

急性骨髄性白血病を促進する新たな分子メカニズムの解明：
(変異型 ASXL1 と BAP1 が形成するポジティブ・フィードバック・ループによる白血病発症促進機構の解明)

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：

- ◆ 変異型 ASXL1 が BAP1 と協調して白血病を促進する分子メカニズムを解明した。
- ◆ がん抑制遺伝子とされてきた BAP1 が、骨髄性白血病では変異型 ASXL1 と協調して白血病を促進する役割を果たすことを見出した。
- ◆ 急性骨髄性白血病の新たな治療標的として、BAP1 を同定した。今後、BAP1 を標的とする治療薬の開発が期待される。

3. 発表概要：

近年の遺伝子解析技術の発達により、造血器腫瘍における様々な遺伝子変異が同定されてきた。ASXL1 は骨髄性腫瘍で高頻度に変異を認める遺伝子であり、その変異は予後不良因子であることが知られている。しかしながら、ASXL1 変異が白血病発症を促進する分子メカニズムは明らかではなかった。

今回、東京大学医科学研究所の北村俊雄教授、合山進准教授、浅田修平特任研究員のグループは、変異型 ASXL1 が BAP1 と協調して急性骨髄性白血病を促進する分子メカニズムを明らかにした。また、ASXL1 変異を持つ白血病細胞や HOXA 遺伝子が高発現している白血病細胞に対し、BAP1 の阻害が強い治療効果を示すことを見出した。これらの研究成果は、今後、急性骨髄性白血病に対する BAP1 を標的とした新規治療戦略の開発につながる事が期待される。

4. 発表内容：

研究の背景

急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia: AML）に対する治療法はここ 40 年ほど変化がなく、新たな治療法の開発が臨床上の急務である。ASXL1 遺伝子は急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndromes: MDS）、慢性骨髄単球性白血病（chronic myelomonocytic leukemia: CMML）などの骨髄系腫瘍で高頻度に変異を認め、その変異は予後不良因子であることが知られている。

本研究室では以前に、変異型 ASXL1 の過剰発現が MDS の発症を惹起し、また変異型 SETBP1 と協調して AML への形質転換を促進することをマウスモデルを用いて明らかにしてきた。しかしながら、変異型 ASXL1 自身には酵素活性がなく、骨髄性白血病を促進する詳細な分子メカニズムは明らかではなかった。また、予後不良因子である ASXL1 変異を持つ骨髄性腫瘍に対する特異的な治療法は、これまでに開発されていない。

研究内容

生化学的手法により、BAP1 が変異型 ASXL1 蛋白のモノユビキチン化（注1）を誘導することを明らかにした。また、モノユビキチン化された変異型 ASXL1 は BAP1 の機能を高め、細胞内で広範なヒストン H2AK119ub の低下を引き起こした。これらの結果は、変異型 ASXL1

と BAP1 がポジティブ・フィードバック・ループを形成し、お互いの機能を高めていることを示している。このような相互作用は、野生型 ASXL1 では認められなかった。

次に、変異型 ASXL1/BAP1 複合体が造血前駆細胞の分化に及ぼす影響を調べるため、マウスおよびヒトの造血細胞を用いて分化誘導実験を行なった。その結果、変異型 ASXL1/BAP1 複合体は、マスト細胞、マクロファージ、赤血球、顆粒球への分化を著明に阻害し、一方で未熟な単球への分化を促進することが判明した。この結果は、ASXL1 変異が CMML に極めて高頻度に存在するという臨床的観察結果と一致する。

次に、白血病原因融合遺伝子 RUNX1-ETO 白血病モデルを用いて、変異型 ASXL1/BAP1 複合体による腫瘍原性を評価した。その結果、変異型 ASXL1 が RUNX1-ETO 融合遺伝子による白血病発症を促進すること、そして白血病発症促進には変異型 ASXL1 のモノユビキチン化が重要であることが明らかとなった。また、BAP1 の強制発現は、変異型 ASXL1 の白血病発症誘導能をさらに上昇させた。以上の結果は、変異型 ASXL1/BAP1 複合体が強い造腫瘍活性を有することを示している。

続いて、RNA シーケンス (RNA-seq) およびクロマチン免疫沈降法により、変異型 ASXL1/BAP1 複合体の標的遺伝子として、HOXA5, HOXA7, HOXA9 および IRF8 を同定した。変異型 ASXL1/BAP1 複合体はこれらの標的遺伝子のプロモーター領域に直接結合し、ヒストン H2AK119ub の脱ユビキチン化を介した遺伝子発現の脱抑制を行うことで、これら標的遺伝子の発現を誘導していた。また、HOX 遺伝子は主に白血病発症に、IRF8 は単球系の分化促進に寄与していることを明らかにした。

最後に、ASXL1 変異を持つ白血病細胞における内在性 BAP1 の役割を評価した。変異型 ASXL1 および変異型 SETBP1 を導入して作製したマウス白血病細胞において、CRISPR-Cas9 を用いて内在性 Bap1 をノックアウトしたところ、HOXA 遺伝子群の発現および白血病発症能が低下した。さらに、変異型 ASXL1 発現白血病細胞と同様に HOXA 遺伝子群に強く依存している MLL 転座型白血病 (注2) のマウスモデルを用いて、Bap1 の欠失誘導が同様に増殖抑制効果を示すことを示した。これらマウスモデルで得られた結果と同様に、変異型 ASXL1 および MLL 転座を持つヒト白血病細胞株においても、内在性 BAP1 のノックアウトによる増殖能の著明な低下を認めた。

以上より、変異型 ASXL1 が BAP1 と協調して骨髄性白血病の発症を促進することを明らかにした。また、ASXL1 変異型白血病や HOXA 遺伝子群を高発現している白血病に対し、BAP1 の機能阻害が治療効果を示すことを見出した。

社会的意義

急性骨髄白血病は未だに予後不良な疾患であり、化学療法により根治を見込める症例はごく一部に限られている。また、再発時に使用できる薬剤の選択肢も限られており、分子メカニズムに基づいた新規治療薬の開発は臨床的に極めて重要である。

今回の研究により、ASXL1 変異型および HOXA 遺伝子高発現型の白血病に対し、BAP1 の阻害が有効であることが示された。今後、急性骨髄性白血病に対する BAP1 を標的とした新規治療戦略の開発が期待される。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Nature Communications」 (7月16日オンライン版掲載)

論文タイトル：Mutant ASXL1 cooperates with BAP1 to promote myeloid leukaemogenesis.

著者：Shuheï Asada, Susumu Goyama, Daichi Inoue, Shiori Shikata, Reina Takeda, Tsuyoshi Fukushima, Taishi Yonezawa, Takeshi Fujino, Yasutaka Hayashi, Kimihito Cojin Kawabata,

Tomofusa Fukuyama, Yosuke Tanaka, Akihiko Yokoyama, Satoshi Yamazaki, Hiroko Kozuka-Hata, Masaaki Oyama, Shinya Kojima, Masahito Kawazu, Hiroyuki Mano, and Toshio Kitamura*

DOI 番号 : 10.1038/s41467-018-05085-9

アブストラクト URL : <https://www.nature.com/articles/s41467-018-05085-9>

6. 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

7. 用語解説 :

注1) モノユビキチン化 : 蛋白質が mRNA から翻訳された後に受ける翻訳後修飾の一つであり、一般にモノユビキチン化を受けた蛋白質は、異なった DNA 損傷への応答、異なったシグナル伝達系への応答、細胞内局在の変化など新たな機能を獲得する。

注2) MLL 転座型白血病 : 染色体転座により、MLL 遺伝子と異なる遺伝子が融合することで生じる融合遺伝子が原因となる白血病であり、極めて予後不良な白血病のサブタイプの1つである。