

令和元年5月23日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16199

研究課題名(和文) IL-2/CD25系に着目したCML幹細胞の維持プログラム同定と臨床的意義の検証

研究課題名(英文) characterizing CD25 expressed CML stem cells

研究代表者

雁金 大樹 (Karigane, Daiki)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・研究員

研究者番号：60594588

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)：未治療CML患者骨髄において、幹細胞分画におけるCD25の陽性率は血小板数と貧血の程度に相関しており、CD25陽性CML幹細胞は特殊な分化・増殖様式を示す細胞であった。そして治療により速やかに消失し、治療感受性の細胞集団であった。しかし治療後もCD25陽性細胞はわずかに残存していたため、微小残存病変の検出として臨床応用できるか、感度・特異度の極めて高いdigital droplet PCRを用いて検討した。しかしBCR-ABL変異遺伝子は検出されず、初発時の異常発現しているマーカーが治療後も微小残存病変の検出に使える訳ではない事を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性骨髄性白血病は特効薬により予後が劇的に改善した。しかしその特効薬は高価かつ催奇形性も報告されており、内服継続する事は多くの意味で負担がかかる。そのため疾患の源である白血病幹細胞の根絶療法開発が急務である。今回は治療前に慢性骨髄性白血病幹細胞に高く発現しているCD25に注目し、治療前・治療後の意味を検討した。治療前ではCD25陽性細胞の率と血小板数・貧血の程度が相関し、増殖率の高い特殊な細胞である事を示していた。一方で治療後もCD25陽性細胞は存在しているが、これはCML細胞でない事が我々の研究で明らかとなった。治療前に高発現のものが全て治療後も標的になる訳ではない事を示した。

研究成果の概要(英文)：The proportion of CD25 positive cells in hematopoietic stem progenitor cell fraction positively correlated with thrombocytosis and anemia, suggesting that CD25 positive CML stem cells show unique proliferation and differentiation capacity. Tyrosine kinase inhibitors decreased these cells. We evaluated residual CD25 cells after treatment were used for detecting minimal residual disease in clinical examination because CD25 positive cells still existed after treatment. However, digital droplet PCR, which is the highest sensitivity and specificity method, did not find BCR-ABL fusion gene in residual CD25 positive cells. These findings suggested that the candidate surface stem cell marker which highly expresses at diagnosis should be evaluated after treatment.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：慢性骨髄性白血病 微小残存病変 白血病幹細胞 CD25

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

慢性骨髄性白血病 (CML) は、9 番染色体と 22 番染色体の転座による BCR-ABL 融合遺伝子が原因となり発症する造血器腫瘍である。その発症・維持は白血病幹細胞と呼ばれる多分化能をもった少数の細胞に依存している。現在、CML は BCR-ABL の恒常的チロシンキナーゼ活性に対する阻害薬 (tyrosine kinase inhibitor : TKI) によって効果的な治療が可能となった。しかし、TKI に耐性な CML 幹細胞が存在するため、TKI 服用中止後に分子学的完全寛解を維持できるのは半数未満の症例にとどまっている (*Lancet Oncol* 2010)。そのため、TKI を最終的に中止できるような CML の根治療法の開発が求められている。我々のグループはマウス CML モデルにおいて、CD25 が造血幹前駆細胞分画に高発現している事を見出し、その機能について報告した (*Blood* 2014)。マウスモデルにおいては IL-2/CD25 は治療標的になり得たが、実際の臨床の現場での有用性は不明であった。

#### 2. 研究の目的

白血病幹細胞で活性化している IL-2/CD25 シグナルに着目して、CD25 発現を誘導する分子機構とその臨床意義を明らかにした上で、標的治療法を開発することを目的とする。

#### 3. 研究の方法

慶應義塾大学病院血液内科に通院中の CML 患者の方々より、インフォームドコンセントの後、血液および骨髄検体を採取させて頂いた。CD25 の発現は FACS を使用して検証し、治療経過と合わせて臨床検査結果との相関を評価した。また微小残存病変の検討には、次世代シーケンスを用いて、患者特異的 BCR-ABL 変異配列に対するプライマーを設計し digital-PCR(dPCR)を用いて微小残存病変の検出を試みた。

#### 4. 研究成果

計 115 名の方々からご協力を得られた。初発時の未治療は 32 名で 83 名は第 2 世代 TKI を中心に治療中であった。造血幹前駆細胞 (HSPC, CD34+CD38-) における CD25 の割合 (%CD25+) は、初発時には血小板数と貧血に正の相関を示した。また Sokal スコア High の集団では %CD25+ は有意に高値を示した。続いて病勢との相関として、骨髄中の BCR-ABL1 のコピー数と %CD25+ を比較したところ正の相関を示し、加えて TKI 治療後には著明に %CD25+ は減少していた。これらの結果は、CD25 陽性 CML 幹細胞は治療前には特異的な分化・増殖能を示す集団であるが、TKI への感受性を示し、治療後には消失する分画である事を示した。しかし治療後にも極少数の CD25+CD34+CD38- 細胞が存在する事から、dPCR を用いて評価したところ、BCR-ABL 陽性細胞は検出されなかった。以上より、CD25 陽性 CML 幹細胞は TKI 治療で消失し、初発時に CML 細胞に特異的に発現している表面マーカー全てが治療後の微小残存病変検出に使用できる訳ではない事を示した。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

Kasahara H, Karigane D, Yamazaki R, Fujita S, Shiroshita K, Sakurai M, Koda Y, Kikuchi T, Kato J, Shimizu T, Mori T, Yatabe Y, Arai T, Murata M, Kobayashi H, Takubo K, Okamoto S: Evaluation and Significance of CD25 Expression in Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Fraction of Bone Marrow Cells in Chronic Myelogenous Leukemia Patients. 60<sup>th</sup> American Society of Hematology Annual Meeting 132: 1723 San Diego, Dec 2018

Kasahara H, Karigane D, Okamoto S, Takubo K: Correlation of Expression of CD25 in Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Fraction of Bone Marrow Cells with Response to Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myelogenous Leukemia Patients. Highlights of American Society of Hematology in Asia-Pacific Hong Kong, March 2017.

Karigane D, Kasahara H, Sakurai M, Matsuki E, Tozawa K, Koda Y, Totama T, Kikuchi T, Kato J, Shimizu T, Mori T, Yahagi K, Yatabe Y, Arai T, Katagiri N, Shimizu N, Mitsuhashi Y, Murata M, Kobayashi H, Takubo K, Okamoto S: Correlation of Expression of CD25 in Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Fraction of Bone Marrow Cells with Response to Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myelogenous Leukemia Patients. 58<sup>th</sup> American Society of Hematology Annual Meeting 128:3061 San Diego, Dec 2016.

雁金大樹, 笠原秀範, 櫻井政寿, 松木絵里, 戸澤圭一, 甲田祐也, 外山高朗, 菊池拓, 加藤淳, 清水隆之, 森毅彦, 矢作かおり, 谷田部陽子, 荒井智子, 片桐尚子, 清水長子, 村田満, 小林央, 田久保圭誉, 岡本真一郎. CML 幹前駆細胞分画におけるCD25 発現の評価. 第78 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2016 年10月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。