

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09908

研究課題名(和文) CML患者において治療中止に有利なNK免疫に関するバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Exploring biomarkers concerning NK immunity that favor treatment discontinuation in CML patients

研究代表者

木村 晋也 (Kimura, Shinya)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：80359794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：NK細胞において KIR3DL1\*005 などの遺伝子多型を有する慢性骨髄性白血病(CML)患者では、チロシンキナーゼ阻害剤(TKIs)への反応が有意に良好であることを報告した(Cancer Immunol Res 2018)。

そして我々の行った2次使用の第2世代TKIダサチニブ中止試験(Lancet Haematol 2015)と1次使用のダサチニブ中止試験(Lancet Haematol 2020)における結果の相違点から、TKI中止後に分子遺伝学的寛解を維持するためにはNK細胞ではなく、主にT細胞免疫が働いていることを明らかにした(投稿中)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TKIsによってCMLの予後は格段に改善し、ほぼ健常人と同等の生命予後となった。しかし長期的なTKIs服用による有害事象や高額な費用が問題となってきた。我々は、1次使用でも2次使用でも半数近い患者がダサチニブが中止できること、そして免疫細胞は効果発現と中止後の維持では、NK細胞とT細胞などの免疫細胞が役割分担しながら働いていることを明らかにした。

これらの結果は、CML患者の予後をさらに改善するだけでなく、個人の経済的負担そして国全体の医療費の削減にも貢献できる成果である。

研究成果の概要(英文)：We reported that patients with chronic myeloid leukemia (CML) who had polymorphisms such as KIR3DL1\*005 on NK cells had significantly better response to tyrosine kinase inhibitors (TKIs) (Cancer Immunol Res 2018).

Based on the difference in the results of second-line dasatinib discontinuation study (Lancet Haematol 2015) and first-line dasatinib discontinuation study (Lancet Haematol 2020) both which we performed, we confirmed that the sustained molecular response after dasatinib discontinuation depended not on NK immunity but on T cell immunity (in submission).

研究分野：血液学

キーワード：慢性骨髄性白血病 チロシンキナーゼ阻害剤 免疫

## 1. 研究開始当初の背景

慢性骨髄性白血病 (CML) は、造血幹細胞移植が成功する以外、どんな治療法を行っても数年でほとんどの患者が死亡する難病であった。第一世代チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) イマチニブが 2001 年に承認されて以降、イマチニブ服用を継続しておけば、ほとんど死亡することは無くなり、生命予後は健常者とほぼ同じとなった。さらに 2009 年に第二世代 TKI ダサチニブが承認されて以降、さらに早く深い分子遺伝学的寛解 (DMR) に達するようになった。またダサチニブは、顆粒大リンパ球 (LGL; 細胞障害性 T 細胞 CTL と NK 細胞) 誘導による免疫作用を有することも報告された。イマチニブは生涯服用を継続する必要があると考えられていたが、フランスのグループが、イマチニブで 2 年以上 DMR を維持した CML 患者では 39% で TKI 治療を中止しても DMR が維持される治療不要寛解 (TFR) が可能と報告した (Mahon et al. Lancet Oncol 2010)。

そこで、我々はイマチニブ耐性/不耐容によって 2 次治療として使用された第二世代のダサチニブでも、1 次使用されたイマチニブより短期間の DMR 維持期間で、より多くの患者が TFR を達成できると考え、ダサチニブを中止する多施設共同臨床試験 Dasatinib Discontinue (DADI) 試験を行った (研究代表者; 木村晋也)。そして 2 次治療以降のダサチニブでも 1 年以上 DMR が維持できた患者の 48% で TFR が得られること、また制御性 T 細胞 (Treg) が減少し、NK 細胞が増加した患者で TFR 維持率が有意に高く (図 1)、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の増加は TFR にはあまり寄与しないことを、臨床試験を通じて世界に先駆けて明らかにした (Lancet Haematol, 2015)。

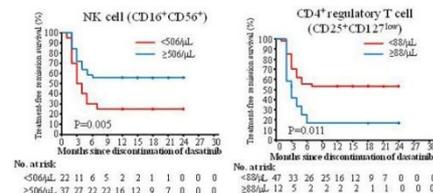


図1 NK, Treg 数と TFR

## 2. 研究の目的

DADI 試験により、CML において「ダサチニブで治療不要な寛解 (TFR)」の達成には NK 免疫が重要であることが分かった (Lancet Haematol, 2015)。本研究では、高確率に TFR を達成するために、NK 免疫および T 細胞免疫の重要性を検討した。

## 3. 研究の方法

まず佐賀大学で 2002 年 ~ 2016 年までの間に慢性期 CML (CML-CP) と診断され、TKI (イマチニブ、ダサチニブ、ニロチニブ) を服用した患者 76 人において、TKI 治療開始から MR4.0 に到達するまでの期間と患者の NK killer immunoglobulin-like receptors (KIRs) と human leukocyte antigen (HLA) class I の関係について検討した。KIR と HLA class I について、次世代シーケンスを用いて遺伝子型まで求めた。

次いで、佐賀大学で 1-2 年以上 DMR を維持した後に、TKI を中止した症例 33 人において、TKI 中止後の TFR の 1 年以上の維持率と NK KIR および HLA class I の遺伝子型との関係についても検討した。並行して、DADI 試験で行った 2 次使用ではなく、1 次使用のダサチニブの中止試験 (1st DADI) を、多施設共同試験として行った。

## 4. 研究成果

第二世代 TKI (ダサチニブ、ニロチニブ) を第一選択として用いた症例 ( $p < 0.001$ ) と女性 ( $p = 0.002$ ) が、治療開始後 2 年以内の検討で MR4.0 により早く到達することが明らかとなった。

この2つの因子を除外し、さらに解析を進めたところ、KIR2DL4\*005/011 or \*008 (HR. 1.797,  $p=0.032$ ); KIR2DS4\*003 or \*007/010 (HR. 3.348,  $p < 0.001$ ); KIR3DL1\*005 (HR. 2.746,  $p=0.003$ );

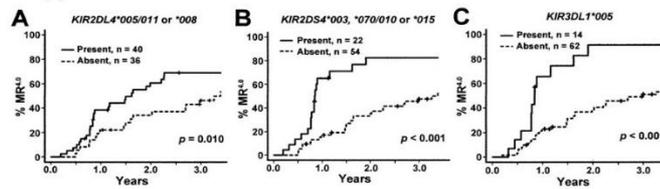


図2 NK KIR と MR4.0 達成までの期間

KIR3DL2\*009 or \*010 (HR. 1.980,  $p=0.021$ ) の KIR 遺伝子多型を有する患者では、MR4.0 により早く到達することが明らかとなった(図2)。そしてこれら MR4.0 達成に有利な遺伝子多型は同一ハプロ上にあることが分かった。また KIR3DL1 と HLA-B を有する患者では、より早く TKI により MR4.0 に達していた。このように、NK KIR と HLA class I の組み合わせによって、TKI の治療効果に差があることが明らかになった (*Cancer Immunol Res* 2018)。

1st DADI 試験の結果、55.2% の患者がダサチニブ中止後1年で TFR を維持していた。1st DADI 試験では、NK 免疫の関与は明らかでなかった (*Lancet Haematol* 2020)。

DADI 試験と 1st DADI 試験では NK 細胞数と TFR の相関に相違を認めた。この相違の原因を明らかにするため、佐賀大学病院で TKI を中止した 33 人の患者における免疫細胞と TFR の関係については、検討した。検討可能であった 31 人中 21 人 (63.6%) が TKI 中止後1年で TFR を維持していた。多変量解析によって、男性 (HR, 0.162;  $P=0.0021$ ) と HLA-A\*02, \*11 or \*24 (HR, 5.507;  $P=0.009$ ) が TFR 維持に良好な因子として抽出された。一方、MR4.0 達成期間に寄与した NK KIR は、TFR 維持とは無関係との結果であった(投稿中)。

これらの結果は、TKI 服用下で CML 細胞数を減少させるのには NK 免疫が、そして TKI 中止後の TFR 維持には主に T 細胞免疫が働くことを示唆した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 5件）

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Ureshino H, Shindo T, Kojma H, Kusunoki Y, Miyazaki Y, Tanaka H, Saji H, Kawaguchi A, Kimura S            | 4. 巻<br>6             |
| 2. 論文標題<br>Allelic polymorphisms of KIRs and HLAs predict favorable responses to tyrosine kinase inhibitors in CML. | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Immunology Research  | 6. 最初と最後の頁<br>745-754 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1158/2326-6066  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Fujisawa S, Ueda Y, Usuki K, Kobayashi K, Kondo E, Doki N, Nakao T, Kanda Y, Kosugi N, Kosug H, Kumagai T, Harada H, Shikami M, Maeda Y, Sakura T, Inokuchi K, Saito A, Nawa Y, Ogasawara M, Nishida J, Kondo T, Yoshida C, Kuroda H, Tabe Y, Maeda Y, Imajo K, Kojima K, Morita S, Komukai S, Kawaguchi A, Sakamoto J, Kimura S | 4. 巻<br>24            |
| 2. 論文標題<br>Feasibility of the Imatinib Stop Study in the Japanese Clinical Setting: Delightedly Overcome CML Expert Stop TKI Trial (DOMEST Trial).   | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Clinical Oncology   | 6. 最初と最後の頁<br>445-453 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s10147-018-1368-2   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Okada M, Imagawa, Kimura et al.   | 4. 巻<br>18            |
| 2. 論文標題<br>Final 3-year Results of the Dasatinib Discontinuation Trial in Patients With Chronic Myeloid Leukemia Who Received Dasatinib as a Second-line Treatment. | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia   | 6. 最初と最後の頁<br>353-360 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.clml.2018.03.004   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Sogawa R, Kimura S, Yakabe R, Mizokami Y, Tasaki M, Sueoka-Aragane N, Narisawa Y, Kimura S                                   | 4. 巻<br>23            |
| 2. 論文標題<br>Anxiety and depression associated with tyrosine kinase inhibitor discontinuation in patients with chronic myeloid leukemia. | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Clinical Oncology   | 6. 最初と最後の頁<br>974-979 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s10147-018-1275-6   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Yokota A, Hirai H, Sato R, Adachi H, Sato F, Hayashi Y, Sato A, Kamino N, Miura Y, Nakano M, Tenen DG, Kimura S, Tashiro K, Maekawa T | 4. 巻<br>3             |
| 2. 論文標題<br>C/EBP is a critical mediator of IFN -induced exhaustion of chronic myeloid leukemia stem cells.                                      | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>Blood Advances  | 6. 最初と最後の頁<br>476-488 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1182/bloodadvances.2018020503  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>該当する          |

|  |                        |
|--|------------------------|
| 1. 著者名<br>Kitamura H, Tabe Y, Ai T, Tsuchiya K, Yuri M, Misawa S, Horii T, Kawaguchi A, Ohsaka A,        | 4. 巻<br>14             |
| 2. 論文標題<br>A new highly sensitive real-time quantitative-PCR method for detection of BCR-ABL1 to monitor | 5. 発行年<br>2019年        |
| 3. 雑誌名<br>PLoS One   | 6. 最初と最後の頁<br>e0207170 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0207170   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-              |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Park JH, Woo YM, Youm E, Hamad N, Won HH, Naka K, Park EJ, Park JH, Kim HJ, Kim SH, Kim H, Ahn JS, Sohn SK, Moon JH, Jung CW, Park S, Lipton J, Kimura S, Kim JW, Kim D | 4. 巻<br>33              |
| 2. 論文標題<br>HMGCLL1 is a predictive biomarker for deep molecular response to imatinib therapy in chronic   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Leukemia  | 6. 最初と最後の頁<br>1439-1450 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41375-018-0321-8   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>該当する            |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kimura S, Imagawa J, Murai K, Hino M, Kitawaki T, Okada M, Tanaka H, Shindo M, Kumagai T,     | 4. 巻<br>7               |
| 2. 論文標題<br>Treatment-free remission following first-line dasatinib in patients with chronic myelogenous | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Lancet Haematology  | 6. 最初と最後の頁<br>e218-e225 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/S2352-3026(19)30235-2   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Itamura H, Shindo T, Yoshida S, Ishikawa T, Kimura S  | 4. 巻<br>4             |
| 2. 論文標題<br>Phosphorylated ERK1/2 in CD4 T cells is associated with acute GVHD in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Blood Advances  | 6. 最初と最後の頁<br>667-671 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1182/bloodadvances.2019000343  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-             |

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Hoshiko T, Kubota Y, Akisawa T, Watanabe T, Tanigawara K, Yano J, Kimura S                                  | 4. 巻<br>-       |
| 2. 論文標題<br>Naked Antisense Double-Stranded DNA Oligonucleotide Efficiently Suppresses BCR-ABL Positive Leukemic Cells | 5. 発行年<br>2020年 |
| 3. 雑誌名<br>Investigational New Drugs   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10637-019-00862-9  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-       |

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Usuki K, Ueda T, Kimura S et al.                          |
| 2. 発表標題<br>Imatinib STop Study Feasible to Japanese Clinical Setting |
| 3. 学会等名<br>European Hematology Association (国際学会)                    |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kimura S, Hosiko T, Yano J, et al.                        |
| 2. 発表標題<br>Targeting BCR-ABL by DNA/RNA heteroduplex oligonucleotide |
| 3. 学会等名<br>John Goldman CML conference (招待講演) (国際学会)                 |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Shinya Kimura   |
| 2. 発表標題<br>Allelic polymorphisms of KIR and HLA predict favorable responses to tyrosine kinase inhibitor in chronic myeloid leukemia |
| 3. 学会等名<br>19th John Goldman CML conference (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Shinya Kimura   |
| 2. 発表標題<br>Achievements and limitations of tyrosine kinase inhibitors, and development of demethylating agents |
| 3. 学会等名<br>The 16th Nikko International Symposium (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>木村晋也  |
| 2. 発表標題<br>ニロチニブのデータを用いた慢性骨髄性白血病治療における長期無治療寛解による財政影響分析 |
| 3. 学会等名<br>日本血液学会総会                                    |
| 4. 発表年<br>2019年  |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

|                                 |                             |               |
|---------------------------------|-----------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称<br>成人T細胞性白血病/リンパ腫の検出方法 | 発明者<br>渡邊達郎、未岡榮三郎、木村晋也、嬉野博志 | 権利者<br>同左     |
| 産業財産権の種類、番号<br>特許、2019-037246   | 出願年<br>2019年                | 国内・外国の別<br>外国 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                       | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)               | 備考 |
|-------------------|---|-------------------------------------|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 安藤 寿彦<br><br>(Ando Toshihiko)<br><br>(30363097) | 佐賀大学・医学部・准教授<br><br><br><br>(17201) |    |
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 久保田 寧<br><br>(Kubota Satoshi)<br><br>(60570413) | 佐賀大学・医学部・講師<br><br><br><br>(17201)  |    |