

No.	25-1125	
Project Title	代謝経路による白血病幹細胞制御の分子機序解明	
Principal Investigator	Ayuna Hattori (Kyoto University ・ Associate professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Takaaki Konuma (The Institute OF Medical Science, The University Of Tokyo ・ Associate professor)

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、代謝酵素 BCAT1 の酵素活性および副次機能に着目し、BCAA 代謝を介した白血病幹細胞（LSC）の未分化性維持機構を解明し、将来的な治療標的探索につなげることを目的として研究を進めた。申請時には、BCAT1 の細胞内局在と BCAA 細胞内濃度の不均一性に着目し、可視化系を用いて LSC 維持機構を明らかにするとともに、樹立済み PDX 株を用いた分子学的解析へ展開する計画を立てていた。2025 年度は、まず BCAT1 の細胞内局在と分裂制御に関する新たな知見を得るとともに、FRET 型 BCAA バイオセンサー-OLIVE 全身発現トランスジェニックマウスを樹立し、正常造血系における BCAA 濃度分布と幹細胞性の関連を検証した。これらの成果は、申請時に掲げた「BCAT1/BCAA 可視化に基づく幹細胞維持機構の解明」を具体的に前進させるものであり、今後の PDX 解析に向けた基盤的知見として位置づけられる。受入教員より研究の進め方や今後の PDX 株を用いた検証方針について助言を受け、次年度以降の解析計画を整理した。

第一に、BCAT1 の細胞内局在と細胞分裂制御に関する解析を進めた。白血病培養細胞 K562 および KCL22 を用いた解析から、BCAT1 が分裂期にキネトコア周辺に局在することを免疫染色および GFP 融合 BCAT1 の過剰発現によって明らかにした。さらに、局在解析に適した接着細胞（軟骨肉腫）を用いた検討により、BCAT1 は細胞分裂時に分裂面およびキネトコアに局在することを見いだした。これは、申請時に仮説として掲げた「BCAT1 が特定の細胞内領域で局所的に機能する」という考えを支持する結果である。加えて、BCAT1 ノックダウン細胞では細胞分裂異常と細胞内 ROS の蓄積が認められたが、抗酸化剤 N-acetylcysteine (NAC) 処理により ROS の低下と分裂異常の改善がみられた。また、BCAT1 ノックダウンにより Aurora A kinase の自己リン酸化およびその下流因子 TACC3 のリン酸化が減少した。以上より、BCAT1 は ROS 蓄積を抑制することで分裂期キナーゼ活性を正に制御し、がん細胞の円滑な細胞分裂を支えている可能性が示唆された。従来、BCAT1 は主として BCAA 代謝酵素として理解されてきたが、本年度の結果は、BCAT1 が分裂期の局所環境制御を介して細胞分裂そのものに関与する新たな機能を担う可能性を示すものであり、BCAT1 依存的ながん幹細胞維持機構の理解に新しい視点を与える。

第二に、がん幹細胞および正常造血幹細胞における BCAA 代謝の重要性を検討するため、BCAA 結合により FRET シグナルを示すバイオセンサー-OLIVE を全身発現するトランスジェニックマウスを樹立し、骨髓細胞を用いた解析を行った。その結果、骨髓球系細胞、リンパ球系細胞、前駆細胞、造血幹細胞画分などを細胞表面マーカーによって定義し比較すると、FRET 比が高い、すなわち細胞内 BCAA 濃度が高い細胞は造血幹細胞画分に濃縮していた。さらに、FRET 比高値ドナー細胞と低値ドナー細胞を用いた移植実験では、高 FRET 比ドナーが高い骨髓再構築能を示した一方、低 FRET 比ドナーでは骨髓再構築能はほぼ認められなかった。これらの結果から、細胞内 BCAA 濃度が高い状態は、少なくとも正常造血幹細胞の機能維持と密接に関連することが示された。この知見は、BCAT1/BCAA 経路が LSC だけでなく HSC においても幹細胞性に関与する可能性を示す一方、どの分子機構が正常幹細胞と白血病幹細胞で共通し、どの部分が腫瘍特異的であるかを見極める上で重要な基盤となる。今後は、樹立済み PDX 株を用いて BCAT1 下流因子の機能解析、CD34・CD38・GPR56 など LSC 関連マーカーの変化の検証、ならびに薬理学的介入による白血病維持能への影響評価を進め、今年度得られた局在制御および BCAA 濃度依存性の知見がヒト白血病検体においても成り立つかを検討する予定である。