)を同定した。興味深いことに、Med26 は LEC を *small nuclear RNA (snRNA)*などの *non-coding RNA* 遺伝子領域にリクルートする機能を果たすことを明らかにした²⁾。SEC は転写伸長因子の ELL/EAF、P-TEFb に加え MLL 融合パートナー因子の AF4、AFF4、AF9 や ENL をサブユニットとして有す³⁾。SEC のサブユニットの ELL、AF4、AF9 や ENL の遺伝子は MLL(Mixed Lineage Leukemia)遺伝子と混合型急性白血病(MLL)で高頻度に染色体転座がみられる。最近、転座の結果生じる MLL 融合タンパク質(MLL-ELL、MLL-ENL、MLL-AF9、MLL-AF4)が SEC を *Hox*などの白血病関連遺伝子領域にリクルートし、それらの遺伝子の転写伸長を亢進することが混合型急性白血病発症の原因であることがわかつた。このことから、混合型急性白血病において、Med26 を含むメディエーター・Pol II 複合体も(Med26 と SEC の結合を介して)、白血病関連遺伝子領域にリクルートされ、それらの遺伝子の転写伸長を亢進させる可能性が考えられた。

【目的】

腫瘍発症に関連する多くの遺伝子領域で、Pol II が転写開始直後に一時停止しており、その一時停止が転写伸長因子によって解除され、遺伝子が過剰に転写されることが、腫瘍発症に関与することがわかつた。これまでの研究で、メディエーター複合体のサブユニット Med26 が、転写伸長因子複合体 SEC を腫瘍関連遺伝子領域にリクルートし、転写を促進することを発見した¹⁾。SEC は混合型急性白血病の発症に関与しており、本研究では Med26 が混合型急性白血病の発症メカニズムにどのように関与するのかについて解明する。

【方 法】

野生型の MLL を発現する細胞(REH 細胞)と MLL-SEC サブユニットの融合タンパク質を発現する混合型の急性白血病細胞(HB1119 細胞:MLL-ENL を発現、MV4-11 細胞:MLL-AF4 を発現、THP-1 細胞:MLL-AF9 を発現)を用いて ChIP(クロマチン免疫沈降)シークエンス解析を行い、Med26 を含むメディエーター・Pol II 複合体が、混合型急性白血病において、どのような遺伝子領域にリクルートされるのかについて網羅的に明らかにする。さらに、Med26 をノックダウンした場合に、メディエーター・Pol II 複合体の白血病関連遺伝子領域へのリクルートが減少し、白血病細胞の白血病化能が減少するのかに関して、骨髄系前駆細胞トランスフォーメーション解析を行い、明らかにする。

【結 果】

Med26 が混合型急性白血病の発症メカニズムに関与しているのかについて明らかにするため、野生型の MLL を発現する REH ヒト急性白血病細胞と MLL-AF4 を発現する RS4;11 ヒト急性白血病細胞を用いて ChIP(クロマチン免疫沈降)解析を行い、Med26 を含むメディエーター複合体が Pol II と共に *HoxA9*などの *Hox* 遺伝子領域にリクルートされるのかについて調べた。すると、Med26 は Pol II と共に、混合型急性白血病細胞 RS4;11において特異的に *HoxA9* 遺伝子領域にリクルートされることがわかった。さらに、REH 細胞と RS4;11 細胞を用いて、Med26 の ChIP 解析を行ったところ、Med26 は RS4;11 細胞において特異的に、*HoxA9*のみならず、*HoxA5*、*HoxA6*、*HoxA7*などのさまざまな *Hox* 遺伝子領域にリクルートされることが明らかとなった。現在、他の MLL-SEC サブユニットの融合タンパク質を発現する HB1119 細胞 (MLL-ENL を発現) や THP-1 細胞 (MLL-AF9 を発現) を用いて ChIP シークエンスを行っており、これらの細胞においても Med26 が Pol II と共に *Hox* 遺伝子領域にリクルートされるのかについて明らかにしようとしている。また、混合型急性白血病細胞で Med26 をノックダウンした場合に、その白血病化能が減少するのかに関しても、骨髓系前駆細胞トランسفォーメーション解析を行い、明らかにしたいと考えている。

【考 察】

混合型急性白血病において、転座の結果生じる MLL 融合タンパク質が、SEC を *Hox* 遺伝子領域に異常にリクルートし、*Hox* 遺伝子の発現を過剰に亢進させることが、混合型急性白血病の発症メカニズムであることがわかつていた。今回の結果によって、混合型急性白血病においては、Med26 を含むメディエーター複合体も Pol II と共に (Med26 と SECとの結合を介して) *Hox* 遺伝子領域に異常にリクルートされ、それらの発現を亢進させている可能性が示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

混合型急性白血病では、有効な治療薬が開発されておらず、治療に骨髄移植が適応される予後不良の小児性白血病である。本研究によって、Med26 が白血病発症のメカニズムに関与することが明らかになれば、Med26 と SEC(EAF)との結合を特異的に阻害する化合物を探索することで、混合型急性白血病細胞の増殖を抑制する薬剤を開発できる可能性がある。

【参考・引用文献】

1. Takahashi H, Parmely TJ, Sato S, Tomomori-Sato C, Banks CA, Kong SE, Szutorisz H, Swanson SK, Martin-Brown S, Washburn MP, Florens L, Seidel CW, Lin C, Smith ER, Shilatifard A, Conaway RC, *Conaway JW: Human Mediator Subunit MED26 Functions as a Docking Site for Transcription Elongation Factors. *Cell*, 146(1), 92-104, 2011.
2. Takahashi H, Takigawa I, Watanabe M, Anwar D, Shibata M, Tomomori-Sato C, Sato S, Ranjan A, Seidel CW, Tsukiyama T, Mizushima W, Hayashi M, Ohkawa Y, Conaway JW, Conaway RC, *Hatakeyama S.: MED26 regulates the transcription of snRNA genes through the recruitment of little elongation complex. *Nat Commun*, 6, 5941, 2015.
3. Lin C, Smith ER, Takahashi H, Lai KC, Martin-Brown S, Florens L, Washburn MP, Conaway JW, Conaway RC, Shilatifard A.: AFF4, a component of the ELL/P-TEFb elongation complex and a shared subunit of MLL chimeras, can link transcription elongation to leukemia. *Mol Cell*, 37(3), 429-437, 2010.