

**【目的】** 急性骨髄性白血病 (AML) の発症と悪性化において、発がん性転写因子は大きな役割を担っている。中でも HOXA9 の発現亢進と C/EBP $\alpha$  の機能欠失変異は、原因遺伝子や予後不良因子として極めて重要である。Pseudokinase TRIB1 は、AML 原因遺伝子かつ HOXA9 協調遺伝子として同定された。TRIB1 による白血病誘導機構として、MEK1 / ERK 経路の活性化促進と、C/EBP $\alpha$  の分解誘導が挙げられる。TRIB1 は核に優位に局在することから、クロマチンとの親和性が示唆されるが、TRIB1 と HOXA9 との協調作用の本態は不明であった。一方で、AML において、C/EBP $\alpha$  と HOXA9 がクロマチン上でしばしば共局在していることが報告され、TRIB1 が HOXA9 の転写調節機構に影響を及ぼしている可能性が予想された。

**【方法】** TRIB1 の発現量の違いによる白血病細胞の性質および遺伝子発現の比較を行うため、TRIB1 KO マウス由来の造血細胞に HOXA9 を導入して不死化細胞を樹立し (TRIB1 null)、さらに TRIB1 を強制発現した細胞 (TRIB1 hi) を樹立した。TRIB1 null および TRIB1 hi 細胞について、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。また、FLAG (HOXA9)、C/EBP $\alpha$  および活性化ヒストンマークとして知られるヒストン H3K27ac に対する ChIP-seq を行い、ROSE program により、スーパーエンハンサーの同定を行った。続いて、スーパーエンハンサーの構成因子である BET 系プロモドメインタンパク BRD4 の阻害剤 (JQ1) への感受性を、*in vitro* および *in vivo* で検証した。

**【結果】** TRIB1 null と hi 細胞の性状の比較から、TRIB1 を発現する細胞では細胞増殖と白血病発症が促進されるとともに、遺伝子発現プロファイルの大規模な変化が認められた。ChIP-seq の解析から、この変化の少なくとも一部は TRIB1 が引き起こしたスーパーエンハンサーの改築によるものと考えられた。スーパーエンハンサーは、がん細胞の特性を規定し、増殖や未分化性などのがんの悪性化に関与している。続いて、変動するスーパーエンハンサーの近傍遺伝子の中で、造血に重要な役割を担う ERG に着目した。解析の結果、TRIB1 は C/EBP $\alpha$  の分解を介して、ERG の造血器特異的スーパーエンハンサーを増強し、ERG の発現を亢進することが明らかとなった。スーパーエンハンサー上には多数の転写因子に加えて、BRD4 など BET ファミリータンパクが結合し複合体を形成する。スーパーエンハンサーを標的とする BRD4 の阻害薬 JQ1 により、ERG を初めとする TRIB1/HOXA9 の標的遺伝子の発現低下と白血病の増殖抑制が認められた。この変化はヒト急性骨髄性白血病細胞でも共通に認められた。本研究により、Pseudokinase TRIB1 が HOXA9 と協調し ERG の発現制御することを明らかにした。さらに本成果から、TRIB1 とスーパーエンハンサーを標的とする難治性急性骨髄性白血病に対する治療が期待される。

TRIB1 によるエンハンサーリプログラミング

