

平成 29 年 6 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：2014～2016

課題番号：26461425

研究課題名(和文) 白血病p53による白血病微小環境の変調

研究課題名(英文) Functional disruption of leukemia microenvironment by leukemia p53

研究代表者

小島 研介 (KOJIMA, KENSUKE)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号：10332793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：白血病が、白血病を支える微小環境に与える影響と、白血病微小環境から白血病へのフィードバック効果を検証した。骨髓微小環境を模した急性骨髄性白血病モデルを用いた検証によって、一定量以上の放射線照射や特定の化学療法薬、MDM2阻害による p53の活性化は、白血病細胞の PD-L1発現の抑制と、白血病細胞を支える間葉系細胞に SDF-1 (CXCL12)の発現・分泌の低下を誘導した。BMI-1阻害は白血病および間葉系細胞に障害性を有することを明らかにした。白血病微小環境を標的にした新たな治療戦略は、治療成果を向上させる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated an interaction between leukemia cells and stromal cells. Using newly developed leukemia microenvironment models, we found that (1) p53 activation by irradiation, treatment with certain classes of chemotherapeutic agents or MDM2 inhibition can decrease expression levels of PD-L1 in leukemia cells and reduce secretion of SDF-1 (CXCL12) from stromal cells, and (2) BMI-1 inhibition actively disrupt the leukemia-stroma interaction through inducing cell death in leukemia cells and inhibiting stromal functions. Novel strategies targeting leukemia-stroma interaction may improve therapeutic outcome of leukemias.

研究分野：造血器腫瘍分子標的治療学

キーワード：白血病 p53 微小環境 幹細胞 MDM2

1. 研究開始当初の背景

一般に、造血器腫瘍では p53 変異は稀であると信じられているが、特異な病態、たとえば急性骨髄性白血病の複雑核型では 60-70%、急性リンパ性白血病の低二倍体で 70-90%、慢性リンパ性白血病の標準的治療であるフルダラビン抵抗例では 40-50%に、p53 変異は認められる。造血器腫瘍において p53 変異は、ほとんど全て治療抵抗性で予後不良の症例集団である。

最近、白血病において、「p53 の変異がない = p53 機能が正常に維持されている」というわけではないことがわかってきた。p53 の上流の異常のために、p53 の機能はしばしば抑制されており、これが白血病の発症・進展に寄与すると考えられている。

我々は過去、主に急性骨髄性/リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病について検討をおこない、白血病細胞は、1) 機能的な p53 依存性アポトーシス経路をもっていること (Blood 2005, 2006, 2008; Mol Cancer Ther 2010)、2) 白血病にかかわる p53 経路の異常は、MDM2 の活性化と、それによる p53 の機能的抑制に帰結すること (Leukemia 2010; Oncogene 2012; Cancer 2012)、3) 白血病細胞の p53 の再活性化は、MDM2 阻害、XPO1 阻害などにより、DNA 損傷によらずとも可能で、これは白血病細胞のアポトーシスをひきおこすこと (Blood 2005 & 2006; Blood 2013) を報告してきた。これらは p53 を再活性化させることにより、直接的に白血病の細胞死を誘導する試みである。さらに、我々は間質系幹細胞における p53 の再活性化は、細胞内分子シグナルに変化を与え、CXCL12 (SDF-1) の分泌を抑制することなどにより、白血病の生存を不利にすることを見いだした (Blood 2011)。我々の予備的検討では、白血病患者由来の間質系幹細胞は、白血病細胞の遺伝子異常を共有しておらず、野生型 p53 を発現していることがわかっている。また最近、他のグループより肺癌の支持細胞のシスプラチン治療への反応が、癌細胞の p53 に依存しておきる可能性が報告された (Cancer Res 2012)。

2. 研究の目的

白血病が内包する p53 の機能異常が、白血病微小環境および微小環境から腫瘍へのフィードバックに与える影響と、そのメカニズムを明らかにする。

特に、野生型 p53 を発現しながらも、p53 機能が抑制されている白血病において、p53 機能異常がひきおこす白血病微小環境の変調、すなわち、1) 間質系幹細胞の細胞内分子シグナルの変化、2) 間質系幹細胞からのフィードバックシグナルの変化が、白血病の病態に関わるという仮説を検証する。

3. 研究の方法

- 1) 白血病分子異常が造血微小環境に及ぼす細胞学的、機能的影響を、さらにはその反対として造血微小環境が白血病細胞に及ぼす影響を、骨髄微小環境を模した in vitro モデルを用いて検証する。
- 2) 1 で検出された干渉作用の裏打ちとなる細胞内シグナル変化を、分子生物学的方法を用いて検証する。
- 3) 1, 2 で検出された微小環境内細胞内干渉を、マウスモデルで検証する。

4. 研究成果

- 1) 急性骨髄性白血病の病態、および治療抵抗性にかかわる FLT3/ITD 遺伝子異常は、AKT-MDM2 経路を介して白血病細胞の p53 活性を抑制していた。造血器腫瘍における機能的 p53 抑制機構を明らかにした。
- 2) 一定量以上の放射線照射、特定の化学療法薬、あるいは MDM2、XPO1、PPM1D などの p53 制御因子群の能動的コントロールによる p53 の活性化は、白血病細胞において PD-L1 の発現量低下を誘導した。このことにより、白血病細胞の免疫系からエスケープ機構を p53 活性化治療は一部阻害できる可能性が示された。
- 3) 上記 2) による能動的な急性かつ高度の p53 活性化は、白血病を支持する間質系幹細胞において SDF-1/CXCL12 の発現抑制をひきおこし、白血病細胞を支持する機能を阻害することが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

- 1 Ishizawa J, Sugihara E, Kuninaka S, Mogushi K, Kojima K, Benton CB, Zhao R, Chachad D, Hashimoto N, Jacamo RO, Qiu Y, Yoo SY, Okamoto S, Andreeff M, Kornblau SM, Saya H. FZR1 loss increases sensitivity to DNA damage and consequently promotes murine and human B cell acute leukemia. Blood. 2017; 129:1958-1968. (査読有)
- 2 *Nishida Y, Maeda A, Kim MJ, Cao J, Kubota Y, Ishizawa Y, Al Rawi AN, Kato Y, Iwama A, Fujisawa M, Matsue K, Weetall M, Dumble M, Andreeff M, Davis TW, Branstrom A, Kimura S Kojima K.

- The novel BMI-1 inhibitor PTC596 downregulates MCL-1 and induces p53-independent mitochondrial apoptosis in acute myeloid leukemia progenitor cells. *Blood Cancer J.* 2017; 7:e527. (査読有)
- 3 * Kojima K, Maeda A, Yoshimura M, Nishida Y, Kimura S. The pathophysiological significance of PPM1D and therapeutic targeting of PPM1D-mediated signaling by GSK2830371 in mantle cell lymphoma. *Oncotarget.* 2016; 7:69625-69637. (査読有)
 - 4 Andreeff M, Kelly KR, Yee K, Assouline S, Strair R, Popplewell L, Bowen D, Martinelli G, Drummond MW, Vyas P, Kirschbaum M, Iyer SP, Ruvolo V, González GM, Huang X, Chen G, Graves B, Blotner S, Bridge P, Jukofsky L, Middleton S, Reckner M, Rueger R, Zhi J, Nichols G, Kojima K. Results of the Phase I Trial of RG7112, a Small-Molecule MDM2 Antagonist in Leukemia. *Clin Cancer Res.* 2016; 22:868-876. (査読有)
 - 5 Ishizawa J, Kojima K, Chachad D, Ruvolo P, Ruvolo V, Jacamo RO, Borthakur G, Mu H, Zeng Z, Tabe Y, Allen JE, Wang Z, Ma W, Lee HC, Orłowski R, Sarbassov dos D, Lorenzi PL, Huang X, Neelapu SS, McDonnell T, Miranda RN, Wang M, Kantarjian H, Konopleva M, Davis RE, Andreeff M. ATF4 induction through an atypical integrated stress response to ONC201 triggers p53-independent apoptosis in hematological malignancies. *Sci Signal.* 2016; 9:ra17. (査読有)
 - 6 Benito JM, Godfrey L, Kojima K, Hogdal L, Wunderlich M, Geng H, Marzo I, Harutyunyan KG, Golfman L, North P, Kerry J, Ballabio E, Chonghaile TN, Gonzalo O, Qiu Y, Jeremias I, Debose L, O'Brien E, Ma H, Zhou P, Jacamo R, Park E, Coombes KR, Zhang N, Thomas DA, O'Brien S, Kantarjian HM, Levenson JD, Kornblau SM, Andreeff M, Müschen M, Zweidler-McKay PA, Mulloy JC, Letai A, Milne TA, Konopleva M. MLL-Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemias Activate BCL-2 through H3K79 Methylation and Are Sensitive to the BCL-2-Specific Antagonist ABT-199. *Cell Rep.* 2015; 13:2715-2727. (査読有)
 - 7 * Nishida Y, Maeda A, Chachad D, Ishizawa J, Yi Hua Q, Kornblau SM, Kimura S, Andreeff M, Kojima K. Preclinical activity of the novel BMI-1 inhibitor PTC-209 in acute myeloid leukemia: implications for leukemia therapy. *Cancer Sci.* 2015; 106:1705-1713. (査読有)
 - 8 Harada M, Benito J, Yamamoto S, Kaur S, Arslan D, Ramirez S, Jacamo R, Plataniias L, Matsushita H, Fujimura T, Kazuno S, Kojima K, Tabe Y, Konopleva M. The novel combination of dual mTOR inhibitor AZD2014 and pan-PIM inhibitor AZD1208 inhibits growth in acute myeloid leukemia via HSF pathway suppression. *Oncotarget.* 2015; 6:37930-37947. (査読有)
 - 9 Borthakur G, Duvvuri S, Ruvolo V, Tripathi DN, Piya S, Burks J, Jacamo R, Kojima K, Ruvolo P, Fueyo-Margareto J, Konopleva M, Andreeff M. MDM2 Inhibitor, Nutlin 3a, induces p53 dependent autophagy in acute leukemia by AMP kinase activation. *PLoS One.* 2015; 10:e0139254. (査読有)
 - 10 Ishizawa J, Kojima K, McQueen T, Ruvolo V, Chachad D, Noguerras-Gonzalez GM, Huang X, Pierceall WE, Dettman EJ, Cardone MH, Shacham S, Konopleva M, Andreeff M. Mitochondrial profiling of acute myeloid leukemia in the assessment of response to apoptosis modulating drugs. *PLoS One.* 2015; 10:e0138377. (査読有)
 - 11 Tabe Y*, Kojima K*, Yamamoto S, Sekihara K, Matsushita H, Davis RE, Wang Z, Ma W, Ishizawa J, Kazuno S, Kauffman M, Shacham S, Fujimura T, Ueno T, Miida T, Andreeff M (*equal contribution). Ribosomal biogenesis and translational flux inhibition by the selective inhibitor of nuclear export (SINE) XPO1 antagonist KPT-185. *PLoS One.* 2015; 10:e0137210. (査読有)
 - 12 * Yoshimura M, Ishizawa J, Ruvolo V, Dilip A, Quintas-Cardama A, McDonnell TJ, Neelapu SS, Kwak LW, Shacham S, Kauffman M, Tabe Y, Yokoo M, Kimura S, Andreeff M, Kojima K. Induction of p53-mediated

transcription and apoptosis by Exportin-1 (XPO1) inhibition in mantle cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2014; 105:795-801. (査読有)

〔図書〕(計 12 件)

- 1 小島研介, 木村晋也: T315I 変異に対する治療(分担), 白血病・リンパ腫薬物療法ハンドブック, 松村到編, pp. 162-167, 南江堂, 東京, 2016.
- 2 小島研介, 木村晋也: 変異遺伝子の同定と定量(分担), Ph 陰性骨髄増殖性腫瘍～分子病態と治療の最前線～, 金倉謙編, pp. 34-44, 医薬ジャーナル社, 大阪, 2016.
- 3 小島研介, 木村晋也: 最新の基礎研究動向: 概論(分担), 多発性骨髄腫学, 谷脇雅史編, pp. 139-143, 日本臨牀社, 東京, 2016.
- 4 小島研介: 白血病: 急性白血病の診断と治療(分担), がんの先進医療, 基佐江里編, pp. 14-17, 路書房, 神奈川, 2016.
- 5 Kojima K, Vassilev LT. Targeting p53 tumor suppressor for AML therapy. In “Targeted Therapy of Acute Myeloid Leukemia”, ed. Michael A., pp.135-150, Springer, Berlin, 2015
- 6 Kojima K, Andreeff M. TP53. In “Targeted Therapy in Translational Cancer Research”, ed. Tsimberidou AM, Kurzrock R, Anderson KC., pp. 353-359, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2015
- 7 小島研介, 末岡榮三朗: 白血球増多・減少(分担), 日常診療のための検査値のみかた, 野村文夫, 村上正巳, 和田隆志, 末岡榮三朗編, pp. 7-12, 中外医学社, 東京, 2015.
- 8 小島研介: ゲムツズマブオゾガマイシン(分担), 新 ABC 血液領域の

分子標的治療薬, 畠清彦編, pp. 21-26, 最新医学社, 大阪, 2015.

- 9 小島研介, 木村晋也: 治療総論・分子標的治療薬(分担), Principles and Practice 血液・造血管器・リンパ系, 千葉滋編, pp. 136-141, 文光堂, 東京, 2015.
- 10 小島研介, 安藤寿彦, 木村晋也: リンパ性白血病における分子標的治療(分担), 血液疾患の分子標的薬, 日本臨床(72), pp. 1094-1098, 日本臨牀社, 東京, 2014.
- 11 田部陽子, 小島研介: 造血管器腫瘍における p53-HDM2 系異常(分担), 血液疾患の分子標的薬, 日本臨床(72), pp. 1042-1046, 日本臨牀社, 東京, 2014.
- 12 小島研介, 木村晋也: 慢性骨髄性白血病の病態と治療(分担), 白血病の成因と治療, BIO Clinica, pp. 33-38, 北隆館, 東京, 2014.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.saga-hor.jp/main/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 研介 (KOJIMA, Kensuke)

佐賀大学医学部 血液・呼吸器・腫瘍内科
准教授

研究者番号: 10332793

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

該当なし