

審査の結果の要旨

氏名 藤野 赴至

本研究は、骨髄系腫瘍やクローン性造血でしばしば認められる *ASXL1* 遺伝子の変異が腫瘍発症に寄与する機序を明らかにするため、変異型 *ASXL1* コンディショナルノックイン (*ASXL1-MT cKI*) マウスを用いた系にて、この問題に代謝という観点からアプローチし、下記の結果を得ている。

- 1、*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、造血幹・前駆細胞 (Hematopoietic stem and progenitor cells; 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。
- 2、*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。
- 3、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。予想される通り、*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。
- 4、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 を有する骨髄 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。また、ChIP シークエンス解析では、*Foxo* の遺伝子座において 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。

以上、本論文は ASXL1-MT cKI マウスの解析により、ASXL1-MT が造血幹・前駆細胞分画においてミトコンドリアの異常な活性化を惹起し、ROS による DNA 損傷を引き起こすことを明らかにした。本研究の結果は、ASXL1 変異を有するクローン性造血や骨髄系腫瘍における腫瘍発症の機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。