

奨励金No.1554

# 造血器腫瘍の病変微小環境制御におけるテロメア結合因子の機能解明

細川 健太郎

九州大学大学院 医学研究院 講師

## The function of telomere-binding factors in the regulation of the pathogenic microenvironment of hematopoietic malignancies

Kentaro Hosokawa,

Department of Stem Cell Biology and Medicine, Graduate School of Medical Sciences,  
Kyushu University, Lecture



造血幹細胞は骨髄微小環境（ニッチ）における適切な制御を受けることで、生涯にわたる造血が可能となる。一方、白血病においてもニッチ機構が白血病再発の原因となっている。本研究では、正常骨髄ニッチ細胞におけるテロメア結合因子 Pot1 の機能を解明することができた。さらに現在 AML 病態ニッチ細胞における Pot1 の作用の一端を明らかにするため、Pot1 の標的因子を同定した。これらの知見をもとに、今後 Pot1 を標的とした新規 AML 治療法の開発が期待される。

Hematopoietic stem cells (HSCs) are capable of lifelong hematopoiesis through proper regulation by the bone marrow niche. In leukemia, the niche mechanism also contributes to the self-renewal and chemotherapy resistance of leukemic stem cells. This study elucidated the function of the telomere-binding factor Pot1 in normal niche cells and identified its targets in the acute myeloid leukemia (AML) niche, paving the way for the development of novel Pot1-targeted therapies for AML.

### 1. 研究内容

血球細胞の起源となる造血幹細胞（HSC）は、骨髄微小環境（ニッチ）における適切な制御を受けることで外部のストレスから保護され、生涯にわたる造血が可能となる。一方、白血病病態でもニッチ機構が白血病幹細胞の自己複製能の支持や化学療法からの回避に寄与することが知られており、白血病根絶に対する大きな障壁となっている。本研究では、①正常造血支持機構を明らかにするため、ニッチ細胞におけるテロメア結合因子 Pot1 の機能を明らかにする。また、②急性骨髄性白血病（AML）病態ニッチ細胞において Pot1 の作用を明らかにする。さらに近年示された Pot1 の転写

因子としての機能に着目し、③ Pot1 の標的候補因子を見出すことで AML 支持因子の同定を行う。以上の研究から同定された標的に対する阻害剤探索や開発を通じ AML 支持機構の破壊を主軸とした新規治療法の確立を目指す。

#### 1.1 NG2 陽性間葉系幹細胞（NG2+MSC）における Pot1a 欠損マウスを用いた骨髄微小環境の解析

骨髄間葉系幹細胞（MSC）特異的にテロメア結合因子 Pot1a を欠損するマウスを作製し、MSC の機能を解析した。染色体末端テロメアでは構造上の特性から、様々なストレスによる損傷を受け易



明らかになった(図2)。このような表現型は欠損マウス MSC の骨系統への分化が阻害されていることが原因として考えられた。その一方で、欠損マウス MSC における代謝機能について解析を進めたところ、脂肪酸代謝が阻害されていることが明らかとなった。このことが MSC における活性酸素の産生増加に繋がり、MSC の機能が障害されていることを見出した。さらに MSC の造血支持能に対する Pot1a の機能について解析を行ったところ、欠損マウスでは B リンパ球の分化障害の存在が確認されており(図3)、上記の代謝障害の影響が造血支持能の阻害要因にもなっていることが考えられた。

## 1.2 レプチン受容体陽性 (Lepr+) MSC 特異的 Pot1a 欠損するマウスを用いた骨髄微小環境の解析

NG2 陽性 MSC は細動脈近傍に存在する MSC であり、造血支持にも深く関与する細胞であるが、サイトカインの発現量や種類は限定的であることが報告されている(Kara, 2023)。そこで本研究項目では、骨髄微小環境中最大の MSC 集団であるレプチン受容体陽性 (Lepr+) MSC 特異的に Pot1a を欠損するマウス (Lepr-Cre; Pot1a<sup>fllox/fllox</sup>) を作製し解析を行った。欠損マウスでは骨髄中の MSC の絶対数が減少し、その原因として、テロメア DNA 損傷の増加、細胞周期の活性化、ROS 産生の増加が考えられた。一方で Pot1a 欠損 MSC における造血支持能について解析すると、HSC の支持因子である SCF や PTN といった因子の骨髄中の絶対量が減少していることが明らかになった。また欠損マウスでは骨髄中での HSC の割合が低下し、定常状態では静止させている HSC の細胞周期は、欠損マウス HSC では活性化していることも見出した。さらに欠損マウス由来 HSC について骨髄移植を行って骨髄再構築能を比較したところ、欠損 HSC において大きく低下していることが分かった。以上の結果から、MSC における HSC 支持能

の維持には Pot1a の発現が重要であることが考えられた。

## 1.3 白血病の進展に対する病変 MSC の役割

急性骨髄性白血病 (AML) は、AML 細胞クローンの過剰増殖と造血前駆細胞の分化不全に起因する悪性血液疾患である。MLL-AF9 AML 病態モデル骨髄において MSC は、見かけ上その数を増加させるが、分化能に制限のある間葉系細胞に変容しており、正常 HSC の支持因子も大きく低下することが報告されている (Hanoun M et al., 2014)。さらにこの病態 MSC が血管新生を促進する分泌因子を放出することで、正常な骨髄微小環境から白血病細胞の生存と増殖に都合の良い環境に作り替えられていく。本研究では、このような病変 MSC の AML を支持する役割に対し Pot1a の機能を明らかにするため、前述の Pot1a 欠損マウスに対し MLL-AF9 AML 細胞を移植することで病態モデルを作製し、白血病病態の進展に対する影響を解析した。すると Pot1a 欠損群では白血病の進展が遅れ、生存期間が延びることが分かった。この原因を明らかにするため、AML 細胞移植後 1 か月後の骨髄 MSC を抽出し、トランスクリプトーム解析を行ったところ、欠損群では血管新生に関連する分泌因子群の低下がみられ、腫瘍の進展に必要な血管新生の形成遅延が起こる可能性が示唆された。また白血病細胞の増殖や生存に対し骨髄脂肪細胞の存在が重要であることが知られているが (Shafat MS et al., 2017)、病態 Pot1a 欠損 MSC では脂肪分化に重要な因子 (Pparg, Fabp4 など) の低下がみられることから、AML 細胞の増殖支持機構が抑制されていたことが考えられた。

## 1.4 考察と展望

AML は重篤な疾患であり、とくに高齢者での予後は不良である傾向があるが、治療法の進歩により、改善されつつある。しかし依然として寛解後の再発率は低くは無いため、リスクを抱えること

が問題点として残っており、根治を達成できて初めて患者の不安を払しょくできるため、そのような治療法が待ち望まれている。本研究の成果より、正常 MSC での機能を基にして AML 病態 MSC における Pot1a の作用点を明らかにすることができた。さらに現在 AML 病態微小環境の血管構造や脂肪組織の変化について上記の AML モデルを用いて引き続き解析を行っており、ヒト白血病でも同様に起こるのか検証を進める必要がある。今後、さらに解析が進むことで、AML 細胞が必要とする MSC の諸要素を標的として、治療薬の開発に繋がることに期待したい。

## 2. 発表（研究成果の発表）

[英文原著論文（査読有）]

- 1) Nakashima K, Kunisaki Y, Hosokawa K, Gotoh K, Yao H, Yuta R, Semba Y, Nogami J, Kikushige Y, Stumpf PS, MacArthur BD, Kang D, Akashi K, Ohga S, Arai F. POT1a deficiency in mesenchymal niches perturbs B-lymphopoiesis. *Commun. Biol.* 6(1): 996, 2023.