

論文の内容の要旨

論文題目 造血幹・前駆細胞において変異型 *ASXL1* はミトコンドリアの機能異常と ROS による DNA 損傷を惹起する

氏名 藤野 赳至

ASXL1 (*Addition of Sex Combs Like1*) 遺伝子の体細胞変異は、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)、骨髄増殖性疾患 (Myeloproliferative neoplasms; MPN)、および急性骨髄性白血病 (Acute myelogenous leukemia; AML) を含む骨髄系腫瘍でしばしば検出される。*ASXL1* 変異単独では白血病の発症は誘導されないが、腫瘍発症の過程で最も早期に起こる事象の一つであることが示唆されている。さらに、近年の報告において *ASXL1* 変異は加齢に伴うクローン性造血 (Clonal hematopoiesis; CH) で認められ、造血器腫瘍の発症リスクが上昇することが明らかとなっている。しかしながら、*ASXL1* 変異がどのように白血病の発症に寄与しているのかはあまり理解されていない。本研究では、C 末端を欠失した変異型 *ASXL1* (*ASXL1*-MT) を造血器特異的に発現するコンディショナルノックイン (cKI) マウスの解析を行い、*ASXL1*-MT が造血幹・前駆細胞 (Hematopoietic stem and progenitor cells; HSPC) に及ぼす影響について検討した。

ASXL1-MT cKI マウスでは、多能性前駆細胞 (Multipotent progenitors; MPPs) や長期造血幹細胞 (Long-term hematopoietic stem cells; LT-HSCs) を含む、HSPC 分画の細胞が著明に減少していた。競合的移植実験より、*ASXL1*-MT cKI マウスでは HSPC の造血再構築能が低下していることが示された。アポトーシスの検討により、*ASXL1*-MT は主にアポトーシスを誘導することによって、HSPC の減少を引き起こすことが示唆された。さらに、細胞周期の解析では静止期にある HSC の減少が認められ、造血再構築能の低下に寄与している可能性が考えられた。

次に、*ASXL1*-MT を発現する HSPC の機能障害の原因を、ミトコンドリアにおける代謝とい

う観点から解析した。ASXL1-MT を発現する HSPC では、ミトコンドリアの膜電位が上昇するとともに酸素消費量が増加していた。また、メタボローム解析により LSK (Lin⁺Sca1⁺c-kit⁺) 細胞の代謝産物を網羅的に解析すると、ATP や TCA サイクルを構成する代謝産物のプールが増加していた。さらに、RNA シークエンス解析では、ミトコンドリア関連遺伝子の発現が有意に上昇していた。以上の結果から、ASXL1-MT を発現する HSPC ではミトコンドリアの生合成が増加し、好氣的代謝によるエネルギー産生が亢進していることが明らかとなった。

ミトコンドリアは活性酸素 (Reactive oxygen species; ROS) の主要な産生源であり、その増加によって DNA 損傷が引き起こされることが知られている。ミトコンドリアの活性化から予測される通り、ASXL1-MT を発現する HSPC では ROS と DNA 損傷が増加していることが分かった。抗酸化物質である N-アセチルシステイン (N-acetylcystein; NAC) を投与すると、ASXL1-MT 発現細胞の ROS と DNA 損傷は減少し、造血再構築能が回復することが明らかとなった。したがって、ASXL1-MT cKI マウスにおける HSPC の機能低下は、ROS の増加とそれに伴う DNA 損傷が原因であると考えられた。

DNA 損傷を引き起こすような遺伝子発現の変化を探索するため、RNA シークエンス解析のデータを参照したところ、ASXL1-MT を発現する LSK 細胞では転写因子である Foxo1 とそのターゲット遺伝子の発現が低下していることが分かった。ASXL1-MT を有する骨髓 Lin⁺細胞に Foxo1 を過剰発現させて移植すると、 γ -H2AX の発現が抑制されるとともに、生着が向上することが明らかとなった。当研究室の過去の知見より、ASXL1-MT cKI マウスでは H3K4me3 が著明に減少することが明らかとなっている。また、ChIP シークエンス解析では、ASXL1 の結合部位と H3K4me3 に強い相関が認められることから、ASXL1-MT が H3K4 トリメチル化を阻害することが示唆されている。Foxo の遺伝子座について調べたところ、ASXL1-MT が結合するとともに、H3K4me3 の著明な減少が確認された。したがって、ASXL1-MT は H3K4 トリメチル化の阻害を通じて Foxo の発現を減少させ、HSPC の機能を低下させていると考えられた。まとめると、ASXL1 変異による DNA 損傷の増加と造血再構築能の低下は、H3K4me3 の減少

による Foxo1 の発現低下が一因となっていることが示唆された。

本研究の結果は、*ASXL1* 変異が新たな変異を促進することを示唆しており、*ASXL1* 変異が骨髄系腫瘍の発症過程で早期に起こる事象である理由を説明し得る可能性がある。また、*ASXL1* 変異を有する CH や骨髄系腫瘍の治療に、新たな知見を与えるものと考えられる。