

## 造血幹細胞の機能回復を目的としたエキソソーム創薬

井上大地

神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部

### 【研究の背景】

骨髄異形成症候群(MDS)は高齢者に多く、幹細胞移植以外に根治療法のない難治疾患であり、造血幹細胞の遺伝子変異、形態異常を伴う血球減少、白血病への進展を特徴とする。治療関連合併症により多くのMDS患者は移植療法の対象となりにくい。そのため、造血不全による輸血依存に陥ることが多いもののMDS患者において正常造血を回復させることは困難である。これまでに我々は造血幹細胞自身の遺伝子変異に着眼して、エピゲノム異常やスプライシング異常を中心にMDS研究を進めてきたが<sup>1-3)</sup>、正常造血がどのような機構で抑制されるのかは十分に解明されていない。MDSのモデルマウスでは、骨の菲薄化が進んでおり、ヒトMDSでも同様の傾向が認められることに着眼し、骨を介した造血幹細胞のサポート機構が障害されているのではないかと仮説を立てた。

### 【目 的】

MDS 幹細胞が残存する正常造血幹細胞を間接的に抑制する機構を明らかとして、創薬に向けた基礎的データを取得することを目的とする。

### 【方 法】

Abcg2 発現による MDS モデルマウス<sup>4)</sup>を中心として、骨髄移植の系でレシピエント側の正常造血細胞の評価、および共培養系での評価、間葉系幹細胞の骨分化の解析、および強制的な骨分化を施行後の造血機能の評価を行った。

### 【結 果】

MDS マウスモデルでは、野生型の造血幹細胞との競合的移植実験において、末梢血・骨髄ともに顕著なキメリズムの低下を認めた。しかし、造血幹細胞分画に限局するとキメリズムは低下しておらずMDS 幹細胞が微小環境のサポートを得て維持される現象を捉えることができた。とりわけ、非クローン性の正常造血幹細胞・前駆細胞の質的低下を認めたが、正常幹細胞とMDS 幹細胞を共培養しても正常クローン由来のコロニー形成能や増殖能は不変であり、間接的な作用が示唆された。一方でMDS のモデルマウスでは骨皮質・骨端線の菲薄化・骨量の低下等が認められ、骨髄微小環境側の主因子として骨に着眼し、MDS 幹細胞による骨形成能の低下が正常造血を負に制御すると考えられた。単一細胞RNAシーケンスにおいてもMDS マウスの間葉系幹細胞ではRunx2 やBglapといった骨芽細胞マーカーが低下し骨芽細胞の減少を認めた。実際に、我々の患者コホートでもMDS患者で骨量の減少を認めた。これらの結果を裏付けるように、正常造血幹細胞はMDSモデル由来の間葉系幹細胞との共培養下でコロニー形成能が著しく障害されたが、Bmp4を含む骨芽細胞への分化を促進する条件下で完全にレスキューされた。さらに、in vivoでも骨芽細胞への分化を促進するPTH(1-34)製剤の投与で正常造血の改善がみられた。興味深いことに、異常な造血幹細胞由来のエキソソームが間葉系幹細胞に取り込まれており、in vitroにおいて骨芽細胞への分化抑制はこのエキソソームのみで十分であった。驚くべきことに、MDS由来のエキソソームのみでコロニー形成の低下、in vivoでも骨の菲薄化とそれに付随する造血能の低下が認められ我々の仮説が裏付けられた。ヒトMDSに

においても骨量の低下、間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化障害、骨芽細胞への強制分化による in vitro での造血能の回復が認められた。さらに、エクソソーム内の micro RNA (miRNA) の網羅的解析により、骨分化を抑制する miRNA 群を同定し、ヒト検体中の miRNA マイクロアレイの結果と合わせて複数の鍵となる miRNA に対して治療対象としての妥当性の評価を行っている。

## 【考 察】

本研究において、長期にわたる障害を受けた MDS 幹細胞由来のエクソソームを鍵として、代表的なニッチ細胞である間葉系幹細胞を介した新しい造血抑制メカニズムを解き明かすことに成功した。これらの知見から MDS の病態において、変異を有する造血幹細胞そのものを駆逐することはできなくても、間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化抑制を解除することができれば、残存する非クローン性造血幹細胞由来の造血機能を回復させることができると期待され、高齢者の造血・骨ネットワークを対象とした治療応用の基盤となるデータの蓄積が待たれる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

クローン性造血が骨髄以外のあらゆる機能低下の原因となっていることを鑑みれば、本研究は造血幹細胞を出発点とするものの、その成果は骨粗鬆症による骨折の予防や、加齢に伴う貧血や免疫機能の改善、炎症を伴う脂質代謝を背景とする動脈硬化性病変(脳梗塞・心筋梗塞など)の予防といった健康寿命に直結するものばかりである。造血幹細胞を中心として多細胞間のクロストークが明らかとなれば理論的裏づけをもとに臨床応用可能であり、生活の質を大きく改善することが期待される。また、エクソソームが標的細胞に取り込まれる上で必須の表面タンパクや脱制御されているパスウェイを同定すること、標的へのドラッグデリバリーを開発することは新領域の医療シーズに直接つながるものと考えている。とりわけ、エクソソーム創薬の技術革新は、高齢者に共通してみられる各臓器の機能低下や造血器疾患にとどまらず様々な生命現象の脱制御に応用できる普遍的なツールとなる可能性を含んでいると言える。

## 【参考・引用文献】

1. Inoue D, Chew GL, Liu B, Michel BC, Pangallo J, D'Avino AR, Hitchman T, North K, Lee SC, Bitner L, Ariele B, Moore AR, Yoshimi A, Hoyos LE, Cho H, Penson A, Lu SX, Taylor J, Chen Y, Kadoch C, Abdel-Wahab O, Bradley RK. Spliceosomal disruption of the non-canonical BAF complex in cancer. *Nature*. 2019 Oct;574(7778):432-436.
2. Nagase R, Inoue D (co-first and Corresponding author), Pastore A, Fujino T, Hou HA, Yamasaki N, Goyama S, Saika M, Kanai A, Sera Y, Horikawa S, Ota Y, Asada S, Hayashi Y, Kawabata KC, Takeda R, Tien HF, Honda H, Abdel-Wahab O, Kitamura T. Expression of mutant Asxl1 perturbs hematopoiesis and promotes susceptibility to leukemic transformation. *J Exp Med*. 2018, 215(6), 1729-1747.
3. Inoue D, Bradley RK, Abdel-Wahab O. Spliceosomal gene mutations in myelodysplasia: molecular links to clonal abnormalities of hematopoiesis. *Genes Dev*. 2016, 30(9), 989-1001.
4. Kawabata KC, Hayashi Y, Inoue D, Meguro H, Sakurai H, Fukuyama T, Tanaka Y, Asada S, Fukushima T, Nagase R, Takeda R, Harada Y, Kitaura J, Goyama S, Harada H, Aburatani H, Kitamura T. High expression of ABCG2 induced by EZH2 disruption plays pivotal roles in MDS pathogenesis. *Leukemia*. 2018 Feb 32(2):419-428.
5. Asada N, Katayama Y, Sato M, Minagawa K, Wakahashi K, Kawano H, Kawano Y, Sada A, Ikeda K, Matsui T, Tanimoto M. Matrix-embedded osteocytes regulate mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Cell Stem Cell*. 2013, 12(6), 737-747.
6. Weidner H, Rauner M, Trautmann F, Schmitt J, Balaian E, Mies A, Helas S, Baschant U, Khandanpour C, Bornhäuser M, Hofbauer LC, Platzbecker U. Myelodysplastic syndromes and bone loss in mice and men. *Leukemia*. 2017, 31(4), 1003-1007.