

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16044

研究課題名（和文）慢性骨髄性白血病再発防止を目指したALDH1A1阻害剤による治療戦略

研究課題名（英文）Treatment strategy with ALDH1A1 inhibitor to prevent relapse of chronic myeloid leukemia

研究代表者

八木 健太（YAGI, Kenta）

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：10869085

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）において、再発とALDHの関連について明らかとする事を目的として研究を実施した。本検討では特にALDH阻害を主作用とする薬剤を用いて、ALDH阻害剤がCML治療薬の抗腫瘍効果を増強することを明らかとした。また、ALDH阻害薬やCML治療薬がALDHの発現に与える影響については、アイソザイムごとに発現変動の程度が異なる可能性を見出した。以上の結果から、ALDH阻害がCML再発を抑制する作用点の1つとなる可能性を見出した。また、薬剤以外の因子が治療継続に与える影響についてもデータベース解析を用いて候補となりうる因子を複数抽出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子標的治療薬の登場によりCMLは長期生存が見込める疾患となった。しかし、現状では一生涯の薬物治療を余儀なくされており、若年患者においては長期投与による副作用や高額な薬剤費に悩まされている。そのため、CML幹細胞を根絶できる治療戦略を確立することには非常に社会的意義がある。本検討で得られた知見を元にALDHとCML幹細胞の生存の関連を明らかとすることで、CML幹細胞の根絶できる治療法の開発に貢献しうる可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the relationship between relapse and ALDH in chronic myelogenous leukemia (CML). In this study, we found that ALDH inhibitors enhance the antitumor effect of CML chemotherapy, using drugs with ALDH inhibition as their main effect. We also found that expression changes of ALDH may be different for each isozyme when ALDH inhibitors or CML drugs affect the expression of ALDH. Based on these results, we found that ALDH inhibition may be one of the effective factors that inhibit CML relapse. We also used database analysis to identify several factors other than drugs that may be candidates for influencing treatment continuation.

研究分野：臨床薬理

キーワード：慢性骨髄性白血病 分子標的治療薬 ALDH

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 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番染色体の相互転座によって生じる **Bcr-Abl** 融合遺伝子が原因として発症する。**Imatinib** は主要な細胞生存経路である **Bcr-Abl** 経路を遮断することで細胞障害作用を示し、**CML** 治療の第一選択薬として **CML** の治療成績を劇的に向上させた。**Imatinib** 治療を受けた **CML** 患者の大部分は長期的に細胞遺伝学的完全寛解を達成し、5年生存率は90%を超え、**CML** は長期生存が見込める疾患となった。さらには、第二世代 **Bcr-Abl** 阻害薬である **Nirotinib** や **Dasatinib** が開発されたことで、治療効果は更なる向上がみられている。第三世代や第四世代の薬剤も開発が進んでおり、**CML** の治療目標は病気の進行を回避することから、治癒を目指すことへと変遷してきている。しかし、これらの **Bcr-Abl** 阻害剤の投与により高い治療効果を維持していたとしても、治療薬を休止することで多くの症例で再発をきたすことが報告されている。**Imatinib** 治療により白血病細胞の消失を認めた患者においては、休薬を行うと約60%の患者において白血病細胞が再増殖し、**CML** が再発することが報告されている。そのため、現状では薬物治療を一生涯継続しなければならず、長期投与による副作用や高額な薬剤費が継続的に発生する事が問題となっている。実際、**Bcr-Abl** 阻害剤は非常に高価な薬剤であることから、長期間の投与により経済的な問題からアドヒアランスが低下する事例も存在している。とくに、**AYA** 世代など若年患者においては、高額な薬剤費のみならず長期投与による副作用にも悩まされており、**CML** 根治を目指すことの出来る更なる治療薬の開発が切望されている。

近年の研究により、**CML** の再発には「**CML** 幹細胞」が重要な役割を持つことが明らかになっており、分子遺伝学的完全寛解達成患者においても **CML** 幹細胞が検出されることが報告されている。**CML** 幹細胞は白血病細胞に分化する親細胞であり、**Imatinib** をはじめとした抗がん剤に対して耐性を示すことが明らかになっている。特に、**Imatinib** の標的である **Bcr-Abl** 経路とは異なる細胞生存シグナル経路が **CML** 幹細胞では特異的に存在し、この経路が **Imatinib** に対する感受性を低下させ **CML** 完治を妨げている要因であると考えられている。しかし、**CML** 幹細胞を根絶する有効な治療法は依然として確立されていない。そこで我々は、がん幹細胞の根絶を目的としてがん幹細胞に有効な薬剤の探索を行っており、その生存に **ALDH** ファミリー(細胞生存経路の1つ)が関与していることを明らかとした。本研究の目的は、**CML** 幹細胞の生存に対する **ALDH** の関わりを明らかとすることを起点として、**ALDH** 阻害剤の **CML** 幹細胞に対する有効性を明らかとすることである。

2. 研究の目的

慢性骨髄性白血病(**CML**)幹細胞を完全に根絶する新規治療が **CML** の再発予防に必要であるが、有用な治療法は確立していない。申請者はこれまでに、科学研究費助成事業の助成を受けて研究を行い、**CML** 細胞に対し **Imatinib** および **JAK** 阻害薬を併用した場合、**Imatinib** 単独の場合と比較して抗腫瘍効果が向上し、さらに **CML** 幹細胞に過剰発現している **ALDH1A1** の発現を低下させることを見出した。**ALDH1A1** は細胞内に存在する酵素であり細胞生存シグナル経路への関与が報告されていることから、**Imatinib** と **JAK** 阻害薬の併用による抗腫瘍効果増強には **ALDH1A1** が重要な役割をもつ可能性がある。また、**ALDH** はがん幹細胞マーカーの1つとしても知られている。しかし、**CML** においては、がん幹細胞の生存と **ALDH** の関係性は明らかとなっていない。

本研究では、**ALDH** 阻害剤が **CML** 再発の最大の原因である **CML** 幹細胞に対して有効であるかを明らかにするとともに、**CML** 幹細胞の生存にどのように関与しているかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

以下の通りの *in vitro* の実験系を用いて **ALDH** と **Bcr-Abl** 阻害剤の関連について検討した。

- (1) **ALDH** 阻害剤の抗腫瘍効果
- (2) **ALDH** 発現状況と薬剤感受性の関連
- (3) **ALDH** アイソザイム発現の状況
- (4) **ALDH** と関連のある因子の解析

4. 研究成果

- (1) **ALDH** 阻害剤と **Bcr-Abl** 阻害剤の **CML** 細胞への抗腫瘍効果

本研究ではまず、**ALDH** 阻害剤として臨床での使用実績のある薬剤について検討を行った。また、検討には **ALDH1A1** を発現し **CML** 幹細胞としての機能を有する **CML** 細胞株 (**K562**, **KCL-22**) を用いた。**ALDH** 阻害剤そのものが **CML** 細胞株に対して増殖抑制作用がある事を確認した(図1)。そして、いずれの **ALDH** 阻害剤においても **Imatinib** をはじめとした **Bcr-Abl** 阻害剤の抗腫瘍効果を増強することを見出した。また、**ALDH** 阻害剤としては臨床では使用されていないが **ALDH** 阻害作用を示す可能性のある薬剤についてもデータベース解析により複数抽出しており、これらについても検討を進めている。

- (2) **ALDH** 発現状況と薬剤感受性の関連

セルソーターを用いて **ALDH** の発現量によって細胞を分離し、これらの細胞集団について時間経

過により ALDH 発現量が変動するかについて確認した。ALDH を低発現している細胞集団、高発現しているどちらの細胞集団においても、発現割合について細胞分離後 4 週間後においても顕著な変動は見られなかった。そこで、ALDH 発現量によって ALDH 阻害剤および Imatinib の薬剤感受性が変化するかについて検討を行ったところ、ALDH の発現量と ALDH 阻害剤および Imatinib の薬剤感受性の間には相関関係がみられた。

(3) がん幹細胞特性を有する ALDH アイソザイム発現の同定

上記(2)で ALDH 発現量に応じて分離した CML 細胞株に対して ALDH 阻害剤および Imatinib 曝露の前後で RNA を抽出し、ALDH アイソザイム発現の変動を調査した。ALDH 阻害剤および Imatinib 曝露による発現変動の程度は、ALDH アイソザイム群によって異なることが明らかとなった。そこで、いずれの ALDH アイソザイムが CML の生存に最も関与しているかについて更なる検証を行っている。

また、エタノールの代謝と ALDH には深い関係がある事が知られている。我々は薬剤の溶媒として使用されている微量なエタノールにおいても ALDH アイソザイム発現に影響を与えることを確認した。Bcr-Abl 阻害剤については臨床では内服で投与されるが、多くの化学療法薬は点滴であるため、投与の際にはエタノールを始めとした様々な溶媒が同時に投与されることとなる。そこで、溶媒として利用する成分等についても ALDH アイソザイムの発現にどのような影響を与えるのか確認を行っている。

(4) ALDH と関連のある因子の解析

ALDH 発現に影響を与える因子は、薬剤のみならず生活習慣や環境因など非常に多くの要因が考えられる。そこで、薬剤以外の因子が治療継続に影響を与える可能性について大規模医療情報データベースを用いて解析を行った。その結果、治療成績に寄与する可能性のある因子が複数検出されたため、本成果について更なる検証を進めている。これらの解析結果については国際学術誌への投稿を予定している。また、これら因子が腫瘍効果に与える直接的な影響については実臨床での臨床研究等により更なる検討が必要であると考えており、実施に向けた準備を進めている。

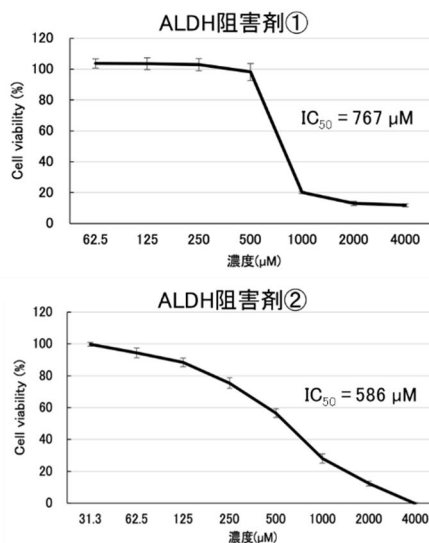


図1. ALDH阻害剤の抗腫瘍効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 0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 Zamami Yoshito, Hamano Hirofumi, Niimura Takahiro, Aizawa Fuka, Yagi Kenta, Goda Mitsuhiro, Izawa-Ishizawa Yuki, Ishizawa Keisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Drug-Repositioning Approaches Based on Medical and Life Science Databases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2021.752174	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Nawa Hideki, Niimura Takahiro, Hamano Hirofumi, Yagi Kenta, Goda Mitsuhiro, Zamami Yoshito, Ishizawa Keisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Evaluation of Potential Complications of Interstitial Lung Disease Associated With Antiandrogens Using Data From Databases Reporting Spontaneous Adverse Effects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2021.655605	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Nawa Hideki, Niimura Takahiro, Yagi Kenta, Goda Mitsuhiro, Zamami Yoshito, Ishizawa Keisuke	4. 巻 5
2. 論文標題 Evaluation of potential complication of interstitial lung disease with abemaciclib and palbociclib treatments	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cnr2.1402	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Goda Mitsuhiro, Kanda Masaya, Yoshioka Toshihiko, Yoshida Ami, Murai Yoichi, Zamami Yoshito, Aizawa Fuka, Niimura Takahiro, Hamano Hirofumi, Okada Naoto, Yagi Kenta, Chuma Masayuki, Izawa Ishizawa Yuki, Ishizawa Keisuke	4. 巻 14
2. 論文標題 Effects of 5 HT3 receptor antagonists on cisplatin induced kidney injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Translational Science	6. 最初と最後の頁 1906 ~ 1916
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cts.13045	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Yagi Kenta, Mitstui Marin, Zamami Yoshito, Niimura Takahiro, Izawa Ishizawa Yuki, Goda Mitsuhiro, Chuma Masayuki, Fukunaga Kimiko, Shibata Takahiro, Ishida Shunsuke, Sakurada Takumi, Okada Naoto, Hamano Hirofumi, Horinouchi Yuya, Ikeda Yasumasa, Yanagawa Hiroaki, Ishizawa Keisuke	4. 巻 10
2. 論文標題 Investigation of drugs affecting hypertension in bevacizumab treated patients and examination of the impact on the therapeutic effect	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 164 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3587	査読の有無 無
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8件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 國木 悠理香、八木 健太、吉田 莉奈、岡本 尚大、安藤 里英、山川 裕介、濱野 裕章、新村 貴博、相澤 風花、石澤 有紀、合田 光寛、座間味 義人、石澤 啓介
2. 発表標題 慢性骨髄性白血病に対するBcr-Abl阻害剤とALDH阻害剤併用による抗腫瘍効果 The Effect of Combined Bcr-Abl Inhibitor and ALDH Inhibitor on Chronic Myelogenous Leukemia
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 合田 光寛、座間味 義人、新村 貴博、萱野 純史、濱野 裕章、岡田 直人、相澤 風花、八木 健太、石澤有紀、桐野 靖、中村 敏己、石澤 啓介
2. 発表標題 大規模医療情報データベースを活用した抗がん剤副作用予防のためのリバーストランスレショナルリサーチ
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 相澤 風花、梶本 春奈、森山 大嗣、新村 貴博、合田 光寛、新田 綾香、高橋 志門、濱野 裕章、八木 健太、石澤 有紀、座間味 義人、石澤 啓介
2. 発表標題 医療ビッグデータを基盤とした迅速かつ安全ながん支持療法の開発
3. 学会等名 第31回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱野 裕章, 座間味 義人, 合田 光寛, 相澤 風花, 八木 健太, 石澤 啓介
2. 発表標題 データサイエンスと基礎研究手法の融合
3. 学会等名 第31回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 座間味 義人, 新村 貴博, 濱野 裕章, 合田 光寛, 相澤 風花, 八木 健太, 石澤 有紀, 石澤 啓介
2. 発表標題 リアルワールドデータを活用したドラッグリポジショニング研究
3. 学会等名 第31回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 合田 光寛, 神田 将哉, 吉岡 俊彦, 吉田 愛美, 新村 貴博, 櫻田 巧, 小川 敦, 岡田 直人, 相澤 風花, 八木 健太, 濱野 裕章, 石澤 有紀, 座間味 義人, 石澤 啓介
2. 発表標題 大規模医療情報データベースを活用した抗がん剤副作用に対する予防法の確立
3. 学会等名 第60回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 座間味 義人, 新村 貴博, 石澤 有紀, 合田 光寛, 濱野 裕章, 岡田 直人, 八木 健太, 中馬 真幸, 桐野 靖, 中村 敏己, 石澤 啓介
2. 発表標題 医療ビッグデータを活用したドラッグリポジショニング研究
3. 学会等名 第30回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石澤 有紀, 座間味 義人, 新村 貴博, 合田 光寛, 八木 健太, 中馬 真幸, 今西 正樹, 石澤 啓介
2. 発表標題 ビッグデータ解析と基礎研究を融合した新たな研究手法による腫瘍循環器学へのアプローチ
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------