

感染症と慢性期 CML の造血に共通する C/EBP β の発現亢進

— CML 幹細胞の枯渇をめざす取り組み —

(文責:輸血細胞治療部 林 嘉宏、平位秀世)

慢性骨髄性白血病(Chronic Myeloid Leukemia, CML)は 9 番、22 番染色体の相互転座の結果生じる BCR-ABL 融合タンパクが持つ恒常的チロシンキナーゼ活性が原因で発症します。分化・成熟を伴う顆粒球を中心とした骨髄系細胞の過剰産生を特徴とする慢性期から、芽球増加が見られる急性転化へと病期が進行すると予後は極めて不良となります。CML の治療成績は Imatinib を始めとした ABL 特異的チロシンキナーゼ阻害剤(tyrosin kinase inhibitor, TKI)の出現により飛躍的に改善しました。慢性期 CML 患者の多くは TKI 内服の継続によって異常な骨髄系細胞増殖が抑制され、寛解状態を維持することが可能となりました。しかし、長期間にわたり分子遺伝学的寛解を維持した症例においても、TKI を休薬すると約 60%で分子遺伝学的寛解の喪失を認めたとする報告があり、根治を目指した治療戦略の開発が大きな課題となっています。最近になり CML の病態形成における CML 幹細胞の存在が注目されています。CML 幹細胞は正常の造血幹細胞と同様に自己複製能と多分化能を持ち、TKI に対する感受性が低いため治療後も体内に残存し、治療抵抗性、治療後の再発や新たな遺伝子異常蓄積による病期移行の原因となります。したがって、CML 幹細胞の性状と制御機構の解明がこれらの課題克服において重要となります。

造血幹細胞は自己複製能と多分化能を持ち、生涯にわたる造血を維持しています。造血幹細胞から造血前駆細胞を経て、成熟血液細胞へと分化・成熟が進む過程は、様々な転写因子による厳密な制御を受けています。そのうち、顆粒球系造血の制御に関与する転写因子として CCAAT Enhancer Binding Protein (C/EBP)ファミリーの遺伝子群が知られています。メンバーの一つである C/EBP α の欠損マウスでは成熟好中球を認めないことから、定常状態における顆粒球造血においては C/EBP α が必須の因子とされています。一方で、感染症などの緊急時に顆粒球造血が亢進する状況では、C/EBP β が中心的な役割を果たし、造血幹・前駆細胞の増殖に関与していることを我々は明らかにしています(Nature Immunology 2006, Journal of Immunology 2012)。

感染症などの緊急時における顆粒球造血の亢進は類白血病反応と呼ばれ、時に慢性期 CML との鑑別が必要となります。このように感染に応答して骨髄系細胞の産生が亢進する際には、上述のように転写因子 C/EBP β が必須となります。一方で、緊急時と同様に分化と成熟を伴う骨髄系細胞の過剰産生を認める慢性期 CML の病態における C/EBP β の関与については全く解明されていませんでした。そこで我々は、慢性期 CML における C/EBP β の発現制御機構と機能的意義について検討を行いました。

慢性期 CML 患者の骨髄細胞から細胞ソーティングにより純化した造血幹細胞、骨髄系前駆細胞の全分画において、C/EBP β mRNA の発現が健常人ドナーと比べて亢進していました。BCR-ABL が C/EBP β の発現制御に関与しているかどうかを明らかにするために、マウスの造血幹細胞の細胞株(EML 細胞)に BCR-ABL を遺伝

子導入すると、C/EBP β mRNA およびタンパクの発現がコントロールに比べて有意に亢進しました。この発現亢進は、TKI である Imatinib の添加で抑制されました。BCR-ABL を導入していない親株においては Imatinib 添加による C/EBP β の発現変化は認めませんでした。これらの結果から、C/EBP β の発現亢進は BCR-ABL による直接的な制御によるものと考えられました。

次に、慢性期 CML の病態で見られる骨髄系細胞の増殖亢進における C/EBP β の意義を明らかにするために、C/EBP β ノックアウト(KO)マウスの骨髄細胞に BCR-ABL を遺伝子導入して、*in vitro* でのコロニー形成法、*in vivo* での骨髄移植実験を行い、野生型マウスの結果と比較しました。コロニー形成法において、C/EBP β KO 細胞は野生型に比べて小さなコロニーを形成し、増殖の遅延が認められました。コロニーを形成している細胞をフローサイトメトリーを用いて解析したところ、c-Kit(未分化細胞のマーカー)陽性率が高く、CD11b(骨髄系分化のマーカー)陽性率は低いという結果が得られ、C/EBP β KO 細胞では増殖のみならず分化も遅延するということが判明しました。さらに、C/EBP β KO 細胞を移植したマウスは、野生型細胞を移植したマウスよりも白血球増加と脾腫の進行が遅くなりました。その際、白血病を再構築する能力を持つ細胞(CML 幹細胞)の頻度を計算したところ、C/EBP β KO 細胞を移植したマウスでは、野生型に比べて約 2 倍となっていました。これらの結果から C/EBP β が骨髄系への分化・増殖を促すことで CML 幹細胞を減少させる働きを持つことが示唆されました(Hayashi Y et al. Leukemia 2013)。

今回の検討結果から、C/EBP β の発現は BCR-ABL により亢進しており、CML 幹細胞から骨髄系細胞への分化・増殖を促すことで、慢性期 CML の病態形成に深く関与しているということがわかりました。本研究の成果により、C/EBP β は CML 幹細胞を減少させる作用を持つことが示唆されるため、CML 幹細胞レベルにおいて C/EBP β の発現を効果的にさらに亢進させて分化・増殖を誘導することができれば、既存の TKI と組み合わせることで、CML の根治につながる病態制御が可能となるかもしれません。現在、CML 幹細胞において C/EBP β の発現を亢進させるファクターおよび詳細な機序についての検討を進めています。