

No.	24-1006	
Project Title	造血幹細胞の加齢骨髓環境への適応制御	
Principal Investigator	Satoru Miyagi (Shimane University・Professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Atsushi Iwama (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

PHF6 (Plant homeodomain like finger gene 6) は、クロマチン構造変換を介して遺伝子発現制御に関わる因子であり、骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic Syndrome; MDS)、二次性急性骨髄性白血病 (Secondary Acute Myeloid Leukemia; sAML) で機能欠失型変異が報告されている。私達は、*Phf6*欠損造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cell; HSC) はTNF α への応答性が低いため、競合的骨髄移植実験においてコントロールHSCに対して競合優位性を示すことを報告した (Miyagi et al., *Blood*, 2019; Miyagi and Iwama, *Curr. Opin. Hematol.*, 2020)。このTNF α 応答性の低下がクローン性造血やMDSの発症の一因である。

我々は、PHF6の機能制御機構を明らかにするため、生化学的解析を行いPHF6の会合分子としてPleckstrin Homology Domain Interacting Protein (PHIP) を同定した。PHIPはCullin-RING ligases複合体 (CRLc) の基質受容体である (この複合体をCRLc^{PHIP}と記載する)。2024年度より共同利用・共同研究拠点事業に採択いただき、岩間厚志教授と共同で*Phip*遺伝子の造血細胞特異的ノックアウトマウス [*Vav1-iCre; Phip^{fl/fl}* (*VC; Phip^{fl/fl}*)] の解析を進めている。

一方、白血病細胞株では、TET2のクロマチンへのリクルートがCRL4c^{DCAF1}によるモノユビキチン化によって制御される。また、クローン性造血ではPHIP遺伝子の体細胞変異が報告されている。これらの背景から「TNF α シグナルで活性化されたCRL4cによりPHF6がモノユビキチン化され、標的遺伝子座にリクルートされる」とのモデルを構築した。

【2025年度】

(I) モデルの検証

PHIPがPHF6のリクルートに関与するか検討するため、*in vitro*で増幅した*Phip^{+/+}*と*Phip^{Δ/Δ}*HSCを用いてPHF6のChIPシーケンスを行い、*Phip^{Δ/Δ}*HSCで著減するPHF6結合領域を同定した。現在、*Phip*欠損に伴うPHF6結合領域の変化と遺伝子発現変動、および*Phip^{Δ/Δ}*HSC表現型との関連性を検討中である。

(II) CRL4c^{PHIP}の造血組織における役割

これまでに、*VC; Phip^{fl/fl}*が*VC; Phf6^{fl/fl}*と同様に、進行性の血小板減少、HSC増幅とそれに伴う脾腫を呈することを見出している。昨年度に引き続き、HSCの骨髄再構築能を競合的移植実験により解析した。この結果、*Phip^{Δ/Δ}*HSCは一次移植では明らかな表現型を示さないものの、連続移植に伴いキメリズムの著しい上昇が観察された。従って、*Phf6^{Δ/Δ}*HSCと同様に、*Phip^{Δ/Δ}*HSCは造血ストレス下で競合優位性を示す。さらに、RNAシーケンス解析から、*Phip^{Δ/Δ}*HSCと*Phf6^{Δ/Δ}*HSCが酷似した遺伝子発現変動を示すこと、加齢遺伝子群や炎症関連遺伝子群の発現が低下することを見出した。

以上の結果は、PHF6とPHIPが同一経路で機能することを示しており、CRLc^{PHIP}がPHF6の機能性制御に関わることを強く示唆する結果である。しかし、PHIPによるPHF6の標的遺伝子座へのリクルートにCRLc^{PHIP}の酵素活性 (PHF6のユビキチン化) が関与するかは不明である。今後、PHIPの分子解析やPHF6のユビキチン化部位の同定を通じて、CRLc^{PHIP}によるPHF6の制御機構を明らかにする。

