

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23501312

研究課題名(和文) Hedgehogによる白血病幹細胞維持の分子メカニズム

研究課題名(英文) Targeting Hedgehog in a CML Stem Cell Pathway

研究代表者

岡部 聖一 (Okabe, Seiichi)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：40366109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、がん幹細胞の維持に関与するHedgehog-Gliに着目し、慢性骨髄性白血病の幹細胞に対して、検討した。Ph陽性白血病細胞株や患者サンプルに対して、Hedgehogシグナルの発現を確認した。feeder cellの存在下で、白血病細胞の増殖が促進され、Hedgehog-Gliの発現が増加した。次にShhの投与にて、腫瘍細胞の増殖能が増強した。またfeeder cellの存在下では、ABL阻害薬による、アポトーシス誘導は減少した。Hedgehog-Gli阻害薬とABL阻害薬の併用により、抗腫瘍効果が増強することを確認し、Hedgehog-Gliの関連を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Hedgehog (Hh)-glioma-associated oncogene homolog (Gli) signaling is implicated in a large number of human cancers. In this study, we investigated the effects of the potent Hh antagonist GDC-0449 on the BCR-ABL-positive cell line and primary samples when leukemia cells were protected by a feeder cell line. The numbers of OM9;22 cells significantly increased with S9 cells. Treatment of OM9;22 cells with GDC-0449 caused cell growth inhibition. Treatment of Ph-positive leukemia cells with GDC-0449 and dasatinib in the presence of S9 caused significantly more cytotoxicity than that caused by each drug alone. Inhibition of Gli1 or Gli2 by siRNA transfection reduced the growth of the Ph-positive cell line K562 and increased cytotoxicity of dasatinib. Data from this study suggest that administration of the Hh inhibitor GDC-0449 inhibits BCR-ABL-positive cell growth and enhances the cytotoxic effects of dasatinib in the presence of feeder cells.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・臨床腫瘍学

キーワード：分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

ABL 阻害剤の臨床応用により、慢性骨髄性白血病 (CML) の進行期、急性転化への移行は激減した。しかし、残る問題は残存する CML 幹細胞をいかに制御して、真の治癒に向けた治療法を確立することである。CML 幹細胞の静止期維持には、複数の細胞内分子が関与し、骨髄微小環境も維持に働くと考えられるが、どの分子がドミナントな役割を果たしているのか、不明な点も多い。本研究では、CML 幹細胞に Hedgehog (Hh)-Gli signaling が関与するという仮説をたて、CML Biology の分子基盤を明らかにする。

2. 研究の目的

ABL 阻害剤の臨床応用により、慢性骨髄性白血病 (CML) の進行期、急性転化への移行は軽減され、良好な治療成績が示されている。しかし、分子遺伝学的完全寛解に至った症例でも、服薬を中止した場合、約半数の症例で再発が認められる。これらの事実により、CML 症例では ABL キナーゼ阻害剤のみでは真の治癒は困難と考えられる。白血病をはじめとした種々のがんにおいてがん幹細胞の存在が示され、少数の自己複製能を有するがん幹細胞が、大多数の有限の分裂能しか持たない、白血病細胞を供給する、幹細胞システムが形成されていると考えられている。この幹細胞システムは、正常造血システムと同様に階層性が存在し、白血病幹細胞から段階的に分化が進行し、成熟分化すると考えられている。本研究では、がん幹細胞の維持に關与すると報告されている、Hedgehog-Gli シグナルに着目し、慢性骨髄性白血病の幹細胞に対して、バイオロジカルな意義と他の因子とのクロストークを検討した。また、Hedgehog 阻害薬を中心とした薬剤の効果とシグナル伝達の検索、Hedgehog 阻害と ABL 阻害薬による、白血病幹細胞への作用や発現の検討とその予測を中心に研究を行った。

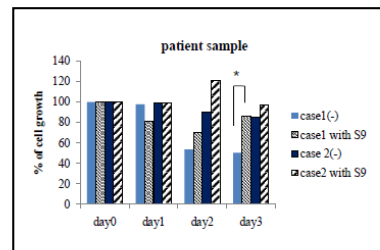
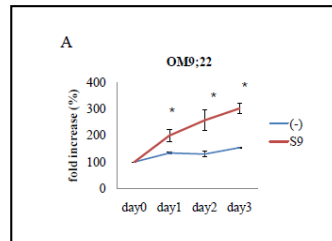
3. 研究の方法

- (1) 白血病細胞に Hedgehog シグナル (Shh, DHH, IHH), PTCH1, PTCH2, SMO, SUFU, Gli1, Gli2, Gli3 の発現がみられるかを検討する。
- (2) ヒト白血病細胞株 (K562, Ba/F-3BCR-ABL, Ba/F3 BCR-ABL T315I など) に対する、Hedgehog-Gli 阻害の作用、Gli1, Gli2, Gli3 の siRNA 導入による増殖と細胞周期、シグナル変化を検討する。
- (3) Hedgehog-Gli シグナルの活性化が慢性骨髄性白血病の維持に關与するかどうか、また

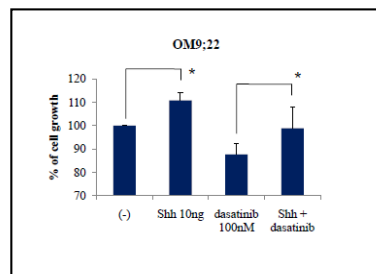
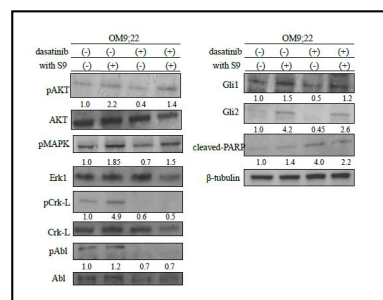
その阻害薬による、クロストークについて、CML 細胞で、細胞増殖アッセイ、免疫プロット法、FACS 法、PCR 法で解析を行った。

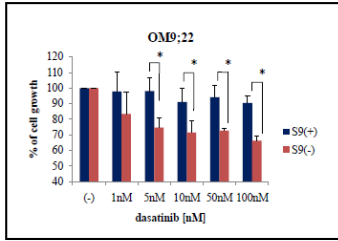
4. 研究成果

(1) 本研究では、がん幹細胞の維持に關与する Hedgehog-Gli に着目し、慢性骨髄性白血病の幹細胞に対して、検討した。Ph 陽性白血病細胞株や患者サンプルに対して、Hedgehog シグナルの発現を確認した。feeder cell の存在下で、白血病細胞の増殖が促進され、Hedgehog-Gli の発現が増加した。

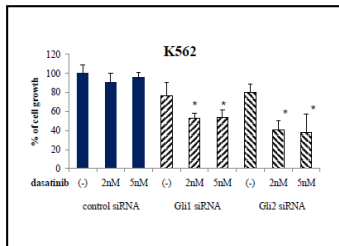
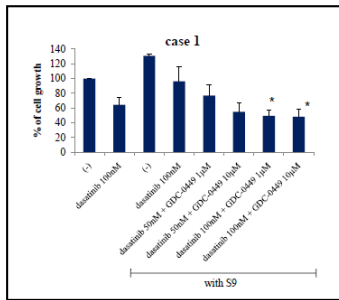


(2) Shh の投与にて、腫瘍細胞の増殖能が増強した。また feeder cell や Shh の存在下では、ABL 阻害薬による、細胞増殖抑制効果が減弱し、アポトーシス誘導は減少した。





(3)Hedgehog-Gli 阻害薬や SiRNA によるノックダウンと ABL 阻害薬の併用により、抗腫瘍効果が増強することを確認した。



以上より、Hedgehog-Gli の関連を明らかにした。

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 2 件)

Katagiri S, Tauchi T, Okabe S, Minami Y, Kimura S, Maekawa T, Naoe T, Ohyashiki K. Combination of ponatinib with Hedgehog antagonist vismodegib for therapy-resistant BCR-ABL1-positive leukemia. Clin Cancer Res. 2013; 19: 1422-32. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1777. (査読有)

Okabe S, Tauchi T, Tanaka Y, Katagiri S, Ohyashiki K. Effects of the hedgehog inhibitor GDC-0449, alone or in combination with dasatinib, on BCR-ABL-positive leukemia cells. Stem Cells Dev. 2012; 21: 2939-48. doi: 10.1089/scd.2012.0016. (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

田内 哲三、片桐 誠一郎、岡部 聖一、南陽介、直江 知樹、大屋敷 一馬 Targeting the hedgehog signaling pathway limits the self-renewal of BCR-ABL1 positive leukemia cells 第 75 回日本血液学会学術集会 2013 年 10 月 11 日、札幌

Tauchi T, Katagiri S, Okabe S, Minami Y, Naoe T, Ohyashiki K. Targeting the Hedgehog Signaling Pathway Limits the Self-Renewal of BCR-ABL1 Positive Leukemia Cells: Molecular Mechanisms. 54th ASH Annual Meeting and Exposition 2012 年 12 月 10 日、アトランタ

片桐誠一郎、田内哲三、岡部聖一、木村晋也、前川平、大屋敷一馬 治療抵抗性 BCR-ABL1 陽性白血病に対する ponatinib を併用した hedgehog 経路の標的療法 第 74 回日本血液学会学術集会 2012 年 10 月 19 日、京都

Katagiri S, Tauchi T, Okabe S, Ashihara E, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K: Targeting the hedgehog signaling pathway in therapy-resistant Bcr-Abl1 positive leukemia with ponatinib. The 53rd American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition 2011 年 12 月 10 日、サンディエゴ

岡部聖一、田内哲三、大屋敷一馬 BCR-ABL 陽性細胞に対する hedgehog inhibitor の単独および dasatinib 併用の効果 第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年 10 月 14 日、名古屋

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡部 聖一 (OKABE, Seiichi)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：40366109

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：