

研究報告書
令和4年度：A課題

2025年 2月/2日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 熊本大学大学院先導機構

住所 熊本県熊本市中央区本荘2丁目2-1

研究者氏名 大口 裕人

(研究課題)

骨髄腫異常転写プログラム制御機構の解明

令和5年 3月 16日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【背景および目的】

がん細胞は、起源となる細胞系譜が発生過程で利用する生存・増殖メカニズムに強く依存している。この系譜依存性は、様々ながん腫で認知されており、多くの場合、元々各系譜のマスターレギュレーターであった転写因子を介してエピジェネティックに維持されている。代表例としては、乳癌における ESR1 や前立腺癌における AR を介した制御が挙げられる。これら系譜依存性に関与する因子は、発現が特定の細胞系譜に限局していることが多く、その抑制は他の臓器や細胞へ影響を与えにくいいため、特定のがん腫に対する有望な治療標的となる可能性を秘めている。実際、ESR1 や AR などの核内受容体はホルモン療法の標的であり、系譜依存性を標的としたがん治療法の先駆けとなっている。本研究では、形質細胞性腫瘍である多発性骨髄腫 (MM) における新規系譜依存性規定因子を同定し、MM 異常転写プログラム制御機構を解明することを目的とした。

その目的のため、MM における重要環境因子である IL-6 に着目した。IL-6 は B 細胞から形質細胞への分化を誘導するサイトカインとして同定された。その後まもなく MM における重要増殖因子であることが示された。さらに重要なことに、IL-6 トランスジェニックマウスからは MM こそ発症しないものの自発性に形質細胞腫瘍が発症することが示された。つまり、IL-6 はエピジェネティックに形質細胞性腫瘍を促進することが証明されたわけである。また、MM 患者の骨髄間質細胞からは健常者よりも多くの IL-6 が分泌されていること、MM 細胞ではしばしば 1q21 領域の増幅により IL-6R の発現が亢進していることも示され、MM の IL-6 依存が支持された。MM では理想的な Patient-derived xenograft モデルが確立できていないが、IL-6 を含めた 6 種類の遺伝子をヒト化したマウスでは、患者 MM 細胞が生着できる可能性が示されている。このように、IL-6 は B 細胞分化および MM 発症・維持をエピジェネティックに制御する environmental cues のひとつであり、MM における系譜依存性のメカニズムやその規定因子を同定する鍵になると考えられた。

【方法および結果】

1. MM における新規 IL-6-JAK-STAT3 標的遺伝子の同定

上記背景から、IL-6 が MM における系譜依存性規定因子を制御下に置いている可能性が高いと考えた。しかしながら、これまで MM における IL-6-JAK-STAT3 標的遺伝子の網羅的解析は行われていなかった。そこで、ChIP-seq、RNA-seq、CRISPR ノックアウトスクリーニングを組み合わせることで、他のがん腫と比べて MM が依存度する IL-6-JAK-STAT3 標的遺伝子を同定した。これらの中には既知の形質細胞生存因子 MCL1 などが含まれていたが、興味深いことに、B 細胞系譜に関連性の高い転写制御因子が 2 つ (POU2AF1、ELL2) 含まれていた。POU2AF1 は胚中心 B 細胞のマスターレギュレーターであり、生理的には胚中心の形成に寄与し、形質細胞への分化により発現が低下することが知られている。一方、ELL2 は形質細胞成熟に関わる転写スプライシングに関与する。いずれの因子も他のがん腫と比べ MM 細胞での発現が高いこと (とくに POU2AF1 は B 細胞性リンパ腫細胞と MM 細胞に特異的に発現)、MM 細胞で IL-6 により発現がさらに誘導されること、ノックアウトにより MM 細胞の生存・増殖が抑制されることを確かめた。さらに、IL-6 ヒト化マウスを用いたゼノグラフトモデルでも、これら因子が MM 進展に寄与していることを明らかにした。

2. POU2AF1 と ELL2 が MM 細胞を維持するメカニズム

続いて、POU2AF1 と ELL2 が MM 細胞生存・増殖に寄与する分子メカニズムを検証した。POU2AF1、あるいは ELL2 をノックアウトした MM 細胞で遺伝子発現プロファイルを解析したところ、最近 MM 患者サンプルの単一細胞 RNA-seq で明らかにされた MM 細胞特徴的転写サインが、いずれのノックアウト細胞においても抑制されていることがわかった。また、ChIP-seq 解析により、POU2AF1 と ELL2 はゲノムワイドで共局在しており、MM 細胞特徴的転写サインを構成する遺伝子群の大半に結合していることを見出した。さらに、500 例を超える MM 患者サンプルの遺伝子発現プロファイルを検討した。POU2AF1、あるいは ELL2 発現レベル中央値で 2 群に分けて検証したところ、POU2AF1、あるいは ELL2 高値の群は低値の群と比べ、一連の MM 細胞特徴的転写サインが誘導されていることがわかった。これらの結果は、POU2AF1 と ELL2 が MM 細胞に特徴的な転写を包括的に制御することで MM 細胞を維持していることを示した。続いて、IL-6 と MM 転写プログラムの関係を検証した。IL-6 は POU2AF1 と ELL2 の発現を誘導することと矛盾せず、MM 細胞特徴的転写サインを構成する遺伝子群への POU2AF1 と ELL2 の結合レベルは IL-6 刺激により上昇していた。さらに、IL-6 は MM 細胞特徴的転写サインを誘導するが、IL-6 存在下に POU2AF1 あるいは ELL2 をノックアウトするとこの誘導が抑止されることがわかった。以上より、IL-6 は POU2AF1 と ELL2 を介して MM 特異的転写プログラムを制御していることを明らかにした。

【今後の展望】

中和抗体による IL-6 の抑制は、MM では十分な治療効果が得られない。これは、骨髄環境中に存在する様々な environmental cues が IL-6 の機能を補完しているためと考えられる。しかしながら、根底にある MM の系譜依存性、その制御因子を標的にすれば治療効果が得られる可能性がある。今後、系譜依存性規定因子を標的とする治療戦略の可能性を探求していきたい。転写因子や転写共役因子は低分子阻害剤などによる薬理的阻害が困難な場合が多いが、最近の報告でギャップマー型アンチセンス核酸 (ASO) による標的転写産物の効率的な阻害の可能性が示されている。ASO を用いた系譜依存性規定因子抑制の有効性の検証を進めていく予定である。

【学会発表】

本研究で得られた成果について、以下の学会発表を行った。また、現在論文投稿準備中である。

1. 大口裕人. IL-6 に誘導される ELL2 は骨髄腫転写プログラムを制御する.
第 49 回日本骨髄腫学会学術集会プレナリーセッション (2024)
2. 大口裕人. Epigenetic deregulation that drives multiple myeloma.
第 86 回日本血液学会学術集会シンポジウム 5 Dissection of myeloma biology by novel approaches (2024)

【謝辞】

本研究の遂行にあたり、ご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。また、共同研究にご協力頂きました多くの研究者の皆様から心より感謝申し上げます。