

ID No.	2047
研究課題名	遺伝子改変マウスを用いた造血器腫瘍発症機構の解析
研究代表者	本田 浩章(東京女子医科大学・教授)
研究組織 受入教員 研究分担者	北村 俊雄(東京大学医科学研究所・教授) 宮川 佳彦(東京女子医科大学・技術者) 岩崎 正幸(東京女子医科大学・講師) 小泉 美穂(東京女子医科大学・技術者) 世良 康如(東京女子医科大学・助教) 合山 進(東京大学医科学研究所・教授) 浅田 修平(東京女子医科大学・学振 PD)
研究報告書	
<p>我々は、造血器腫瘍の発症過程におけるエピゲノム因子ASXL1とABCトランスポーターABCG2について研究を進めている。我々はこれまで、骨髓異形成症候群で高頻度に変異を認めるASXL1の503番目のセリン残基(Serine503)がリン酸化修飾を受けること、および骨髓異形成症候群のマウスモデルにおいてABCG2が高発現していることを見出した。この共同研究では、1) Asxl1のリン酸化修飾部位であるSerine503に相当するマウスの500番目のセリン残基をアラニンに置換したノックインマウス(Asxl1 S500A KI)、および2) ABCG2のノックアウトマウス(ABCG2 KO)を作製し、造血制御及び造血器腫瘍の発症・進展におけるAsxl1リン酸化およびABCG2の生理的意義を明らかにすることを研究目的とした。</p> <p>両方のマウス共に、CRISPR/Cas9の手法を用いて作製を行った。Asxl1 S500A KIマウスについては、変異導入部位に対応するcrRNA、tracrRNA、Cas9蛋白質、およびS500Aのpoint mutationを導入したsingle strand oligonucleotideのmixtureをC57BL/6マウスの受精卵前核に注入し、KIマウスを作製した。産仔マウス11匹4匹が帝王切開後に死亡し、死亡マウスを含めた全てのマウスについてgenotypingを行ったところ、生存マウス7匹中1匹がホモKIマウス、死亡マウス4匹中3匹がヘテロのKIマウスであった。死亡マウスではKIの対立alleleにもmutationが入っており、Asxl1 KOマウスは生後すぐ死亡することが報告されているので(Omar Abdel-Wahab et al. JEM 2013)、この報告に合致した結果であり、ホモKIマウスは何らかの機序でこの生後死亡を免れたと考えられた。このホモKIマウスについて体外受精と受精卵凍結を行ない、東京大学医科学研究所の動物実験施設に送付し個体化を行なった。</p> <p>ABCG2のKOマウスについては、exon2に2つの異なるcrRNA(crRNA#1とcrRNA#3)を作製し、tracrRNA、Cas9蛋白質のmixtureをC57BL/6マウスの受精卵前核に注入し、KOマウスを作製した。crRNA#1については1匹の4塩基欠失のヘテロKOマウス、crRNA#3についてはホモKOマウス4匹(全て11塩基欠失)とヘテロKOマウス4匹(3匹が11塩基欠失 & 1塩基挿入、1匹が7塩基欠失 & 21塩基欠</p>	

失)が得られ、両者のヘテロマウスについて体外受精と受精卵凍結を行ない、東京大学医科学研究所の動物実験施設に送付し個体化を行なった。

Asxl1 S500A KIマウスに関してはマウスの繁殖が悪く、現在匹数を増やしている状態であり、詳細な解析は今後行う予定である。現時点では構成的造血には大きな異常は確認されていない。

ABCG2 KOマウスについては当初血小板増多が疑われたが、匹数を増やすと有意差が無く、構成的造血に異常はないという以前の報告を確認した。現在、変異型EZH2を導入し、MDSの発症がABCG2が無い条件で抑制されるかを検証しているところである。