

ATL細胞におけるHGF発現のエピゲノム制御機構とHGF/c-Metシグナル

成人T細胞白血病リンパ腫の 抗がん剤抵抗性リンパ節病変の形成メカニズムを解明 ～腫瘍細胞の発現する HGF 遺伝子のエピゲノム制御機構と その治療薬の有用性評価～

名古屋大学大学院医学系研究科 腫瘍生物学分野の近藤豊（こんどうゆたか）教授（責任著者）の研究グループは、名古屋市立大学大学院医学研究科の飯田真介教授、戸谷治仁研究員らとの共同研究で、成人T細胞白血病リンパ腫（ATL）¹におけるリンパ節病変の形成に HGF/c-Met シグナルが重要な役割を果たし、これらの病変に対してエピゲノム治療薬であるプロモドメイン阻害薬²が有用である可能性を見出しました。

ATL は難治性造血器腫瘍の一つであり、特に治療抵抗性を示すリンパ節病変の形成メカニズムの解明とその克服は課題となっています。本研究では、リンパ節由来 ATL 細胞株と血液由来 ATL 細胞株の比較解析を行い、HGF 発現がリンパ節 ATL 細胞で高発現であることがわかりました。この HGF/c-Met シグナルにより *in vitro*、*in vivo* いずれにおいても細胞増殖・浸潤が促進されることが明らかになりました。ATL 細胞の病変毎の遺伝子発現の違いの原因として、遺伝子発現制御領域（エンハンサー、プロモーター）の状態が異なっており、エピゲノム治療薬であるプロモドメイン阻害薬 JQ1 は HGF³ 発現を低下させ、シグナル活性を抑えることで細胞増殖、腫瘍形成が抑制されました。また、血清中 HGF 濃度はモガムリズマブ⁴ 投与患者さんにおける生命予後に関与していることがわかりました。

HGF 発現はモガムリズマブ治療の予後予測の指標としてなり得ること、プロモドメイン治療薬は治療抵抗性 ATL 病変を克服する新たな治療戦略として有用である可能性を見出しました。

ポイント

- 成人 T 細胞白血病リンパ腫（ATL）は造血器腫瘍の中でも特に予後の悪い腫瘍のひとつです。
- 近年では腫瘍細胞を標的とした分子標的薬（モガムリズマブ）の登場で治療成績の改善が得られていますが、未だに多くは再発し、生命を脅かします。
- モガムリズマブ治療は血液中に存在している ATL では効果が得られやすいのに対して、腫瘍病変（リンパ節病変など）では効きづらく、これらの病変の特徴や形成に関わるメカニズムの解明が急がれていました。
- リンパ節由来 ATL 細胞株と血液由来 ATL 細胞株のサイトカイン・増殖因子⁵の発現比較から、腫瘍細胞にオートクライン⁶に働く因子として、HGF がリンパ節病変の形成（腫瘍浸潤・増殖）に重要であることがわかりました。
- HGF 発現に関わるエピゲノムの状態はリンパ節 ATL 細胞と血液中 ATL 細胞で異なっていることがわかりました。このエピゲノムを標的としたプロモドメイン阻害薬は HGF 遺伝子発現抑制により HGF/c-Met シグナルを抑制し、細胞増殖および腫瘍形成を抑えることができました。
- リンパ節など血液以外に病変を持つモガムリズマブ治療を受けた患者のうち、HGF 高発現群は低発現群よりも有意に予後不良であることがわかりました。
- 本研究より、モガムリズマブ抵抗性の患者さんの治療戦略において、プロモドメイン阻害剤が有望な候補治療薬となる可能性を示すことができました。プロモドメイン阻害剤は別のタイプの白血病で臨床試験が行われています。

1. 背景

成人 T 細胞白血病リンパ腫（ATL）は進行が速く、難治性の経過を辿る造血器腫瘍の一つです。病変は多岐にわたり、診断時には約 9 割の症例でリンパ節や臓器浸潤など、血液中以外にも病変を認めます。近年、従来の抗がん剤に加えて、ATL 細胞に発現する CCR4 タンパク質を標的としたモガムリズマブが標準治療として組み込まれるようになり、治療成績の改善が得られてきています。しかしながら、血液中の ATL にはよく効果が得られているものの、リンパ節などの非血液中の ATL 病変では効果が十分でなく、予後に影響することが知られています。これらの治療抵抗性病変形成のメカニズムは明らかでなく、新たな治療アプローチが求められています。本研究では、リンパ節と血液中の ATL 細胞のサイトカイン・増殖成長因子の発現比較解析を行い、腫瘍病変の形成に関わる遺伝子の発現制御メカニズムと、それを標的とする治療薬の有用性を検討しました。

2. 研究成果

リンパ節由来 ATL 細胞株と血液由来 ATL 細胞株のタンパク質アレイ解析⁷より、リンパ節由来細胞株で発現が高く、かつオートクラインに作用する因子として HGF が抽出されました。これまでいくつかのがん腫において、HGF/c-Met 経路が腫瘍増殖や転移に関与することや、ATL においてもアグレッジブ ATL で血漿中の濃度が高いことは知られていましたが、その発現メカニズムや病変起源となる細胞レベルでの発現の差異については明らかではありませんでした。本研究では、同一患者の臨床検体（リンパ節・末梢血）を用いた解析により、HGF 発現 ATL 細胞は血液中よりもリンパ節内で多く占めていることが明らかになりました。リンパ節 ATL 細胞株ではこの HGF/c-Met シグナルは活性化状

態にあり、HGF 発現のない血液由来細胞株に HGF 遺伝子を導入すると、in vitro においてリンパ節由来細胞株と同様に下流シグナルの活性化が生じ、細胞増殖、浸潤が促進され、マウス xenograft モデル⁸では腫瘍形成を認めました。リンパ節、血液由来 ATL 細胞株それぞれの HGF 遺伝子の発現制御領域を解析すると、エンハンサー、プロモーター⁹いずれの領域においてもリンパ節 ATL では活性化ヒストンマーカ-¹⁰ (H3K27Ac) および H3K27Ac を認識し転写に関与するリーダー蛋白質の BRD4 が豊富であり、この違いが両者における HGF 発現の違いを生み出していることがわかりました(図 1)。そこで、BRD4 の阻害薬(プロモドメイン阻害薬)である JQ1 を投与したところ、HGF 発現の有意な低下、下流シグナルの不活性化が生じ、細胞増殖は抑制されました。さらに、リンパ節由来 ATL 細胞株を移植したマウス xenograft モデルの JQ1 治療では、対照群に比べ有意に腫瘍縮小が得られ、臓器浸潤が抑えられることがわかりました(図 2)。また、臨床症例解析では、血清中 HGF 濃度は、ATL 細胞が血液中にしか認められない症例に比べて、血液中以外にも有する症例では有意に高く、これらの病変を有しモガムリズマブ投与を受けた患者の予後解析では、血清 HGF 濃度が高いほど全生存期間、無増悪生存期間いずれも不良であることが明らかになりました(図 3)。本研究から、HGF 発現はモガムリズマブ治療奏効の予測マ-カ-となる可能性が示され、治療抵抗性症例へのプロモドメイン阻害剤が新規治療薬として有用である可能性を見出すことができました。

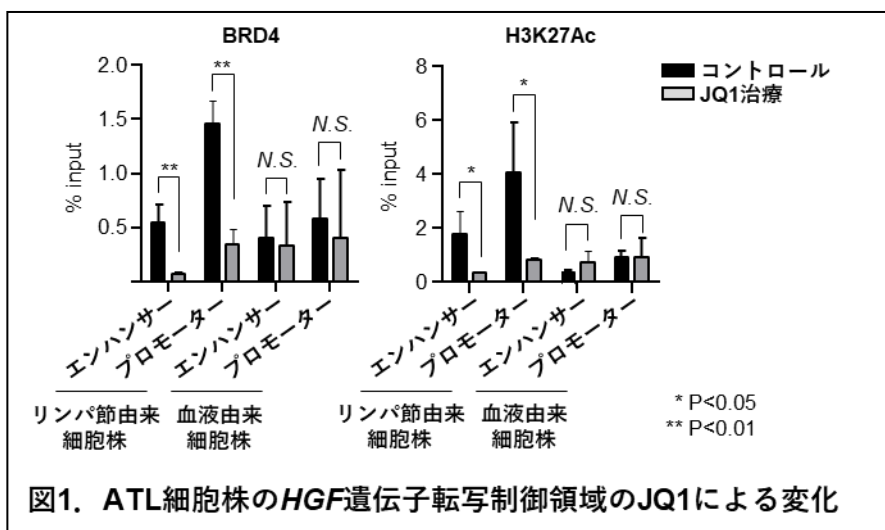


図1. ATL細胞株のHGF遺伝子転写制御領域のJQ1による変化

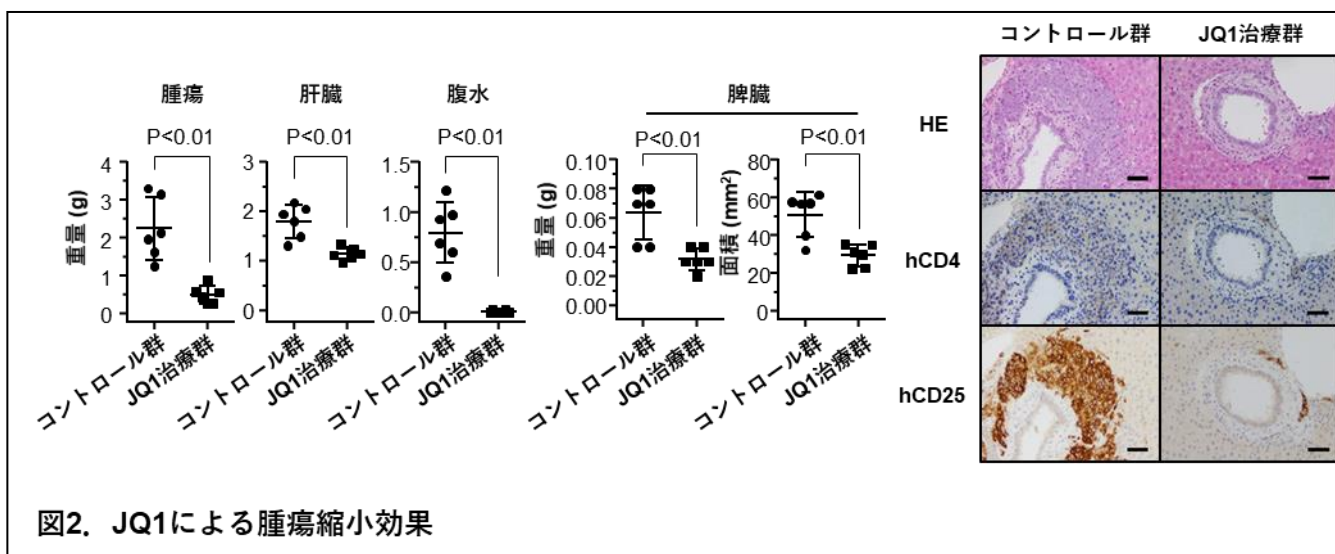


図2. JQ1による腫瘍縮小効果

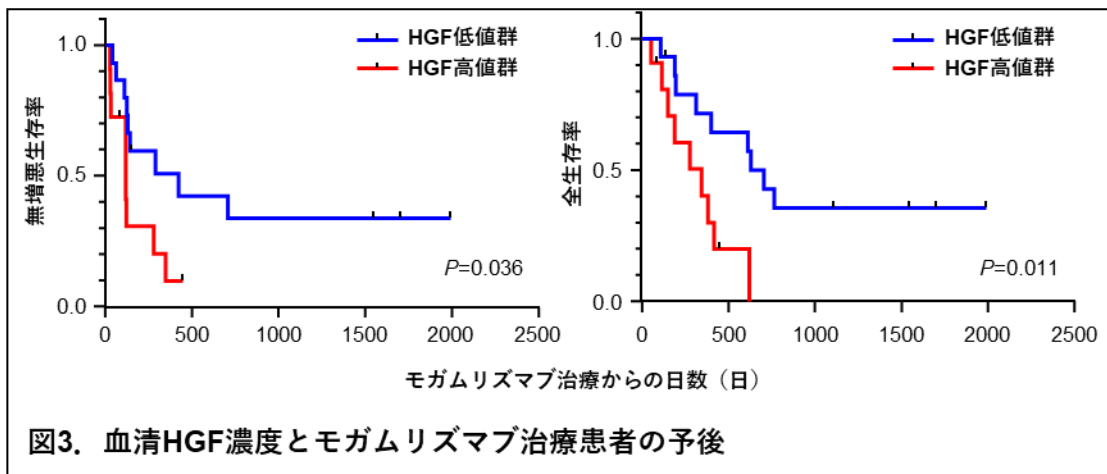


図3. 血清HGF濃度とモガムリズマブ治療患者の予後

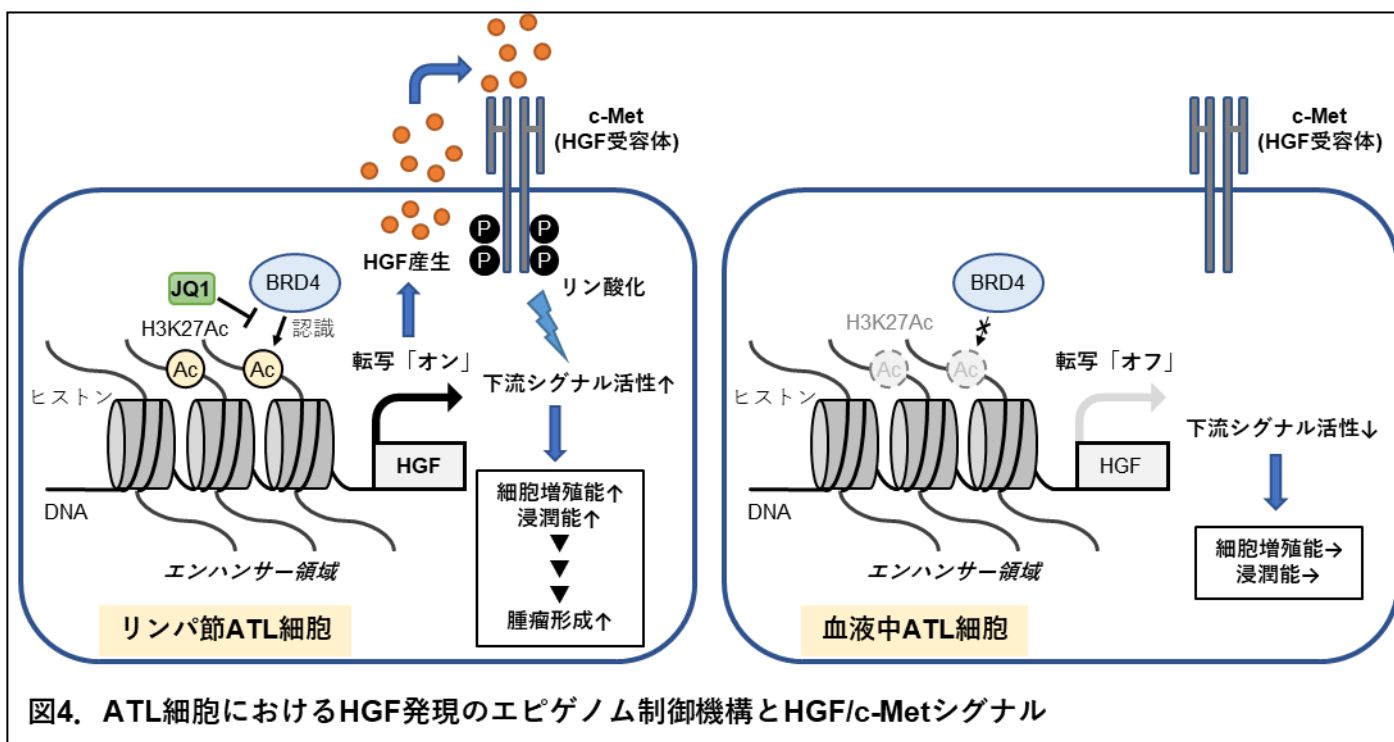


図4. ATL細胞におけるHGF発現のエピゲノム制御機構とHGF/c-Metシグナル

3. 今後の展開

プロモドメイン阻害薬は、現在海外において造血器腫瘍領域では白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫の治験薬として用いられてはじめており、今後日本においても導入される可能性があります。本研究からATLにおいてもその有用性が期待できることから、どのようなタイミングでどのように用いていくか治療法の開発を目標としています。

4. 用語説明

(1) 成人T細胞白血病リンパ腫

ヒトT細胞白血病ウイルスI型の感染によって発症するリンパ系造血器腫瘍です。ウイルスキャリアの約5%が生涯にこの成人T細胞白血病リンパ腫を発症すると報告されています。臨床所見や血液検査などによって、急性型、リンパ腫型、くすぶり型、慢性型の病型に分類され、このうち急性

型、リンパ腫型および予後不良因子を有する慢性型が治療対象となります。

(2) ブロモドメイン阻害薬

ブロモドメインタンパク質はヒストンのアセチル化リジンを認識して結合することにより転写を促進します。ブロモドメイン阻害薬はこのブロモドメインタンパク質と競合的に結合することで転写を阻害します。

(3) HGF

肝細胞増殖因子であり、初代培養肝細胞における生理活性蛋白質として同定されました。細胞増殖や遊走、転移などに関わることが知られており、c-Met 受容体に結合することで作用します。

(4) モガムリズマブ

成人 T 細胞白血病リンパ腫や一部の T 細胞に発現する CCR4 というタンパク質を標的に結合するヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体（分子標的薬）です。

(5) サイトカイン・増殖成長因子

細胞から分泌されるタンパク質で、細胞間の伝達として作用します。あるサイトカイン・増殖因子をこの受容体を持つ細胞が受け取ると、受け取った細胞に生理的活性が生じ、炎症応答や細胞増殖などが引き起こされます。

(6) オートクライン

細胞の分泌した物質が、その細胞自体に作用することです。一方、分泌した物質が近傍の細胞に作用することをパラクラインと言います。

(7) タンパク質アレイ解析

メンブレンやスライドガラス上に、タンパク質に特異的に結合する抗体がスポット上に配置されており、網羅的にタンパク質を検出することができます。

(8) マウス xenograft モデル

異種移植モデルのことで、今回の研究では、免疫不全マウスにヒト由来細胞株を移植したマウスモデルのことで。

(9) エンハンサー、プロモーター

遺伝子の転写に関わる DNA 上にある領域のことです。プロモーターはある遺伝子上流にあり、この領域に基本転写因子が結合することで転写が開始されます。エンハンサーは遺伝子上流あるいは下流に存在し、転写制御因子を介してプロモーターと会合することで転写を促進します。

(10) ヒストンマーカー

ヒストンとは染色体を構成する蛋白質の一つで、これに DNA が巻き付くような構造をとっていません。このヒストンから出たしっぽ（ヒストンテール）はアセチル化、メチル化、リン酸化などの化学修飾を受けており（ヒストンマーカー）、これによってヒストンと DNA の結合した構造が変化し、遺伝子の転写が進められたり抑えられたりします。H3K27Ac とは、ヒストン 3 (H3) の 27 番目のリジン残基 (K27) がアセチル化された状態であることを示しています。

5. 発表雑誌

雑誌名 : Oncogene (英国時間 8 月 4 日午前 1:00 の電子版)

論文タイトル : Autocrine HGF/c-Met signaling pathway confers aggressiveness in lymph node adult T-cell leukemia/lymphoma

著者 : Haruhito Totani^{1,2}, Keiko Shinjo¹, Miho Suzuki¹, Keisuke Katsushima¹, Shoko Mase¹, Ayako Masaki^{2,3}, Asahi Ito², Masaki Ri^{2,4}, Shigeru Kusumoto², Hirokazu Komatsu², Takashi Ishida⁵, Hiroshi Inagaki³, Shinsuke Iida², and Yutaka Kondo^{1*}

所属 :

1. Division of Cancer Biology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan
2. Department of Hematology and Oncology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan
3. Department of Pathology and Molecular Diagnostics, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan
4. Department of Blood Transfusion and Cell Therapy, Nagoya City University Hospital, Nagoya, Japan
5. Department of Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

DOI : <https://www.nature.com/articles/s41388-020-01393-x>

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/On_Co_200804en.pdf