

令和 5 年 5 月 8 日現在

機関番号：22701  
研究種目：基盤研究(B)（一般）  
研究期間：2020～2022  
課題番号：20H03714  
研究課題名（和文）ミトコンドリアダイナミクスによる白血病幹細胞制御機構の解明と新規治療への応用  
  
研究課題名（英文）Regulation of leukemic stem cells by mitochondrial dynamics  
  
研究代表者  
中島 秀明（NAKAJIMA, Hideaki）  
  
横浜市立大学・医学研究科・教授  
  
研究者番号：30217723  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：O結合型 -N-アセチルグルコサミン(O-GlcNAc)転位酵素(OGT)は蛋白質のO-GlcNAc修飾を司る酵素であるが、OGTを欠失した造血幹細胞(HSC)ではマイトファジーによるミトコンドリアダイナミクスの異常からHSC維持ができないことが明らかとなった。またAMLの化学療法抵抗性に関わる遺伝子異常ではミトコンドリア機能が亢進し、その背景にc-Mycの機能亢進が関わることを明らかにした。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、AMLにおける化学療法抵抗性のメカニズムの一端が明らかとなった。特にAML治療におけるキードラッグであるAra-Cの抵抗性メカニズムの一つを明らかにできたことから、予後不良AMLに対する新規薬剤開発や新たな治療戦略開発につながることを期待される。またOGTのHSC維持における役割を解明したことにより、OGTが白血病幹細胞(LSC)の生成・維持に重要な役割を担っていることが示唆され、将来的なLSC制御法開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：O-linked -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) transferase (OGT) catalyzes O-GlcNAc modification of target proteins. We revealed that OGT-deficient HSCs could not be maintained in vivo due to defects in mitochondrial dynamics through mitophagy dysregulation. In addition, we found that genetic abnormality associated with chemoresistance in acute myeloid leukemia induces mitochondrial activation through c-Myc hyperactivation.

研究分野：血液学

キーワード：白血病 白血病幹細胞 ミトコンドリア ミトコンドリアダイナミクス マイトファジー

## 1. 研究開始当初の背景

白血病は、造血幹前駆細胞がさまざまな遺伝子変異を蓄積することにより発症する造血器悪性腫瘍である。白血病は白血病幹細胞 (leukemic stem cell; LSC) と呼ばれる、自己複製能を有するごく少数の細胞により生成・維持されている。LSCの多くはdormantな状態にあり、化学療法抵抗性で白血病再発の原因ともなる。これらのことから、LSC生成・維持に関わる分子メカニズムを解明し、それらを標的としたLSC根絶法を開発することは白血病治療成績の向上に必須である。

LSCの生成・維持には様々なシグナル経路、エピゲノム、転写因子の異常が関与しているが、さらに近年はLSC特異的な代謝/エネルギー特性も明らかにされてきている。正常HSCはエネルギー供給を解糖系に依存しているが、それに対して白血病細胞はその多くをミトコンドリアによる酸化的リン酸化に依存しているとされる。しかしその重要性にも関わらず、LSCにおけるミトコンドリア制御の分子メカニズムの詳細については不明な点が多い。ミトコンドリアダイナミクスは、1) 生合成、2) 分裂 (fission)、3) 融合 (fusion)、4) マイトファジー、の4つのステップで制御されており、これにより細胞内のミトコンドリア量調節や品質管理 (quality control) が行われている。しかしながらLSCの生成・機能維持において、ミトコンドリア制御がどのような役割を果たしているのか、詳細は不明である。過去にミトコンドリアの酸化的リン酸化と白血病の関連についていくつかの報告があるものの、その制御メカニズムに関する報告はほとんどない。

一方、タンパク質の糖鎖修飾に関わるO結合型 $\beta$ -N-アセチルグルコサミン(O-GlcNAc) 転位酵素 (OGT) は蛋白質のO-GlcNAc修飾を司る酵素であるが、OGTは様々な細胞機能を制御すると同時に解糖系・ミトコンドリアなどのエネルギー代謝にも深く関わっており、造血幹細胞 (HSC) やLSCとの関連が予想される。さらに急性骨髄性白血病 (AML) では治療抵抗性・再発と様々な遺伝子の関連が示唆されており、一部は予後不良因子として治療選択の基準にも用いられている。これら因子がいかに治療抵抗性につながっているのか、それらがLSCのミトコンドリアダイナミクスやエネルギー代謝とどのような関係にあるのかは明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ミトコンドリアダイナミクスがLSC制御にいかに関わっているのか、その分子メカニズムを明らかにし、その生成・維持、生物学的特性、治療反応性との関連の詳細を明らかにすることである。また酸化的リン酸化とLSCとの関連、さらにはLSCの化学療法抵抗性についてその分子メカニズムを解明することを目指す。これらを通じて、将来的なミトコンドリアダイナミクスを標的としたAMLの新規治療薬創出につなげ、AML治療成績の向上へつなげることを目標とする。

## 3. 研究の方法

### 1) HSC 機能と OGT

HSC において OGT を条件特異的に欠失させ、HSC の維持・機能に与える影響を *in vitro*, *in vivo* で詳細に解析する。

### 2) AML の化学療法抵抗性とミトコンドリア機能

一部の治療抵抗性 AML で過剰発現し、予後不良因子として知られている遺伝子 X に焦点を

あて、遺伝子 X がいかに AML 細胞の治療抵抗性をもたらしているのか、その分子メカニズムを検討する。具体的には、遺伝子 X を野生型マウス骨髄細胞や MLL-AF9 融合遺伝子でトランスフォームしたマウス AML 細胞に過剰発現させ、その細胞形質に与える影響を細胞増殖アッセイ、コロニーアッセイ、FACS、in vivo モデルなどで明らかにすると同時に、遺伝子発現の変化を RNA シーケンス / GSEA 解析で明らかにする。また同時に解糖系、ミトコンドリアを中心としたエネルギー代謝の変化を flux analyzer を用いて検討する。

#### 4 . 研究成果

1 ) マウスにおいて OGT を造血系特異的に欠失させると、骨髄中の HSC/HPC を含む造血幹前駆細胞・骨髄系前駆細胞分画が広範に減少し、末梢血では汎血球減少が見られた。また OGT を欠失させた HSC をレシピエントマウスに移植すると全く生着がみられず、OGT は HSC の長期骨髄再建能・維持に必須であることが明らかとなった。これらの分子メカニズムを解析したところ、OGT を欠失した HSC ではマイトファジーによるミトコンドリアダイナミクスが異常となり HSC 維持ができなくなっていることが明らかとなった。

2 ) 遺伝子 X を過剰発現させた MLL-AF9 細胞 ( MF9/X ) は、細胞増殖アッセイ、コロニーアッセイにおいて、AML 治療のキードラッグである Ara-C に対する抵抗性を獲得しており IC50 が有意に上昇していた。RNA シーケンス / GSEA 解析では MF9/X 細胞は親株に比べて酸化的リン酸化が著明に亢進しており、ミトコンドリア膜電位の上昇、活性酸素種の産生亢進が見られた。そこでメトフォルミンなどの薬剤を用いて酸化的リン酸化を抑制すると、MF9/X 細胞の Ara-C 抵抗性は解除された。さらに MF9/X では親株と比較して c-myc やグルタミントランスポーターが過剰発現しており、これらが Ara-C 耐性と相関していることが明らかとなった。

以上のことから、ヒトの AML において遺伝子 X の過剰発現はミトコンドリア機能異常から Ara-C 耐性を誘導し化学療法抵抗性をもたらしているものと考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Murakami K, Kurotaki D, Kawase W, Soma S, Fukuchi Y, Kunimoto H, Yoshimi R, Koide S, Oshima M, Hishiki T, Hayakawa N, Matsuura T, Oda M, Yanagisawa K, Kobayashi H, Haraguchi M, Atobe Y, Funakoshi K, Iwama A, Takubo K, Okamoto S, Tamura T, Nakajima H	4. 巻 34
2. 論文標題 OGT Regulates Hematopoietic Stem Cell Maintenance via PINK1-Dependent Mitophagy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108579 ~ 108579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108579	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Murakami Koichi, Sasaki Haruka, Nishiyama Akira, Kurotaki Daisuke, Kawase Wataru, Ban Tatsuma, Nakabayashi Jun, Kanzaki Satoko, Sekita Yoichi, Nakajima Hideaki, Ozato Keiko, Kimura Tohru, Tamura Tomohiko	4. 巻 22
2. 論文標題 A RUNX?CBF -driven enhancer directs the Irf8 dose-dependent lineage choice between DCs and monocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 301 ~ 311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-021-00871-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakajima Hideaki, Murakami Koichi	4. 巻 101-102
2. 論文標題 O-GlcNAcylation: Implications in normal and malignant hematopoiesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Hematology	6. 最初と最後の頁 16 ~ 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exphem.2021.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Harada Ibuki, Sasaki Haruka, Murakami Koichi, Nishiyama Akira, Nakabayashi Jun, Ichino Motohide, Miyazaki Takuya, Kumagai Ken, Matsumoto Kenji, Hagihara Maki, Kawase Wataru, Tachibana Takayoshi, Tanaka Masatsugu, Saito Tomoyuki, Kanamori Heiwa, Fujita Hiroyuki, Fujisawa Shin, Nakajima Hideaki, Tamura Tomohiko	4. 巻 11
2. 論文標題 Compromised anti-tumor?immune features of myeloid cell components in chronic myeloid leukemia patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18046-18055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-97371-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka A, Nakano TA., Nomura M, Yamazaki H, Bewersdorf JP., Yokoyama A, Zang W, Havermans M, Koizumi M, Hayashi Y, Cho H, Kanai A, Lee Stanley C., Xiao M, Koike Y, Zhang Y, Fukumoto M, Aoyama Y, Konuma T, Kunimoto H, Inaba T, Nakajima H, Honda H, Kawamoto H, Delwel R, Abdel-Wahab O, Inoue D	4. 巻 140
2. 論文標題 Aberrant EVI1 splicing contributes to EVI1-rearranged leukemia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 875 ~ 888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood.2021015325	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohashi Takuma, Aoki Jun, Ando Taiki, Ishiyama Yasufumi, Ishii Yoshimi, Miyashita Kazuho, Nakajima Yuki, Tachibana Takayoshi, Hagihara Maki, Matsumoto Kenji, Tanaka Masatsugu, Kanamori Heiwa, Fujisawa Shin, Nakajima Hideaki, Yokohama Cooperative Study Group for Hematology (YACHT)	4. 巻 57
2. 論文標題 Clinical impact of cigarette smoking on the outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a multicenter retrospective study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplantation	6. 最初と最後の頁 1124 ~ 1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-022-01678-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teshigawara-Tanabe Haruka, Hagihara Maki, Aoki Jun, Koyama Satoshi, Takahashi Hiroyuki, Nakajima Yuki, Kunimoto Hiroyoshi, Tachibana Takayoshi, Miyazaki Takuya, Matsumoto Kenji, Tanaka Masatsugu, Yamazaki Etsuko, Fujisawa Shin, Kanamori Heiwa, Taguri Masataka, Nakajima Hideaki	4. 巻 27
2. 論文標題 Clinical risk factors for patients with myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hematology	6. 最初と最後の頁 620 ~ 628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/16078454.2022.2052601	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tachibana Takayoshi, Tanaka Masatsugu, Hagihara Maki, Fujimaki Katsumichi, Kanamori Heiwa, Nakajima Hideaki	4. 巻 116
2. 論文標題 Outcomes in patients with acute lymphoblastic leukemia who underwent second allogeneic hematopoietic cell transplantation for relapse after first transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 594 ~ 602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-022-03377-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ahmed Nouraiz, Etzrodt Martin, Dettinger Philip, Kull Tobias, Loeffler Dirk, Hoppe Philipp S., Chavez James S., Zhang Yang, Camargo Ortega Germ?, Hilsenbeck Oliver, Nakajima Hideaki, Pietras Eric M., Schroeder Timm	4. 巻 219
2. 論文標題 Blood stem cell PU.1 upregulation is a consequence of differentiation without fast autoregulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 e20202490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20202490	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chavez JS., Rabe JL., Loeffler D, Higa KC., Hernandez G, Mills TS., Ahmed N, Gessner RL., Ke Z, Idler Beau M., Ni?o Katia E., Kim Hyunmin, Myers Jason R., Stevens BM., Davizon-Castillo P, Jordan CT., Nakajima H, Ashton J, Welner RS., Schroeder T, DeGregori J, Pietras EM.	4. 巻 218
2. 論文標題 PU.1 enforces quiescence and limits hematopoietic stem cell expansion during inflammatory stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 e20201169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20201169	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kunimoto Hiroyoshi, Fukuchi Yumi, Murakami Koichi, Ikeda Junji, Teranaka Hiroshi, Kato Ikuma, Miyazaki Takuya, Enaka Makiko, Mitsunashi Takayuki, Yamazaki Etsuko, Kameyama Kaori, Murata Mitsuru, Okamoto Shinichiro, Nakajima Hideaki	4. 巻 4
2. 論文標題 Establishment of a High-risk MDS/AML Cell Line YCU-AML1 and its Xenograft Model Harboring t(3;3) and Monosomy 7	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 HemaSphere	6. 最初と最後の頁 e469 ~ e469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/HS9.0000000000000469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunimoto Hiroyoshi, Nakajima Hideaki	4. 巻 112
2. 論文標題 TET2: A cornerstone in normal and malignant hematopoiesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 31 ~ 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14688	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunimoto Hiroyoshi、Nakajima Hideaki	4. 巻 98
2. 論文標題 Clonal hematopoiesis: Molecular basis and clinical relevance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia Research	6. 最初と最後の頁 106457 ~ 106457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.leukres.2020.106457	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	國本 博義  (KUNIMOTO Hiroyoshi)  (80464923)	横浜市立大学・医学部・助教    (22701)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

#### 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------