

## ‘脂質の質’をターゲットとした新規白血病治療法の開発

加藤貴康

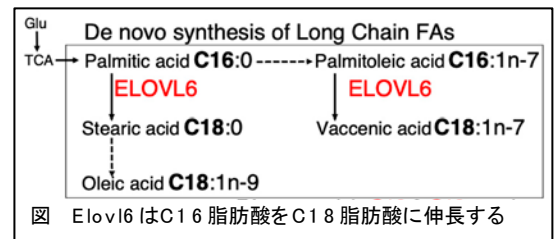
筑波大学医学医療系 血液内科

## 【研究の背景】

急性骨髄性白血病(AML)は、化学療法や造血幹細胞移植治療により治癒率の向上を認めたが、標準治療は副作用が強く、高発年齢(60代以降)のために副作用の少ない新たな治療法開発が必要とされる。

本研究では新規治療標的として脂肪酸の質に着目した。脂質の主要要素である脂肪酸は炭素鎖長(C)や二重結合数により、さまざまな種類が存在する。ヒト細胞ではC16、C18、C20長鎖脂肪酸が主であり、長鎖脂肪酸伸長酵素 ELOVL6 は炭素数16から18に伸長し、脂肪酸の質を制御している(図)。

ELOVL6を欠損させたマウス(E6KOマウス)<sup>1)</sup>は、C18脂肪酸のステアリン酸やオレイン酸の割合が減り、C16のパルミチン酸やパルミトオレイン酸の割合が増える。これらの脂肪酸組成変化は糖尿病、非アルコール性肝硬変、肺線維症などに影響を及ぼすことが<sup>2)</sup>、造血幹細胞細胞や白血病との関連については不明であった。



## 【目的】

‘脂肪酸の質’の変化が造血幹細胞や白血病を制御する機序を解明し、‘脂肪酸の質’が白血病新規治療標的となりうるか検討した。

## 【方法】

マウス: E6KOマウス、C57BL/6マウス(Ly5.2、Ly5.1、Ly5.2/5.1)マウスを使用。

競合的骨髄再構築能アッセイ(CRA):野生型もしくはE6KOマウス骨髄細胞(Ly5.2)とLy5.2/5.1骨髄細胞を混合し致死量照射Ly5.1マウスに移植。末梢血Ly5.2キメリズムを1ヶ月毎に測定。

脂肪酸組成解析:2×10<sup>6</sup>の骨髄細胞から脂肪を抽出し、ガスクロマトグフィーにより測定。

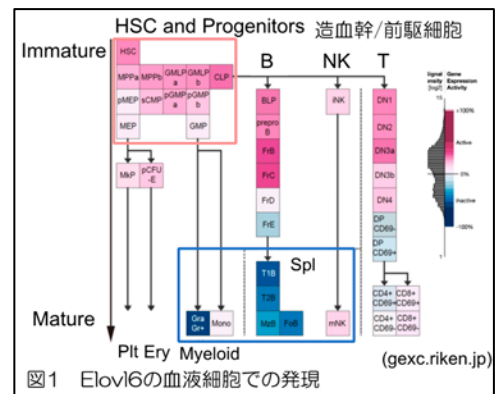
遊走能アッセイ: CXCL12刺激し5.0μMポアTranswell®プレートで遊走細胞数を測定。

その他の方法については文献3を参照。

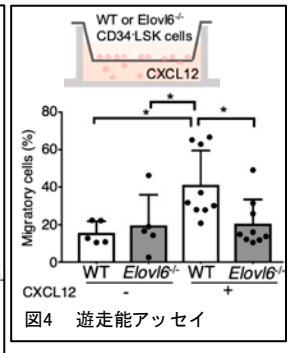
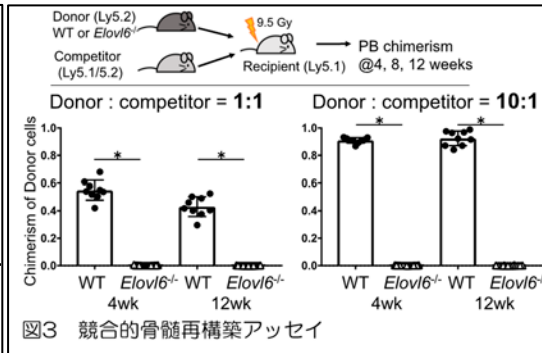
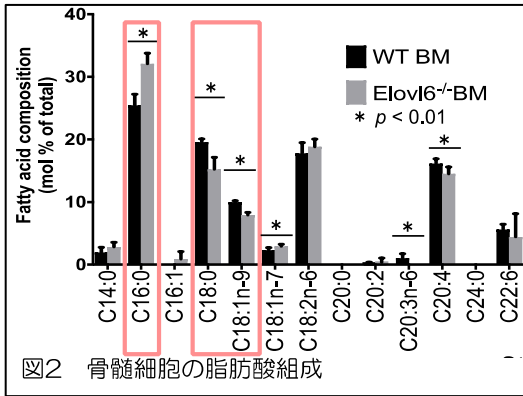
## 【結果】

## ① Elov6は造血幹細胞の生着に重要である。

Elov6は造血幹細胞で高発現であった(図1)。次にE6KO骨髄の脂肪酸組成はパルミチン酸増加とC18/C16比の減少をみとめた(図2)。CRAではE6KO由来の細胞をみとめず(図3)、E6KO造血幹細胞は生着能が低下していることが示唆された。造血幹細胞を多く含む野生型とE6KO-CD34-LSK(Lineage陰性、Sca-1陽性、c-Kit陽性)細胞でRNA-seqを施行し、GO解

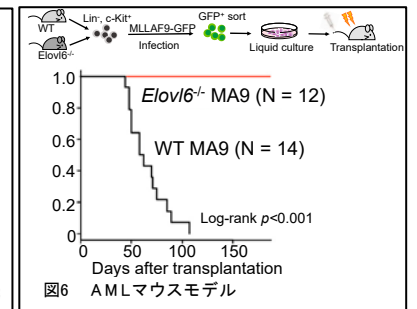
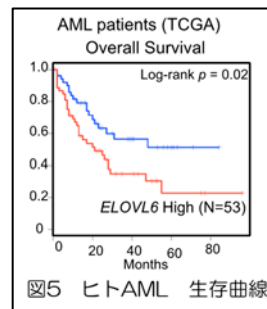


析で細胞遊走が抽出された。遊走に重要なケモカイン CXCL12 下での遊走能アッセイでは E6KO-CD34-LSK 細胞で遊走能の低下をみとめた(図 4)。



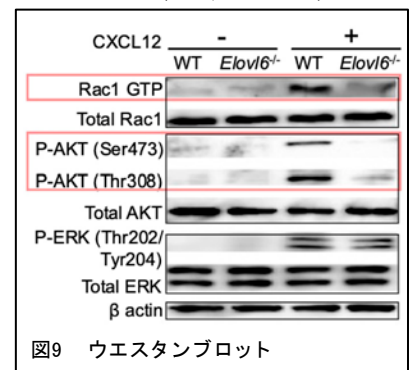
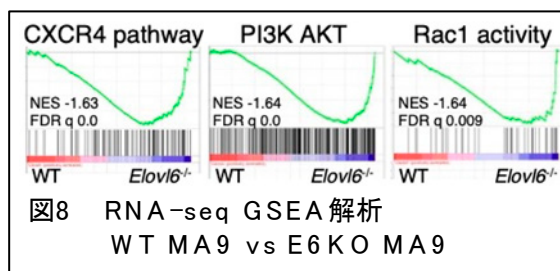
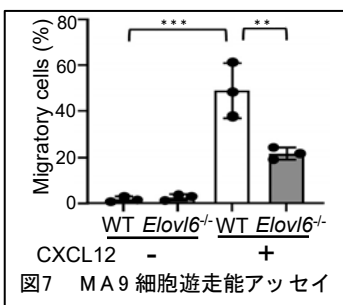
② Elov6 は AML の発症に必須である。

ヒト AML では Elov6 高発現群は予後不良であった(図 5)。次に AML マウスモデルで Elov6 の影響につき検討をおこなった。野生型および E6KO 造血前駆細胞に、白血病融合遺伝子 MLL::AF9 (MA9) を導入し白血病細胞 (MA9) を作成した。E6KO-MA9 の脂肪酸組成は C18:0/C16:0 比の減少を認めた。WT-もしくは E6KO-MA9 を放射線照射マウスに移植すると、WT-MA9 移植マウスは AML を発症したが、E6KO-MA9 移植マウスでは AML の発症をみとめなかった(図 6)。



③ Elov6 は CXCR4-PI3K シグナルを介し血液細胞の遊走を制御する。

遊走能アッセイで E6KO-MA9 の遊走能の低下をみとめ(図 7)、ELOVL6 阻害剤の濃度依存的に WT-MA9 の遊走能の低下を認めた。RNA-seq の GSEA 解析で CXCR4 経路、PI3K-AKT や RAC 関連遺伝子の発現変動を認めた(図 8)。CXCL12 は、CXCR4 のリガンドであり、Elov6 欠損によって CXCL12-CXCR4 の下流にどのような影響を受けているかを検討した。Elov6 の標的として脂質の一種であるホスファチジルイノシトール 4,5-ビスホスフェート (PI(4,5)P2) からホスファチジルイノシトール 3,4,5-トリホスフェート (PIP3) への変換を触媒する PI3K に着目した。CXCL12 刺激により、WT-MA9 で AKT のリン酸化を認めたが E6KO-MA9 では著しく低下していた。さらに WT-MA9 では RAC1 の活性化を認めたが、E6KO-MA9 では低下していた(図 9)

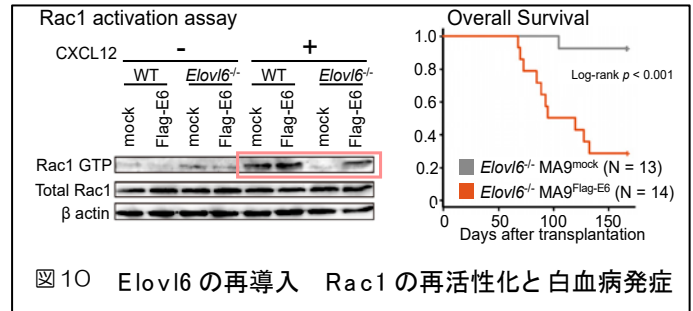


④ PI3K-AKT ではなく、PI3K-RAC が MA9 細胞の遊走を制御する。

次に PI3K、AKT、または RAC 阻害による遊走能を検討した。PI3K および RAC 阻害剤により、WT-MA9 の遊走能が減少した。しかし、E6KO-MA9 の遊走能は影響を受けなかったことから、その効果は WT-MA9 に特異的であることが示唆された。対照的に、AKT 阻害剤は WT または E6KO-MA9 の遊走に影響しなかった。よって Elov6 は CXCR4-PI3K-Rac1 を介し遊走を制御すると考えられた。

## ⑤ Elov16 を再導入すると E6KO-MA9 は白血病を発症する。

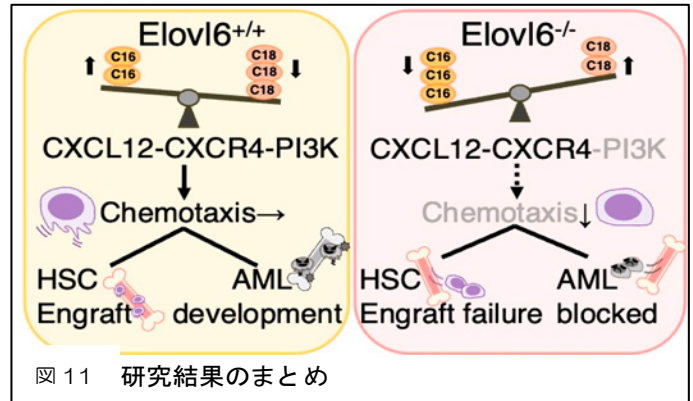
外因的に再導入した Elov16 が E6KO-MA9 の表現型をレスキューできるか検討するため、Flag-ELOVL6 を発現する E6KO MA9 (E6KO MA9Flag-E6) およびコントロール (E6KO MA9mock) 細胞を作成した。これらの細胞を致死放射マウスに移植すると、E6KO MA9mock を移植したマウスは AML を発症しなかったが、E6KO MA9Flag-E6 を移植したマウスは AML を発症した (図 10)。



## 【考 察】

Elov16 による脂肪酸バランスの変化が、CXCL12-CXCR4-PI3K-RAC を介して、造血幹細胞の生着と AML の発症を制御していることを報告した (図 11)<sup>3)</sup>。なお、E6KO マウス骨髄細胞の移植では正常造血が観察されなかったが、E6KO マウスそのものの造血は正常であり、Elov16 は正常造血に必須ではないことも確認した。従って、Elov16 を阻害する治療法では、造血が強く抑制されるという、白血病治療で最も問題になる副作用を生じる可能性は小さいと予想される。

今後、ELOVL6 阻害が AML 治療に有効であることを示す薬理的なデータの取得や実験的な確認を進めていく。また、血液細胞以外でもミトコンドリアや小胞体などが ELOVL6 の影響を受けることが知られており、E6KO-MA9 が AML 発症に至らない原因として、細胞遊走能以外の機序も探索する。



## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究では ELOVL6 制御によって脂肪酸バランスを変化させることで、AML 治療につながる可能性を世界で初めて示した。マウス知見からは、Elov16 阻害が正常造血を抑制する可能性は低いため、Elov16 は副作用の少ない新規治療標的となりうる。今後は Elov16 阻害剤による白血病治療モデルの解析およびヒト白血病検体における脂肪酸組成の解析を継続し、‘脂肪酸の質’を標的とした新規治療法開発を目指す。

## 【参考・引用文献】

- 1 Matsuzaka T, Shimano H et al. Nature Medicine. 13(10):1193-1202, 2007
- 2 Shimano H, Sato R. Nat Rev Endocrinol. 13:710-30, 2017
- 3 Kiyoki Y, Kato T, Kito S et al. Leukemia. 37:910-913, 2023