

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 3 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591396

研究課題名(和文) 神経軸索ガイダンス分子を用いた新規白血病治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel treatment for leukemia using axon guidance molecules

研究代表者

松岡 広 (MATSUOKA, HIROSHI)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50418878

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：神経軸索伸長および細胞移動を制御する分子群の血液悪性腫瘍細胞における発現をスクリーニングした。その結果、ある分子に注目できた。当該分子の機能を解析し結果を得た。また、抗体医薬品開発につなげるため、当該分子の機能ドメインを解析した。

研究成果の概要(英文)：We screened for expression of axon guidance molecules in hematological malignant cells and we could finally focus on a molecule. We analyzed the function of the molecule and searched for the functional domain of the molecule in order to reach drug development.

研究分野：血液内科学

キーワード：白血病 神経軸索ガイダンス分子

1. 研究開始当初の背景

急性骨髄性白血病(以下、AML)の寛解導入率は80%に迫るが、うち約半数が再発により死亡するため、長期生存率は30-40%に留まる。再発の詳細な機序は不明であるが、最近、白血病幹細胞(leukemia stem cells; 以下LSC)がニッチに接着して残存し、これが再増殖・再発の原因となる可能性が示唆されている。

LSCはヒト白血病細胞を免疫不全動物へ移植した際にヒト白血病を再構築できる細胞としてその存在が確認された。ニッチ細胞は各組織において組織幹細胞を接着し、組織幹細胞の生存を保障する細胞である。骨髄のニッチは骨内膜領域の骨芽細胞で構成される(Nature, 425:841, 2003)。正常造血幹細胞(Hematopoietic stem cells; 以下HSC)はこのニッチ細胞に接着して存在し、細胞周期を停止し、また、酸素呼吸をほとんど行わずに低代謝状態で生存することが分かってきた。正常HSCはニッチ細胞に接着し、いわば“冬眠”状態となることにより、外的ストレスを隔絶し、生涯に渡る造血の恒常性を維持すると考えられるようになった。

一方、LSCもこのニッチを利用し、抗がん剤の攻撃を逃れる可能性が指摘されている。ヒト白血病を再構築した免疫不全マウスヘシタラピンを投与すると骨髄内の白血病細胞はほぼ死滅するものの、ニッチに接着したLSCのみ残存することが判明した(leukemia, 21:136, 2007, Nat Biotechnol, 25:11, 2007)。これらの実験結果から、白血病残存および再増殖にはLSCのニッチへの接着が重要な要素の一つである可能性が示唆される。したがって、LSCをニッチから剥がし、殺傷できれば、白血病細胞の再増殖を防ぎ、治療に結びつく可能性が高い。

それでは、HSCないしはLSCは如何にしてニッチへ接着しているのだろうか。CXCL12/CXCR4やTie2/Angiopoietin1の系などHSCニッチ間の相互作用を司る分子が報告され、さらにHSC上やLSC上に発現する分子(HSC因子、LSC因子)がこの数年爆発的に報告されている(VLA-4、c-Kit、CD25、CD32、CD33、Hck、CD44、CD96、CD123、CLL-1、TIM3、

FMSなど)。特に正常HSCには発現せず、LSCにのみ発現するLSC因子は治療標的として期待されている(Cancer Cell, 6:587, 2004)。

神経軸索ガイダンス分子は発生期神経系において神経軸索の伸長・退縮をガイドする分子群である。これらは発生期神経系において、軸索先端の成長杯を誘引、または退縮させ(軸索は反対向きに伸長=反発)、軸索伸長の方向や到達点をガイドしている。また、細胞移動においても同様に誘引もしくは反発活性を示して細胞移動をコントロールしている。

2. 研究の目的

現在、正常HSCとLSCで発現の異なる膜分子を標的とする治療法の開発が盛んであるが、神経軸索ガイダンス分子の機能に焦点を当て、新規の白血病治療法を編み出そうとする研究はこれまでに無く、本課題は新規性、独創性の高い研究である。

3. 研究の方法

(1)ヒト白血病細胞株、正常ヒト骨芽細胞などを用い、神経軸索ガイダンス分子の発現が見られるか、定量的PCR法、immunoblotting法にて解析した。

(2)Immunocytochemistry法、電子顕微鏡にて細胞内局在を解析した。siRNA法を用いて、knockdownを行い、その表現型を解析した。また、Crispr-CAS9 systemを用い遺伝子欠損白血病細胞株を作製し、その表現型を解析した。

4. 研究成果

血液悪性腫瘍細胞株において定量的PCR法を用いて発現をスクリーニングした。以下、特許出願準備中のため、省略。

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)現在の所、未発表である。

[雑誌論文](計 件)

[学会発表](計 件)

[図書](計 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

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

松岡 広 (Matsuoka, Hiroshi)

神戸大学大学院医学研究科

腫瘍・血液内科学分野 准教授

研究者番号： 50418878