

研究報告書  
令和2年度：A課題

2022年 4月 12日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 神戸医療産業都市推進機構

住 所 〒650-0047  
神戸市中央区港島南町6丁目3番地の7  
クリエイティブラボ (CLIK) 6階

研究者氏名 井上 大地

(研究課題)

フェロトーシスの視点から見た造血器腫瘍の新規治療戦略

令和3年2月1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【目的】

システインの硫黄が微量元素セレンに置換したアミノ酸であるセレノシステインは、「21番目のアミノ酸」として抗酸化酵素群を中心とするセレノプロテイン合成に利用される。セレノプロテインは、セレンの高い反応性を利用して、酸化ストレスの原因となる活性酸素種を消去することで抗酸化機能を発揮する(文献1)。セレノプロテイン群のうち最も重要とされるGPX4は抗酸化物質である還元型グルタチオンを用いて、細胞毒性の高い過酸化脂質を還元・無毒化しフェロトーシスを阻害することが知られている(文献2)。しかし、酸化ストレスにさらされる造血幹細胞におけるフェロトーシスの意義についてはほとんど解明されていない。本研究では、急性骨髄性白血病細胞が、セレノプロテイン合成系に依存しているという予備的実験結果に基づき、セレノプロテイン合成およびフェロトーシスの視点から造血器腫瘍の新規治療戦略となる基礎的データの集積を目指す。

【方法】

細胞株を用いたCRISPRスクリーニングの公開データベースを用いた再解析を行った(<https://depmap.org> および文献3)。またセレノプロテイン合成に必須なtRNA遺伝子、セレノシステインtRNA(Trsp)のfloxマウスを導入し(文献4)、造血細胞特異的Trsp欠失マウ

ス (Mx1-Cre: Trsp<sup>flox/flox</sup> マウス) を作出し、セレノプロテイン合成破綻を後天的に誘導するシステムを確立し、正常造血および、腫瘍性造血における役割を探索した。

#### 【結果と考察】

あらゆる白血病細胞株の生存は種々のセレノプロテイン合成酵素に依存し、各合成酵素のノックアウトと GPX4 の欠失の表現型が類似することから、フェロトシス誘導が白血病治療に有用であることが強く示唆された。

予想された通り、Trsp を欠失した場合、MLL-AF9 白血病モデルにおいて著しい生存期間の延長を認めた。次に正常造血における役割を検討するために Mx1-Cre: Trsp<sup>flox/flox</sup> マウスの詳細な解析を行った。欠失確認後、速やかに大球性貧血、脾臓における代償性造血、B 細胞および赤芽球の成熟異常、競合移植実験におけるキメリズムの低下などを認め、正常造血においても Trsp が重要な役割を担っていることが示唆された。実際に、Trsp を欠失した造血幹細胞由来のコロニー形成能は好気性環境下で完全に抑制されており、脂質過酸化が亢進していること、フェロトシス阻害剤である Ferrostatin-1 や Vitamin E によりレスキューされることからフェロトシスによるものと考えられた。以上より、全セレノプロテインの阻害は正常・腫瘍性造血双方を阻害するため、治療応用に発展させるためには、両者のフェロトシス感受性の違いや、GPX4 に代表される個別のセレノプロテインの役割について今後生体モデルを用いて検討し、白血病細胞特異的なフェロトシスの誘導を試みる。さらに、これらの考えとは逆に、加齢性造血やミトコンドリアに鉄が過剰に沈着した赤芽球（環状鉄芽球）を特徴とする骨髓異形成症候群とフェロトシス亢進との関連、およびフェロトシス阻害による治療応用について理解を深める予定である。

#### 【参考論文】

1. Böck et al., *Trends Cell Biol.* 1991 16:463-467
2. Yang et al., *Trends Cell Biol.* 2016 26:165-176
3. Shi et al., *Sci Adv.* 2021 21:7(30)
4. Suzuki et al., *J Biol Chem.* 2008 283:2021-30.

#### 【謝辞】

本研究の立ち上げにあたり、多大なるご支援を賜りました、公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。