

クローン性造血のモデルマウスの樹立と解析：

1. 発表者：

北村 俊雄（東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野
／幹細胞治療研究センター幹細胞シグナル制御部門 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆高齢化社会において注目されている「クローン性造血」（注1）のモデルマウスを作成し、クローン性造血をもつ個体がどのように白血病を発症するのか解明した。
- ◆クローン性造血に関連した貧血や白血病発症の分子メカニズムに加えてクローン性造血をきたす遺伝子変異がどのようにクロマチンを制御しているかを初めて明らかにした。
- ◆クローン性造血を有する人は白血病や動脈硬化、血液がん以外のがん等の疾患を発症しやすいが、その原因を明らかにして、予防することができれば高齢化社会における貢献度は大きい。我々が作成したクローン性造血を反映するモデルマウスを用いた研究はこれらの解明に大きく寄与することが期待される。

3. 発表概要：

遺伝子解析技術の進歩により、一見健康に見える高齢者の造血細胞において遺伝子変異をもつ「クローン性造血」の存在が注目されている。東京大学医科学研究所の北村俊雄教授のグループは、メモリアルスローンケタリングキャンサーセンターの井上大地博士研究員らとの共同研究により、クローン性造血で高頻度に認められる変異型 ASXL1 を造血細胞特異的に発現する変異型 ASXL1 ノックイン（ASXL1-MT-KI）マウスを世界に先駆けて作成し解析した。ASXL1-MT-KI マウスは若年期では正常であるが、次第に高齢者に多い骨髄異形性症候群（MDS）に類似した貧血や細胞形態の異常をきたした。白血病患者でよく共存が認められる他の遺伝子異常を加えると早期に急性骨髄性白血病（AML）を発症することから、ASXL1-MT-KI マウスは前白血病状態を反映しクローン性造血のモデルといえる。本研究では血液細胞における ASXL1 変異の未知の役割を明らかにしたが、今後このマウスを解析することによってクローン性造血との関連が指摘されている血液以外のがんや動脈硬化との因果関係を調べ、病気の発症を防ぐために研究を行うことは高齢化社会において極めて重要である。

4. 発表内容：

研究の背景・先行研究における問題点

骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndrome: MDS）は予後不良の造血器腫瘍であり、骨髄の無効造血による血球の減少や分化異常を特徴とする。MDS は造血幹細胞に遺伝子変異が生じることで引き起こされ、高率に急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia: AML）に移行する。このため MDS の根治的治療法は造血幹細胞移植が中心となるが、MDS 患者は高齢者が多く治療リスクが大きい造血幹細胞移植に代わる新規治療法の確立が望まれる。MDS で最も高頻度に認められる ASXL1 変異はこれまで機能喪失型変異と考えられノックアウトマウスの解析が進められてきたが、我々のこれまでの研究により機能獲得型変異である可能性が示された。しかし、変異体を生理的な範囲で発現させたモデルは存在せず、ASXL1 変異をクローン性造血の観点から捉えた研究はこれまでに皆無であった。

研究内容（具体的な手法など詳細）

この問題を解決し、ASXL1 変異による前がん状態の形成や疾患の進展を解析するために、本研究では *Rosa26* プロモーター下流に *Cre* リコンビネースで *loxP* 配列を除去すると変異型 *Asxl1* を発現できるように遺伝子操作した *Asxl1* 変異体コンディショナルノックイン (ASXL1-MT-KI) マウスを作製した。Vav-Cre マウスと交配することにより、造血組織特異的に *Asxl1*-MT を発現するマウスを樹立した。骨髄細胞を用いた FACS 解析、コロニーアッセイ、競合的移植実験の結果から、ASXL1-MT-KI マウスでは造血幹細胞の量的・質的な異常を認めた。長期経過観察の結果、赤血球数の減少を伴う軽度の貧血と血小板数の顕著な増加を認め、骨髄中には MDS 様の異形細胞が見られたが、AML を発症するマウスは認められなかった。一方で、*RUNX1* (runt-related transcription factor1) 変異、*MLL-AF9* キメラ遺伝子、複製可能白血病レトロウイルスによる挿入変異は、*Asxl1* 変異を有する造血細胞の形質転換を引き起こし AML 発症に至った。

Asxl1 変異による造血幹細胞の機能障害の仕組みを詳細に調べるために、まず骨髄細胞を用いた RNA シークエンス (RNA-seq) を行い、赤血球分化に関連した遺伝子群の発現低下を認めた。続いてこれらの変化がエピゲノム異常に基づくものか検討するためにクロマチン免疫沈降シークエンス (ChIP-seq) を行った。先行研究で ASXL1 は EZH2 を介して H3K27me3 修飾をサポートすると報告されていたが、生理的に変異体を発現した ASXL1-MT-KI マウスにおいては H3K27me3 のグローバルな変化は認められず *Hoxa* locus 特異的な減少を認めるのみであった。一方で、H3K4me3 や H2AK119Ub はグローバルな低下を認め、赤血球分化に関与する遺伝子群では H3K4me3 低下が発現低下の要因であると考えられた。*Asxl1* 抗体を用いた ChIP-seq の結果から、*Asxl1* 野生型の結合シグナルと H3K4me3 および H2AK119Ub 修飾との間に正の相関を認める一方で、変異体の結合シグナルは H3K4me3 修飾と逆相関することを見出した。これにより変異体と野生型が H3K4 メチル化において反対の作用を持つことを初めて示した。

以上の結果から、ASXL1-MT-KI マウスは ASXL1 変異体による H3K4me3 を中心とするエピゲノム異常を反映したクローン性造血および早期 MDS のマウスモデルであり、ASXL1 変異の造血ならび発がん、動脈硬化への作用を研究する上で有用なモデルであると考えられる。

社会的意義・今後の予定 など

現代の高齢者化社会において難治性の MDS が今後ますます増加することが予想される。加えて、65 歳以上の 10%以上に認められるクローン性造血は MDS や白血病だけでなく、血液以外のがんや動脈硬化病変にも関連しており病態解明が喫緊の課題である。クローン性造血を有する高齢者は年に 1%弱の頻度で造血器腫瘍を発症するが、それにとどまらず心筋梗塞などの動脈硬化病変の有意なリスク因子である。さらに、がん患者の 25%にクローン性造血が認められ予後不良因子とされる。以上の状況から、クローン性造血から種々の疾患が発症する分子機構を明らかにして、クローン性造血を有する患者に対して疾患が顕在化する前にどのように対処すべきかを定めることは急務である。今回、樹立した ASXL1-MT-KI マウスはクローン性造血の良いモデルマウスとして様々な研究分野の研究に役立つことが期待できる。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Journal of Experimental Medicine」 (4 月 11 日オンライン版掲載予定)

論文タイトル：Expression of mutant *Asxl1* perturbs hematopoiesis and promotes susceptibility to leukemic transformation.

著者 : Nagase, R., *Inoue, D., Pastre, A., Fujino, T., Hou, H-A, Yamasaki, N., Goyama, S., Saika, M., Kanai, A., Sera, Y., Horikawa, S., Ota, Y., Asada, S., Hayashi, Y., Kawabata, K.C., Takeda, R., Tien, H.F., Honda, H., Abdel-Wahab, O. and *Kitamura T.

DOI 番号 : 10.1084/jem.20171151

アブストラクト URL : <http://jem.rupress.org/cgi/doi/10.1084/jem.20171151>

6. 注意事項 :

日本時間 4 月 11 日 (水) 午後 10 時 (米国東部夏時間 : 11 日 (水) 午前 9 時)以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先 :

東京大学医科学研究所先端医療研究センター細胞療法分野

幹細胞治療研究センター幹細胞シグナル制御部門

教授 北村 俊雄 (きたむら としお)

TEL : 03-5449-5758; fax:03-54495760

E-mail : kitamura@ims.u-tokyo.ac.jp

8. 用語解説 :

(注1) クローン性造血 : 最近、一見健常な高齢者に造血器腫瘍と同じような遺伝子変異を有するクローン性の造血が認められることが複数のグループによって報告され注目されている。65 歳以上の健常人の 10%に白血病や骨髄異形性症候群などの造血器腫瘍で認められる遺伝子変異を有するクローン性の造血を認める。これらの人は年に 0.5%-1%の割合で造血器腫瘍を発症するが、それよりも予後を大きく左右するのは心筋梗塞などの心血管系イベントである。また癌患者の 25%にクローン性造血が存在し、クローン性造血を有する人は再発率が高く予後が悪いことが知られている。