## 47 前白血病の進行に寄与するnon-genetic因子の解明

福島県立医科大学 医学部 輸血・移植免疫学講座　植田　航希

**【背景】**急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia：AML）を発症する患者は、発症の数年異常前から造血細胞に遺伝子変異を持つ前白血病状態にある。前白血病には臨床症状や血算異常を来さないクローン性造血と、骨髄増殖性腫瘍（myeloproliferative neoplasms：MPN）・骨髄異形成症候群などの血算異常をきたす病態があるが、いずれも白血病細胞の無秩序な増殖はきたさず、こうした前白血病のごく一部だけがAMLに進行する。前白血病からAMLへ進行する患者の造血細胞に生じる変化としては、新たな遺伝子変異の出現が最もよく研究されており、それ以外の要素に関してはあまり研究されていない。

**【目的】**前白血病からAMLに進行する際に造血幹細胞に生じる変化、特に遺伝子変異以外のnon-genetic因子の特徴を解明し、それを標的とした、AML発症予防法の開発につなげる。

**【方法】**　前白血病を経て12〜18ヶ月でAMLを発症するマウスモデルを用いた。

モデル1. *Calr* $^{10d/+}$; *Ezh2* $^{-/-}$マウス: MPNの約30%の患者に認められる*CALR*のフレームシフト変異を持つマウスは単独では軽症のMPNを発症するのみである。患者では、これに*EZH2*機能喪失型変異などのポリコーム機能異常につながる変異が加わるとAMLへの進行率が上昇する。我々のマウスモデルでも、*Calr* $^{10d/+}$; *Ezh2* $^{-/-}$マウスの約50%が中央値18ヶ月でAMLを発症し、残りの50%は重症MPNで死亡した。そこで、AMLを発症したマウスとMPNで死亡したマウスの造血幹細胞分画のRNA-seqを行い、AML発症に重要なシグナル変化の検出を試みた。

モデル2. クローン性造血で2番目に高頻度に認められる*TET2*の機能喪失型変異を再現する*Tet2* $^{-/-}$マウスと、AMLで高頻度に発現が上昇しているMDMXを過剰発現するマウス（*Mdmx*-Tg）を交配すると、20ヶ月近い前白血病期を経てAMLを発症する（Ueda et al. Cancer Cell. 2021）。前白血病期の*Tet2* $^{-/-}$;*Mdmx*-Tgマウス骨髄を野生型レシピエントに移植した場合も同様に20ヶ月近い前白血病期を経てAMLを発症する。一方、クローン性造血やMPNで高頻度に認められる別の遺伝子変異である*JAK2*-V617F変異を持つマウス（*Jak2* $^{V617F/+}$）の骨髄と*Tet2* $^{-/-}$;*Mdmx*-Tgマウス骨髄を競合的に移植したところ、*Tet2* $^{-/-}$;*Mdmx*-Tgマウス骨髄単独の移植よりも早期に12ヶ月程度でAMLを発症したが、AML発症時には*Jak2* $^{V617F/+}$細胞は消失していた。このことから、AML発症時には消失する*Jak2* $^{V617F/+}$細胞が、前白血病期の*Tet2* $^{-/-}$;*Mdmx*-Tg造血幹細胞（前白血病幹細胞：pre-LSC）に対して、AMLへの転化を促すような何らかの細胞間相互作用を及ぼしていた可能性が高い。そのような作用がなんであるかを確認するため、*Jak2* $^{V617F/+}$細胞を競合的に移植した群としなかった群のpre-LSCをセルソーターで分取してRNA-seqを行った。

**【結果】**RNA-seqの結果、AML発症マウスの造血幹細胞（白血病幹細胞：LSC）および将来AMLへの進行をきたすモデルのpre-LSCにおいては、進行しなかったモデルのpre-LSCと比較して細胞機能に関わるいくつかのシグナル上昇が認められた（具体名は現時点ではマスク）。これらはいずれもAML発症との関連性が報告されているシグナルである。現在は、特にモデル2において、これらのシグナルが細胞間相互作用により引き起こされたことを証明するため、細胞バーコードを用いたpre-LSCクローンの経時的追跡を行っている。

**【考察】**AMLを発症する前のpre-LSCにはすでにAML発症につながるシグナル変化が生じている可能性が高い。しかし、そのようなシグナル変化をきたすことがAML発症に必須であることを示すためには、pre-LSCクローンを経時的に追跡する必要があり、細胞バーコードを用いた移植実験の技術的な調整を行っている。

**【発表】**2024年12月　米国血液学会、ポスター発表