

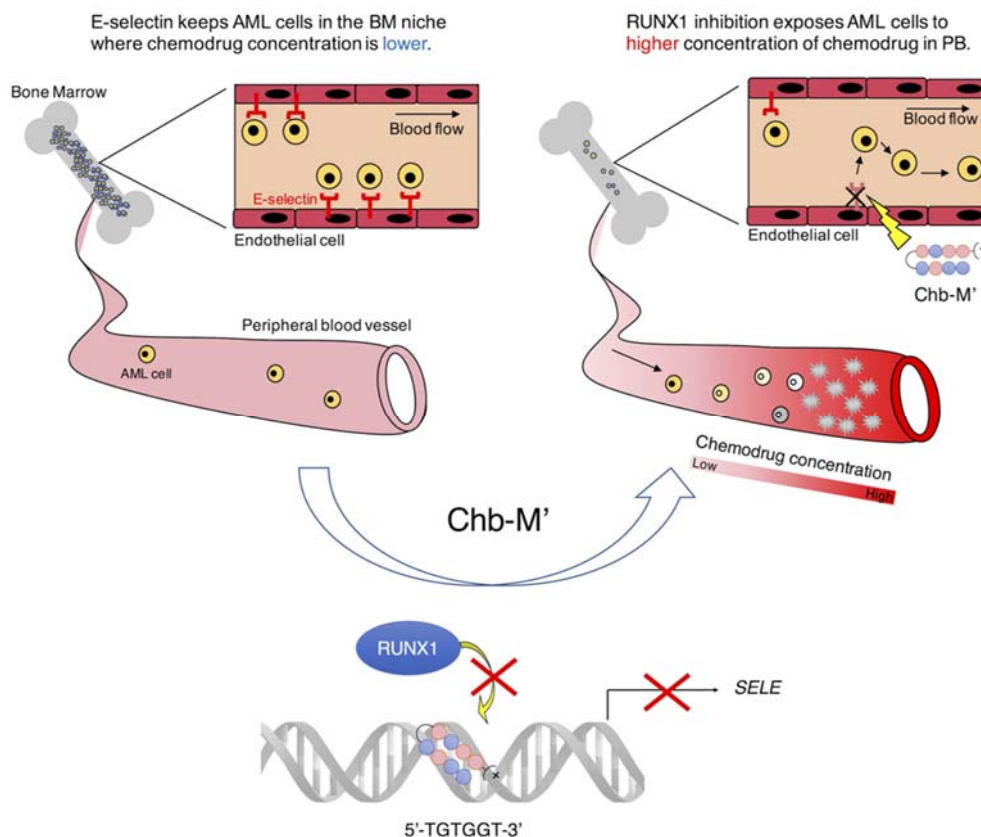
骨髓微少環境を制御する新手法で白血病の延命効果を確認

—白血病治療に新しいコンセプトを提示—

概要

転写因子 Runt-related transcription factor (RUNX)1 は、白血病発症と増殖・維持に重要な役割を担っていることから、RUNX1 を抑制するコンセプトは、白血病治療に有効な新規治療戦略であることが広く認められています。しかし、RUNX1 が骨髓微少環境（ニッチ）でどのような機能を果たしているか、RUNX1 を抑制した場合に白血病細胞にどのような影響があるかはほとんど解明されていませんでした。京都大学大学院医学研究科 上久保靖彦 准教授、森田剣 博士研究員、徳重智恵子 修士課程学生、足立壮一 教授らのグループは、京都大学大学院理学研究科 杉山弘 教授らと共に、骨髓微少環境（ニッチ）のうち血管内皮ニッチにおいて重要な働きをする E-Selectin を RUNX 阻害剤で制御することによって、白血病細胞が骨髓に潜むことを抑制し、マウス白血病移植モデルにおいて大幅に生存期間を延長させることに成功しました。これは、白血病治療戦略に、直接的な抗がん剤治療に加えて、骨髓微少環境（ニッチ）制御という新しい治療コンセプトを提示する画期的成果です。

本研究は、2018年3月2日に国際学術誌「Blood Advances」オンライン版に掲載されました。



1. 背景

本研究チームは、これまでに RUNX1 を白血病細胞で抑制することにより細胞増殖が強く抑制されることを実証してきました。しかし、骨髄微少環境（ニッチ）における RUNX ファミリー因子の働きは、ほとんど解明されていません。

骨髄微少環境（ニッチ）は、大きく分けて骨芽細胞ニッチと血管内皮ニッチの2つに分類されます。白血球と血管内皮細胞との接着に関与する分子セレクトリンは、(E、L、P) -Selectin の3つが報告されていますが、中でも E-Selectin は血管内皮ニッチの重要な因子であり、急性骨髄性白血病細胞は、E-Selectin により血管内皮ニッチに接着することで骨髄内に潜む事が知られています。また、寛解後も体内に残存する微小なレベルの白血病細胞（白血病微少残存病変、MRD : Minimal Residual Disease）は、多くの場合、白血病細胞が抗がん剤の殺効果を逃れて骨髄に潜むこと、それにより免疫監視機構から逃れることが原因と考えられてきました。

そこで本研究チームは、RUNX ファミリーの血管内皮ニッチにおける働きを解明し、血管内皮ニッチを制御することによって、白血病細胞が骨髄に潜むことを防ぐ手法を開発することを本プロジェクトの目的としました。

2. 研究手法・成果

本研究チームは、まず最初に、ヒトの血管内皮細胞株（HUVECs）において、本研究チームが開発中である RUNX 阻害剤（Chb-M'）で RUNX1 を特異的に抑制すると、E-Selectin の発現が最も強く抑制されることに注目しました。（図1-1）

このとき、E-Selectin の転写を制御する領域（プロモーター領域）に、RUNX ファミリー因子の共通結合領域（コンセンサス配列：TGTGGT）が存在すること（図1-2）、RUNX1 がコンセンサス配列 TGTGGT に結合し（図1-3）、E-Selectin の遺伝子発現を直接に制御していることが判明しました。（ここにデータは表示していませんが、正確には RUNX2 も結合して E-Selectin を制御しています。）

次に、野生型マウスに2週間 RUNX 阻害剤（Chb-M'）を投与し、骨髄の E-Selectin を強く抑制しました。その後、同系マウスの骨髄に、白血病関連遺伝子 MLL の変異体タンパク質である MLL-ENL をレトロウイルスで導入して樹立した、マウス急性骨髄性白血病細胞を移植しました。そして、そのマウスより大腿骨と脾臓を採取し（図2-1）、その中の白血病細胞の比率を解析しました。その結果、RUNX 阻害剤(Chb-M')で前処置したマウスでは、大腿骨の白血病細胞比率が有意に減少しました。（図2-2）これは、大腿骨（骨髄ニッチ）において白血病細胞のプーリング（潜むこと）が抑制されたことを示しています。

さらに、免疫不全マウスに2週間 RUNX 阻害剤を投与し（前処置：プレコンディショニング）、ヒト難治性急性骨髄性白血病細胞を移植し、7日後生着を確認した後、RUNX 阻害剤(Chb-M')で治療する実験を行いました。（図3-1）その結果は次の通りとなりました。（図3-2）

- ヒト白血病細胞を移植、その後無治療では、約 40 日でほぼマウスは白血病死した：プレコンディショニング (DMSO) +治療 (DMSO)
- Chb-M'で E-Selectin を抑制したのち、ヒト白血病細胞を移植、その後無治療では、マウスの生存期間は大幅に延長し、約 70 日でほぼマウスは白血病死した：コンディショニング (Chb-M') +治療 (DMSO)
- Chb-M'で E-Selectin を抑制したのち、ヒト白血病細胞を移植、その後 Chb-M'で治療した場合は、さらにマウスの生存期間は大幅に延長し、約 100 日でほぼマウスは白血病死した：コンディショニング (Chb-M') +治療 (Chb-M')

これは、骨髄微少環境 (ニッチ) の中で、血管内皮ニッチの E-Selectin を抑制すると、生存期間が大幅に延長することを意味することから、RUNX 阻害剤 (Chb-M')の前処置は、急性骨髄性白血病に対して極めて有効な治療戦略であることが示唆されました。

以上の結果から、白血病細胞が潜む骨髄微少環境血管内皮の E-Selectin を RUNX 阻害剤で抑制することによって、白血病細胞の骨髄へのプーリングが抑制されるために、循環血液中に遊出された白血病細胞が抗がん剤治療に暴露されやすくなり、生存期間を大幅に延長できることが判明しました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究によって、RUNX 阻害剤 (Chb-M') などによる RUNX 阻害戦略は、白血病細胞に対する RUNX 阻害剤の直接的抗がん作用だけでなく、骨髄微少環境 (ニッチ) を制御することで白血病細胞の骨髄内プーリングを抑制するという非直接的な作用も、有効な治療戦略になることが示唆されました。これは、白血病治療戦略に、骨髄微少環境 (ニッチ) 制御という新しい治療コンセプトを提示するものです。今後は、本研究が示した RUNX 阻害剤(Chb-M')による骨髄微少環境 (ニッチ) 制御戦略の臨床応用が促進されることが期待されます。

(図 4)

4. 研究プロジェクトについて

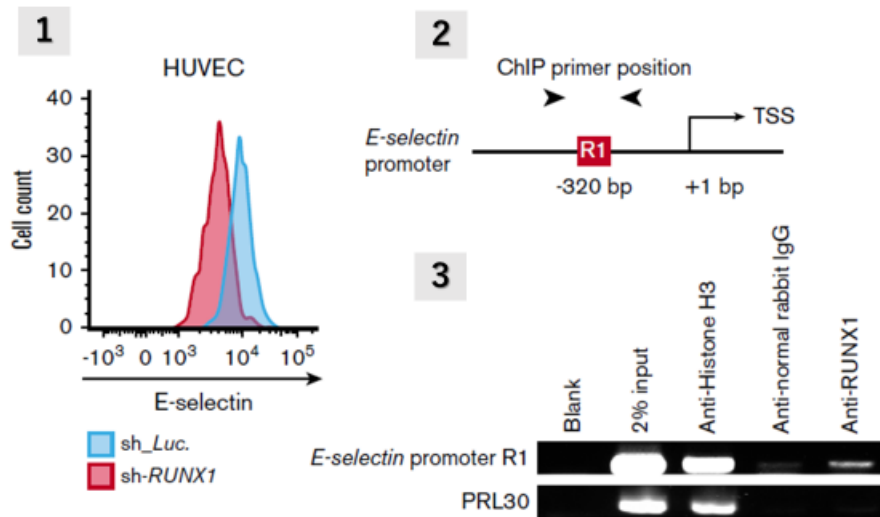
本研究プロジェクトは、科学研究費補助金 日本学術振興会・基盤研究 B「分子標的薬耐性を克服する革新的抗腫瘍 コンセプトの構築」、日本学術振興会・挑戦的萌芽研究「革新的免疫スイッチ法による新規腫瘍免疫制御戦略の構築」、日本医療研究開発機構 革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業・技術開発課題 A (中核技術の開発)「任意の遺伝子発現制御を可能にする革新的ポリアミド薬剤の開発」、日本医療研究開発機構 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業：BINDS「遺伝子発現制御と塩基配列認識を基盤とするライブラリー創薬支援」の支援を受けて行われた。

<論文タイトルと著者>

タイトル : RUNX transcription factors potentially control E-selectin expression in the bone marrow vascular niche in mice.

著者 : Ken Morita,* Chieko Tokushige,* Shintaro Maeda, Hiroki Kiyose, Mina Noura, Atsushi Iwai, Maya Yamada, Gengo Kashiwazaki, Junichi Taniguchi, Toshikazu Bando, Masahiro Hirata, Tatsuki R. Kataoka, Tatsutoshi Nakahata, Souichi Adachi, Hiroshi Sugiyama and Yasuhiko

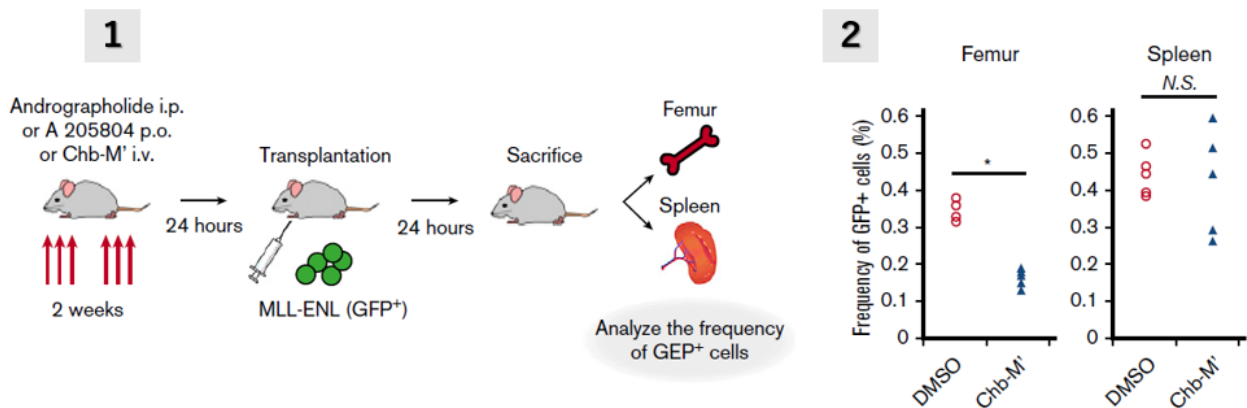
図 1



Kamikubo

* These authors contributed equally to this work.

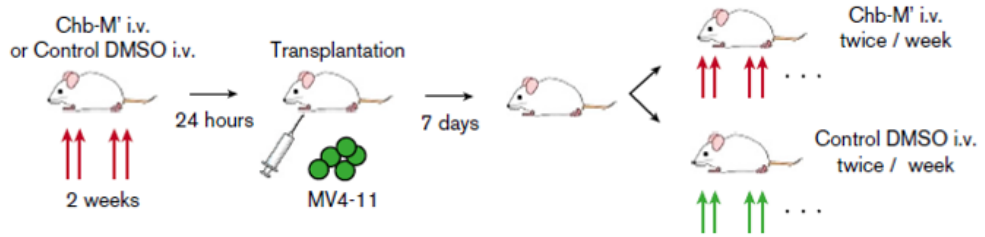
図 2



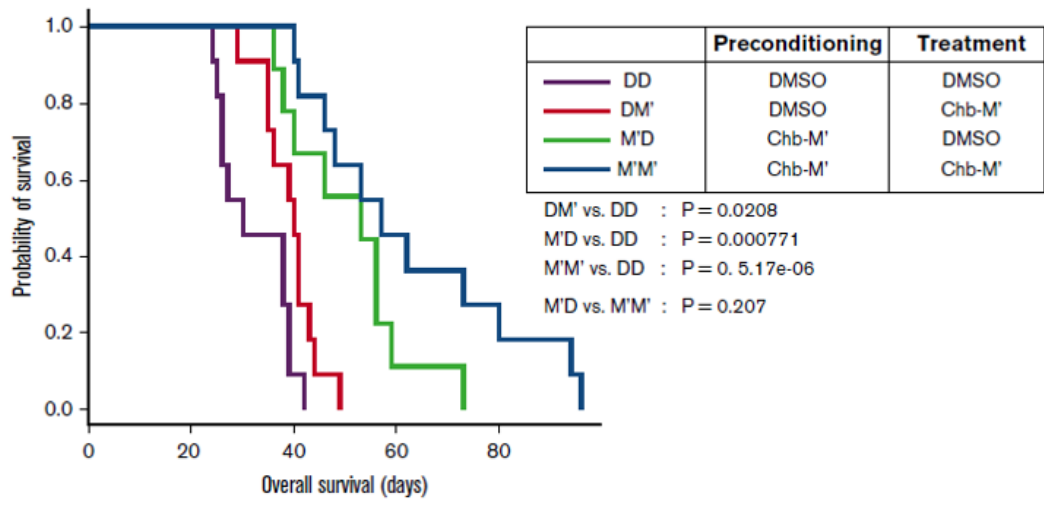
掲載誌 : Blood Advances

3

1



2



4

