

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10124

研究課題名(和文) 急性リンパ性白血病の薬剤耐性機序の分子基盤の解析

研究課題名(英文) Mechanistic analysis of drug-resistance in ALL

研究代表者

今村 俊彦 (Imamura, Toshihiko)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：30444996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々はJAK-STAT系の活性化が急性リンパ性白血病細胞の増殖活性に重要であるという仮説に基づき、164名の小児急性リンパ性白血病患者のJAK-STAT系の抑制因子であるLNKの発現レベルを解析し、LNKの発現低下が予後不良と関連する事を明らかにした次に、LNKをマウスの白血病細胞株Ba/F3細胞に強制発現させるとJAK2/STAT5のリン酸化レベルの低下と、プレドニゾン感受性の増加がみられる事を明らかにした。一方、LNKの機能喪失型変異体を導入しても、上記の現象は見られなかった。以上の結果から、JAK-STAT系の抑制がプレドニゾン感受性に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の研究で、急性リンパ性白血病の細胞増殖に関わるJAK-STAT経路という箇所を抑制する事によって、ステロイドに代表される従来からの治療薬の効果が増すことが明らかとなった。この事は、従来の薬剤の効果が乏しい急性リンパ性白血病にたいして、JAK-STAT経路を様々な手法で抑制する事が、薬剤の効果を高める可能性を示した点に学術的な意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Based on our hypothesis that JAK-STAT pathway is key for proliferation of lymphoblastic leukemic cells, we evaluated expression level of LNK, which was negative regulator of JAK-STAT pathway and identified that low expression of LNK was associated with poor outcome (Yano M, Imamura T, et al. Br J Haematol 2017). Next, we transduced Ba/F3 cells with LNK by retroviral gene transfer system, and identified that LNK induced dephosphorylation of JAK2-STAT5 and high sensitivity of prednisolone. However, loss of function mutant of LNK did not induce those phenomena. Primary patient's leukemic blasts with high expression of LNK also showed high sensitivity of PSL compared to those with low expression of LNK. These findings suggest that inhibition of JAK-STAT pathway might be therapeutic for high risk lymphoblastic leukemia.

研究分野：小児血液学

キーワード：急性リンパ性白血病 JAK-STAT LNK 薬剤耐性 プレドニゾン

## 1. 研究開始当初の背景

近年のゲノム解析技術の進歩に伴い、高リスク小児 B 前駆細胞型急性リンパ性白血病(B-ALL)において、各種チロシンキナーゼおよびサイトカイン受容体の関連した融合遺伝子や点突然変異が明らかとなり、こうした遺伝子異常が、造血細胞の増殖に主要な役割を果たす JAK-STAT 系の異常活性化を惹起する事が明らかとなった(Roberts KG, et al. Cancer Cell 2012, Roberts KG, et al. NEJM 2014)。一方、JAK-STAT 系には LNK(SH2B3)をはじめとした負の制御因子も存在するが(Velazquez R, et al. Arch Immunol. Ther. Exp2012)、これらの因子の B-ALL における役割は十分に検討されておらず、研究の余地があった。特に LNK については、その機能喪失型変異が低頻度ながら小児高リスク B-ALL で同定され、その予後に何らかの影響を与えている可能性が考えられたが、詳細は不明であった。

## 2. 研究の目的

小児 B-ALL における、LNK と予後との関連を明らかにし、LNK が B-ALL 細胞の薬剤感受性にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

- (1) 小児白血病研究会 (JACLS) の臨床試験である JACLS ALL-02 試験に登録された B-ALL 164 症例の診断時白血病細胞の LNK の発現量を定量 PCR 法で測定し、予後との関連を検討した。
- (2) MPL 発現マウス白血病細胞株 Ba/F3 にレトロウイルスベクターを用いて LNK を導入し、LNK の安定発現細胞株を作成し、JAK-STAT 系の活性化の度合いをリン酸化フロー法で解析し、薬剤感受性の変化の有無についても検討した。
- (3) 上記の細胞株に機能喪失型 LNK を導入し、JAK-STAT 系の活性化の有無や薬剤感受性を検討した。
- (4) 患者由来の白血病細胞を用いて、LNK の発現レベルとプレドニゾロンの感受性について、MS-5 細胞を用いた in vitro の培養系を用いて検討した。

## 4. 研究成果

- (1) ALL-02 に登録されたハイリスク群 (HR 群、n=102) および超ハイリスク群 (ER 群、n=62) いずれにおいても、再発および寛解導入不能の群において、LNK の発現は低値であった(いずれの群も  $p < 0.05$ )。また多変量解析では、いずれの治療群でも LNK の高発現を呈する症例は、低発現の症例と比較して 5 年全生存率が良好であることが明らかとなった (HR 群、HR 0.28,

p=0.04, ER 群、HR 0.12, p<0.01, Yano M, Imamura T, et al. Br J Haematol 2017 )

- (2) LNK を安定的に発現する Ba/F3 細胞では TPO 刺激で誘導される JAK2-STAT5 のリン酸化が、LNK 非導入細胞に比較して低下する事がリン酸化フロー法を用いた解析で明らかとなった。また、LNK 安定発現 Ba/F3 はプレドニゾン感受性が増す事も明らかとなった (IC50 0.7 vs 3.93  $\mu$ M, p<0.01)。
- (3) 一方、機能喪失型 LNK の導入では、JAK2-STAT5 のリン酸化レベルに差を認めず、プレドニゾン感受性にも差は見られなかった (p=0.38)。
- (4) 最後に、LNK 高発現の患者由来 B-ALL 細胞は LNK 低発現 B-ALL 細胞に比して、MS-5 存在下の培養システムにおいて、高いプレドニゾン感受性を示すことが明らかとなった。

以上の結果から、LNK の高発現により JAK-STAT 系の活性化が抑制される事が、B-ALL 細胞のプレドニゾン感受性を高めることが明らかとなり、新たな治療戦略の一助となる事が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yano M, Imamura T, Asai D, Deguchi T, Hashii Y, Endo M, Sato A, Kawasaki H, Kosaka Y, Kato K, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M, Horibe K.	4. 巻 183
2. 論文標題 Clinical significance of SH2B3 (LNK) expression in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Br J Haematol	6. 最初と最後の頁 327-330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bjh.14981	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----