

研 究 報 告 書
令和5年度：A課題

令和7年5月23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 東京科学大学

住 所 東京都文京区湯島1-5-45

研究者氏名 雁金 大樹

(研究課題)

白血病細胞間クローン競合から生み出される細胞周期抑制集団を標的とした治療開発

令和6年 3月 18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。

【研究の背景と目的】

急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia, AML）は造血幹細胞が段階的に遺伝子変異を獲得して発症し、発症時は複数クローンを含んでいる血液悪性疾患である。近年分子標的薬がいくつか上市されたが根治には至らず、未だに化学療法が標準療法である。一部を除いて、根治のためには造血幹細胞移植が必要であり、新規治療の開発が急務である。化学療法は基本的に効果を示し、血液学的寛解に至ることが一般的であり、化学療法感受性と考えられる。しかし現実的には化学療法のみでは多くの症例で再発する。この難治性の病態を説明するために、白血病幹細胞（leukemic stem cell, LSC）理論という仮説が用いられている。これは正常造血幹細胞と同様に、LSCでも細胞周期が自律的に静止期に入ると考えられ、増殖細胞を標的とした化学療法から逃避し、その後再発に寄与するという仮説である。しかし実際にはLSCが静止期にあるという証拠はほとんどない。我々はこの仮説を改めて現代の水準で再検証したところ、生着可能なLSCは細胞周期静止期と活動期の両方に存在することを見出した。これはLSCが自律的に静止期に入るという既存のドグマを支持しないものであった。そこで新たな仮説として、細胞非自律的要因で細胞周期抑制集団が形成され、その集団が化学療法から逃避していると考えた。ここから我々は、AMLクローン同士の競合が細胞周期に影響し、細胞周期非活動的な集団を形成していると仮定してそこで、患者検体もしくは患者検体由来AML-iPSCから作成したAML細胞（iAML細胞）を2クローン同時に免疫不全マウスに移植し、AML細胞競合の疑似モデルを作成した。このモデルの解析で、1)AMLクローン間の競合は存在し、一部の細胞は細胞周期抑制状態にあるが、その細胞も白血病発症能力を保持していること、2)IFNシグナルがその抑制状態の細胞を制御していることを見出した。

本研究ではこのIFNの下流としてどの分子メカニズムが関与しているか、を解明することを目的として研究を行った。

【方法】

優勢検体と劣勢検体を移植した競合マウスからソートした優勢検体（優勢）と劣勢検体（劣勢）、劣勢検体のみを移植した非競合マウスからソートした劣勢検体（非競合）を用いて行ったRNA-seqを再検討した。そして優勢・劣勢の比較で劣勢で高発現で、劣勢・非競合の比較でも劣勢で高発現であり、インターフェロン（IFN）の下流として機能する分子を探索した。その後に、CRISPR/Cas9を用いて白血病検体でその分子をノックアウトし、機能解析を行った。

【結果】

RNA-seqを再解析したところ、複数のIFN下流分子が候補として上がった。競合による優勢・劣勢はマウス体内でしか起こらず、共培養では生じなかった。この事は骨髓微小環境による制御が働いていると考えられ、複数候補の中から表面マーカーに着目したところ、BST2（bone marrow stromal antigen-2, CD317）が有力な候補として挙がった。BST2はもともとHIVウイルス感染の受容体として研究されている分子であるが、造血幹細胞・およびAMLでの機能はまだ不明なことの多い分子であったため、BST2に着目し機能解析を行った。CRISPR/Cas9を用いてBST2を非劣勢検体でノックアウトし、非競合環境で移植を行ったところ野生型と比して生着率や増殖率に変化は認めなかった。一方で優勢検体と同時に競合環境で移植を行ったところ、優勢検体に対する劣勢検体の比率が野生型に比して上昇した。この結果は劣勢検体のIFNシグナルの制御において、下流としてBST2が機能していることを示唆するものであった。今後BST2の白血病・造血幹細胞での機能解析を進めていく予定である。