

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08757

研究課題名(和文)急性骨髄性白血病におけるT細胞系転写因子ネットワークの解明

研究課題名(英文)T-cell lineage transcription factor network in acute myeloid leukemia

研究代表者

岩永 栄作 (Iwanaga, Eisaku)

熊本大学・病院・特任講師

研究者番号：90743675

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：BCL11BはT細胞系転写因子である。BCL11BはT細胞悪性腫瘍において発がん性の役割を果たすが、骨髄性悪性腫瘍については明らかでない。BCL11B高発現のAML臨床検体は、低WBCと血小板数の減少に関連していた。骨髄系細胞株で強制的にBCL11Bを発現させるとIL7Rが発現し、これは臨床のBCL11B-highサンプルでも確認された。ウェスタンブロットにより、BCL11Bの発現がIL7刺激に应答してJAKリン酸化を誘導することが明らかになった。BCL11B高発現のAML細胞は、IL7RAの増加とJAKの活性化を示しこの経路は治療標的となりうる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BCL11Bは、T細胞の発生に重要な転写因子である。BCL11BはT細胞悪性腫瘍において発がん性の役割を果たすが、骨髄性悪性腫瘍についてはその役割は明らかでない。我々は、AMLにおけるBCL11Bの発現を調べ、BCL11B誘導性細胞株を用いてその機能を解析した。

BCL11BはAMLのサブグループにおいて発現し、BCL11B高発現AML細胞は、IL7RAの増加とJAKの活性化を示す。

IL7-JAK経路はBCL11B-high AMLの治療ターゲットとなりうる。

研究成果の概要(英文)：BCL11B is a critical transcription factor for T-cell development. BCL11B plays an oncogenic role in T-cell malignancies, but it is not clear about myeloid malignancies. We investigated BCL11B expression in AML and analyzed its function using BCL11B inducible cell lines. Among 66 AML samples, 16 samples were assigned to the BCL11B-high expression group. BCL11B-high AMLs were associated with low WBC and decreased platelet count. In the myeloid cell line, forced BCL11B expression invoked T-cell lineage genes. IL7RA was highly expressed, which was also confirmed in clinical BCL11B-high samples. Western blot revealed that BCL11B expression induced JAK phosphorylation in response to IL7 stimulation.

BCL11B is expressed in a subgroup of AML. BCL11B-high AML cells show increased IL7RA and activation of JAK. Therefore IL7-JAK pathway may be a therapeutic target in BCL11B-high AML.

研究分野：急性骨髄性白血病

キーワード：急性骨髄性白血病 BCL11B

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

申請者は骨髄/T細胞の混合表現型白血病において骨髄系転写因子 CEBPA の 3' 非翻訳領域 (UTR) エンハンサーがメチル化され CEBPA 発現が抑制状態にあり、このエンハンサーにはリンパ系転写因子 IKZF1 が結合することを明らかにしている (kimura et al. *Eur J Haematol*, 2021)。このように骨髄性白血病においてもリンパ系の転写因子が白血化に関与していること、実際に細胞免疫療法によりリンパ系から骨髄系へ形質転換・逃避行動が起こることから、反対に骨髄系から T 細胞間への形質転換経路も耐性機構として働いているのではないかと考えた。そこで他の T 細胞系転写因子の活性化や機能喪失がないかを骨髄/T細胞の表現型を示す CEBPA 変異型急性骨髄性白血病症例で全ゲノムシーケンス法を用いて検索した。その結果、T細胞分化に必須の転写因子である BCL11B が染色体転座機構により過剰発現していることを見出した。このことから BCL11B などの T 細胞系転写因子は骨髄性腫瘍でも何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

### 2. 研究の目的

BCL11B は、T細胞の発生に重要な転写因子である。BCL11B は T細胞悪性腫瘍において発がん性の役割を果たすが、骨髄性悪性腫瘍については明らかでない。我々は急性骨髄性白血病における BCL11B 発現の意義を臨床検体および細胞株を用いて検討した。

### 3. 研究の方法

AML66 検体において、BCL11B mRNA の発現を RT-PCR により測定した。BCL11B のコピー数はリアルタイム PCR で定量化した。臨床的特徴、遺伝子発現、コピー数の相関を統計的に評価した。次に、テトラサイクリン誘導性のレトロウイルスベクターを用いて、BCL11B を発現する骨髄系細胞株を樹立した。BCL11B の過剰発現の効果を RNA-seq で検討した。BCL11B の下流のシグナル伝達経路を明らかにするため、ウェスタンブロッティングを実施した。

### 4. 研究成果

リアルタイム PCR で当院 79 例の検討を行った結果、急性骨髄性白血病の 7%程度で BCL11B が高発現していた (図 1)。さらに臨床検体の RNA-seq 解析により BCL11B 陽性骨髄性白血病では B/T リンパ球の分化・増殖に必須のサイトカインであるインターロイキン 7 受容体 (IL7R) の発現が上昇していた (図 2)。当院症例での BCL11B と IL7R の発現は正の相関を示し (図 3)、TCGA データベースの解析においてもこの傾向が確認された (図 4)。

この意義を調べるため骨髄系細胞株 OCI-AML2 に BCL11B を強制発現させたところ IL7R の発現が誘導され、骨髄系細胞が IL7 サイトカインに反応するようになり JAK3-STAT1/3/5 をリン酸化で活性化させることを見出した。(図 5・図 6)。これらの結果から骨髄系腫瘍においても背後では BCL11B などの T 細胞転写因子が活性化した結果、未発現受容体の発現誘導を通してリンパ系サイトカインへの反応を獲得し、免疫からの逃避や増殖、治療反応、薬剤耐性に関与している可能性が考えられた。

以上の通り、T細胞系遺伝子 BCL11B-IL7R の異常発現を指標に骨髄性白血病の特徴的な一群を同定した。BCL11B 高発現の AML 細胞は、IL7R 発現の増加と JAK の活性化を示しこの経路は治療標的となりうる。



図1. 急性骨髄性白血病79例のBCL11B mRNA発現(qPCR)

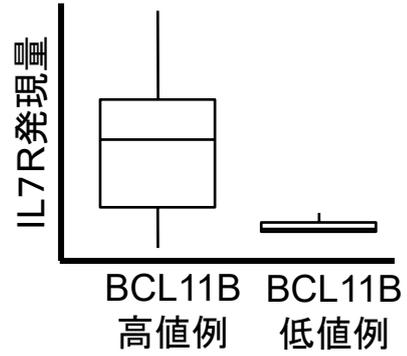


図2. BCL11B発現とIL7R発現の関係 (RNA-seq)

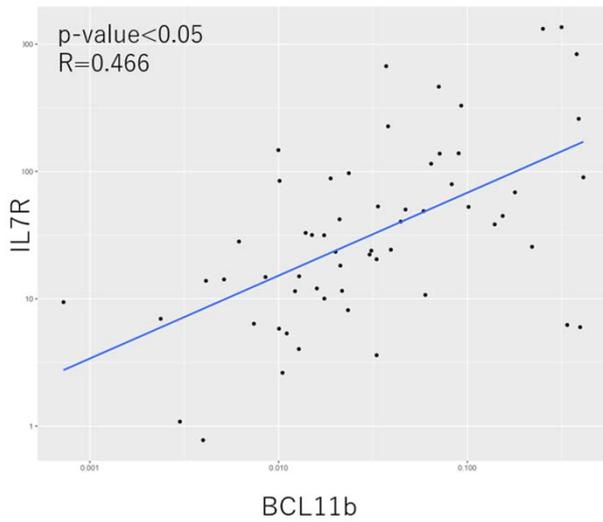


図3. BCL11B発現とIL7R発現の相関 (当科症例: qPCR)

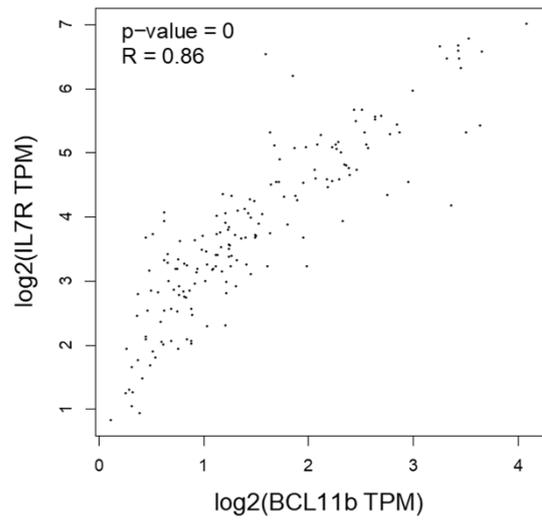


図4. BCL11B発現とIL7R発現の相関 (TCGAデータベース)

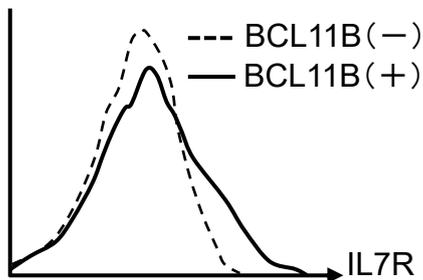


図5. OCI-AML2細胞株におけるBCL11B誘導によるIL7Rの発現

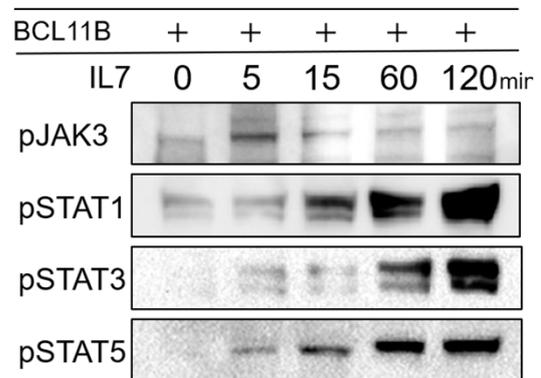


図6. BCL11B誘導発現細胞株のIL7への反応

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩永幸太、岩永栄作、木村由紀子、徳永賢治、松岡雅雄
2. 発表標題 BCL11B陽性の急性骨髄性白血病におけるIL7A発現とJAKの活性化
3. 学会等名 第85回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------	---------