

ヒト白血病幹細胞特異的代謝特性を標的とした治療法の確立

九州大学病院 遺伝子・細胞療法部 講師
菊繁 吉謙

本研究遂行過程で、マルチオミクス解析によるがん幹細胞の不均一性維持機構の解明に取り組んだ。オミクス解析の一つの柱であるメタボローム解析を純化した CD34+AML 細胞および同一の表面形質を有する CD34+急性リンパ芽球性白血病(ALL)細胞と CD34+正常造血幹前駆細胞(HSPC)を用いて行い、正常および悪性造血幹細胞の代謝産物データベースの構築を行った。その結果、分岐鎖アミノ酸(BCAA)の細胞内含有量が、AML と ALL で共通して正常 CD34+HSPCs よりも非常に高いことを見出した。この機構として CD34+AML/ALL 細胞がアミノ酸トランポーターおよび代謝酵素を異所性に高発現し、このアミノ酸代謝経路を利用していることを確認した。また、ヒト AML および ALL を異種移植により免疫不全マウス内で再構築した後に、食餌中 BCAA 制限を行うことで *in vivo* におけるヒト AML/ALL の増殖が抑制され、特に AML においては CD34+CD38⁻白血病幹細胞分画が選択的に減少した。さらに連続移植実験系における腫瘍再構築能力が著明に低下することを見出した。興味深いことに2次移植マウスにおいては BCAA 食餌制限を全く行っていないにも関わらず、移植したヒト AML/ALL 細胞の幹細胞性が強力に減弱していることから、cell-intrinsic な機構により幹細胞性が損なわれている可能性が考えられた。この cell-intrinsic な BCAA 代謝による白血病幹細胞性制御機構を解明するために、BCAA 代謝阻害前後での網羅的遺伝子発現変化を解析したところ、GSEA 解析により幹細胞 (ES,iPS 細胞) における PRC2 標的遺伝子の発現が亢進することを見出した。これらの遺伝子は、未分化性維持のために PRC2 が制御する H3K27me3 のヒストン修飾により適切に発現が抑制されるべき遺伝子群であった。そこで、我々は BCAA 代謝が PRC2 分子の機能を制御しているという仮説を立てた。ロイシンのアナログとして BCAA 代謝の薬理的阻害剤として利用される gabapentin を用いて、ヒト AML,ALL 細胞において BCAA 代謝を阻害して、その前後で H3K27me3 に対する抗体を用いた ChIP-Seq 解析を行ったところ、既知の幹細胞関連の PRC2 標的遺伝子近傍において BCAA 代謝阻害によりヒストンの H3K27me3 修飾レベルが低下することを確認した。すなわち、BCAA 代謝阻害により PRC2 の機能抑制が生じることで、本来幹細胞性維持のために抑制されるべき標的遺伝子群の発現が誘導されることを見出した。次に BCAA 代謝による PRC2 機能制御メカニズムの解明のためにヒト白血病細胞株を BCAA-free 培地で培養し、網羅的遺伝子発現解析をおこなったところ、PRC2 コンポーネントの中でも EZH2 と EED という2つのコアコンポーネントの mRNA 発現が低下していることを見出した。これらのデータから、BCAA 代謝活性が EZH2 と EED 遺伝子の転写維持に必

要であることが考えられた。そこで、白血病細胞株および患者由来 AML、ALL 細胞を *in vitro* で培地の BCAA 濃度を減らした条件で培養すると、EZH2,EED の転写が抑制され、タンパクレベルでも EZH2 および EED の低下が生じることを確認した。また、上述の BCAA 食餌制限をおこなったマウス内で再構築したヒト AML,ALL 細胞においても転写レベルで EZH2,EED の発現低下およびその結果としてのタンパクの低下が確認された。この現象は他の必須アミノ酸を制限した場合には認められないことから、BCAA 代謝に特異的な現象であると考えられた。すなわち、ヒト AML,ALL においては共通の白血病幹細胞性維持機構として活性化 BCAA 代謝が存在し、この BCAA 代謝は PRC 2 のコアコンポーネントである EZH2,EED の発現を制御することで、エピジェネティックに幹細胞関連遺伝子発現を制御することを見出した。