



平成 22 年 2 月 4 日

金 沢 大 学
Tel : 076-264-5024 (広報戦略室)

(独) 科学技術振興機構 (JST)
Tel : 03-5214-8404 (広報ポータル部)

慢性骨髄性白血病の治療抵抗性原因分子を発見 —新たな白血病治療法開発にはずみ—

JST 目的基礎研究事業の一環として、金沢大学 がん研究所の平尾 敦 教授と仲一仁 助教らは、慢性骨髄性白血病^{注1)}の治療抵抗性原因分子を発見しました。

慢性骨髄性白血病の原因は、BCR-ABL 融合遺伝子^{注2)}によるチロシンキナーゼの異常活性化亢進であることが知られており、特効薬としてチロシンキナーゼ阻害剤が開発され、患者の治療に使用されています。ところが、一部の患者に薬剤投与中止後の再発が起こること、また、残存白血病において新たな遺伝子異常が発生することが問題となっており、白血病完治のためには、薬剤抵抗性を克服することが必要であると考えられていました。また、最近、白血病細胞中に、その供給源となる幹細胞様の細胞集団“白血病幹細胞”の存在が示され、薬剤抵抗性との関連が示唆されていました。

本研究グループは今回、慢性骨髄性白血病マウスモデルを用い、白血病幹細胞の特定と動態制御の解析を行った結果、代謝制御分子フォークヘッド転写因子 FOXO^{注3)}が、白血病幹細胞において活性化していること、この活性化は白血病幹細胞の機能維持やチロシンキナーゼ阻害剤抵抗性に重要な役割を果たしていることを発見しました。さらに、FOXO 活性化機序のひとつとして、TGF ベータシグナル^{注4)}の役割を明らかにしました。TGF ベータ受容体阻害剤を投与することによって、チロシンキナーゼ阻害剤の治療効果が向上することから、白血病幹細胞における TGF ベータ-FOXO シグナル活性化が治療抵抗性の原因であることを示しました。

本研究の成果は、臨床上問題となっている慢性骨髄性白血病の薬剤抵抗性メカニズムの一端を解明したこと、また、新たな白血病治療法開発のための重要な鍵を発見したことを意味します。今後、さらに詳細なメカニズムの解明とともに、化合物スクリーニングなどを用いた新規治療法の開発が期待されます。本研究成果は、2010年2月4日(日本時間午前3時)発行の英国科学雑誌「Nature」に掲載されました。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究 (CREST)

研究 領 域 : 「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」

(研究総括 : 鈴木 紘一 東京大学 名誉教授)

研究課題名 : 「代謝解析による幹細胞制御機構の解明」

研究代表者 : 平尾 敦 (金沢大学 がん研究所 教授)

研究 期 間 : 平成17年10月~平成23年3月

JSTはこの領域で、細胞内の代謝変化を統合的あるいは網羅的に解析し、細胞機能の制御メカニズムや恒常性維持のメカニズムを明らかにし、細胞機能を効率的に制御・変換したり、恒常性の乱れを改善・回復させる細胞制御基盤技術の創出を目指しています。上記研究課題では、代謝制御の観点からのアプローチにより、幹細胞の制御機構を解明し、再生医療やがん治療の向上に貢献することを目標としています。

＜研究の背景と経緯＞

腫瘍組織の不均一性 (heterogeneity) を説明する仮説のひとつとして、正常組織幹細胞と類似した少数の腫瘍細胞が起源となり腫瘍組織全体を構成するという「がん幹細胞仮説」が提唱されています。すなわち、正常組織では幹細胞を頂点として階層的に分化細胞が作り出されるように、がん幹細胞を頂点として階層的に増殖能の低い分化細胞が作り出され腫瘍組織が構成されるということが考えられています。白血病をはじめとして、いくつかの腫瘍において、がん幹細胞の存在が示されており、がん治療における真の標的細胞であると考えられるようになりました (図1)。

慢性骨髄性白血病は、成人にみられる骨髄増殖性疾患です。慢性骨髄性白血病の原因は、造血幹細胞における遺伝子異常 (BCR-ABL 融合遺伝子) の発生であり、異常チロシンキナーゼ活性 (ABL 機能の活性亢進) による造血細胞の異常増殖を示します。数年間の慢性期を経て、急性転化期を迎え、白血病化します。治療として、チロシンキナーゼ阻害剤 (イマチニブなど) が開発され、特効薬として患者の治療に使用されています。イマチニブは、ABL を標的としたチロシンキナーゼ阻害剤であり、従来の DNA 複製阻害剤を中心とした抗がん剤とは違い、特定の分子の機能阻害による薬剤、すなわち分子標的薬剤として、最も早く成功した薬剤として知られています。ところが、薬剤投与中止後の再発や薬剤耐性細胞における新たな遺伝子異常の発生が問題となっています。これまでの研究により、チロシンキナーゼ阻害剤抵抗性を示すのは、分化した白血病細胞ではなく、主に白血病幹細胞であることが示されてきました (図2)。同じ遺伝子異常が存在しているにもかかわらず、チロシンキナーゼ阻害剤の感受性が、白血病幹細胞集団と分化集団で異なり、生存シグナルの依存性の相違が示唆されることから、白血病幹細胞の動態や制御メカニズムを理解することが、慢性骨髄性白血病の薬剤抵抗性メカニズム解明の鍵になると考えられてきました。

＜研究の内容＞

本研究グループは、マウス慢性骨髄性白血病モデルを確立し、白血病幹細胞の特定および動態解析を行いました。その結果、マウス生体中で慢性骨髄性白血病中には少数の幹細胞的細胞集団、“白血病幹細胞”が存在していることを確認しました。この白血病幹細胞は、細胞周期や細胞表面発現蛋白などが正常造血幹細胞と類似しており、両者の共通性が示唆されました。本研究グループは、以前より正常造血幹細胞の制御機構の解析を行っており、本 CREST 研究の一環で、代謝制御分子であるフォークヘッド転写因子が、造血幹細胞で必須の役割を果たしていることを見出していました (Cell Stem Cell, 2007)。そこで、白血病幹細胞において、FOXO の挙動を観察したところ、白血病幹細胞で核内に局在し、一方、白血病幹細胞以外の白血病細胞では、核外に局在していることから、幹細胞特異的に FOXO が活性化していると考えられました (図3A)。FOXO ファミリー分子のひとつである FOXO3a^{注3)} 欠損マウスを用いて、白血病幹細胞の機能解析を行ったところ、FOXO3a は、白血病幹細胞の生存に必須であり、長期的に白血病を産生する能力を維持するために重要な役割を果たしていることが明らかとなりました。また、FOXO3a の欠損によりイマチニブによる治療効果が向上することから、イマチニブ抵抗性の原因として、白血病幹細胞における FOXO 活性化が重要であることを見出しました (図3B)。さらに、白血病幹細胞における FOXO 活性化機序のひとつとして、TGF ベータシグナルが重要な役割を果たしていることを見出しました。TGF ベータ受容体阻害剤の投与によって、FOXO の核局在が阻害され、イマチニブによる白

血病の治療効果も向上することが確認されました（図4）。このことから、TGF ベータ-FOXO シグナルが、白血病幹細胞機能維持と治療抵抗性に必須の分子であることが判明しました。また、同様の機能がヒト慢性骨髄性白血病患者由来の白血病幹細胞でも確認されました。

＜今後の展開＞

本研究において、臨床上問題となっている慢性骨髄性白血病の治療抵抗性メカニズムの一端を解明しました。この成果は、新たな白血病治療法開発のための重要な鍵を発見したことを意味します。すなわち、白血病幹細胞制御調節シグナル活性を調節する化合物を探索することによって、新たな白血病治療法が開発できることが示唆されました。今後、本研究グループは、がん幹細胞制御メカニズムの更なる理解を進めるとともに、化合物スクリーニングなどによる新規治療薬の探索、前臨床試験に有用ながんモデルの確立などを通して、がんの診断・治療の向上を目指します。

<参考図>

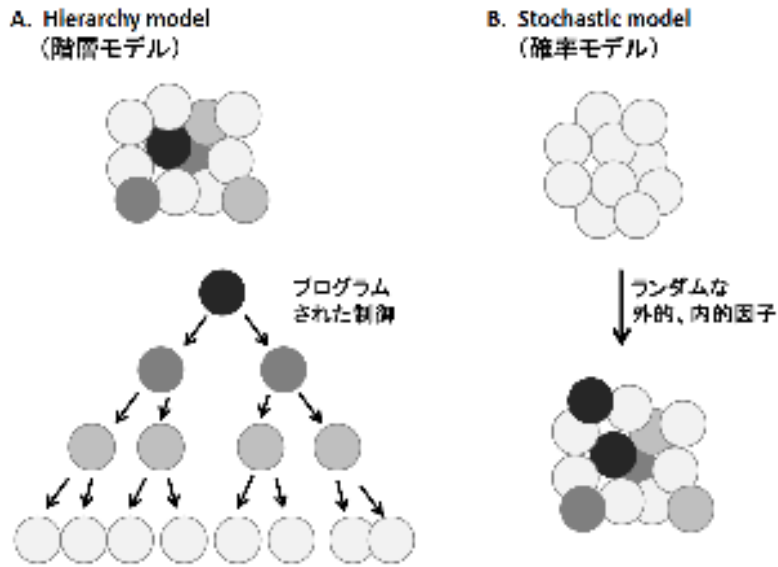


図1 がん幹細胞の概念

がん幹細胞を頂点として階層的に増殖能の低い細胞が作り出され、プログラムされた制御によって腫瘍組織が構成される (A 階層モデル)。この考え方は、がんは本質的に均一な細胞から成り立ち、たとえ腫瘍形成能力を持つ細胞が一部にしかなくても、それは全くランダムな外的、内的要因により規定されているという確率モデルと対照的である (B)。白血病や脳腫瘍を含む複数のがんにおいてがん幹細胞集団が特定されているが、一方で、確率モデルに合致するがんの存在も示されている。

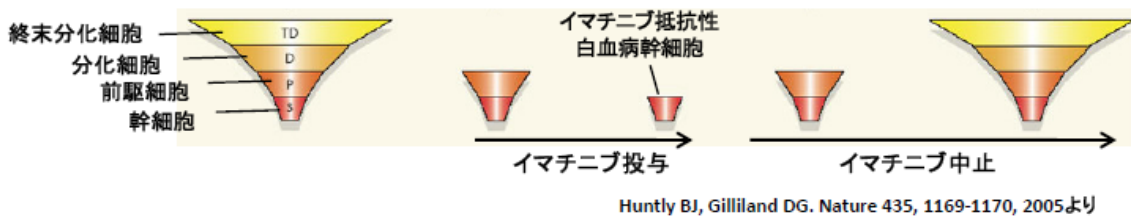


図2 慢性骨髄性白血病の薬剤抵抗性メカニズム

慢性骨髄性白血病患者のチロシンキナーゼ阻害剤 (イマチニブ) 治療解析により、比較的分化した白血病細胞集団はイマチニブに感受性を持つが、幹細胞様細胞集団は抵抗性を示す。

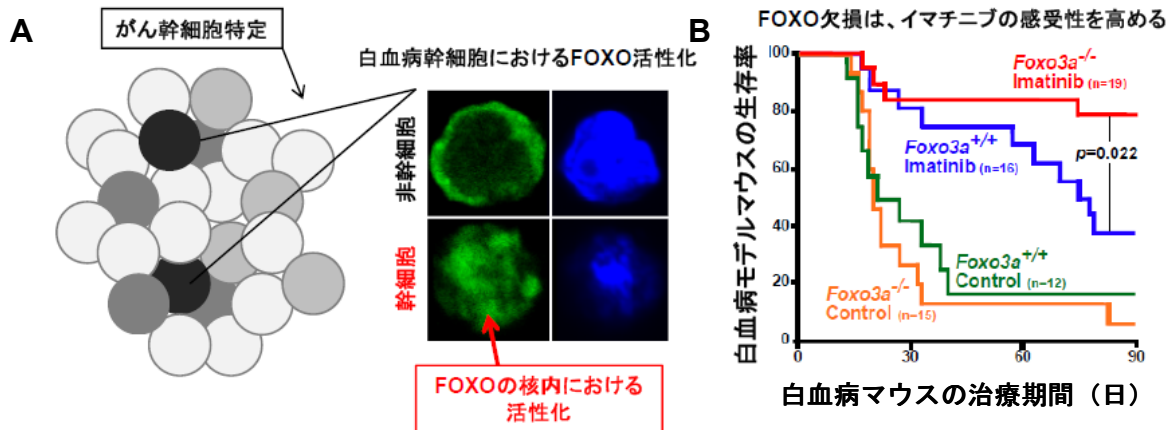


図3 白血球幹細胞における FOXO 活性化が薬剤抵抗性の原因である

A. 白血球幹細胞における FOXO の活性化：マウス慢性骨髄性白血病モデルを作製し，白血球幹細胞集団を特定した。幹細胞集団と非幹細胞集団を比較したところ，フォークヘッド転写因子 FOXO が，幹細胞において核内に局在し活性化していることが判明した。**B.** イマチニブ抵抗性における FOXO の役割：FOXO3a 欠損マウスを用いた白血病モデルを作製し，イマチニブにより治療実験を行ったところ，FOXO3a の機能を欠損させることにより，治療効果の上昇を認めた。

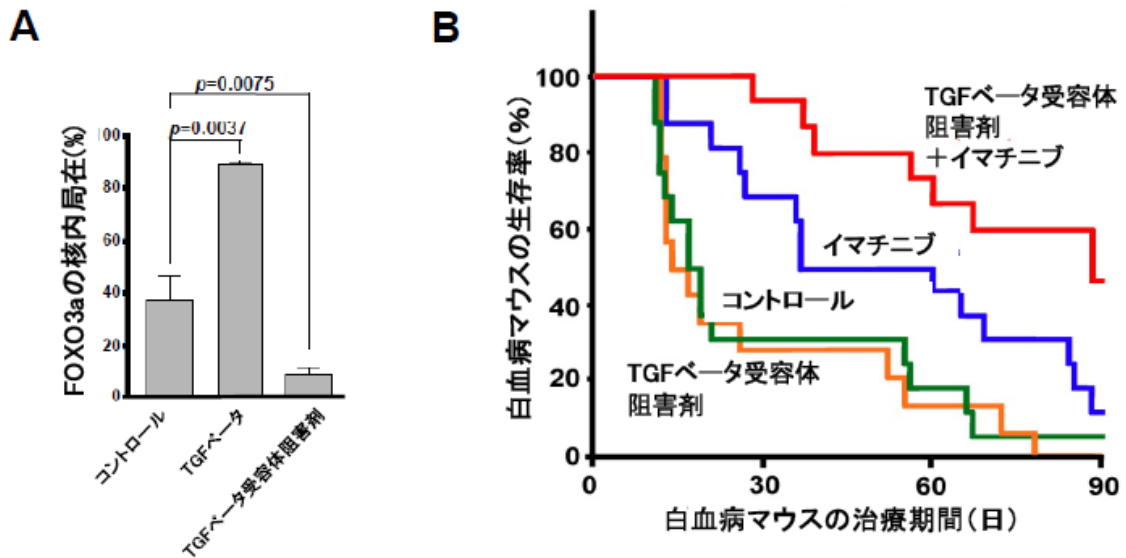


図4 TGF ベータによる FOXO 活性化

A. TGF ベータによる FOXO の活性化：慢性骨髄性白血病幹細胞集団において，TGF ベータ添加により，FOXO は核内に移動する。一方，TGF ベータ受容体阻害剤により，核外に移動する。**B.** イマチニブ抵抗性における TGF ベータの役割：マウス白血病モデルで治療実験を行ったところ，TGF ベータ受容体阻害剤を投与することにより，イマチニブの治療効果の上昇を認めた。

<用語解説>

注1) 慢性骨髄性白血病

慢性骨髄性白血病は、造血幹細胞をはじめとする造血細胞の異常増殖を呈する骨髄増殖性疾患である。慢性骨髄性白血病は数年の慢性期の後、移行期を経て、急性転化期とよばれる激しい症状が出現する病期に移行する。従って、慢性骨髄性白血病の治療においては、慢性期に徹底した治療を行って、急性転化への移行を防ぐことが大変重要となる。

慢性骨髄性白血病患者の約 95%にはフィラデルフィア染色体と呼ばれる染色体転座が認められ、このフィラデルフィア染色体から作り出される BCR-ABL が白血病細胞の増殖の原因となることが知られている。この BCR-ABL を抑制するチロシンキナーゼ阻害剤が慢性骨髄性白血病の治療薬として開発され、慢性骨髄性白血病治療を劇的に改善した。しかし、最近、このようなチロシンキナーゼ阻害剤に抵抗性の白血病細胞が存在し、慢性骨髄性白血病治療を再発させることが臨床上問題となっている。

注2) BCR-ABL 融合遺伝子

フィラデルフィア染色体は、染色体 9 番長腕と 22 番の染色体長腕との間で起こる染色体転座であり、慢性骨髄性白血病患者の 95%に認められる。9 番染色体 q34.1 には c-ABL (Abelson murine leukemia viral oncogene homolog) というチロシンキナーゼが、また 22 番 q11.21 には BCR (Breakpoint cluster region) がコードされており、フィラデルフィア染色体転座によって BCR-ABL 融合遺伝子が産生される。通常 c-ABL のチロシンキナーゼ活性は、キナーゼドメインと CAP ドメイン、並びに SH2・SH3 ドメインとの分子内相互作用によって厳密に抑制されている。しかし、BCR-ABL 融合遺伝子から産生される BCR-ABL タンパク質は恒常的チロシンキナーゼ活性を有しており、慢性骨髄性白血病細胞の増殖を引き起こす。

注3) フォークヘッド転写因子 FOXO

代謝制御遺伝子 FOXO は FOXO1, 3a, 4, 6 からなり、AKT/PKB によってリン酸化されて制御される。通常、FOXO は細胞核内に存在して転写因子として機能するが、AKT/PKB によってリン酸化されると、14-3-3 タンパクと結合して核外に排出されて転写因子としての機能を失う。

FOXO が転写制御を行う標的遺伝子としては、DNA の修復に関わる GADD45, 活性酸素種の無毒化を行う SOD2 や Catalase, 並びに細胞周期の静止期の維持に関わる p27^{Kip1}, p53^{Kip2} など多くの遺伝子が知られている。これらの遺伝子発現調節により、正常造血幹細胞や神経幹細胞の自己複製能、代謝、細胞寿命の制御を行う。

一方、FOXO 遺伝子が関係する染色体転座がヒト白血病やヒト横紋筋肉腫などのがんにおいて見出されており、発がんの抑制における役割が示唆されている。

注4) TGF ベータシグナル

TGF ベータ (Transforming growth factor- β) シグナルは細胞増殖、発生、分化、発がん、創傷治癒など様々な生命現象の制御に関わる。TGF ベータのシグナル伝達には I 型、及び II 型受容体が必要である。TGF ベータがリガンドとして受容体に結合すると、I 型 II 型受容体がヘテロ 4 量体を形成して自身のセリン・スレオニンキナーゼを活性化する。活性化されたセリン・スレオニンキナーゼは特異型 Smad をリン酸化し、リン酸化された特異型

Smad は共有型 Smad とともに核内に移行して様々な標的遺伝子の転写を調節する。

通常、TGF ベータは増殖抑制因子として機能し、早期癌において癌細胞の増殖を抑制する。しかし、一部の進行固形癌では、癌細胞の転移を促進することが知られている。従って、TGF ベータシグナル阻害剤は一部の悪性腫瘍に対する治療薬として期待されている。

TGF ベータシグナル阻害剤としては、TGF ベータに対するモノクローナル抗体や TGF ベータ I 型受容体に対する低分子化合物が開発されている。

<論文名>

“TGFβ-FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia”

(TGFβ-FOXOシグナルは慢性骨髄性白血病幹細胞の維持に必須である)

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

平尾 敦 (ヒラオ アツシ)

金沢大学 がん研究所 がん幹細胞研究センター 遺伝子・染色体構築研究分野
〒920-0934 石川県金沢市宝町 13-1

Tel: 076-265-2726 Fax: 076-234-4508

E-mail: ahirao@kenroku.kanazawa-u.ac.jp

<JSTの事業に関すること>

廣田 勝巳 (ヒロタ カツミ)

科学技術振興機構 イノベーション推進本部 研究領域総合運営部
〒102-0075 東京都千代田区三番町 5 三番町ビル

Tel: 03-3512-3524 Fax: 03-3512-3531

E-mail: crest@jst.go.jp