

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	スプライシング機構によるクロマチン 3 次元構造の制御メカニズムの解明		
研究テーマ (英文)	Clarifying the molecular mechanism for regulation of three dimensional chromatin organization by splicing machinery		
研究期間	2019 年 ~ 2022 年	研究機関名	公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部
研究代表者	氏名	(漢字)	井上 大地
		(カタカナ)	イノウエ ダイチ
		(英文)	Daichi Inoue
	所属機関・職名	公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部 部長	
共同研究者 (1 名をこえる 場合は、別紙追 加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600 字~800 字程度にまとめてください。)

骨髄異形成症候群 (MDS) など造血器腫瘍で最も高頻度に検出されるスプライシング関連遺伝子変異である *SF3B1* 変異の下流標的として、*BRD9* 遺伝子が NMD により分解される機構をこれまでに見出した。我々が作成した KO マウスの解析では長期造血幹細胞の質的量的低下、B 細胞系列への分化阻害、ミエロイド系列への顕著なスキューイングが確認され、移植実験においても B 細胞を中心とする血球減少、大球性貧血、形態異常を呈して骨髄異形成症候群に合致する結果が得られ、それらは細胞自律的な作用であることが裏付けられた。B 細胞分化は pro-B 細胞以降で顕著に阻害され、pro-B コロニーは皆無であった。一方で MLL-AF9 による白血病モデルにおいて、*Brd9* はその発症および維持双方において不可欠であり、*Brd9* の喪失は成熟ミエロイド細胞への分化を促進することが腫瘍性造血においても明らかとなった。これらの分子基盤を解明するために、造血幹細胞の bulk RNA-seq、単一細胞レベルでの scRNA-seq、各種ヒストン修飾抗体・転写因子による ChIP-seq、クロマチン 3 次元構造を対象とした HiC、オープンクロマチンを評価する ATAC-seq を行い、*Brd9* の喪失がもたらす造血幹細胞の運命制御について統合的な解析を試みた。予想通り、B 細胞分化のプログラムが多能性前駆細胞のレベルで抑制され、ミエロイド系列への分化を促進する転写因子のエンリッチメントやパスウェイの亢進が認められた。興味深いことに、*Brd9* の喪失は遺伝子発現を亢進させる傾向にありオープンクロマチン、スーパーエンハンサーの亢進を誘導すること、*Brd9* や ncBAF は本来クロマチンループや TAD 形成に不可欠な Ctcf あるいは、既知のプロモドメインファミリー分子である *Brd4* とゲノム上で有意に共局在することが明らかとなった。Ctcf や *Brd4* のゲノムへの局在は *Brd9* 非依存性に生じる一方で、*Brd9* のノックアウトにより Ctcf シグナルが増強し、それに伴いクロマチンループの増加を認めた。特に発現が亢進している領域ではプロモーター・エンハンサーループを介して遺伝子発現を正へと脱制御していると予想された。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Aberrant EVI1 splicing contributes to EVI1-rearranged leukemia				
	著者名	Daichi Inoue 他 (Last/corresponding)	雑誌名	Blood		
	ページ	875~888	発行年	2022	巻号	140 (8)
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ		発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	~	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
<p>英文抄録（100語~200語程度にまとめてください。）</p> <p>ATP-dependent chromatin remodeling SWI/SNF complexes exist in three subcomplexes: canonical BAF (cBAF), polybromo BAF (PBAF), and a newly described non-canonical BAF (ncBAF). While cBAF and PBAF regulate fates of multiple cell types, roles for ncBAF in stem cells have not been investigated. Motivated by recent discovery of disrupted expression of BRD9, an essential component of ncBAF, in multiple cancers, including clonal hematopoietic disorders, we evaluate here the role of BRD9 in normal and malignant hematopoietic stem cells (HSCs). BRD9 loss enhances chromatin accessibility, promoting myeloid lineage skewing at the expense of B cell development. BRD9 significantly colocalizes with CTCF, whose chromatin recruitment is augmented by BRD9 loss, leading to increased chromatin looping and expression of myeloid-related genes within intact topologically associating domains. These data uncover ncBAF as critical for cell fate specification in HSCs via three-dimensional regulation of gene expression and illuminate roles for ncBAF in normal and malignant hematopoiesis.</p>						