

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08403

研究課題名（和文）全身性鉄過剰症が骨髄造血および腫瘍進展に与える影響についての解析

研究課題名（英文）Impact of systemic iron overload on the bone marrow hematopoiesis and malignant progression.

研究代表者

鈴木 隆浩（Suzuki, Takahiro）

北里大学・医学部・教授

研究者番号：40345210

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：過剰鉄は活性酸素種の産生を介して臓器障害をきたす。本研究では鉄過剰マウスを作成し、過剰鉄による骨髄造血および造血器腫瘍発症への影響を解析した。鉄過剰マウスでは投与後、顆粒球系を中心とする白血球増加が認められ、骨髄における未分化造血コロニー数が減少していた。また、ゲノム不安定性の高いTP53ノックアウトマウスを用いた実験では、鉄過剰の有無によって腫瘍発生には差が認められなかったが、鉄過剰マウスは有意に多くの死亡が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

赤血球輸血は血液疾患において極めて重要な治療選択肢であるが、頻回の輸血は鉄過剰症をきたす可能性がある。鉄過剰症によって心臓・肝臓・内分泌腺に障害が発生することが従来より知られていたが、本研究によって未分化造血細胞をはじめとする骨髄における造血能にも影響があることが示唆された。本研究により、輸血後鉄過剰症症例における適切な除鉄療法の意義がより明確になったと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Iron overload induces organ dysfunction through production of reactive oxygen species. In this research, we generated iron overloaded mice and analyzed the impact of excess iron on the bone marrow hematopoiesis and generation of malignant tumors. In the iron overload mice, white blood cells, primarily neutrophils, increased significantly and in the bone marrow, proportion of immature colony forming cells decreased. Iron overloaded TP53 knockout mice, showed inferior survival, but incidence of malignant tumors including hematopoietic neoplasms was similar in our observation period.

研究分野：血液内科学

キーワード：鉄過剰症 造血障害 腫瘍発症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

鉄過剰症は輸血依存の造血不全症患者にとって無視できない合併症である。過剰鉄は活性酸素種の産生を介して肝臓、心臓、内分泌腺傷害を引き起こすが、近年除鉄による造血回復が数多く報告されるようになり、慢性的な全身性鉄過剰症による造血障害の可能性が指摘されてきた。しかし、何故体内から鉄を取り除くことで造血が回復するのかそのメカニズムについては、造血細胞自体への鉄の影響あるいは骨髄微小環境への影響などが推定されているものの、その詳細は明らかになっていない。鉄過剰症は赤血球輸血の合併症と考えられるが、鉄過剰症と造血の関連を明らかにすることができれば、輸血を必要とする造血器疾患の診療に大きな知見をもたらすことができると考えられる。

また、過剰鉄は活性酸素を産生することで核酸を傷害することが知られており、様々な固形癌の原因になることが知られている。しかし、造血器系腫瘍発生への影響については解析が行われおらず、鉄と造血器腫瘍の関連の有無は明らかではない。赤血球輸血は血液疾患における重要な治療選択肢の一つであるため、輸血による鉄過剰症と新たな造血器腫瘍発症の関連について知見を得ることは今後の医療にとって重要であると考えられる。

### 2. 研究の目的

鉄過剰症が骨髄造血能への与える影響について明らかにする

本研究では *in vitro* 実験系だけでなく、*in vivo* 生体モデル (鉄過剰マウス) を用いることで過剰鉄が骨髄造血に与える影響を明らかにし、赤血球輸血が造血幹細胞、あるいは骨髄微小環境に与える影響について検討することを目的とした。

過剰鉄が造血器腫瘍発症に与える影響について明らかにする。

本研究では、鉄過剰症マウスを作成してマウスの経過を観察し、造血器腫瘍発症の有無を検討することで、鉄過剰症が新たな造血器腫瘍発生に關与するのかどうかについて検討することも同時に目的とする。

### 3. 研究の方法

鉄過剰症による骨髄造血能への影響の解析

本研究ではマウスに鉄を投与し、鉄過剰症マウスの作成を行った。既に我々が報告したように (Okabe H, et al., Eur J Haematol. 2014; 93: 118-128.) 1回 25mg のデキストラン鉄を 4 週間計 8 回 C57BL/6J マウス腹腔内に注射し、総量 200mg の鉄を投与し、鉄過剰マウスを作成した。作成した鉄過剰マウスは経時的に末梢血採血を行い、白血球、赤血球 (ヘモグロビン)、血小板数の推移について経過を観察した。

また、鉄過剰作成後造血が安定した状況における骨髄造血能を解析するため、鉄投与開始後 4 ヶ月のマウスより骨髄細胞を採取し、FACS にて single cell sorting を行い単一細胞レベルでのコロニー産生能の確認を行った。

鉄過剰症による造血器腫瘍発症への影響の解析

鉄過剰マウスおよびブドウ糖を注射したコントロールマウスを長期間観察し、腫瘍発症の有無および生存期間について解析を行った。本実験においては、使用するマウスは、一般的な C57BL/6J マウスの他、鉄による遺伝子傷害の影響をより強く発現する条件を設定することを考え、TP53 ノックアウトマウスに鉄を投与する群も設定した。

### 4. 研究成果

鉄過剰症による骨髄造血への影響

A: 鉄投与後の末梢血の推移

鉄投与マウスの末梢血血球数の推移を観察したところ、個体差が比較的強く認められたが、投与後長期間経過した状況では (投与後約 100 日) 白血球数の有意な増加が認められ、白血球分画では骨髄系細胞の増加と

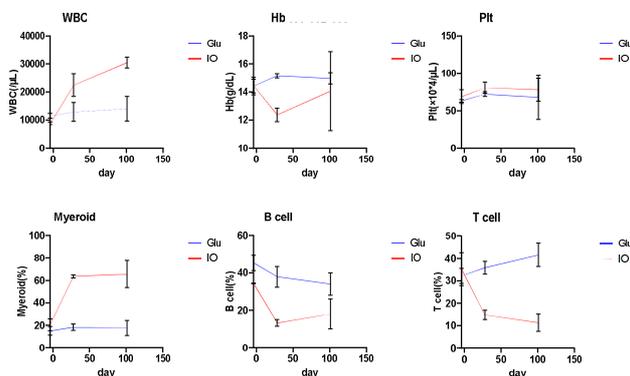


図1 鉄投与後の末梢血血球数の推移

リンパ系細胞の相対的減少が認められた(図1)。

### B: 骨髄未分化造血細胞の変化

また、骨髄未分化細胞をFACSで解析したところ、造血幹細胞分画に有意な差は認められなかったが、共通骨髄前駆細胞(CMP)および顆粒球前駆細胞分画(GMP)の増加が認められた(図2)。

さらに、single cellレベルにおけるコロニーアッセイを行ったところ、鉄過剰マウスでは最も未分化と考えられるnmEM分画の減少傾向が認められた(図3)。

以上の結果より、鉄過剰マウスでは未分化造血細胞の減少が認められ、骨髄系への分化が促進されることが示唆された。

本結果の機序としては、鉄による造血細胞への直接影響が考えられる他、鉄投与マウスでは腹腔内に炎症が発生するため、腹腔内炎症によって引き起こされた反応性炎症状態が影響している可能性がある。鉄による造血への影響が造血幹細胞そのものに及んでいるのか、あるいは炎症など造血支持環境への影響が主体なのか明らかにする必要があり、現在造血幹細胞移植による幹細胞自体の活性評価を検討している。

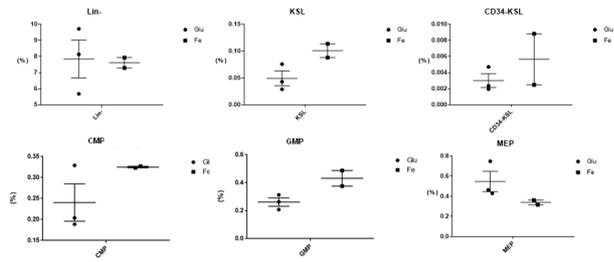


図2 鉄投与後の末梢血白血球分画

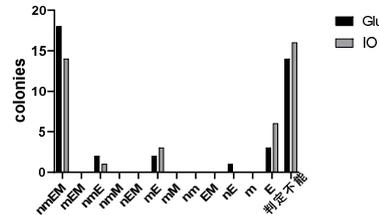


図3 鉄過剰マウスの未分化骨髄コロニー

### 鉄過剰症による造血器腫瘍発症への影響

TP53 ホモノックアウトマウスと TP53 ヘテロノックアウトマウスそれぞれについて、鉄注射群と非注射群

を比較したところ、TP53 ホモノックアウトマウス群では鉄注射群が有意に生存が不良であった。鉄を投与されたホモノックアウト群とヘテロノックアウト群の両者共に観察期間内で腫瘍発症に明確な差は認められておらず、ホモノックアウト群では死亡時に肝脾腫を認めていることから、鉄過剰 TP53 ホモノックアウトマウスは腫瘍ではなく、肝不全などその他の原因で死亡している可能性が示唆された。

TP53 ノックアウトマウスでは鉄による傷害に対する抵抗性が何らかの理由で減弱している可能性がある。この原因を明らかにするために、ホモノックアウトマウスにおける臓器の詳細な解析を検討している。

また、今回鉄注射環境下において TP53 遺伝子の有無による差が認められなかったが、これは実験で使用した 200mg という鉄量が過大であった可能性が否定できない。このため、鉄投与量を 100mg に減量して、現在同様の実験を継続している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyazaki Yasushi, Kiguchi Toru, Sato Shinya, Usuki Kensuke, Ishiyama Ken, Ito Yoshikazu, Suzuki Takahiro, Taguchi Jun, Chiba Shigeru, et al, Japan Adult Leukemia Study Group.	4. 巻 116
2. 論文標題 Prospective comparison of 5- and 7-day administration of azacitidine for myelodysplastic syndromes: a JALSG MDS212 trial	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 228 ~ 238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-022-03347-3	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 Hayama Kei, Abe Yuka, Kamata Hiroto, Okina Sosei, Murakami Yaeko, Kanoh Yuhsaku, Suzuki Takahiro	4. 巻 115
2. 論文標題 Bone marrow ring sideroblasts in hematological diseases: an analysis of consecutive 1300 samples in a single institution	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 508 ~ 514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-021-03278-5	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 Tsutsue Saaya, Suzuki Takahiro, Kim Hyojin, Crawford Bruce	4. 巻 18
2. 論文標題 Real-world assessment of myelodysplastic syndrome: Japanese claims data analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Future Oncology	6. 最初と最後の頁 93 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2217/fo-2021-0988	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 Imawari Kana, Uojima Haruki, Hayama Kei, Toshimitsu Fujio, Sanoyama Itaru, Iwasaki Shuichiro, Wada Naohisa, Kubota Kousuke, Hidaka Hisashi, Nakazawa Takahide, Shibuya Akitaka, Suzuki Takahiro, Kumamoto Yusuke, Saegusa Makoto	4. 巻 61
2. 論文標題 Splenectomy for Torsion of a Wandering Spleen in a Patient with Myeloproliferative Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2143 ~ 2148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.8391-21	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 Tsutsue S, Suzuki T, Kim H, Crawford B	4. 巻 18
2. 論文標題 Real world assessment of myelodysplastic syndrome: Japanese claims data analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Future Oncol.	6. 最初と最後の頁 93-104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2217/fon-2021-0988	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 Imawari K, Uojima H, Hayama K, Toshimitsu H, Sanoyama I, Iwasaki S, Wada N, Kubota K, Hidaka H, Nakazawa T, Shibuya A, Suzuki T, Kumamoto Y, Saegusa M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Splenectomy for Torsion of a Wandering Spleen in a Patient with Myeloproliferative Disease: A Case Report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.8391-21	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 Maeda Tomoya, Matsuda Akira, Kanda Junya, Kawabata Hiroshi, Ishikawa Takayuki, Tohyama Kaoru, Kitanaka Akira, Araseki Kayano, Shimbo Kei, Hata Tomoko, Suzuki Takahiro, Miyazaki Yasushi, Nakao Shinji, Kurokawa Mineo, Takaori Kondo Akifumi, Mitani Kinuko	4. 巻 204
2. 論文標題 Clinical impact and characteristics of erythroid dysplasia in adult aplastic anaemia: Results from a multicentre registry	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 British Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 2086 ~ 2096
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.19323	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 Miyazaki Takuya, Tachibana Takayoshi, Suzuki Taisei, Izumi Akihiko, Fujimaki Katsumichi, Sato Shuku, Tamai Yotaro, Michishita Yusuke, Suzuki Takahiro, Ishii Ryuji, Hirasawa Akira, Hashimoto Chizuko, Kabasawa Nobuyuki, Inoue Yasuyuki, Ishiyama Taijiro, Yamamoto Koh, Kanamori Heiwa, Tanaka Masatsugu, Nakajima Hideaki	4. 巻 30
2. 論文標題 Pretransplantation Inflammatory and Nutritional Status in Elderly Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Prognostic Value of C-Reactive Protein-to-Albumin Ratio	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Transplantation and Cellular Therapy	6. 最初と最後の頁 400.e1 ~ 400.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtct.2024.01.068	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7件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 輸血後鉄過剰症の病態と治療
3. 学会等名 第66回 日本輸血・細胞治療学会北海道支部例会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 輸血後鉄過剰症の診断と治療
3. 学会等名 第46回 日本鉄バイオサイエンス学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 赤血球造血とHIF-PHI
3. 学会等名 第67回 日本透析医学会学術集会・総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 羽山慧以、鎌田浩稔、阿部有香、櫻井慶三、村上八重子、狩野有作、鈴木隆浩
2. 発表標題 造血器疾患における骨髄環状鉄芽球を含む異形成に関する単施設症例集積研究
3. 学会等名 第83回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 骨髄不全症の鑑別と治療
3. 学会等名 第22回 日本検査血液学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takahiro Suzuki
2. 発表標題 Emerging strategies for myelodysplastic syndromes
3. 学会等名 The 12th JSH International Symposium 2021 in Kamakura（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木隆浩
2. 発表標題 骨髄異形成症候群の診断と治療
3. 学会等名 第80回 日本内科学会東北支部生涯教育講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------