

令和元年6月19日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21012

研究課題名(和文) mTORC1脱制御機構の解明・克服は、進行期CMLの薬剤耐性を打破できるか？

研究課題名(英文) Identification of deregulated mTORC1 signaling in advanced chronic myelogenous leukemia

研究代表者

横山 和明 (YOKOYAMA, KAZUAKI)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：00647498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：慢性骨髄性白血病(CML)の原因であるBCR/ABLを阻害するチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)は殆どの慢性期CML患者に長期生存をもたらしている。一方、進行期患者ではTKI耐性を示し、その予後は不良でありその克服が急務である。主な耐性機序の一つにmTOR経路の活性化が挙げられ、mTOR阻害剤をTKIと併用する試みは一定の成果を上げている。一方で新たな耐性を生み出す問題も指摘されている。代表者は特にmTOR複合体の主要構成要素が、進行期CMLにおいて脱制御を受けている事を臨床検体を用いたRNAseqで見出した。この事は、mTOR経路を標的とした新たなTKI耐性克服法の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性骨髄性白血病(CML)の原因であるBCR/ABLを阻害するチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)は殆どの慢性期CML患者に長期生存をもたらしている。一方、進行期患者ではTKI耐性を示し、その予後は不良でありその克服が課題である。主な耐性機序の解明が必要である。申請者はmTOR経路が進行期CML症例においてBypass経路として働きTKI耐性に繋がっている事を、骨髄臨床検体を用いた網羅的な遺伝子発現解析にて見出した。特に、mTORの主要構成要素の遺伝子発現の制御異常が原因と考えられた。この脱制御機構の更なる解明は、mTOR経路を標的としたTKI耐性克服法開発に繋がる可能性を有している。

研究成果の概要(英文)：Despite the success with tyrosine kinase inhibitors (TKI) in most patients with chronic myelogenous leukemia (CML), some patients with advanced phase of CML still experience TKI resistance. Previous report indicated that Pi3K/mTOR signaling acted as a bypass signaling for survival when BCR/ABL is inhibited by TKI. However, the exact mechanism by which mTOR activation remains to be elucidated. To address this question, in this study we performed comparative RNA seq approach of tumor sample in advanced CML patients in comparison to those of patients with chronic phase. As a result, we found that an mTOR component was deregulated in advanced CML, which resulted in mTOR pathway deregulation. We are now performing in vitro experiment whether mTOR pathway deregulation could be induced by such deregulation of an mTOR component.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：慢性骨髄性白血病 チロシンキナーゼ阻害剤 mTOR

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

-進行期慢性骨髄性白血病 (CML) とチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) 耐性-

CMLは融合遺伝子 BCR/ABL により発症する造血器悪性腫瘍であり、未治療では数年の慢性期(chronic phase, CP)を経た後に、急性白血病に似た致死的な進行期 CML(advanced phase, blastic phase, AP/BC; 移行期/急性転化期)に移行し、有効な治療法のない時代の生存期間中央値は数年であった。BCR/ABL 融合蛋白を標的とした TKI は、慢性期の殆どの患者に極めて高い持続的な効果をもたらし、その予後を劇的に改善した。一方で進行期 CML では、TKI の効果は一時的で、高率に耐性を生じその予後は極めて不良である。耐性患者の多くで BCR-ABL 非依存的に、phosphoinositide-3-kinase/v-Akt murine thymoma viral oncogene homolog/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR)経路の活性化が見られ、TKI 耐性に関わっていると報告されている(O'Hareら Nat Rev Cancer. 2012;12(8):513-26.)。しかし、何故進行期 CML において mTOR 経路、および Pi3K akt 経路の活性化が見られるのかは明らかではない。

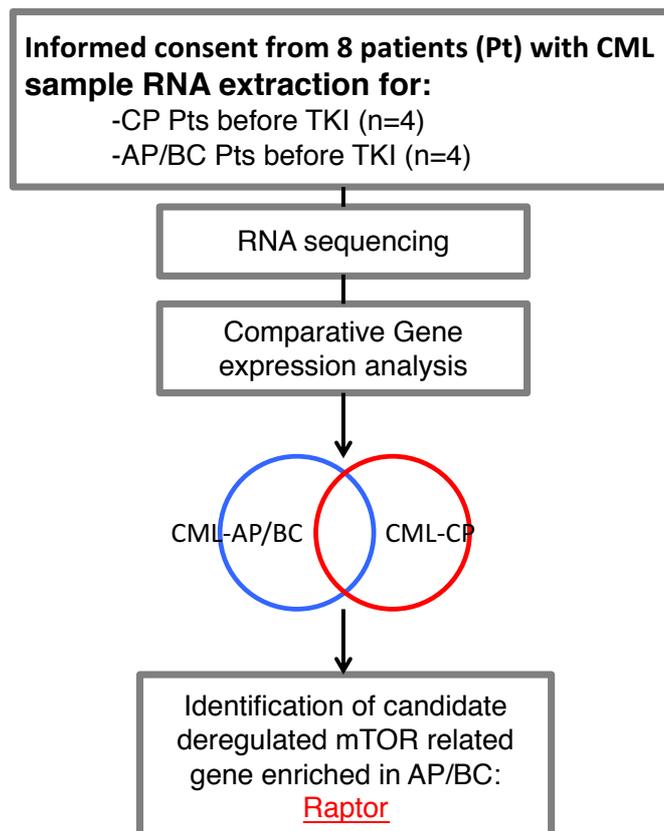
2. 研究の目的

本研究は mTOR 経路の活性化異常の機序解明、およびその機能的意義の検討を目的とする。

3. 研究の方法

mTOR は細胞増殖、生存、成長、および代謝機構を調節する細胞内の栄養センサーとして働くセリンスレオニンキナーゼである。mTOR は細胞において mTORC1 および mTORC2 という 2 種類のタンパク質複合体として存在しており、それぞれ特異的な結合タンパク質である Raptor および Rictor を構成タンパク質とする。特にこの Raptor と Rictor の発現異常に注目し、慢性期 CML 症例の骨髄(n=4)を対照とし、進行期/TKI 耐性 CML 症例の骨髄(n=8)を用いて比較 RNA seq を行なった(Fig. 1)。

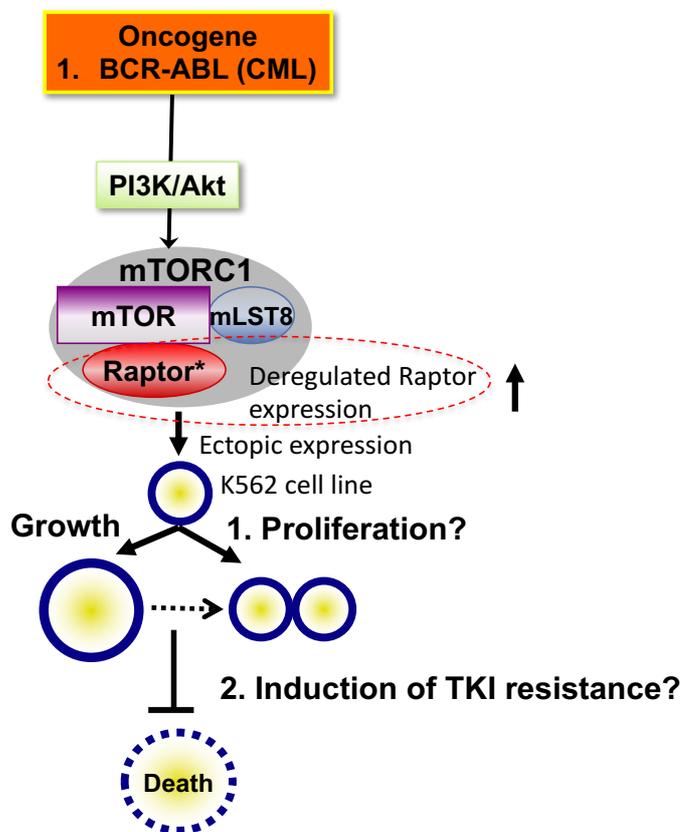
Fig.1



#### 4. 研究成果

mTOR 複合体の主要構成要素のうち、特に Raptor が、進行期 CML において脱制御を受けている事を、臨床検体を用いた RNAseq で確認した。この事は、mTOR 経路を標的とした新たな TKI 耐性克服法の開発に繋がる可能性がある。Raptor がどのような機序で進行期 CML において発現異常がみられるのかは不明であり、現在全ゲノムシーケンスや Chip シーケンスを用いてその機序を解析中である。また、進行期 CML において Raptor が脱制御を受けている機序を解明する為、Raptor を進行期 CML 細胞株である K562 細胞株に強制発現させる実験を行い、in vitro で TKI 耐性が誘導されるかを検証している所である (Fig. 2)。

Fig. 2



#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Takeda R, \*Yokoyama K, Ogawa M, Kawamata T, Tomofusa F, Kondoh K, Tomomi T, Nakamura S, Ito M, Yusa N, Shimizu E, Ohno N, Uchimaru K, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, and Tojo A. The first case of elderly TCF3-HLF-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leuk lymphoma*. 2019. Accepted for publication
2. Nakamura S, \*Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Kondoh K, Ogawa M, Takei T, Kobayashi A, Ito M, Isobe M, Konuma T, Kato S, Kasajima R, Wada Y, Inoue-Nagamura T, Yamaguchi R, Takahashi S, Imoto S, Miyano S, and \*Tojo A. Prognostic impact of circulating tumor DNA status post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in AML and MDS. *Blood*. 2019. [Epub ahead of print]
3. Yokoyama K, Shimizu E, Yokoyama N, Nakamura S, Kasajima R, Ogawa M, Takei T, Ito M, Kobayashi A, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A. Cell lineage-oriented sequencing unveils the ontogeny of acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes. *Blood Adv*. 2(19): 2513-21, 2018

4. Nakamura S, Yokoyama K, Yusa N, Ogawa M, Takei T, Kobayashi A, Ito M, Shimizu E, Kasajima R, Wada Y, Yamaguchi R, Imoto S, Furukawa Y, Inoue-Nagamura T, Miyano S, Tojo A. Personalized circulating tumor DNA dynamically predicts response and/or relapse in hematological malignancies. *Int J Hematol*. 108(4):402-10, 2018
5. Kobayashi M, Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Ito M, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A. Phenotype-based gene analysis allowed successful diagnosis of X-linked neutropenia associated with a novel WASP mutation in a Japanese adult patient. *Ann Hematol*. 97(2):367-9, 2017
6. Takei T, Yokoyama K, Nakamura S, Yusa N, Shimizu E, Kasajima R, Ogawa M, Tanoue S, Konuma T, Takahashi S, Kobayashi A, Yamazaki M, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, \*Tojo A. Azacitidine effectively reduces TP53-mutant leukemic cell burden in secondary acute myeloid leukemia after cord blood transplantation. *Leuk lymphoma*. 59(11):2755-6, 2018 DOI: 10.1080/10428194.2018.1443335
7. Higuchi H, Yamakawa N, Imadome KI, Yahata T, Kotaki R, Ogata J, Kakizaki M, Fujita K, Lu J, Yokoyama K, Okuyama K, Sato A, Takamatsu M, Kurosaki N, Alba SM, Azhim A, Horie R, Watanabe T, Kitamura T, Ando K, Kashiwagi T, Matsui T, Okamoto A, Handa H, Kuroda M, Nakamura N, Kotani A. Role of exosomes as a proinflammatory mediator in the development of EBV-associated lymphoma. *Blood*. 2018;131(23):2552-67.
8. Ogawa M, Yokoyama K, Hirano M, Ochi K, Kawamata T, Ohno N, Shimizu E, Yokoyama N, Yamaguchi R, Imoto S, Uchimar K, Miyano S, Imai Y, Tojo A. Different clonal dynamics of chronic myeloid leukaemia between bone marrow and the central nervous system. *Br J Haematol*. 2017, 183(5):842-5. DOI: 10.1111/bjh.15065

[学会発表] (計 5 件)

1. Nakamura S, Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Kondoh K, Ogawa M, Takei T, Kobayashi A, Ito M, Isobe M, Konuma T, Kato S, Kasajima R, Wada Y, Inoue-Nagamura T, Yamaguchi R, Takahashi S, Imoto S, Miyano S, and Tojo A. Circulating tumor DNA predicts post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in AML and MDS. *Molecular Med Tri-Con 2019*
2. Nakamura S, Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Kondoh K, Ogawa M, Takei T, Kobayashi A, Ito M, Isobe M, Konuma T, Kato S, Kasajima R, Wada Y, Inoue-Nagamura T, Yamaguchi R, Takahashi S, Imoto S, Miyano S, and Tojo A. Prognostic Impact of Circulating Tumor DNA Status Post-Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *60th ASH Annual Meeting 2018*
3. Sousuke Nakamura, Kazuaki Yokoyama, Nozomi Yusa, Kanya Kondo, Miho Ogawa, Tomomi Takei, Asako Kobayashi, Mika Ito, Koji Jimbo, Susumu Tanoue, Masamichi Isobe, Takaaki Konuma, Seiko Kato, Eigo Shimizu, Rika Kasajima, Yuka Wada, Rui Yamaguchi, Seiya Imoto, Tokiko Nagamura-Inoue, Satoshi Takahashi, Satoru Miyano, Arinobu Tojo. Residual circulating tumor DNA status in relapse prediction post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 第13回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム 2018
4. Sousuke Nakamura, Kazuaki Yokoyama, Nozomi Yusa, Kanya Kondo, Miho Ogawa, Tomomi Takei, Asako Kobayashi, Mika Ito, Koji Jimbo, Susumu Tanoue, Masamichi Isobe, Takaaki Konuma, Seiko Kato, Eigo Shimizu, Rika Kasajima, Yuka Wada, Rui Yamaguchi,

Seiya Imoto, Tokiko Nagamura-Inoue, Satoshi Takahashi, Satoru Miyano, Arinobu Tojo. 腫瘍由来循環DNAを用いたAMLおよびMDSの移植後微小残存病変の検出に関する後方視的解析. 第80回日本血液学会学術総会 2018

5. 中村聡介、横山和明、近藤幹也、武井智美、清水英悟、笠島理加、山口類、井元清哉、宮野悟、東條有伸：Circulating tumor DNA predicts relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in AML and MDS. 第77回日本癌学会学術集会 2018年

〔図書〕（計 4件）

1. 人工知能の臨床応用-血液疾患-,日本病院薬剤師会雑誌 2018
2. 血液がんの臨床シークエンスにおける人工知能 Watson の活用. 医学のあゆみ 2017
3. 人口知能を用いた臨床シークエンス. 腫瘍内科 2017
4. 人工知能ワトソンを用いた疾患診断. 感染炎症免疫 2017

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0件）

○取得状況（計 0件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

特記事項なし