

難治性急性骨髄性白血病における IFN- γ 経路を標的とした治療開発

正本庸介

東京大学医学部附属病院 無菌治療部

【研究の背景】

申請者らは、難治性 AML の代表格である EVI1 高発現 AML について、マウスモデルを用いて EVI1 の標的を網羅的に解析した。RNA-seq およびクロマチン免疫沈降 (ChIP)-seq の統合解析により、EVI1 高発現 AML においては細胞周期調節因子 Cyclin D1 が EVI1 による正の制御を受け、EVI1 高発現 AML の病態形成において重要な役割を果たしていることを示した。ここで EVI1 の高発現は、AML において IFN- γ 経路の活性化、および浸潤するエフェクター T 細胞および NK 細胞の疲弊形質と関連し、AML 細胞における Cyclin D1 の阻害によってこれらの形質は解除され、AML の発症が抑制された。つまり、EVI1 は AML において cyclin D1 の発現増加を介して interferon (IFN)- γ シグナルの亢進を誘導し、cyclin D1-IFN- γ 軸は多くのケモカインの産生を正に制御する一方、浸潤するエフェクター T 細胞、NK 細胞の疲弊に関連していた。Short hairpin RNA によるサイレンシングを用いて、IFN- γ 受容体、下流のシグナル伝達分子である STAT1 を抑制することで EVI1 高発現 AML の発症が遅延し、浸潤リンパ球の疲弊形質が改善することを示した。さらに他の難治性 AML 病型の KMT2A (MLL) 転座 AML においても、一部は EVI1 を高発現し特に予後不良であることが示されているが、申請者らは KMT2A 融合遺伝子発現 AML モデルと EVI1 レポーターマウスを組み合わせ、EVI1 陽性および陰性の AML 細胞を比較し、EVI1 陽性細胞侵攻性の病態と関連し、この細胞は cyclin D1 に依存していることを示した¹⁾。

これらの研究結果は、ヒト AML 細胞を用いた他のグループの研究で、様々な病型の難治性 AML の免疫系に共通して IFN- γ シグナルの亢進が見られたという観察や、免疫抑制性の免疫微小環境が構築されているという観察と符合する結果であり、これらの経路が EVI1 高発現 AML における治療標的になりうる可能性、難治性 AML の代表格である EVI1 高発現 AML と同様の免疫病態が難治性 AML において共通している可能性を示唆しているものと考えた。

【目 的】

EVI1 は造血幹細胞特異的な転写因子で、正常造血の発生・維持に必須だが、染色体転座などの要因により発現が亢進すると、難治性の急性骨髄性白血病 (AML) を惹起する。EVI1 を高発現する AML はあらゆる病型で最も難治性の病態である²⁾。本研究は難治性 AML の治療開発のため、EVI1 高発現 AML で見られる IFN- γ シグナルの亢進と免疫疲弊が、治療標的になりうるかどうかをマウスモデルで検証する。さらにこの結果を、他の難治性 AML でも検証し、免疫病態が難治性 AML の治療標的となりうるかどうかを明らかにする。

【方 法】

本研究では IFN- γ シグナル関連因子の遺伝子改変マウスを用いて EVI1 高発現 AML マウスモデルにおけるケモカインの分泌異常、免疫病態、細胞相互作用を詳細に解析し、薬理的アプローチも用いて難治性 AML における治療標的としての意義を検証する。

IFN- γ 、IFN- γ 受容体、STAT1 のノックアウトマウスに EVI1 染色体転座トランスジェニックマウスを交配させて、またはレトロウイルスで EVI1 を導入後に同系マウスに移植し、AML 細胞、あるいは免疫細胞を含む骨髄環境で IFN- γ の要素を欠失した EVI1 高発現 AML モデルを作製する。骨髄微小環境で発現の変化するケモカインを探索するとともに浸潤免疫細胞の

表面抗原・遺伝子発現解析プロフィールを記述し、細胞間ネットワーク解析を介して、難治性 AML 微小環境で IFN- γ が産生される機序、IFN- γ シグナルの意義を明らかにし、難治性 AML と免疫病態のつながりを分子レベルで解明する。

【結 果】

IFN- γ (Ifng) および IFN- γ 受容体 (Ifngr) の欠失マウスを用いて、様々な組み合わせのドナー (血球・AML 細胞) およびレシピエント (骨髄微小環境) で EVI1 高発現 AML 骨髄移植モデルを作成した。まずはドナー側のみで Ifngr を欠失させて Ifng および Ifngr を有するコントロールの野生型レシピエントマウスに EVI1 高発現 AML を発症させた場合、EVI1 高発現 AML 細胞で Ifngr や下流遺伝子をノックダウンした我々のこれまでのデータと同様に、AML の発症が遅延した。当初はレシピエント側の Ifng の有無が AML の発症に重要で、AML 細胞では発現の低い Ifng の欠失は影響しないのではないかと考えていたが、AML 細胞における Ifng の欠失は Ifngr と同様に、EVI1 高発現 AML の発症を遅延させていた。次に野生型コントロールマウスの血球を用いて作製した EVI1+AML モデルのレシピエント側で Ifng を欠失させたところ、野生型レシピエントと比較して発症が促進する傾向が見られた。また意外なことに、ドナー・レシピエントの両方を野生型、Ifng 欠失、Ifngr 欠失とした場合には、EVI1 高発現 AML の発症には有意な差はなく、これらの因子の文脈依存性の複雑な影響が示唆された。IFN- γ シグナルの下流因子である Stat1 の条件的欠失マウスを用いた AML モデルや EVI1 染色体転座トランスジェニックマウスと IFN- γ 関連因子改変マウスを交配させた AML モデルは、現在 AML の発症を待機している。

【考 察】

我々は当初、レシピエント側の何らかの免疫細胞が産生する IFN- γ が AML 細胞側の IFN- γ 受容体に作用するのが EVI1 高発現 AML の難治化に最も中心的な IFN- γ の機能であることを想定していた。一方で IFN- γ は最も基本的な抗腫瘍因子として古くから知られているため、それ以外にも病態を修飾する様々な細胞特異的・文脈特異的な作用があると予想している。単一細胞レベルの解析は現在準備中であるが、これまでのレシピエント・ドナーの様々な組み合わせによる解析においては、IFN- γ 経路の EVI1 高発現 AML 発症に対する予想以上に複雑で強い影響が示唆された。レシピエント側の IFN- γ は EVI1 高発現 AML の発症に主に抑制的に作用するのに対して、AML 細胞における IFN- γ の産生および IFN- γ 受容体は EVI1 高発現 AML の発症に必要であった。ドナー・レシピエントの両方で IFN- γ および IFN- γ 受容体を欠失させると、これらの効果は相殺された。この結果を最もよく説明するモデルは、EVI1 高発現 AML 細胞自身の autocrine が AML 発症に重要であるというモデルであると考えられる。しかしレシピエントとドナーにおける IFN- γ の複雑な作用からは、産生する細胞の重要性が強く示唆されるとともに、EVI1 高発現 AML モデルは骨髄異形成症候群様の血球減少期を経て AML を発症することが分かっており、血球減少期の方が AML 発症後よりも IFN- γ 関連の遺伝子発現が高いことから、時期特異的な影響も考えられる。この経路の病態における役割の全貌を明らかにし、治療標的にするためにはさらなる研究が必要である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

EVI1 高発現 AML は非常に難治性の病型であり、通常の治療はほぼ無効であることから、分子病態に即した治療が強く切望されており、EVI1 高発現 AML の分子病態の解明が重要である。本研究は IFN- γ 経路の EVI1 高発現 AML における重要性を明らかにするとともに、高度な文脈依存性の解明に挑んでいるが、今回の研究でその一端が明らかになった。

【参考・引用文献】

- 1) Masamoto Y, Chiba A, Mizuno H, Hino T, Hayashida H, Sato T, Bando M, Shirahige K, Kurokawa M. EVI1 exerts distinct roles in AML via ERG and cyclin D1 promoting a chemoresistance and immune-suppressive environment. *Blood Adv.* 2023; 7, 1577-1593.
- 2) 正本庸介. 造血系・造血器腫瘍における EVI1 の機能と制御. *臨床血液* 2024; 65, 954-960.