

最新・血液内科シリーズ / vol. 5

FUTURE

【監修】自治医科大学学長 高久史磨



白血病の分子病態研究 師の教えを胸に刻み、最善を尽くす

私は、東京大学を卒業後、母校の第三内科に入局した。

不治の病であった白血病が移植によって治癒するのを目の当たりにし、迷うことなく血液学をやろうと決心した。

日本の血液学をリードするグループで、厳しくもあたたかい師に守られ、心置きなく血液学に没頭することができた。

染色体研究から始まった私の歩みは、白血病発症機構の解明を経て、分子標的療法の開発へと向かっている。

「自分の置かれた環境で最善を尽くしなさい」。

若い頃に高久史磨先生からいただいた言葉の意味を、

獨協医科大学で10年間教授を務めた今、ようやく実感することができた。

これからも師の教えを大切に、与えられた機会を精一杯生かしていきたい。

獨協医科大学内科学(血液・腫瘍)教授

三谷 絹子

Profile

1958 (昭和33) 年、新潟県に生まれる
1984年 3月 東京大学医学部卒業
1984年 6月 東京大学医学部内科研修医
1986年 6月 東京大学医学部第三内科医員
1989年 2月 米国ロックフェラー大学客員研究員
1991年 5月 東京大学医学部第三内科医員
1993年 7月 東京大学医学部第三内科助手
1998年 5月 東京大学医学部血液・腫瘍内科助手
2000年 4月 獨協医科大学内科学(血液)教授
2010年 4月 獨協医科大学内科学(血液・腫瘍)教授

【賞】

1994年10月 日本癌学会奨励賞受賞
1995年11月 日本医師会奨励賞受賞
1995年12月 ベルツ賞受賞
1998年 4月 東京大学医師会医学賞

【学会活動】

日本血液学会(理事)、日本癌学会(評議員)、日本内科学会、
日本臨床腫瘍学会、日本臨床分子医学会(評議員)、
日本造血細胞移植学会、日本輸血・細胞治療学会、日本免疫学会、
American Society of Hematology (Member)、
European Hematology Association (Member)

【研究費】

平成16年～平成18年
厚生労働省 難治性疾患克服研究事業 重点研究「骨髄異形成症候群に
対する画期的治療法の開発に関する研究」主任研究者
平成19年～平成21年
厚生労働省 難治性疾患克服研究事業 重点研究「骨髄異形成症候群に
対する病態解明・治療法の開発に関する研究」主任研究者

Kinuko Mitani

三谷 絹子

獨協医科大学内科学(血液・腫瘍)教授

科大学病院



師から贈られた「努力」の文字。 臨床に、研究に最善を尽くしたい



三谷 絹子

獨協医科大学 内科学(血液・腫瘍) 教授

高久史磨先生は、わが国の医学界において、長年にわたりリーダーとして類まれなる貢献をされ、今なお、その叡智は輝きを放っている。現在、数少ない女性教授として活躍される三谷絹子先生が東大第三内科に入局された当時、高久先生率いる医局は、まさに血液学王道の時代を迎えていた。伝統ある医局の歩みを振り返る中で、医師として、人として、リーダーとしてのあり方が見えてくる。

血液学王道の時代に、高久教授率いる東大第三内科に入局

高久 三谷先生は1984年に東京大学を卒業され、1986年に東大第三内科に入局されました。私が、自治医大から東大に戻ったのが1982年ですから、ちょうど同じ頃ですね。

三谷 高久先生が自治医大教授から東大第三内科教授に転任されたころ、私は学部の5年生でした。おそらく、先生が東大に戻られ講義を担当された最初の学年だと思います。黒板に書かれた「high dose Ara-C」の文字を今でも鮮明に覚えています。

高久 第三内科を選ばれたのは、どうしてですか。

三谷 雰囲気明るくて楽しそうだったからだと思います。ただ、学生時代には血液学は難しい学問だなあと、特に魅力を感じていただけではありませんでした。

ところが、第三内科で1期目の研修を受けることになり、病棟に出て驚きました。教科書で血液学を学ぶのと、実際に病棟で患者さんを診るのとでは、全く印象が違っていただけです。

高久 そうでしょうね。

三谷 ちょうど先生が、東大で骨髄移植を開始された頃です。私は、不治の病であった白血病が移植によって治癒す

るのを目の当たりにし、大変衝撃を受けました。迷う余地もなく、研修1か月目には血液学をやろうと決めていました。

先輩の先生方が、寝ずの番をして患者さんを診ていらした様子が非常に印象的でした。ぜひ、私も血液の臨床をやりたいと思ったのです。当時は、研究をするつもりはありませんでした。

高久 研修医の頃は皆、そうでしょう。指導医はどなたでしたか。

三谷 多くの先生にご指導を受けましたが、浦部晶夫先生（現NTT関東病院予防医学センター所長）にいろいろと面倒をみていただきました。

高久 私の指導医は衣笠恵士先生でした。当時、冲中内科に入って血液学をやろうと思ったきっかけは、衣笠先生からのお誘いでした。それまで私を勧誘してくれたのは眼科だけでしたので、最初はそちらに行くつもりでした。衣笠先生から「中尾先生はいい方だし、血液をやろうよ」と誘っていただき、冲中内科に入れていただきました。

当時の冲中内科は神経、循環器、内分泌代謝が主流でした。助教授の中尾喜久先生の血液グループ、講師の三好和夫先生の血液グループがありましたが、血液はどちらかというと亜流でした。

三谷 私は浦部先生にお誘いいただいて血液学の道に入りましたが、高久先生が教授でいらっしゃいましたので、もう血液学は第三内科の王道であった時代です。血液学が亜流であった時代があったというのは、想像がつかないのですが。

高久 あの頃は、第三内科が神経・循環器・内分泌代謝に力を入れ、第一内科は消化器と肝臓、第二内科は循環器が強かったです。血液疾患の患者さんがそれほど多くないことに加え、血液学をやる人が第一内科から第三内科まで、少しずつ分散していたことが、マイノリティであった一因ではなかったかと思います。



高久史磨

自治医科大学 学長

若き高久教授の英断——古い制度を改め、分子生物学的手法を血液学へ

三谷 第三内科では当時、学会前になると教授の前で学会予行を行うのが慣例でした。高久先生が医局のいちばん奥の定位置に座られ、医局員全員が注視する中で学会発表の予行を行います。それはもう、非常に厳しい雰囲気の中で行われていました。

私がある時、Ph染色体陽性のリンパ腫について発表させていただいたところ、高久先生が「それは慢性骨髄性白血病 (CML) じゃないの」とおっしゃったのです。「骨髄細胞が全部正常核型で、脾臓の腫瘍細胞だけがPh染色体を持っていたので…」と必死にご説明したのをよく覚えています(笑)。

高久 学会予行は学会発表の練習になり、非常に重要な機会です。三谷先生は、初めは染色体を研究されていたね。

三谷 当時、自治医大にいらした佐藤裕子先生(現国立国際医療センター)に3か月間手ほどきを受けた後、六研(当時の東大第三内科の血液グループの研究室)で1人、細々と染色体の写真をとり、核板の切り貼りをしていました。あの頃、研究室にある顕微鏡は1台のみで、臨床の塗抹標本がくると先輩に顕微鏡を譲る毎日でした。その合間をぬって写真を撮り、現像して切り貼りをし、ささやかな成果をまとめました。

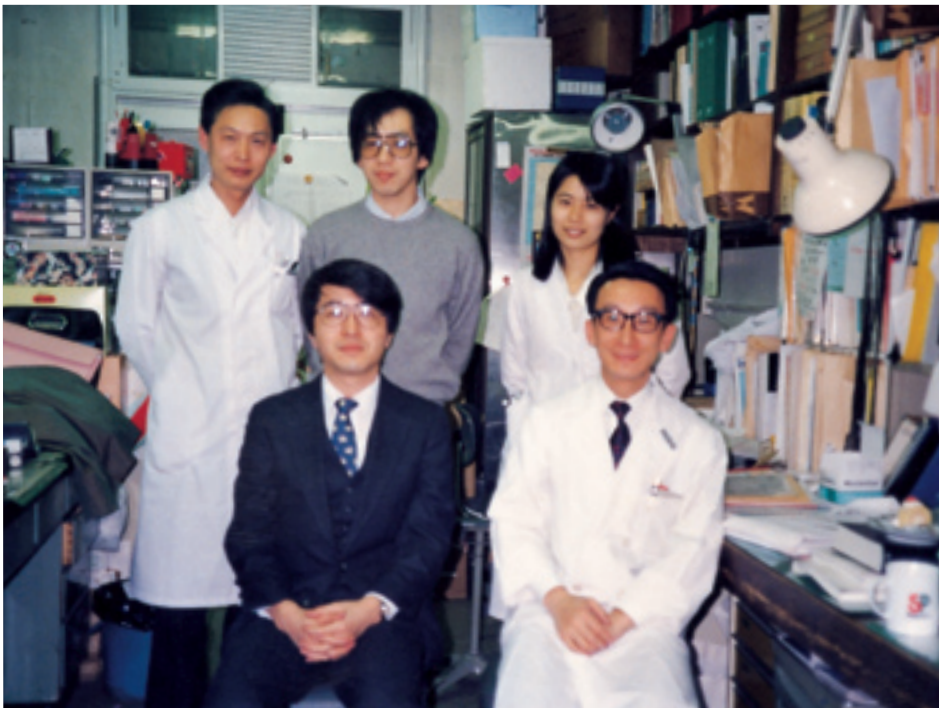
その頃、脾臓原発の悪性リンパ腫の症例からPh染色体を見つけました。染色体の核板を分析するだけではなく、in situ hybridization の手法を使って切断点がCMLタイプではなく、急性リンパ性白血病 (ALL) タイプであることを見つけました。患者さんを診ながら新しいことを見つけていくのが、とても楽しかったです。

結局、論文は「BLOOD」はだめで、「British Journal of Haematology」に掲載されました。

高久 それはすごい。その頃先生はまだ、研究を始めて間もない頃ですね。ところで、その後、留学され、生化学の仕事をされましたね。

三谷 ロックフェラー大学にいらした第三内科の先輩・故佐々茂先生の下に2年間留学させていただきました。研究の内容は、ヘムオキシゲナーゼのストレスに伴う発現誘導をmRNAレベルで解析するというもので、主に用いたのは分子生物学的手法でした。

ロックフェラー大学で過ごした期間は、私の研究歴の中で異色の2年間です。私は白血病の染色体異常を研究し、染色体の転座切断点から白血病の原因遺伝子をクローニン



東京大学第三内科第六研究室にて(1988年頃)

高久先生時代の血液グループの研究室。三谷先生(後列右)は「浦部先生のご指導の下、楽しい研究室でした」と当時を振り返る。浦部晶夫先生(前列右)、白杵憲祐先生(前列左)、東條有伸先生(後列中央)。



東京大学第三内科第六研究室同窓会にて(1988年) 当時、年に1回開かれていた同窓会。高久史麿先生(2列目中央)、前川正先生(高久先生左隣)、溝口秀昭先生(3列目中央)らの大先輩とともに。前列左から6人目が三谷先生。

がし、その機能を解析することによって白血病の発症機構を明らかにする仕事をライフワークにしています。佐々先生の下では、赤血球のヘモグロビンの合成・代謝にかかわる酵素群のストレス誘導に関する仕事を行いました。よいテーマをいただき、熱心なご指導を受け、いくつもの論文をまとめました。

高久 その後、東大に戻り、平井久丸先生(故人・前東京大学大学院血液・腫瘍内科教授)の研究室で成果を挙げられましたね。

私が自治医大から東大に戻った当時、大学紛争の影響もあってか、関西の大学に比べて関東の大学は勢いがありませんでした。私はその状況を何とかしたいと思いました。その頃、すでに分子生物学の研究が盛んになっており、基礎研究では分子生物学的手法が取り入れられていました。

私は、細胞を取りやすい血液学は、分子生物学的手法を導入するのに最適だと考えました。すでに平井先生が栄養学教室で癌遺伝子の研究をしておられましたので、第三内科の神経グループの部屋であった八研をP3の研究室にし、

平井先生に研究室主任になってもらいました。八研を作るにあたっては、それまで第三内科にあった助手の選挙制度を改めました。選挙とは名ばかりで、極めて保守的な制度でした。医局員の名簿順に皆、助手になるのです。助手が必要以上に多い研究室もあれば、助手がいない研究室もある。加えて他大学の人には、機会が閉ざされていました。

「僕が教授を辞めるか、助手の選挙制度をやめるか」と医局長に談判し、結局、講師以上の3人で助手を選ぶことになりました。それで、平井先生を助手にして八

「British Journal of Haematology」に掲載された論文
佐藤裕子先生のご指導による三谷先生の最初の論文。脾臓原発の悪性リンパ腫にPh染色体を見つけた。





佐々茂先生の研究室があった
ロックフェラー大学構内の建物
四季の花々が咲き乱れる
美しいキャンパス。
写真はチューリップの季節。
佐々研は当時5階にあった。



ロックフェラー大学の
門の前で(1991年)
佐々研で三谷先生を指導された
藤田博美先生(現北海道大学教授)
とともに。



ロックフェラー大学を去る日に
佐々研テクニシャンのLubaさんと、三谷先生の部屋
のネーム・プレートの前で記念撮影。プレートは今でも
大事に保管されている。



Molecular Biology of Hematopoiesis会議
(インスブルック)にて(1990年)
晩餐会の折、佐々茂先生(後列左)と三谷先生(前列
左)、高久先生ご夫妻。

研ができたのです。

三谷 平井先生はまだお若くて、大抜擢でした。

高久 私も、あの頃、51歳でしたのでバイタリティがありました。その後、様々な大学出身の先生が入ってきて、だんだんバランスがとれてきました。八研には若い人が集まるようになり、白血病の癌遺伝子、特にN-rasの変異を中心とした仕事が出るようになりました。病院内の内科の研究室にP3の施設を作ったのは、東大第三内科が初めてだったと思います。

ちょうどその頃、癌学会総会の前癌状態のシンポジウムで何か話をしてくれないかということになりました。当時、骨髄異形成症候群(MDS)の中で急性白血病になる患者が少なくないことから、MDSは前白血病状態ではないかと考えられていました。

そこで私は、急性骨髄性白血病細胞で見られるN-rasの点突然変異がMDSでも見つかるのではないかと、平井先生に相談しました。予想通り、N-rasの点突然変異が一部のMDS症例で見つかりました。



癌学会総会の前癌状態のシンポジウムで発表すると、当時九州大学におられた関口睦夫教授が、立ち上がって激賞されたことを思い出します。前癌状態の時に癌遺伝子の変異があることを示した、最も初期の仕事であると自負しています。この仕事は、平井先生がfirst authorで「Nature」に掲載されました。

平井研での出世作“AML1-EV11”。 キメラ遺伝子のクローニングと機能解析

三谷 その後、平井先生はUCSFに留学され、帰国後は東大の血液グループの指導者になりました。

高久 ちょうど、その頃、三谷先生がロックフェラー大学から戻られました。

三谷 留学中の2年間は染色体研究から遠ざかっていましたが、平井先生から「日本に帰って、ぜひ、染色体の仕事を発展させてください」と言っていたので、東大に戻りました。

高久 三谷先生は平井先生の下で、有名なAML1-EV11の仕事をされましたね。

三谷 当時、埼玉がんセンターにおられた大木操先生のグ

ループがt(8;21)転座型白血球の転座切断点にある遺伝子をクローニングされ、AML1と名づけていました。

私は自験例のCMLの急性転化に伴って現れたt(3;21)転座で、AML1とEV11が融合遺伝子を形成することを明らかにし、1994年に「EMBO Journal」に発表しました。これが私の出世作となりました。

高久 東大の血液グループは当時、日本の血液学をリードしていました。平井先生の下、三谷先生をはじめ、田中智之先生(現英国Dundee大学)や黒川峰夫先生(現東京大学大学院血液・腫瘍内科教授)が分子生物学的解析を進展させました。

三谷 平井先生は本当にお忙しい中、cDNAライブラリーを作成し遺伝子をクローニングするステップを1つ1つご指導くださいました。AML1-EV11をクローニングした後、黒川先生をはじめ、優秀な後輩たちが機能解析の仕事を発展させてくれました。私はAML1-EV11以外にもMLL-MEN(ENL)のクローニングにも成功しています。この機能解析の仕事も同様に、平井研の重要なプロジェクトになりました。



浦部晶夫先生とともに(1991年) 三谷先生が留学から帰国された年、京都での日本血液学会の折の桜巡り。三谷先生いわく「いちばんのんびりしていた時期」。

The EMBO Journal vol. 13 no. 3 pp.504-510, 1994

Generation of the AML1-EV11 fusion gene in the t(3;21)(q26;q22) causes blastic crisis in chronic myeloid leukemia

Kiyoko Mizutani, Seishi Ogawa, Tomoyuki Tanaka, Hayashi Miyoshi, Masao Kuratsune, Hayashi Masuo, Yoshio Yasui, Masao Ono* and Hiromasa Hagiwara*

Unit Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo 113 and *Department of Hematology and Oncology, Saitama Cancer Center Research Institute, Saitama 332, Japan

Communicated by K. Akita

Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal disorder of pluripotent hematopoietic stem cells usually with a specific chromosomal abnormality. In the late phase of CML, the blast phase is characterized by acceleration of the disease and ultimately by an acute blastic crisis phase characterized by cellular proliferation, maturation arrest and karyotypic clonal evolution (Alizadeh et al., 1985). A reciprocal translocation, t(9;22)(q34;q11), in the hallmark of the chronic phase of CML, involves 3571 and generates the BCR-ABL fusion gene (Rowley et al., 1981) which encodes a protein with an imbalanced tyrosine kinase activity (Koprowski et al., 1984) directly responsible for its *in vivo* transforming potential (Druet et al., 1990). However, the blastic crisis usually leading to blastic crisis of CML have the most characteristic chromosomal alterations of t(3;21) involving rearrangement, deletion or gene mutation, have been reported in ~30% of CML patients in blast phase (Mason et al., 1991; Pileri et al., 1991; Pileri et al., 1992). It is known that additional chromosomal alterations in the t(3;21) translocation, such as t(4;19), t(9;19) or t(8;21), appear to be associated with the development of CML (Akizuki et al., 1987). The t(3;21)(q26;q22) translocation is one of these additional chromosomal abnormalities and ~20% have been reported so far (Schachner et al., 1991). It is not frequently observed in blast phase of CML, and as a reciprocal translocation (Bhatia et al., 1989; Ceylan and Nishida, 1989) that is unique because of other additional chromosomal changes are mostly trisomy or tetrasomy. Because this translocation is associated with the blast phase of CML (Akizuki et al., 1987; Ceylan and Nishida, 1989), it could play a causative role in blastic crisis, would be limited to a small percentage of CML.

The t(3;21) translocation is observed not only in a very small number of CML patients (Akizuki et al., 1987) but also in acute myeloid leukemia (Bhatia et al., 1989). In a very recent study about acute myeloid leukemia, the t(3;21) translocation (Bhatia et al., 1990), the appearance of this chromosomal alteration was shown to be a key event when hematological disorders arising from hematopoietic stem cells transform to the acute blastic phase (Chen et al., 1991). Thus the molecular characterization of the t(3;21) translocation should provide useful insight into the mechanism of transformation of pluripotent stem cell disorders.

We report here the isolation of AML1-EV11 fusion cDNA from a human leukemic cell line (SKH1) carrying the t(3;21) translocation. Structural analysis reveals that AML1-EV11 fusion protein is a chimeric transcription factor including a yeast leucine zipper domain (Chen et al., 1992) from the AML1 (Miyoshi et al., 1991) and the zinc finger domain and an acidic domain from EV11 (Miyoshi et al., 1990a). PCR analysis with cDNA from leukemic cells from three patients with t(3;21) translocation showed the identical AML1-EV11 mRNA junction. We propose that the AML1-EV11 fusion protein could trigger blastic crisis in CML, showing the t(3;21) translocation.

Results

Identification of the AML1 gene for the t(3;21) translocation

To characterize the breakpoints of the t(3;21) translocation, we performed pulsed field gel electrophoresis on leukemic cells from a patient with blastic crisis of CML carrying the t(3;21) translocation in addition to the Ph translocation (patient 1), and screened for rearrangements with a number of DNA probes assigned on chromosomes 3q19 or 21q22. Among them, rearranged bands were detected for Bcl2 (508 kb) and SH2 (220 kb) with an AML1 DNA probe (CMF62) (data not shown). The AML1 gene is located at chromosome band 21q22 and is known to be rearranged by the t(3;21) translocation (Miyoshi et al., 1991). Because the chromosomal band for SH2 was 100 kb, the breakpoint on chromosome 21 of the t(3;21) translocation should have been within 100 kb from the cDNA probe. To identify the breakpoint precisely, Southern analysis was performed on leukemic cells from two cases (patient 1 and patient 2) of t(3;21) carrying blastic crisis of CML. After BamHI digestion, the AML1 cDNA probe hybridized to two fragments (region 1) and 17 kb in patient 1, respectively, were detected in both cases (Figure 1). Therefore, the rearrangement of the AML1 gene was identified at 17 kb from the SH2 gene. The SH2 gene was identical to the corresponding region of the t(3;21) translocation (Miyoshi et al., 1991). These data suggest that the AML1 gene of the leukemic cells was rearranged by the t(3;21) translocation.

Isolation of the AML1-EV11 fusion cDNA

We established a human leukemic cell line (SKH1) from patient 1 and constructed a cDNA library from poly(A)⁺ mRNA of SKH1 cells to investigate the possibility of fusion cDNA between the AML1 gene and other genes. Subsequent screening of 1.2 x 10⁶ recombinant phages of the library with the AML1 probe revealed the isolation of 10 recombinant clones, containing normal AML1 cDNA sequences only in three clones. Two of them were partially complementary cDNAs of 6.0 kb, bearing the 5' non-coding and following coding sequences of AML1. A sequence difference from AML1 and poly(A) tails. The restriction map of these two cDNAs (clones 4 and 10) was identical (data not shown). The complete nucleotide sequence of clone 4 cDNA, encoded by 2977 nucleotides and contains a single open ORF.



AML1とEV11が融合遺伝子を形成することを明らかにした論文。平井久丸先生ご指導の下、1年がかりでまとめられた。染色体研究が分子生物学研究に発展した三谷先生の出世作。



ベルツ賞銀賞メダル(1995年) 三谷先生は「白血病の遺伝子診断と遺伝子治療」で第32回ベルツ賞を受賞された。



ベルツ賞受賞式後のパーティー会場にて(1995年) 共同受賞の平井久丸先生(中央)、田中智之先生(中央左)、小川誠司先生(左端)、平野直人先生(右端)とともに。

リーダーには4つのタイプがある。 医師に求められるリーダー像とは？

高久 東大の血液グループからは、たくさんいい論文が出ました。

三谷 平井先生は、人を育てることを大事にされていました。弟子たちを次々と血液学会のシンポジウムに送り出しては、「武士にかみしもを着せて送り出すのが僕の仕事だから」とおっしゃっていました。細胞遺伝学・分子生物学分野の研究のみならず、移植療法や免疫療法の専門家もたくさん世に送り出されました。平井先生は非常に幅広い分野でご活躍でしたが、指導者として、その1つ1つに全て自分で目を通していらっしゃいました。

高久 私は、リーダーには4つのタイプがあると考えています。1つ目は先頭を切って引っ張っていくタイプ。2つ目は皆の意見をまとめ、皆に持ち上げられて先頭に立つタイプ。3番目は何もしないタイプ。4番目は下の者の足を引っ張るタイプ(笑)。

当時、平井先生は若く、まさに1番目のタイプのリーダーですね。私は41歳の時に初めて教授になり、60歳まで務めました。40歳代から50歳代の半ばまではやはり1番目のタイプでした。60歳を過ぎてからは2番目のタイプです。今はだんだん、3番目のタイプに近づいているかな(笑)。

医師はチーム医療のリーダーですから1番目、せめて2番目のタイプであってほしいものです。

三谷 平井先生はどんなに忙しくても、毎週1人1人の研究者とミーティングを行い、研究の進捗状況をチェックされ、意見を述べておられました。私も平井先生を見習いたいと思っているのですが、若い研究者が少なく、なかなか思うようにいきません。

高久 あの頃は研修医が皆、大学に残りましたから。今は



東京大学第三内科第六研究室にて(1996年頃) 厳しく活気のある六研で、平井久丸先生(前列中央)と三谷先生(後列中央)、神田善伸先生(前列右)、山形哲也先生(後列左)、そのほか秘書・実験助手の方々。



大学も大変です。

三谷 東大時代に白血病の発症機構解明を目的として分子生物学的解析を始め、獨協に異動してからも、その仕事を継続しました。マウスを使って発生工学的にキメラ遺伝子が白血病を起こすことを証明することができました。このことは私にとって、とても感慨深いことです。

白血病の発症機構が分子生物学的に解明されてきたから、これからは分子標的療法の開発ができればと思います。

高久 そこまでいくとすごいですね。

高久先生は医局員の憧れの“パーパ”。大きく皆を包み込む理想の教授像

高久 私は東大に赴任した時、何かやろうと、学生たちと「The New England Journal of Medicine」のcase reportを使ったディスカッションを始めました。取り上げる論文を1人だけがあらかじめ全部読んでおき、論文の最初の部分だけをコピーして出席者に配ります。そこから先は、皆で内容を推論していきます。毎回、大変面白い議論が繰り広げられました。

三谷 先生が始められた学生さんたちとの勉強会は、平井先生が引き継がれました。私も平井先生の代理で何回か出席させていただきましたが、大変緊張したのを覚えています。“当てもの”ですから、はずれたらどうしようかと(笑)。

臨床カンファレンスも盛んに行われていました。高久先生ご在任中の第三内科のカンファレンスには速記者が来て記録を取り、医局員の発言内容をすべて記載して本にしました。本当に歴史と伝統を感じさせられました。

高久 私が東大教授になった時、衣笠先生は「高久君がこんなに偉くなるとは思わなかった」とおっしゃいましたが、私自身も“できすぎ”だと思いました。これからは自分のことはもういい、若い人を育てようと思いました。これまでは自分自身のことで評価されてきましたが、これからはいかに人を育てるかで評価される。それが、自分のいちばん重要な役目だ

とずっと、そう思ってきました。今でも、そう思っています。

それから、東大に限らず、他大学の優秀な人をサポートしたいと考えていました。ある時、血液学会で若い人の発表に対して、古手の教授がおかしな質問をしました。せっかく若い人が一生懸命仕事をしているのに、ケチをつけるような質問でした。私は「それはおかしい」と反論し、後からその人の上の教授に「あの時は助けられた」と感謝されました。

三谷 高久先生は細かいことはおっしゃらず、医局員を叱ったりもなさらず、ただ皆が頑張っていくのをさりげなくサポートしてくださる教授でした。医局員は皆、高久先生の期待にこたえるべく頑張り、現在多くの方が様々な分野で活躍されています。

高久 正月には毎年、たくさんの方が自宅に遊びに来てくれました。

三谷 私も毎年、伺わせていただきました。奥様もご一緒にいろいろなお話をさせていただき、高久先生のお人柄そのもの、それは和やかな会でした。当時は私も若すぎてよくわからなかったのですが、高久先生は本当に若い人に配慮され、大事に育てていこうとされていました。そのお姿が今、改めて思い出されます。

ローマ法王のことをイタリア語で“パーパ”と言いますが、



高久史磨先生とともに(1999年頃) 日本血液学会の懇親会にて。三谷先生いわく「尊敬する恩師はいつもにこやか」。

高久先生はまさに私たち医局員のパーパでした。仰ぎ見るシンボルであり、憧れでした。私は若く、雲の上の人である高久先生と直接お話することもあまりなかったのですが、いつも高久先生に守っていただいているという安心感がありました。当時の医局員は皆同じように感じていたと思いますし、だから、心置きなく頑張れたのだと思います。

高久先生は大局を見て皆を引っ張っていかれる理想の教授でした。私などは本当にまだまだです。

高久先生の教え、“努力”の文字を胸に、与えられた環境で最善を尽くしたい

高久 血液学で女性の教授は、三谷先生お1人ですか。

三谷 東京女子医大に泉二登志子先生、埼玉医科大学国際医療センターに新津望先生がいらっしゃいます。日本はまだ、女性の教授が少ないですね。

高久 少ないですね。教授だけでなく、女性の医師もまだ少ないですね。

三谷 若い女性医師はたくさんいるのですが、最後まで続けられる人が少ないですね。ぜひ先生、国家レベルでも女性医師をサポートしていただきたいです。



高久先生から贈られた「努力」の皿
高久先生が東大退官時に、医局員ひとりひとりに贈られた。同じものは2枚とない直筆の益子焼の皿である。

高久 今度、国会議員に訴えましょう。そうは言っても、やはり人間は自分の置かれた条件の中で最善を尽くすことが大切です。

三谷 若い頃から高久先生は「自分の置かれた環境で最善を尽くしなさい」とおっしゃっていました。私は、若い頃はそのお言葉が十分に理解できませんでしたが、こうして10年間、獨協医科大学で教授を務めさせていただき、その意味が実感できました。

私に与えられたチャンス、それは自分1人で得たものではありません。皆様のご支援の賜物ですし、できるだけことをやっていくのが大切だと感じています。

東大では年に数えるほどだった新患の白血病の患者さん



柴田昭先生(新潟大学名誉教授)を囲む会(2004年)
東北地方にゆかりのある先生方の集い。柴田昭先生(前列中央)、佐々茂先生(前列左)、森真由美先生(前列右)、千葉滋先生(後列左)、押味和夫先生(後列右)。ちなみに、三谷先生は「東北地方とは無関係」とのこと。



獨協医科大学血液内科の病棟(新棟8階)(2009年)
回診は、和気あいあいの雰囲気。左端は医局長の仲村祐子先生。



対談を終えて 高久先生は、医局員憧れの“パーパ”——三谷先生の言葉通り、今も高久先生は皆が仰ぎ見る存在である。時を越え、脈々と流れる師弟の系譜の尊さ、伝えられるものの重さが、改めて浮き彫りとなったひとときであった。

が、獨協医大病院にはたくさん来られます。この臨床経験を生かして、臨床試験を組んだり、あるいは患者さんからいただいた貴重な検体を解析したりして、直接臨床に還元できる仕事をしていこうと考えています。

高久 それはいいですね。あまり無理をする必要はないけれど、努力もしなければなりません。

三谷 高久先生は東大教授を退官される時、医局員1人1人に“努力”と書かれた益子焼のお皿をいただきました。

高久 1枚1枚自分で書きましたので、全部文字が違います。

三谷 私自身は努力のみによって生きているような人間ですが、最近の若い方は努力はあまり好きではないようですね。

高久 自分が最善を尽くすと必ず、それを周りの人が見えています。評価は周りの人が下すわけですから、常に最善を尽くすことが大切です。

私は、卒業式で学生にいつもこう話します。我々医者の世界は狭く、努力すれば必ず誰かが見えていて、評価してくれる。努力をすることが大切ですと。

三谷 おっしゃるとおりだと思います。私もこれから高久先生からいただいた“努力”の文字を改めて胸に刻み、歩んで参りたいと思います。高久先生、平井先生のお教を大切に、与えられた機会を精一杯生かしてまいります。

先生、今日はお忙しい中、いろいろとお話をさせていただき、ありがとうございました。

高久史磨

1931年 (昭和6年)、釜山に生まれる
 1954年 東京大学医学部卒業
 1955年 東京大学医学部附属病院冲中内科入局
 1958年 群馬大学医学部助手
 1960年 東京大学医学部助手 (冲中内科)
 1962年 米国・シカゴ大学へ留学 (~1963年)
 1972年 自治医科大学内科教授
 1982年 東京大学第三内科教授
 1987年 東京大学医科学研究所教授を兼任
 1988年 東京大学医学部長
 1990年 国立病院医療センター院長
 1993年 国立国際医療センター総長
 1996年 自治医科大学学長

染色体研究から始まった 白血病の分子病態研究

三谷 絹子

獨協医科大学内科学(血液・腫瘍)
教授



「人と違うことやりたい」と 染色体研究を選択

私は、東京大学医学部を卒業後2年間の研修を終え、1986年(昭和61年)に母校の第三内科に入局させていただきました。当時の教授は高久史磨先生(現自治医科大学学長)、血液グループの研究室(第6研究室)のハウプトは浦部晶夫先生(現NTT東日本関東病院予防医学センター所長)でいらした。

研究室に入ると研究テーマを決めることになる。当時の血液学では造血研究が花盛りであり(第8研究室で独自の遺伝子研究を展開されていた平井久丸先生は別として)、研究室の先

輩方はほとんど皆造血コロニー・アッセイを用いて研究を行っていた時代である。浦部先生が「コロニー」「染色体」と紙に書いてくださり、好きなほうを選んでよいとおっしゃった。

私は「人と違うことやりたい」と高邁なことを考え(男性と同じ土俵で勝負するのは難しいかもしれないと思ってもあった)、染色体の研究を選択した。その際に、初めてJ. D. Rowley先生の名前も知った。Rowley先生は今でも現役の細胞遺伝学者で(現シカゴ大学教授、80歳くらいであると思う)、フィラデルフィア染色体がt(9;22)転座の結果形成されることを初めて報告された先生である。その科学者としての洞察力・エネルギーには頭が下

がる。

佐藤裕子先生に技術を学び、 核板を切り貼りする日々

染色体研究を選択することに、高久先生にも賛成をしていただいた。「佐藤裕子先生(当時自治医科大学血液学講師、現在は国立国際医療センター研究所室長)みたいになれるといいね」というお言葉とともに、私はまず自治医大の佐藤裕子先生の下に染色体分析を習いに伺った。お忙しい時間の中染色体の並べ方からご指導いただき、また、各種の分染法・in situ hybridization(当時はトリチウムラベル)の技術を伝授していただいた。

東大の研究室に戻ってからは、日々症例の核板を切り貼りして過ごしたが、その中で、脾臓原発のB細胞リンパ腫の腫瘍細胞よりフィラデルフィア染色体を見つけ、in situ hybridizationによりBCR遺伝子の切断点がminor bcrに存在することを明らかにした。

2年間でこれらのわずかな成果を残し、1989年(平成元年)から2年間米国のロックフェラー大学に留学し、佐々茂先生のご指導の下「ヘム・オキシゲナーゼのストレス誘導」に関する仕事

を行った。マンハッタンでの留学期間はとても楽しかったが、この留学期間のみが私の研究者としての経歴の中で異色の2年間となった。

RUNX1/EV11 遺伝子のクローニングに成功

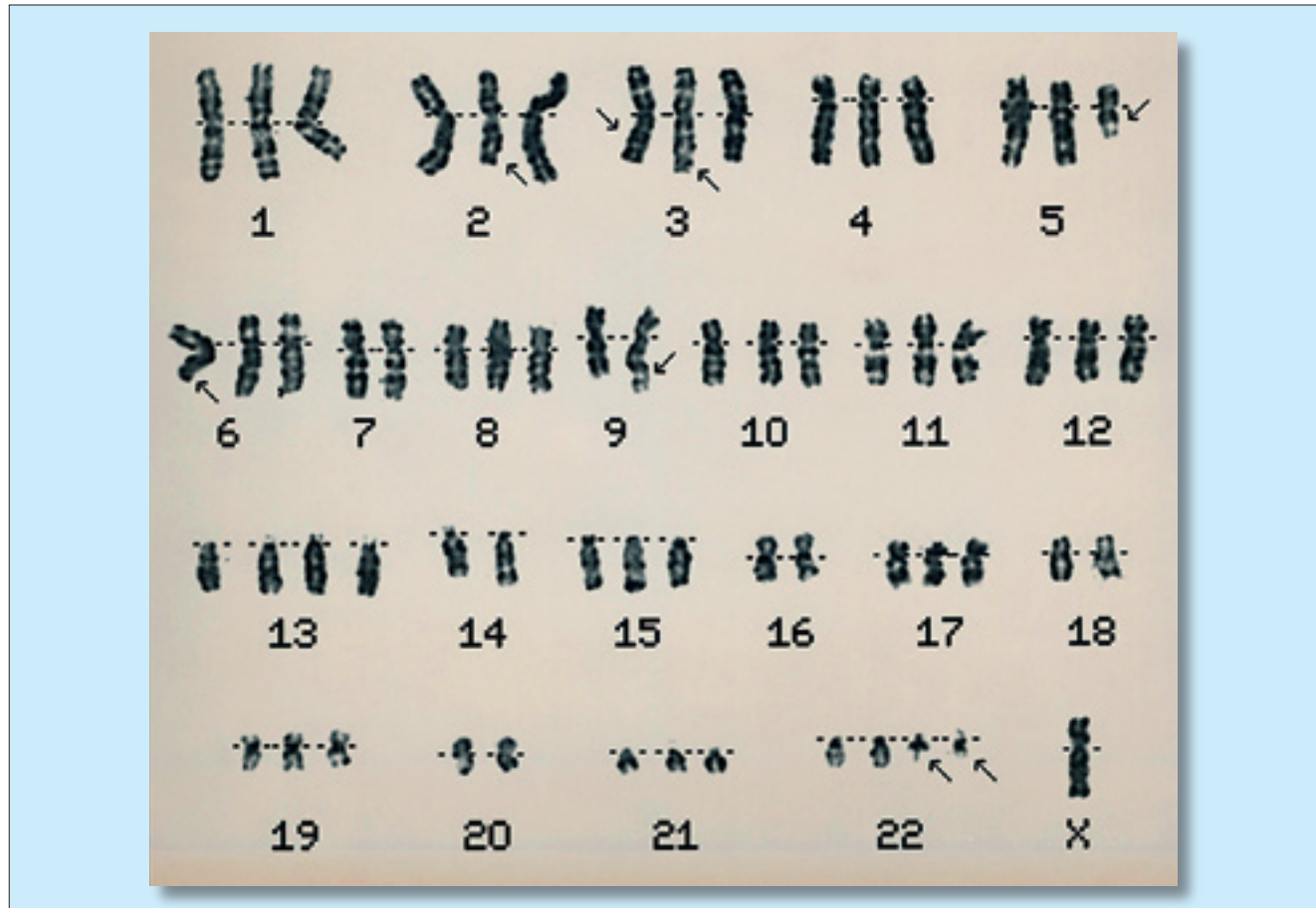
1991年(平成3年)に帰国して、母校に戻った。教授は矢崎義雄先生に替わられており、血液グループはUCSFから戻られた平井久丸先生が率いていらした。染色体研究から分子生物学研究に、時代は大きく流れて

いることを強く感じた。

しばらくは日々核板をにらみ、面白そうな異常を見つけると、高分子DNAのゲルブロックを作製してpulsed-field gel electrophoresisを流す日々が続いた。そう簡単にはうまくいかない。染色体の転座切断点にアプローチできる日は、遠い先のように思われた。

そんなある日、慢性骨髄性白血病の巨核芽球性急性転化の症例より、t(3;21)(q26;q22)という興味深い付加的異常を見つけた(図1)。21番染

図1 付加的染色体異常t(3;21)(q26;q22)を保有する慢性骨髄性白血病急性転化症例より樹立した白血病細胞株SKH-1の核型



t(3;21)の結果、3番と21番の派生染色体、der(3)とder(21)が形成される。本細胞株では、der(21)が欠落している。白血病発症に重要なのは、der(3)であると考えられる。

色体の切断点は、分化型急性骨髄性白血病(AML-M2)に特徴的なt(8;21)(q22;q22)と同じである！ 当時埼玉がんセンターの大木操先生のグループが、t(8;21)(q22;q22)の21番染色体の切断点に位置するRUNX1遺伝子(最初はAML1遺伝子と命名された)のクローニングに成功したところであったが、「t(3;21)(q26;q22)においても、まさにこのRUNX1遺伝子が関与しているのではないか?」と考えた。

大木先生と共同研究の話がまとまり、RUNX1遺伝子プローブをご供与いただき、pulsed-field gel

electrophoresisまで面倒をみていただいた。再構成バンドが観察された時には感激した。結局、この再構成バンドはサザン解析でも観察されたが、その後はcDNAライブラリーを作製し、一気にRUNX1/EVIIキメラ遺伝子がクローニングされた(図2)。

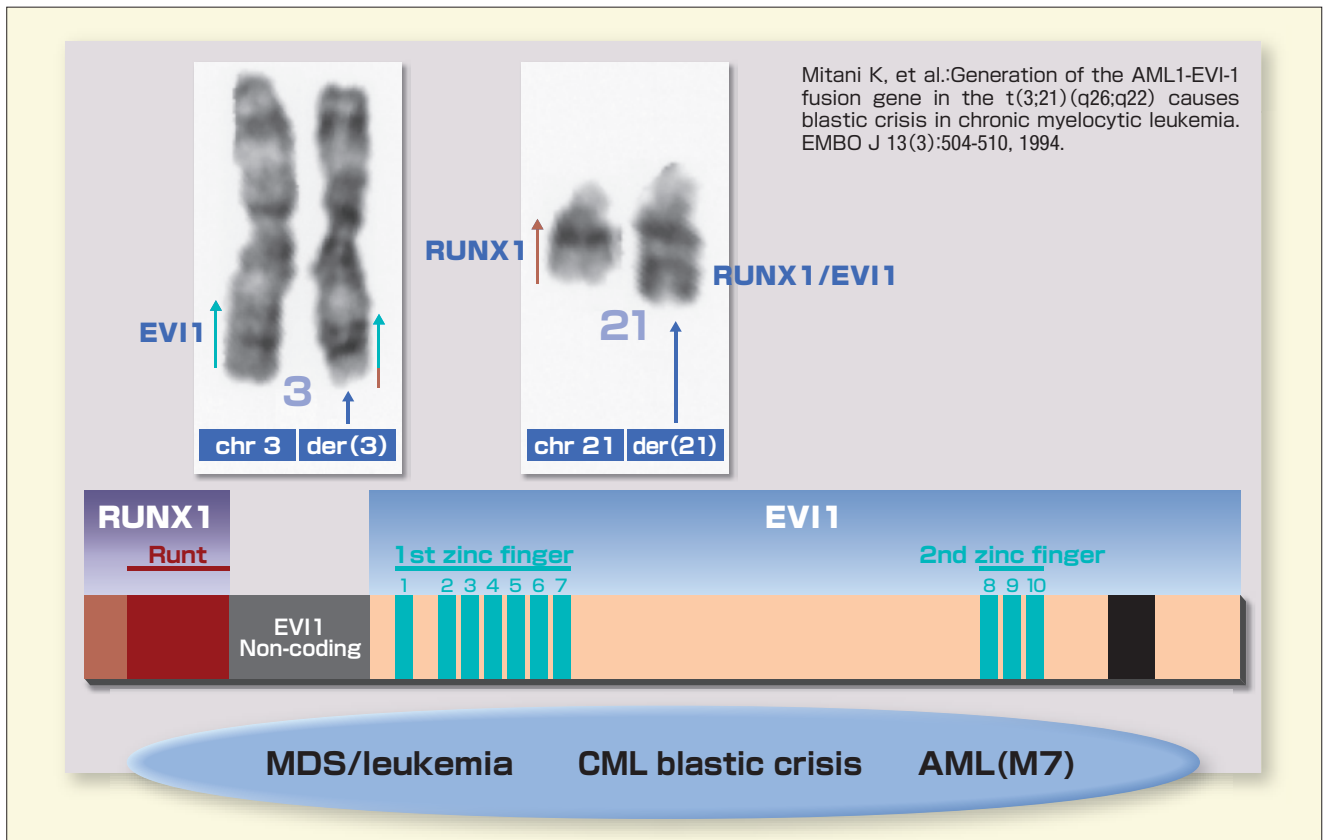
RUNX1もEVIIも転写因子であり、RUNX1/EVIIはキメラ型転写因子である。DNA結合領域であるRUNTドメインまでのRUNX1のN末に、EVIIの全長が結合した構造をとっている。RUNX1/EVIIは野生型のRUNX1の転写活性化能に対して、ド

ミナント・ネガティブ効果を発揮することも見出した。この間、約1年である。血液学の領域で、転写因子研究が花開いた時代にほぼ重なる。

RUNX1/EVIIの*in vitro*における多彩な機能

RUNX1/EVIIは、慢性骨髄性白血病の急性転化あるいは骨髄異形成症候群の白血病化の原因遺伝子である。数%程度の出現率であり、頻度の高い異常ではないが、その機能を解析することは、白血病発症機構のモデルを構築するうえで意義がある

図2 RUNX1/EVII cloning in t(3;21)(q26;q22)



t(3;21)は、骨髄異形成症候群から進展した白血病、慢性骨髄性白血病の急性転化、急性巨核芽球性白血病で観察される。t(3;21)の結果、der(3)上でRUNX1/EVIIキメラ遺伝子が形成される。RUNX1/EVIIキメラ蛋白では、RUNX1のN末とEVIIの全長が結合している。

と考えられた。

RUNX1/EVIIが発現すると、短縮型のRUNX1が発現すること、本来造血細胞では極めて発現の低いEVII遺伝子がRUNX1遺伝子のプロモーター化に異所性に発現することの2つの事象が同時に起こる。また、RUNX1/EVIIには多彩な機能が存在するが、そのうちのいくつかの機能において中心的役割を演じるのは、EVII部分でのコリプレッサーCtBPを介するヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) のリクルートである。このコリプレッサー／ヒストン脱アセチル

化酵素複合体の結合は、転写因子の機能を失活させる一般的な分子基盤である。

東大の平井先生の研究室 (一部は獨協医科大学の私の研究室) で明らかにされたRUNX1/EVIIの多彩な機能をまとめる (図3)。オリジナルの図は平井久丸教授の手によるものであるが、私が一部改変させていただいた。

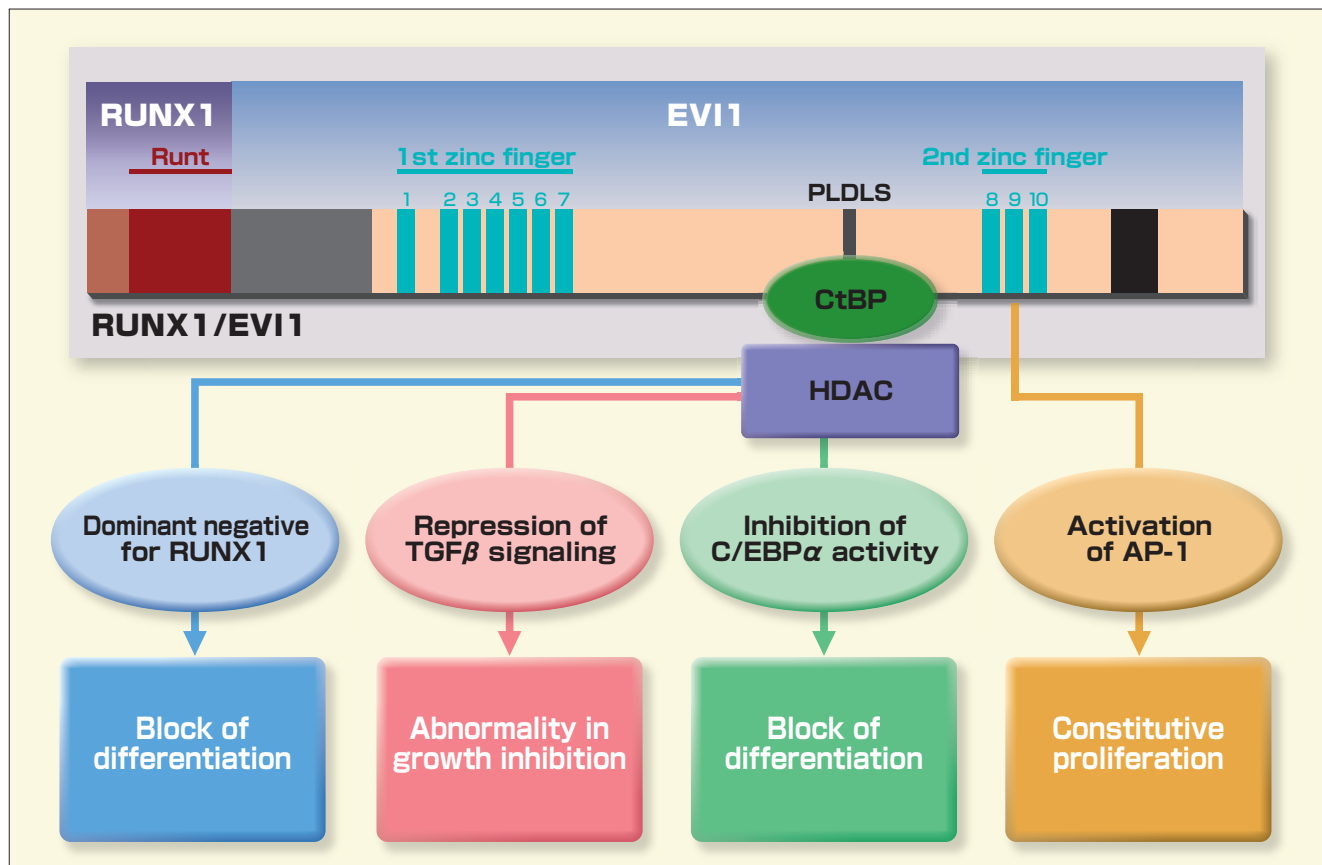
(1) DNA結合領域のみを保有する短縮型のRUNX1が発現し、EVII部分でCtBP/HDACと結合することにより、野生型RUNX1の転写活性化

能に対してドミナント・ネガティブ効果を発揮する。RUNX1は造血制御に重要な遺伝子であり、このドミナント・ネガティブ効果により骨髓球系細胞の分化を抑制すると考えられた。

(2) RUNX1/EVIIはC/EBP α と結合し、そのDNA結合能および転写活性化能を抑制する。特に後者の機能には、EVII部分でのHDACのリクルートが必須である。C/EBP α は顆粒球分化に必須の役割を担う転写因子であることから、この機能も骨髓球系細胞の分化を抑制すると考えられた。

(3) RUNX1/EVIIは、EVII部分で

図3 RUNX1/EVII is a multi-functional oncoprotein.



RUNX1/EVIIは、EVII部分でCtBPを介してヒストン脱アセチル化酵素をリクルートすることにより、分化抑制、増殖刺激等の多彩な機能を発揮する。

TGFβシグナルの細胞内シグナル伝達分子 Smadと結合してその機能を抑制する。この抑制にもHDACのリクルートが必須である。このことによつて、RUNX1/EVIIはTGFβの伝える増殖抑制シグナルを遮断するが、これはEVIIの機能そのものである。

(4) EVIIは、MAPキナーゼJNKと結合することによりその酵素活性を抑制し、アポトーシス誘導を回避する。この

機能はRUNX1/EVII分子では証明されていないが、同様の機能が存在すると推測される。

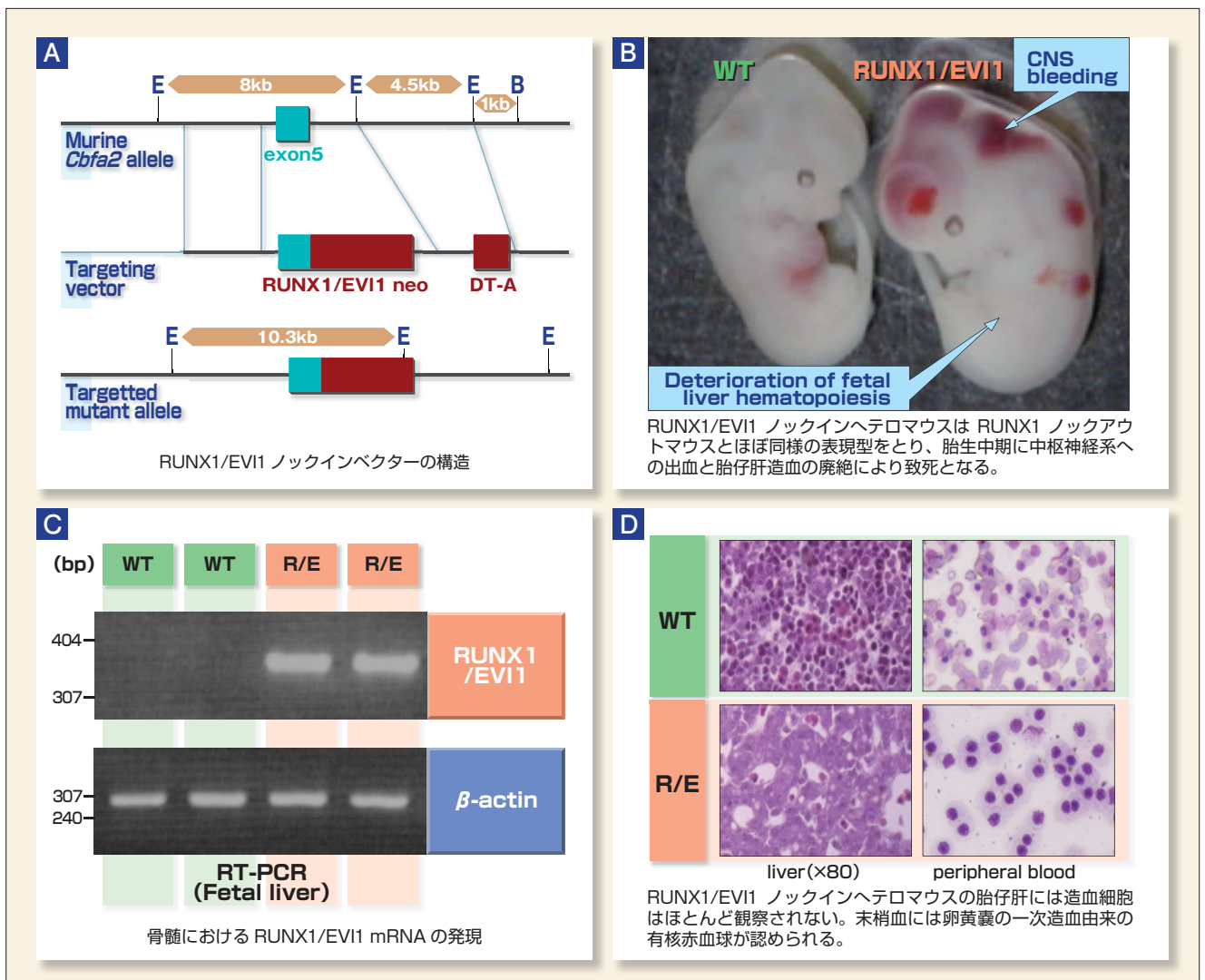
(5) RUNX1/EVIIは、EVIIと同様にAPI活性を刺激する。このことは恒常的な増殖刺激と関連する。

これらの研究は平井先生のご指導の下、田中智之先生(現英国Dundee大学)、黒川峰夫先生(現東京大学血液・腫瘍内科教授)が中心になつ

て進められた仕事である((2)は獨協医科大学の大学院生鶴田勝哉先生の仕事)。研究者として幸運な時代であった。

私はRUNX1/EVIIのほかに、t(11;19)(q23;p13.1)の結果形成されるMLL/ELL(MEN)のクローニングにも成功した。残念ながら、本稿では詳細は省略するが、MLL/ELLの機能は神田善伸先生(現自治医科大学

図4 Phenotypes of RUNX1/EVII knock-in mice



附属さいたま医療センター教授)や牧和弘先生(現獨協医科大学講師)の手によって解析が進められた。

RUNX1/EVI1の発生工学的機能を解析

平成12年に、獨協医科大学に異動した。新規のプロジェクトとして、12p13転座の標的遺伝子TELの機能解析を開始したが、RUNX1/EVI1の仕事も発展させることにした。RUNX1/EVI1の機能を発生工学的に解析する目的で、ノックインマウスを作製した(図4)。これは、東大から獨

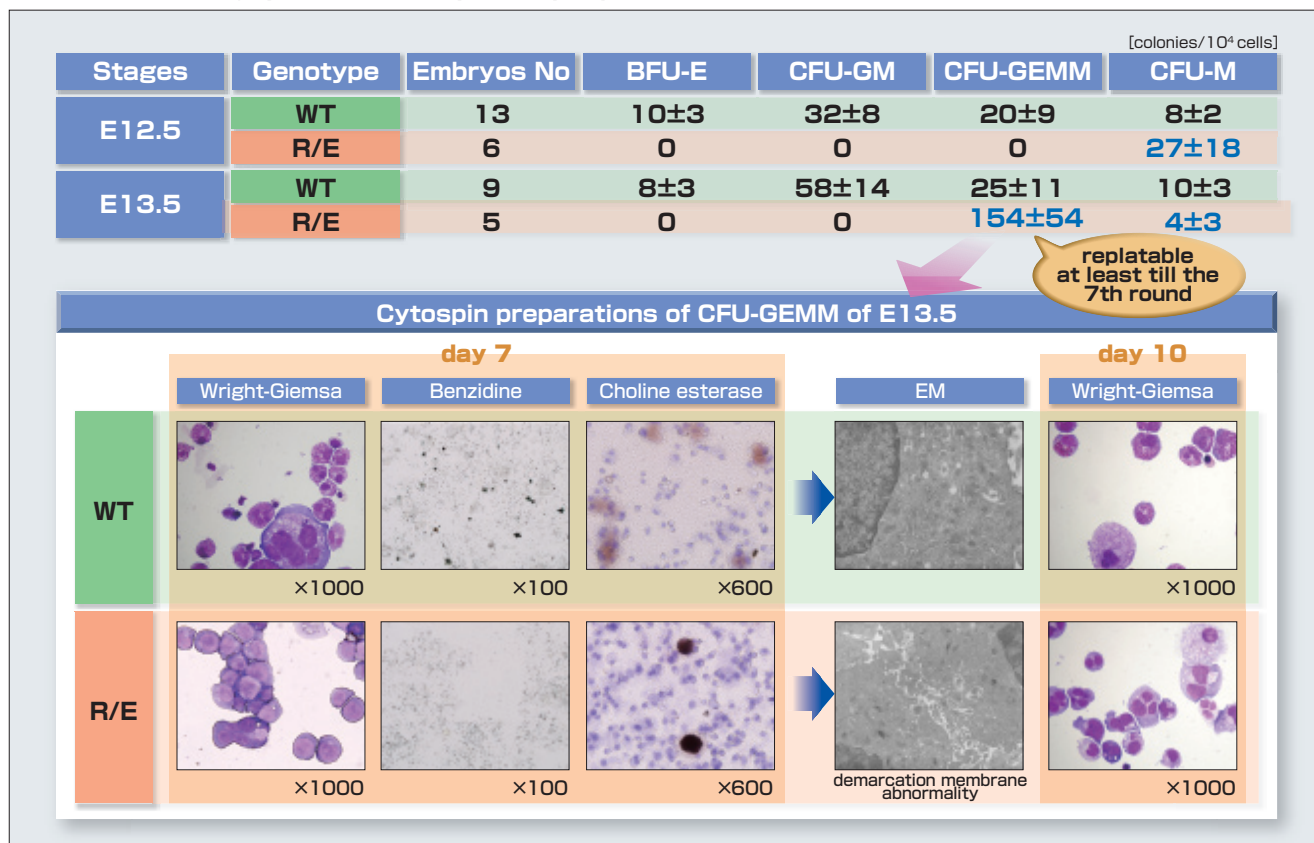
協医科大学に来てくれた牧和宏先生の仕事である。

まず、マウスのRUNX1ゲノムにEVI1 cDNAをつないでターゲティングベクターとし、これをマウスのES細胞に電気的に導入する。このES細胞からキメラマウスを作製し、交配によりヘテロマウスを得た。興味深いことに、RUNX1/EVI1のノックインヘテロマウスは、RUNX1のノックアウトマウスとほぼ同様に胎生中期に脳出血と胎仔肝造血の廃絶により致死となった。この観察から、個体レベルでもRUNX1/EVI1は野生型RUNX1に対してドミ

ナント・ネガティブに作用することが証明された。

しかしながら、詳細に検討していくと、RUNX1/EVI1ノックインヘテロマウスとRUNX1ノックアウトマウスの表現型は同じではないことがわかった。すなわち、RUNX1ノックアウトマウスの胎仔肝細胞を用いて造血コロニーアッセイを施行してもまったくコロニーは形成されないが、RUNX1/EVI1ノックインヘテロマウスの胎仔肝細胞を用いて同様の実験を行うと野生型胎仔肝細胞を用いた場合よりも多くのCFU-GEMMが形成された(図5)。

図5 Increase of dysplastic hematopoietic progenitors in RUNX1/EVI1 knock-in fetal liver



RUNX1/EVI1ノックインヘテロマウスの胎仔肝造血は形態学的には廃絶しているが、コロニーアッセイを施行するとCFU-GEMMが増加している。しかしながら、このCFU-GEMMからは赤芽球は分化せず、顆粒球には顆粒形成不全、巨核球には分離膜形成不全が観察される。

しかも、このCFU-GEMMは少なくとも7回の継代が可能であった。

これらのことは、RUNX1/EVIIノックインヘテロマウスの胎仔肝には、自己複製能の亢進した造血前駆細胞が多数存在することを意味している。興味深いことに、この造血前駆細胞の分化には異常があり、赤芽球にはまったく分化せず、骨髄球には顆粒形成不全、巨核球には分離膜形成不全が観察された。このように、RUNX1/EVIIは胎生造血に異形成を誘導するが、ヘテロマウスが胎生致死であるため、成体型造血におけ

る機能は不明であった。しかしながら、幸運なことに、RUNX1/EVIIノックインキメラ個体は、急性巨核芽球性白血病を発症した(図6)。このことは、RUNX1/EVIIはワンヒットでも白血病を発症させる可能性を示唆している。RUNX1/EVIIとほぼ同様の分子構造を持つRUNX1/ETOが、ワンヒットでは白血病を発症させないことから、RUNX1/EVIIの白血病原性にはEVII部分の機能が重要な役割を担っていると考えられる。

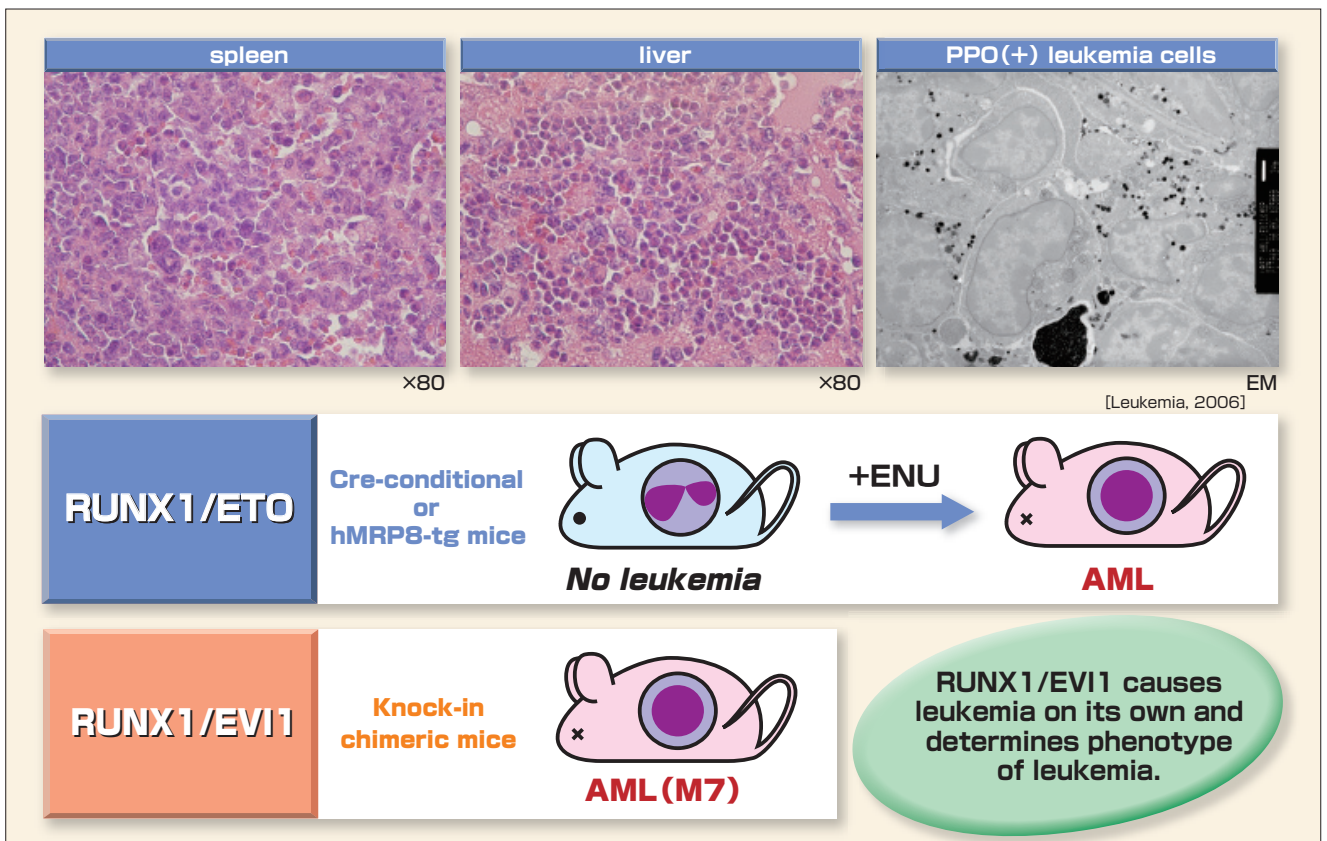
さらに、この表現型はヒト白血病と同様である(RUNX1/EVIIは、慢

性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群のような造血幹細胞腫瘍を白血化させるだけではなく、急性巨核芽球性白血病も発症させる)ことから、RUNX1/EVIIには腫瘍の表現型を決定する機能もあると考えられた。

RUNX1キメラ型白血病に対する分子標的療法

上述のように、RUNX1/EVIIキメラ型白血病においては、キメラがコリプレッサー CtBPを介してHDACをリクルートすることが、白血病発症の重要な分子基盤である。この機序は、ほ

図6 Leukemia (M7) development in RUNX1/EVI1 chimeric mice



RUNX1/EVI1ノックインキメラマウスは、電子顕微鏡的血小板ペルオキシダーゼ陽性の急性巨核芽球性白血病を発症した。これはRUNX1/EVI1はワンヒットで白血病を発症する可能性を示唆するもので、RUNX1/ETOマウスが白血病を発症するにはセカンドヒットが必要なことと対象的である。

かのRUNX1キメラ、RUNX1/ETO およびTEL/RUNX1においても共通である。

そこで、キメラ分子によってリクルートされるHDACの酵素活性を抑制するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) が、RUNX1転座型白血病に有効であるかどうかを白血病細胞株、SKNO-1 (RUNX1/ETO)、Kasumi-1 (RUNX1/ETO)、SKH-1 (RUNX1/EV11) およびReh (TEL/RUNX1) を用いて検討した。

これらの細胞株にHDACiであるトリコスタチンAあるいはバルプロ酸を

添加したところ、細胞周期停止およびアポトーシス誘導を介して細胞は死滅した。これに伴い、細胞周期制御因子CDKN1Aの発現が増加し、外因系および内因系のカススペース活性が亢進した。

以上のことから、HDACiはRUNX1キメラ型白血病に臨床的効果を発揮することが期待された (図7)。

最後に

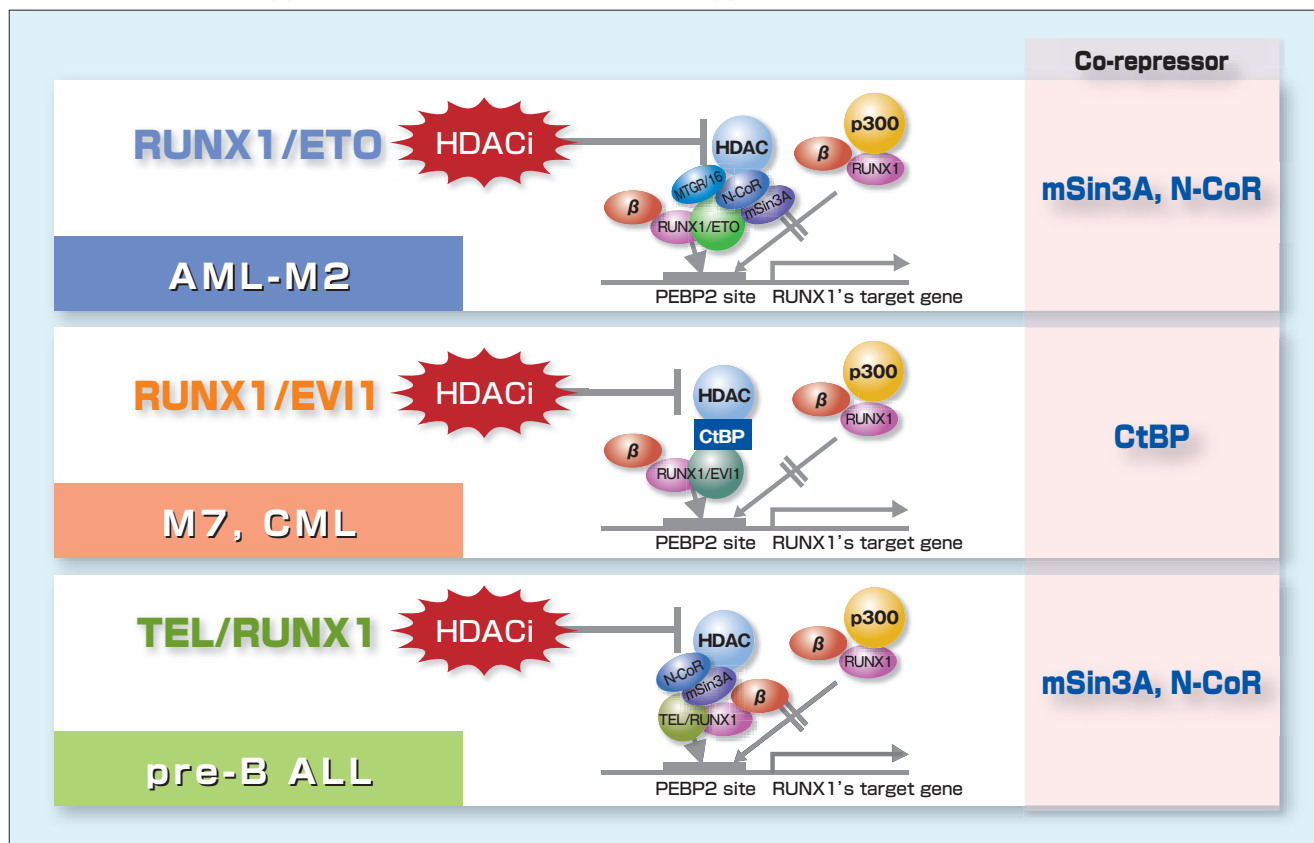
染色体研究に始まった私の白血病の分子病態研究の歴史を振り返った。

この間、諸先輩方に暖かいご支援をいただき、多くの優秀な後輩たちと仕事をする機会に恵まれたことを感謝している。

近年、白血病の研究は、治癒を目指した幹細胞研究にシフトしている。私の微々たる努力が、今後何をなし得るのかはなほだ心もとないが、少しでも新しい時代に貢献できることを祈念しつつ、筆を置きたい。

本稿を、故平井久丸先生に捧げます。

図7 Molecular therapy with HDACi in RUNX1 chimera-type leukemia



RUNX1/ETO、RUNX1/EV11およびTEL/RUNX1等のRUNX1キメラは、それぞれ異なるコリプレッサーを介してヒストン脱アセチル化酵素をリクルートする。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤が、RUNX1キメラ型白血病の治療に有効である可能性がある。

- 1) Mitani K, Sato Y, Kobayashi Y, Shibasaki Y, Kasuga M, Inaba T, Hayashi Y, Miura Y, Miyazono K, Hirai H, Urabe A, Takaku F: Heterogeneity in the breakpoints of chromosome 19 among acute leukemic patients with the t(11;19)(q23;p13) translocation. *Am J Hematol* 31 : 253-257, 1989.
- 2) Mitani K, Fujita H, Sassa S, Kappas A: Heat shock induction of heme oxygenase mRNA in human Hep3B hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Comm* 165 : 437-441, 1989.
- 3) Mitani K, Fujita H, Sassa S, Kappas A: Activation of heme oxygenase and heat shock protein 70 genes by stress in human hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Comm* 166 : 1429-1434, 1990.
- 4) Mitani K, Sato Y, Tojo A, Ishikawa F, Kobayashi Y, Miura Y, Miyazono K, Urabe A, Takaku F: Philadelphia chromosome positive B-cell type malignant lymphoma expressing an aberrant 190-kD bcr-abl protein. *Br J Haematol* 76 : 221-225, 1990.
- 5) Mitani K, Fujita H, Sassa S, Kappas A: A heat-inducible nuclear factor that binds to the heat-shock element of the human heme oxygenase gene. *Biochem J* 277 : 895-897, 1991.
- 6) Mitani K, Fujita H, Hayashi N, Yamamoto M, Sassa S: Differential induction of delta-aminolevulinic synthase mRNAs during erythroid differentiation: Use of non-radioactive in situ hybridization. *Am J Hematol* 39 : 63-64, 1992.
- 7) Mitani K, Fujita H, Kappas A, Sassa S: Heme oxygenase is a positive acute-phase reactant in human Hep3B hepatoma cells. *Blood* 79 : 1255-1259, 1992.
- 8) Mitani K, Sato Y, Hayashi Y, Miura Y, Miyagawa K, Yazaki Y, Hirai H: Two myelodysplastic syndrome cases with the inv(11)(p15q23) as a sole chromosomal abnormality. *Br J Haematol* 81 : 512-515, 1992.
- 9) Mitani K, Fujita H, Fukuda Y, Kappas A, Sassa S: The role of inorganic metals and metalloporphyrins in the induction of heme oxygenase and heat shock protein 70 in human hepatoma cells. *Biochem J* 290 : 819-825, 1993.
- 10) Mitani K, Ogawa S, Tanaka T, Miyoshi H, Kurokawa M, Mano H, Yazaki Y, Misao O, Hirai H: Generation of the AML1-EVI-1 fusion gene in the t(3;21)(q26;q22) causes blastic crisis in chronic myelocytic leukemia. *EMBO J* 13 : 504-510, 1994.
- 11) Tanaka T, Nishida J, Mitani K, Ogawa S, Yazaki Y, Hirai H: EVI-1 raises AP-1 activity and stimulates c-fos promoter transactivation with dependence on the second zinc finger domain. *J Biol Chem* 269 : 24020-24026, 1994.
- 12) Mitani K, Sasaki K, Hayashi Y, Mano H, Yazaki Y, Hirai H: Molecular analysis of the t(1;19)(q23;p13) translocation observed in adult leukemia. *Int J Hematol* 60 : 267-271, 1995.
- 13) Tanaka T, Tanaka K, Ogawa S, Kurokawa M, Mitani K, Nishida J, Shibata Y, Yazaki Y, Hirai H: An acute myeloid leukemia gene, AML1, regulates hematopoietic myeloid cell differentiation and transcriptional activation antagonistically by two alternative spliced forms. *EMBO J* 14 : 341-350, 1995.
- 14) Mitani K, Kanda Y, Ogawa S, Tanaka T, Inazawa J, Yazaki Y, Hirai H: Cloning of several species of MLL/MEN chimeric cDNAs in myeloid leukemia with t(11;19)(q23;p13.1) translocation. *Blood* 85 : 2017-2024, 1995.
- 15) Tanaka T, Mitani K, Kurokawa M, Ogawa S, Tanaka K, Nishida J, Yazaki Y, Shibata Y, Hirai H: Dual functions of the AML1/EVI-1 chimeric protein in the mechanism of leukemogenesis in t(3;21) leukemia. *Mol Cell Biol* 15 : 2383-2392, 1995.
- 16) Mitani K, Ogawa S, Tanaka T, Kurokawa M, Yazaki Y, Hirai H: Growth inhibition of leukaemic cells carrying the t(3;21) by the AML1/EVI-1-specific antisense oligonucleotide. *Br J Haematol* 90 : 711-714, 1995.
- 17) Kurokawa M, Ogawa S, Tanaka T, Mitani K, Yazaki Y, Witte ON, Hirai H: The AML1/EVI-1 fusion protein in the t(3;21) translocation exhibits transforming activity on Rat1 fibroblasts with dependence on the EVI-1 sequence. *Oncogene* 11 : 833-840, 1995.
- 18) Kurokawa M, Tanaka T, Tanaka K, Ogawa S, Mitani K, Yazaki Y, Hirai H: Overexpression of the human AML1b proto-oncoprotein leads to neoplastic transformation of NIH3T3 cells. *Oncogene* 12 : 883-892, 1996.
- 19) Tanaka T, Kurokawa M, Ueki K, Tanaka K, Imai Y, Mitani K, Okazaki K, Sagata N, Yazaki Y, Shibata Y, Kadowaki T, Hirai H: The extracellular signal-regulated kinase pathway phosphorylates AML1, an acute myeloid leukemia gene product, and potentially regulates its transactivation ability. *Mol Cell Biol* 16 : 3967-3979, 1996.
- 20) Ogawa S, Kurokawa M, Tanaka T, Mitani K, Inazawa J, Hangaishi A, Tanaka K, Matsuo Y, Minowada J, Tsubota T, Yazaki Y, Hirai H: Structurally altered Evi-1 protein generated in the 3q21q26 syndrome. *Oncogene* 13 : 183-191, 1996.
- 21) Kurokawa M, Tanaka T, Tanaka K, Hirano N, Ogawa S, Mitani K, Yazaki Y, Hirai H: A conserved cysteine residue in the runt homology domain of AML1 is required for the DNA binding ability and the transforming activity on fibroblasts. *J Biol Chem* 271 : 16870-16876, 1996.
- 22) Ogawa S, Kurokawa M, Tanaka T, Tanaka K, Hangaishi A, Mitani K, Kamada N, Yazaki Y, Hirai H: Increased Evi-1 expression is frequently observed in blastic crisis of chronic myelocytic leukemia. *Leukemia* 10 : 788-794, 1996.
- 23) Ogawa S, Kurokawa M, Mitani K, Yazaki Y, Hirai H: Overexpression of Evi-1 and dysmegakaryopoiesis in human leukemias. *Leukemia* 10 : 1849, 1996.
- 24) Mitani K, Hangaishi A, Imamura N, Miyagawa K, Ogawa S, Kanda Y, Yazaki Y, Hirai H: No concomitant occurrence of the N-ras and p53 gene mutations in myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 11 : 863-865, 1997.
- 25) Kanda Y, Mitani K, Tanaka T, Tanaka K, Ogawa S, Yazaki Y, Hirai H: Subcellular localization of the MEN, MLL/MEN, and truncated MLL proteins expressed in leukemic cells carrying the t(11;19)(q23;p13.1) translocation. *Int J Hematol* 66 : 189-195, 1997.
- 26) Tanaka K, Tanaka T, Kurokawa M, Imai Y, Ogawa S, Mitani K, Yazaki Y, Hirai H: The AML1/ETO(MTG8) and AML1/Evi-1 leukemia-associated chimeric oncoproteins accumulate PEBP2beta (CBFbeta) in the nucleus more efficiently than wild-type AML1. *Blood* 91 : 1688-1699, 1998.
- 27) Kanda Y, Mitani K, Kurokawa M, Yamagata T, Yazaki Y, Hirai H: Overexpression of the MEN/ELL protein, an RNA polymerase II elongation factor, results in transformation of Rat1 cells with dependence on the lysine-rich region. *J Biol Chem* 273 : 5248-5252, 1998.
- 28) Kurokawa M, Mitani K, Irie K, Matsuyama T, Takahashi T, Chiba S, Yazaki Y, Matsumoto K, Hirai H: The oncoprotein Evi-1 represses TGF-beta signalling by inhibiting Smad3. *Nature* 394 : 92-94, 1998.
- 29) Kurokawa M, Mitani K, Imai Y, Ogawa S, Yazaki Y, Hirai H: The t(3;21) fusion product, AML1/Evi-1, interacts with Smad3 and blocks TGF-beta mediated growth inhibition of myeloid cells. *Blood* 92 : 4003-4012, 1998.
- 30) Imai Y, Kurokawa M, Tanaka K, Friedman AD, Ogawa S, Mitani K, Yazaki Y, Hirai H: TLE, the human homolog of Groucho, interacts with AML1 and acts as a repressor of AML1-induced transactivation. *Biochem Biophys Res Comm* 252 : 582-589, 1998.
- 31) Maki K, Mitani K, Yamagata T, Kurokawa M, Kanda Y, Yazaki Y, Hirai H: Transcriptional inhibition of p53 by the MLL/MEN chimeric protein found in myeloid leukemia. *Blood* 93 : 3216-3224, 1999.
- 32) Hirai H, Ogawa S, Kurokawa M, Yazaki Y, Mitani K: Molecular characterization of the genomic breakpoints in a case of t(3;21)(q26;q22). *Gene Chromosome Canc* 26 : 92-96, 1999.
- 33) Kurokawa M, Mitani K, Yamagata T, Takahashi T, Izutsu K, Ogawa S, Moriguchi T, Nishida E, Yazaki Y, Hirai H: The Evi-1 oncoprotein inhibits c-Jun N-terminal kinase and prevents stress-induced cell death. *EMBO J* 19 : 2958-2968, 2000.
- 34) Imai Y, Kurokawa M, Izutsu K, Hangaishi A, Takeuchi K, Maki K, Ogawa S, Chiba S, Mitani K, Hirai H: Mutations of the AML1 gene in patients with myelodysplastic syndrome and their functional implications in leukemogenesis. *Blood* 96 : 3154-3160, 2000.
- 35) Mitani K, Yamagata T, Iida C, Oda H, Maki K, Ichikawa M, Asai T, Honda H, Kurokawa M, Hirai H: Nonredundant roles of the elongation factor MEN in postimplantation development. *Biochem Biophys Res Comm* 279 : 563-567, 2000.
- 36) Imai Y, Kurokawa M, Izutsu K, Hangaishi A, Maki K, Ogawa S, Chiba S, Mitani K, Hirai H: Mutations of the Smad4 gene in acute myelogenous leukemia and their functional implications in leukemogenesis. *Oncogene* 20 : 88-96, 2000.
- 37) Izutsu K, Kurokawa M, Imai Y, Maki K, Mitani K, Hirai H: The corepressor CtBP interacts with Evi-1 to repress transforming growth factor beta signaling. *Blood* 97 : 2815-2822, 2001.
- 38) Nakamura Y, Nakazato H, Sato Y, Furusawa S, Mitani K: Expression of the TEL/EVI1 fusion transcript in a patient with chronic myelogenous leukemia with t(3;12)(q26;p13). *Am J Hematol* 69 : 80-82, 2002.

- 39) Izutsu K, Kurokawa M, Imai Y, Ichikawa M, Asai T, Maki K, Mitani K, Hirai H: The t(3;21) fusion product, AML1/Evi-1, blocks AML1-induced transactivation by recruiting CtBP. *Oncogene* 21 : 2695-2703, 2002.
- 40) Tsurumi S, Nakamura Y, Maki M, Omine M, Fujita K, Okamura T, Niho Y, Hashimoto S, Kanno K, Suzuki K, Hangaishi A, Ogawa S, Hirai H, Mitani K : N-ras and p53 gene mutations in Japanese patients with myeloproliferative disorders. *Am J Hematol* 71 : 131-133, 2002.
- 41) Arai H, Maki K, Waga K, Sasaki K, Nakamura Y, Imai Y, Kurokawa M, Hirai H, Mitani K : Functional regulation of TEL by p38-induced phosphorylation. *Biochem Biophys Res Comm* 299 : 116-125, 2002.
- 42) Waga K, Nakamura Y, Maki K, Arai H, Yamagata T, Sasaki K, Kurokawa M, Hirai H, Mitani K : Leukemia-related transcription factor TEL accelerates differentiation of Friend erythroleukemia cells. *Oncogene* 22 : 59-68, 2003.
- 43) Nakamura F, Maki K, Arai Y, Nakamura Y, Mitani K : Monocytic leukemia with CALM/AF10 rearrangement showing mediastinal emphysema. *Am J Hematol* 72 : 138-142, 2003.
- 44) Qiao Y, Ogawa S, Hangaishi A, Yuj K, Izutsu K, Kunisato A, Imai Y, Wang L, Hosoya N, Nannya Y, Sato Y, Maki K, Mitani K, Hirai H : Identification of a novel fusion gene, TTL, fused to ETV6 in acute lymphoblastic leukemia with t(12;13)(p13;q14), and its implication in leukemogenesis. *Leukemia* 17 : 1112-1120, 2003.
- 45) Imai Y, Kurokawa M, Yamaguchi Y, Izutsu K, Nitta E, Mitani K, Satake M, Noda T, Ito Y, Hirai H : The corepressor mSin3A regulates phosphorylation-induced activation, intranuclear location, and stability of AML1. *Mol Cell Biol* 24 : 1033-1043, 2004.
- 46) Maki K, Arai H, Waga K, Sasaki K, Nakamura F, Imai Y, Kurokawa M, Hirai H, Mitani K : Leukemia-related transcription factor TEL is negatively regulated through ERK-induced phosphorylation. *Mol Cell Biol* 24 : 3227-3237, 2004.
- 47) Yamaguchi Y, Kurokawa M, Imai Y, Izutsu K, Asai T, Ichikawa M, Yamamoto G, Nitta E, Yamagata T, Sasaki K, Mitani K, Ogawa S, Chiba S, Hirai H : AML1 is functionally regulated through p300-mediated acetylation on specific lysine residues. *J Biol Chem* 279 : 15630-15638, 2004.
- 48) Ichikawa M, Asai T, Saito T, Yamamoto G, Seo S, Yamazaki I, Yamagata T, Mitani K, Chiba S, Ogawa S, Kurokawa M, Hirai H : AML-1 is required for megakaryocytic maturation and lymphocytic differentiation, but not for maintenance of hematopoietic stem cells in adult hematopoiesis. *Nat Med* 10 : 299-304, 2004.
- 49) Sasaki K, Nakamura Y, Maki K, Waga K, Nakamura F, Arai H, Imai Y, Hirai H, Mitani K : Functional analysis of a dominant-negative DeltaETS TEL/ETV6 isoform. *Biochem Biophys Res Comm* 317 : 1128-1137, 2004.
- 50) Gunji H, Waga K, Nakamura F, Maki K, Sasaki K, Nakamura Y, Mitani K : TEL/AML1 shows dominant-negative effects over TEL as well as AML1. *Biochem Biophys Res Comm* 322 : 623-630, 2004.
- 51) Goyama S, Yamaguchi Y, Imai Y, Kawazu M, Nakagawa M, Asai T, Kumano K, Mitani K, Ogawa S, Chiba S, Kurokawa M, Hirai H : The transcriptionally active form of AML1 is required for hematopoietic rescue of the AML1-deficient embryonic para-aortic splanchnopleural (P-Sp) region. *Blood* 104 : 3558-3564, 2004.
- 52) Kawazu M, Asai T, Ichikawa M, Yamamoto G, Saito T, Goyama S, Mitani K, Miyazono K, Chiba S, Ogawa S, Kurokawa M, Hirai H : Functional domains of Runx1 are differentially required for CD4 repression, TCR β expression, and CD4/8 double negative to CD4/8 double positive transition in thymocyte development. *J Immunol* 174 : 3526-3533, 2004.
- 53) Takahashi W, Sasaki K, Komatsu N, Mitani K : TEL/ETV6 accelerates erythroid differentiation and inhibits megakaryocytic maturation in a human leukemia cell line UT-7/GM. *Cancer Sci* 96 : 340-348, 2005.
- 54) Maki K, Yamagata T, Asai T, Yamazaki I, Oda H, Hirai H, Mitani K : Dysplastic definitive hematopoiesis in AML1/Evi-1 knock-in embryos. *Blood* 106 : 2147-2155, 2005.
- 55) Nakamura F, Nakamura Y, Maki K, Sato Y, Mitani K : Cloning and characterization of a novel chimeric gene TEL/PTPRR in acute myelogenous leukemia with inv(12)(p13q13). *Cancer Res* 65 : 6612-6621, 2005.
- 56) Maki K, Yamagata T, Yamazaki I, Oda H, Mitani K : Development of megakaryoblastic leukemia in Runx1-Evi1 knock-in chimaeric mouse. *Leukemia* 20 : 1458-1460, 2006.
- 57) Yamagata T, Maki K, Waga K, Mitani K : TEL/ETV6 induces apoptosis in 32D cells through p53-dependent pathways. *Biochem Biophys Res Comm* 347 : 517-526, 2006.
- 58) Nakamura Y, Maki K, Sasaki K, Kitabayashi I, Mitani K : A novel TEL/ETV6 binding protein KAP1 does not contribute to its transcription-repressive activity. *Int J Hematol* 84 : 377-380, 2006.
- 59) Tokita K, Maki K, Tadokoro J, Nakamura Y, Arai Y, Sasaki K, Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Mitani K : Chronic idiopathic myelofibrosis expressing a novel type of TEL-PDGFRB chimaera responded to imatinib mesylate therapy. *Leukemia* 21 : 190-192, 2007.
- 60) Sanada M, Uike N, Ohyashiki K, Ozawa K, Lili W, Hangaishi A, Kanda Y, Chiba S, Kurokawa M, Omine M, Mitani K, Ogawa S : Unbalanced translocation der(1;7)(q10;p10) defines a unique clinicopathological subgroup of myeloid neoplasms. *Leukemia* 21 : 992-997, 2007.
- 61) Yamagata T, Nakamura Y, Mitani K : Low expression of ETV6/TEL found in patients with myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol* 86 : 282-285, 2007.
- 62) Tokita K, Maki K, Mitani K : RUNX1/EVI1 that blocks myeloid differentiation inhibits CCAAT-enhancer binding protein α function. *Cancer Sci* 98 : 1752-1757, 2007.
- 63) Sasaki K, Yamagata T, Mitani K : Histone deacetylase inhibitors trichostatin A and valproic acid circumvent apoptosis in human leukemic cells expressing the RUNX1 chimera. *Cancer Sci* 99 : 414-422, 2008.
- 64) Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Ohyashiki K, Yamagata T, Mitani K : Enhanced expression of the EVI1 gene in NUP98/HOXA-expressing leukemia cells. *Int J Hematol* 89 : 253-256, 2009.
- 65) Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Maki K, Porcher C, Shimizu R, Yamamoto M, Mitani K : Leukaemia-related transcription factor TEL/ETV6 expands erythroid precursors and stimulates haemoglobin synthesis. *Cancer Sci* 100 : 689-697, 2009.

最新・血液内科シリーズ Vol. 5

FUTURE

白血病の分子病態研究
師の教えを胸に刻み、最善を尽くす

2010年6月20日 初版第1刷発行

[監修] 高久史磨

[著者] 三谷 絹子

[発行] 大日本住友製薬株式会社

〒541-0045 大阪市中央区道修町2-6-8

TEL.06-6203-5321

[制作] 株式会社インターメディアカ

〒102-0072 東京都千代田区飯田橋2-14-2

TEL.03-3234-9559

[印刷] 凸版印刷株式会社

