

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22933

研究課題名（和文）自然免疫シグナルから迫る造血器腫瘍の分子病態

研究課題名（英文）Innate immune signaling in the pathogenesis of hematological malignancies

研究代表者

武藤 朋也（Muto, Tomoya）

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90723560

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：自然免疫シグナル低下がCHIP関連遺伝子変異体の造血器腫瘍への形質転換と関与していることをこれまで見出していたが、一方で造血器発症後の自然免疫シグナル活性化はむしろ腫瘍細胞恒常性維持に寄与していることを示唆する報告が多く、この点を自然免疫シグナル経路において中心的役割をはたしているE3ユビキチンリガーゼTRAF6に注目し解明を試みた。本研究で、TRAF6とミトコンドリア機能との関与が示唆されるとともに、TRAF6欠損は白血病細胞の増殖能低下が示された。メタボローム解析ではダイナミックな代謝制御変化がTRAF6欠損で生じており、TRAF6による代謝制御が白血病の進行に寄与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クローン性造血から白血病への形質転換には自然免疫シグナルは癌抑制的に機能する。一方で、自然免疫シグナル活性化で惹起される炎症反応は一般的にはがん促進的に作用すると認識されている。本研究の成果から、白血病の維持においては、自然免疫シグナルの中心的役割を果たすTRAF6はがん促進的に機能することが示唆された。このことは、クローン性造血のphaseとがんを発症したphaseでは、自然免疫シグナルの病態における役割が変化している可能性を示唆しているかもしれない。この概念は、クローン性造血から造血器腫瘍発症の予防を実現するためには明らかにする必要がある、学術的意義、社会的意義が大きいと考えられた。

研究成果の概要（英文）：Hematopoietic stem cells accumulate somatic mutations with age and can acquire specific mutations providing a competitive advantage leading to clonal hematopoiesis of indeterminant potential (CHIP). In the previous study, we identified tumor suppressive role of innate immunity in the leukemic transformation. In this study, we focused on the mechanism of TRAF6, which is the central mediator of innate immune signaling, in the pathogenesis of leukemia. We revealed the functional link between TRAF6 and mitochondrial function from our intensive in vitro analysis. Of note, metabolic analysis revealed the dynamic changes in metabolites in TRAF6-deficient cells. For instance, purine synthesis is inhibited by TRAF6 loss, and correspondingly cell proliferation rate is lower in TRAF6-loss cells than control cells. These results suggest that regulation of metabolic homeostasis by TRAF6 contributes to the leukemia progression.

研究分野：Hematology

キーワード：自然免疫シグナル 造血器腫瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

加齢は造血幹細胞において体細胞変異を蓄積させクローン性造血を引き起こす。特に血液学的異常を伴わないクローン性造血は CHIP と称されている。CHIP 関連遺伝子変異体は造血器腫瘍への形質転換のリスクが高い事が明らかになっているものの、その機序の詳細な理解には未だ至っていない。申請者は、先行研究の結果とは相反する知見として、自然免疫シグナル低下が CHIP 関連遺伝子変異体の造血器腫瘍への形質転換と関与していることを見出した。この知見と符合するように、自然免疫シグナルを FLT3-ITD の MPN モデルマウスにおいて増強させると、MPN の表現型を減弱させることも確認した。しかしながら、造血器腫瘍病態における自然免疫シグナルが果たす分子基盤の理解は不十分であった。

2. 研究の目的

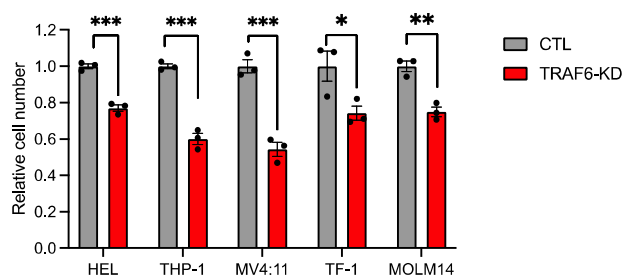
上記のような現象における自然免疫シグナルの造血器腫瘍分子基盤の解明を目的とした。

3. 研究の方法

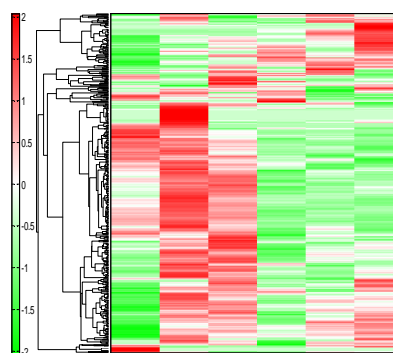
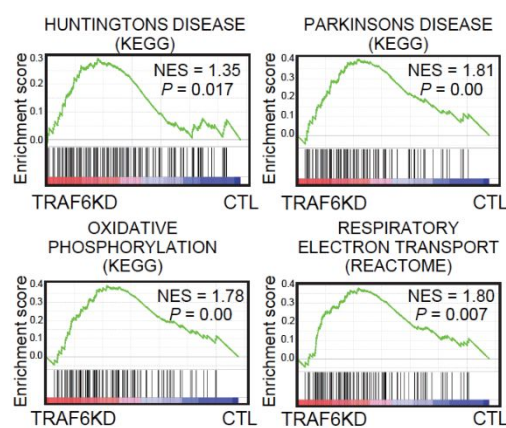
TRAF6 をノックダウンさせたヒト AML 細胞株の細胞増殖能ならびに TRAF6 欠損 MLL-AF9 AML モデルマウスの生存期間を解析することにより、TRAF6 の AML における重要性を検証した。さらに、TRAF6 ノックダウン白血病細胞株とヒト AML 細胞のデータベースを用いて、TRAF6 が遺伝子発現に与える影響を網羅的に解析した。また、フローサイトメーターを用いたミトコンドリア膜電位測定、細胞外フラックスアナライザーを用いた呼吸能測定、およびメタボローム解析により、TRAF6 によるミトコンドリア機能ならびに代謝制御を網羅的に評価した。さらに TRAF6 を介した代謝制御に関連する遺伝子についてリストアップし、その意義を検討した。

4. 研究成果

(1) TRAF6 は AML の疾患維持に重要である TRAF6 をノックダウンさせた各種 AML 細胞株は有意に細胞増殖能が低下し(右図)、MLL-AF9 AML モデルマウスの生存期間解析では、TRAF6 ノックアウト群で有意に生存期間が延長した。以上より、AML において TRAF6 はがん遺伝子として機能し、疾患の維持に重要であることが示唆された。



(2) AML 細胞における TRAF6 発現低下により代謝経路が広範に変動するヒト AML データベースでは、TRAF6 の AML における発現量は、TCA 回路や電子伝達系に参与する代謝関連遺伝子群ならびにミトコンドリア関連疾患 (アルツハイマー病、ハンチントン病) 遺伝子群の発現量と逆相関がみられ、ヒト白血病細胞株に対して TRAF6 をノックダウンした際にも同様の遺伝子群の発現変化が確認された(右図)。実際、AML 細胞における TRAF6 発現低下により、ミトコンドリア膜電位や呼吸能が低下し、メタボローム解析では解糖系、TCA サイクル、核酸代謝それぞれの経路における中間産物の低下といった広範な代謝経路の変動が判明した(右下図)。さらに、核酸代謝産物の低下を反映し、DNA 合成期 (S 期) の細胞が減少した。以上を総合し、AML 細胞における TRAF6 発現の低下により、広範な代謝経路の変動を伴い細胞増殖能が低下することが示された。



【考察】

AML は高い増殖能を維持するため、各種代謝経路を reprogramming していることが報告されている。本研究では TRAF6 の発現低下により AML 細胞の広範な代謝中間産物が減少した点から、TRAF6 が代謝 reprogramming の制御に関与している可能性が示唆され、さらに TRAF6 を介して代謝経路が維持されることで、各種代謝経路の中間産物による遺伝子発現制御により AML の疾患進行に繋がるという病態モデルが考案された。

【結論】

TRAF6 による代謝制御が AML の疾患進行に寄与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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