

## ASH2023 報告

### 【全体的な印象】

- 臨床に即した話題がすごく多い。血液疾患が、「原因を探索する時代」から、「治療する時代」に移ったことを実感した。
- 女性 PI がすごく多い。半分くらい？日本は遅れているのかも。
- scRNA-seq みんなやっている。もはや、やっただけでは意味がなさそう。

### 【Plenary】

#### Targeted Degradation of the WIZ Transcription Factor for Gamma Globin De-Repression (Pamela Y Ting, Novartis)

ノバルティスからの演題が Plenary というのが、臨床の時代を象徴している。鎌状赤血球貧血症(Sickle cell disease: SCD)は $\beta$ グロビンの点遺伝子変異によって生じる先天性疾患で、鎌状の形態を示す異常な赤血球が血管閉塞を起こし、貧血、疼痛、臓器障害などを生じる。SCD の治療については、ウイルスベクターを使って正常な $\beta$ グロビン遺伝子を導入する治療や、CRISPR/Cas9 等を使って胎児型の $\gamma$ グロビン遺伝子の発現を誘導する遺伝子治療が注目されているが、遺伝子治療は現時点ではできる施設が限られているということで、どこでも使える低分子薬を開発しました、という話。多数の化合物を用いた Functional Screening を行い、転写因子 WIZ の分解を誘導する molecular glue として働く化合物が、 $\gamma$ グロビン遺伝子の発現を誘導する作用を持つことを発見した。化合物の改良、そしてその薬効チェックなどは流石に製薬会社という感じの圧倒的な実験量で、費用等効果はともかく確かに良い薬ができたことは間違いなさそう。この薬は生涯飲む必要があるのか？という質問には、躊躇なく Yes. このあたりも製薬会社的。

#### Metabolic Programming of Hematopoietic Stem Cell Function By Prenatal Folate (Brian Krum, University of Utah)

妊娠中のメスマウスに、葉酸欠乏食および葉酸追加食を与えて、生まれてきた子供の造血幹細胞を評価。葉酸欠乏食を与えたマウスから生まれた子供の造血幹細胞では、ミトコンドリア機能に異常があり、移植時の生着能が低下していた。一方、葉酸追加食を与えたマウスの造血幹細胞は、生着能が増強していた。

妊娠時の栄養状態の差が、ずっと持続して生まれた子マウスが大人になった後の造血幹細胞機能にも影響しているのは興味深い。ただ、これらの結果をどこまでヒトに当てはめて良いかは不明。

### 【E. Donnell Thomas Lecture and Prize】

Katy Rezvani, M D Anderson Cancer Center

Car-NK 細胞開発で有名な MD Anderson の女性医師。E. Donnell Thomas 先生は造血幹細胞移植の開発で有名だが、新しい細胞治療として、Car-T 細胞に続き、Car-NK 細胞も大きな注目を集めている。Car-T 細胞は基本的に自分の T 細胞を使う必要があるため大量生産ができないが、免疫的なしぼりのゆるい NK 細胞であれば、良い臍帯血由来 NK 細胞を増やすことで予め準備しておくことができる(コストもだいぶ抑えられる)、というのが NK 細胞の大きな利点。

このグループは、まず「良い」臍帯血(保存までの期間が短く状態の良い細胞)を使うことが何よりも重要であることを突き止め、品質にこだわった臍帯血細胞を基にした様々な Car-NK 細胞を開発し、治療効果を検証している。本当に様々な Car-NK 細胞を開発しており、圧倒的。私も Car-NK 細胞には大いに魅力を感じているが、同じようにやっても勝負にならないので、一工夫が必要であることを実感した。

#### 【Oral presentation】

Single-Cell Characterization of TP53-Mutated AML Patients Treated with Frontline Azacitidine, Venetoclax, and Magrolimab Reveals Mechanisms of Response and Resistance  
(Poonam N Desai, MD Anderson Cancer Center)

Magrolimab (anti-CD47 mAb), azacitidine, and venetoclax (AVM)で治療した TP53 変異 AML sample を用いて、scRNA-seq と scTCR-seq を施行。

→ 腫瘍細胞の **erythroid differentiation** や oxidative phosphorylation 亢進が治療抵抗性に関与している。また、治療が効かなかった症例では、CD8 T 細胞の活性が低下している傾向もあった。

Primary Acute Myeloid Leukemia Cells Trigger Distinct Activation Patterns in Expanded NK Cells (Hanna Duàn, University of Helsinki)

AML 患者から採取した BM 細胞(正常細胞を含む)と NK 細胞を共培養し、scRNA-seq で解析した。

→ 約半数の AML sample は、NK 細胞の活性化を誘導したが、残りの半数はしなかった。HLA-C の一致、不一致は、NK 細胞の活性化にはあまり関係なかった。NK 細胞との共培養により、患者 BM 中の T 細胞が活性化する傾向があった。

\*SETDB1 を抑制することで NK 細胞活性化率を上昇させられるのでは？この培養系はうちでもぜひ確立したい。

GATA1 Target Gene CSF2RB Is Functionally Coupled to MPL and Marks a TPO-Dependent Preleukemic TAM Cell Population Sustained By the Fetal Liver but Not Bone Marrow  
(David Cruz Hernandez, University of Oxford)

主に Down 症でみられる、新生児期に白血病様の芽球が一時的に増加する (Transient abnormal myelopoiesis: TAM) と呼ばれる疾患がある。TAM 細胞は胎児造血の場所である fetal liver では増殖できるが、成体造血の場所である骨髄内では増殖できないため、新生児期を乗り切ると自然に軽快する。ただ、なぜ fetal liver 環境のみで TAM 細胞が増殖できるかは不明であった。

→本研究では、TAM 細胞を用いた scRNA-seq などから、CSF2RB(北村先生が見つけた IL3, IL5, GM-CSF 受容体に共通する common beta chain) が高発現していることを見出した。しかし TAM 細胞では、パートナーである alpha chain (IL3, IL5, GM-CSF 受容体)のいずれも発現していない。TAM 細胞では、CSF2RB が MPL (TPO レセプター) とヘテロダイマーを形成し、シグナルを伝達していると考えられた。また、fetal liver では TPO の濃度が高いため、TAM 細胞が増殖できるのではないかと考えられた。

\* CSF2RB-MPL が本当にヘテロダイマーとして働くのであれば興味深い。

Identifying Stress Granules As Determinants of Leukemia Stem Cell Maintenance and Stress Adaptation (Amanda Tajik, Princess Margaret Cancer Centre)

RNA Binding Protein (RBP) を対象とした In vivo CRISPR/Cas9 library screening で、stress granule (SG) 関連の RBP が多数同定された。Core SG protein である G3BP1 をノックダウンする実験を行い、G3BP1 は白血病細胞の生存やコロニー形成に重要であることを証明。メカニズムとしては、SG に過剰な自然免疫経路の活性化を抑制する機能があり、これが大事なのではとのこと。

\* 他に、“m6A Mediated Ribostasis of RNA Stress Granule Assembly Governs Blood Development and Regeneration” という発表もあり、Stress Granule は面白そう。山本先生のシステムで何かできないか？

Intra-Leukemic IFN  $\gamma$  Signaling Mediates Cell Cycle Suppression and Chemoresistance in AML (Daiki Karigane, Stanford University School of Medicine)

2種類の PDX 細胞を同時に移植するというユニークな実験系を用いて、Cell cycle の速いものと遅いものどちらも生着能を持つが、速いものと一緒に移植すると遅い方の増殖が抑制されること(当たり前)、しかし遅い方の細胞も単独で移植するとしっかり生着することから、白血病幹細胞活性は保たれていることを示した(ここが重要)。そしてこの遅い方の白血病細胞では IFN  $\gamma$  が活性化しており、化学療法に抵抗性を示すことがわかった。

\* IFN  $\gamma$  は白血病幹細胞の治療抵抗性と関連していそうだが、単なる移植実験ではその重要性が見えないかも。治療実験を行う必要があるそう。

The Mevalonate Pathway Is a Therapeutic Target in TP53 Mutant Acute Myeloid Leukemia (Sarah Skuli, *The University of Pennsylvania*)

TP53 変異固形腫瘍では、mevalonate 経路が腫瘍の増殖や転移に重要な役割を果たしている(知らなかった).そこで、TP53 変異 AML における mevalonate 経路の役割を調べた、という研究。TP53 変異腫瘍では、AraC 治療時に mevalonate 経路が活性化し、それによってミトコンドリアの OXPHOS(酸化的リン酸化)が亢進し、治療抵抗性が増す。Statin+AraC 併用療法が、TP53 変異 AML に効く。

\* 薮下君の論文で、Decitabine が TP53 変異 AML に効きやすいこと、Statin と相乗的治療効果を示すことを明らかにしているが、何か関係あるのか？

Targeting Super-Enhancers Driving EVI1 Expression in Leukemia By Inhibition of p300/CBP (Dorien Pastoors, Oncode Institute)

t(3;8)転座を持つ AML では、Myc Enhancer が EVI1 遺伝子に近接することで EVI1 が高発現することが以前に示されていた。本研究では、t(3;8) K562 model (Ottema et al. 2021)を用いて EVI1 が高発現するメカニズムを解析し、CBP/p300 が重要な役割を果たしていることを見出した。Inv(3;3)など他の転座でも同様のメカニズムが働いているかどうか、興味深い。

Label-Free Cell Detection of Acute Leukemia Using High-Content Morphological Profiling in Flow (Yoko Kawamura, ThinkCyte)

Ghost cytometry を使って、染色なしで細胞を AML と ALL に分類する方法を開発した。適切なトレーニングを行えば、より細かい分類(monocytic, erythroid など)もできそう。

#### 【Poster presentation】

The Effect of SCD-1 Inhibition on Human Hematopoietic Stem Cell Mitochondrial Metabolism, Cell Proliferation, and Differentiation Potential

(Olivia Perrone, Cincinnati Children's Hospital Medical Center)

SCD-1 inhibitor が造血幹細胞の造血再構築能や分化に及ぼす影響を検証。SCD-1 阻害剤は造血再構築能には影響を及ぼさなかったが、リンパ球系細胞、特に T 細胞の割合を増加させた。

\* SCD が APL に大事という薮下仮説と関係あるか？

Nuclear Condensates Are a Therapeutic Vulnerability in NPM1-Mutant Acute Myeloid Leukemia (**Gandhar Datar, Baylor College of Medicine**)

NPM1c が liquid-liquid phase separation (LLPS)によって核内で非膜型の構造体を形成し、XPO1, NUP98, KMT2A などとともに HOX 遺伝子の発現を行っている、と主張。

\*なぜ NPM1c のみが LLPS によって構造体を形成できるのか不明。配列的には WT をあまり変わらないはずだが…。NPM1-WT に NES をつけて核外移動を強制的に誘導しても、

HOX 遺伝子の発現等の変化はなかったとのこと。

RUNX1 Isoforms Regulate RUNX1 and Target-Genes Differentially in Platelets/Megakaryocytes: Association with Clinical Cardiovascular Events  
(Liyang Guan Temple University)

RUNX1 は、自分自身や他の RUNX family(RUNX2 や RUNX3)のプロモーターに結合し、発現を制御していることは以前から知られているが、RUNX1b と RUNX1c で逆の性質を持つらしい。HEL 細胞で、RUNX1B overexpression は、RUNX1C と RUNX1A mRNA/protein expression を抑制する。一方、RUNX1C overexpression は、RUNX1B と RUNX1A mRNA/protein 発現を増強する。

\*RUNX1A のタンパク発現を Western でみることは可能。ただ、RUNX1b/c と比べるとかなり低いので、相当 long exposure する必要があるらしい。

\*RUNX1b, RUNX1c それぞれを knockdown してみても良いかも。

RNA-Binding Protein RBM5 Plays an Essential Role in Acute Myeloid Leukemia By Activating the Oncogenic Protein HOXA9  
(Mengli Zhang, Soochow University)

HOXA9-endogenous reporter を用いて Genome-wide CRISPR/Cas9 screen を行い、RNA-binding protein RBM5 を HOXA9 活性化因子として同定した。また、RBM5 が AML 細胞の増殖に重要であることも示した。

Phase Separation Mediates RUNX1- Mutation Leukemic Transformation  
(Xiuhua Su, Shandong University)

RUNX1 も phase separation するとのこと。確かに、Immunostaining で dot 状に見えることはあった気がする。ほとんどの分子が、多かれ少なかれ特定の状況では LLPS している？

Non-Viral RNA-Lipid Nanoparticles for High Efficiency Genome Editing of CD34+ Hematopoietic Stem and Progenitor Cells for Advanced Cell and Gene Therapies  
(Reka Geczy, Precision NanoSystems ULC, Vancouver, BC, Canada)

うちとやっていることはほぼ同じ。Cas9 RNA + CD45-sgRNA 2 種類をモル比 1:0.5:0.5 で混合して LNP に封入し、80%程度の Knockout 効率を達成。LNP に封入する場合は、Protein より RNA の方が良い。RNA Modification はあまり追求していない、とのこと。In vitro のみで、in vivo ではやっていない。