

No.	22-1049	
研究課題名	ヒト骨髄性白血病におけるアミノ酸代謝変化の役割	
研究代表者	服部 鮎奈（京都大学 医生物学研究所・准教授）	
研究組織	受入教員	小沼 貴晶（東京大学医科学研究所・准教授）

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業  
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

## 共同研究報告 (年次終了)

本共同研究では、正常造血幹細胞 (HSC) と比べ、白血病幹細胞 (LSC) がより強く依存している経路に焦点を当て、LSC のみを根絶する治療戦略の提案を目的としている。申請者はこれまでに、骨髄性白血病において分岐鎖アミノ酸の代謝が亢進していること、またこの代謝変動がアミノ基転移酵素 BCAT1 に依存すること、及び白血病幹細胞の維持に必須であることを報告してきた (Hattori et al. Nature 2017)。マウスモデルとヒト白血病培養細胞を用いた解析から、BCAT1 は分岐鎖アミノ酸 (BCAA) を産生 (同化) することで、がん幹細胞の未分化性を維持すること、機能阻害によってがん幹細胞が分化することを示した。BCAT1 は正常組織での発現は限定的であり、HSC の生存・維持には不要であることから、BCAT1 によるがん幹細胞維持の分子メカニズムを解明することは、根治を目指した治療法開発に発展することが期待できる。そこで、本研究では、(1) BCAT1 によって産生された BCAA による白血病幹細胞の未分化性維持機構の解明と、(2) PDX モデルを用いて BCAT1 新規阻害化合物の単離を目指して研究を遂行した。

## 1、PDX モデルを開発した。

医科研 小沼貴晶先生より分与いただいた白血病患者検体を免疫不全マウスに移植することで、安定的に増殖させる条件を確立し、株化することに成功した。このうち、マウス内で増殖させた2つの患者検体について膜表面マーカーの発現を検討したところ、白血病幹細胞が存在する CD34(+)CD38(-)画分が PDX 細胞においても維持されていることを確認した。新たに3ラインについても樹立が完了する予定である。また、小沼先生の研究室において、白血病マウスモデルで得られた化合物の薬効を、今回単離した PDX 細胞株を用いた場合でも評価し、再現性を得ることができた。本成果は共同研究論文として発表されている (Jimbo et al. *Leukemia* 2022)。

## 2、BCAT1 が分化誘導因子の発現を抑制することで、白血病幹細胞の維持に寄与することを発見した。

PDX 株の単離を進める傍ら、白血病細胞株において、BCAT1 の機能解析を行った。遺伝子発現解析および生化学的解析から、BCAT1 の酵素活性阻害または遺伝子発現阻害すると、(1) 転写因子 X および Y の発現が誘導されること、(2) 白血病細胞の増殖が落ちること、(3) 分化マーカーの発現が上昇し細胞分化が誘導されることを発見した。これら BCAT1 の機能阻害の表現型は、転写因子 X または Y の発現抑制によって一部レスキューされたことから、BCAT1 は細胞分化に関わる転写因子 X と Y の抑制を介して白血病の分化阻害を引き起こしていることがわかった。今後は、樹立した PDX 株を用いて、患者検体を用いた in vivo においても BCAT1 によって転写因子 X / Y の発現制御が白血病幹細胞の維持に必要なものであるか検討する。

## 3、BCAT1 と IDH 遺伝子変異との機能的相互作用を発見した。

BCAT1 を阻害する新規治療法を確立するためのバイオマーカーとして白血病の遺伝子変異の種類と BCAT1 阻害の感受性について検討した。白血病患者において BCAT1 の高発現は予後不良であることが示されているが、IDH 遺伝子変異が存在する場合には、BCAT1 高発現群と低発現群で予後に変化がないことがわかった。野生型 IDH はイソクエン酸から  $\alpha$  ケトグルタル酸 ( $\alpha$ -KG) を産生する酵素だが、変異型 IDH は  $\alpha$ -KG を 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG) に変換する新たな酵素活性を獲得する。そこで、IDH 遺伝子変異と BCAT1 の間の相互作用について検討した結果、(1) 変異型 IDH の産生するオンコメタボライトである 2-HG が BCAT1 の酵素活性を直接阻害すること、(2) 変異型 IDH の過剰発現は、BCAT1 酵素活性阻害を介して、抗腫瘍効果を示すことが示唆された。IDH 遺伝子変異のある白血病細胞株は存在しないため、IDH 遺伝子変異を有する患者検体の PDX 株を樹立することで、IDH 変異のある白血病細胞がどのようにして BCAT1 阻害効果を克服して白血病細胞の増殖に寄与するのか明らかにしたい。このために、2023 年度は Crispr/cas9 を用いた網羅的スクリーニングにより、変異型 IDH 発現による表現型を抑圧する因子を同定する。