

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591562

研究課題名(和文) コンピュータ白血病幹細胞システムによる再発動態解析と治療開発への基盤創成

研究課題名(英文) Computational leukemic stem cell models in systems biology for analyses of cell kinetics in leukemic relapse and development of risk-stratified chemotherapy

研究代表者

犀川 太 (SAIKAWA, Yutaka)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：60283107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：研究者等は白血病の再発動態解析と治療開発を目的として、独自に開発した骨髓系3次元造血モデルに白血病幹細胞システムを導入した骨髓性白血病モデルを構築した。「正常の造血幹細胞および骨髓系細胞の細胞動態」を基本として「白血病幹細胞および白血病前駆細胞の細胞動態」の時間と分裂回数を変化させ、「正常骨髓細胞の3倍に延長した白血病幹細胞システム」の導入により白血病化モデルが成立した。さらに、このプロトタイプに臨床研究で開発が進められている骨髓性白血病の化学治療法(JPLSG AML-05)を導入し、10年間無再発治療モデルを構築した。

研究成果の概要(英文)：We have constructed a 3-dimensional computer simulation system to investigate the mechanisms of leukemic relapse and develop new risk-stratified treatment protocols. Comparing the cell kinetics of normal hemopoietic stem cells and leukemic stem cells, models of developing leukemias were successfully simulated from a single leukemic stem cells when the cell kinetics of leukemic stem cells was more than 3 times slower than normal hematopoietic stem cells. Subsequently, introducing simulations of chemotherapy, adapted from the AML-05 protocol from Japan Pediatric Leukemia Lymphoma Study Group, into our leukemic models has established a treatment model with 10-year relapse-free survival as a prototype.

研究分野：小児血液腫瘍学

キーワード：急性骨髓性白血病 コンピューターシミュレーション 白血病幹細胞 システム生物学

1. 研究開始当初の背景

(1) 小児急性白血病の治療成績はめざましく向上していくなかで、高い再発率を示す急性骨髄性白血病群に対する新たな戦略の確立が急務である。そのためには進行中の治療効果をリアルタイムに判断し、最も適切な治療を選択する必要がある。

(2) 治療中に「再発の可能性を予測しうる」因子を見つけだすことが治療戦略の構築に必要である。近年の臨床研究にて特定の治療ポイントにおける微小残存白血病細胞 (MRD) 量が再発を予測しうる可能性が示された。しかし、MRD の動態は複雑であり、個人差も大きい。臨床現場で実施される骨髄検査による MRD の経時的観測では個々の完全予測には結びつかない現状があった。

(3) 近年の白血病研究から白血病幹細胞の存在が明らかとなり、白血病幹細胞から供給される白血病細胞を対象とした従来の MRD モニタリングでは、白血病幹細胞の細胞動態を把握することが困難である。

2. 研究の目的

(1) 研究者らが開発した急性骨髄性白血病モデル (コンピュータシミュレーションモデル) を用いて、白血病幹細胞システム-白血病幹細胞が自己複製しながら白血病細胞を供給する-をモデル化することによりその細胞動態を理解する。

(2) 正常骨髄系および白血病幹細胞系の細胞動態、個々の白血病幹細胞および微小残存白血病細胞 (MRD) の長期的変動、白血病幹細胞の局在と周囲組織 (ニッチ) との相互作用が細胞周期におよぼす変化を解析することで、造血細胞の骨髄内局在と細胞動態が抗がん剤抵抗性と再発のメカニズムの要因をなすことを検証する。

(3) 抗がん剤抵抗性と再発のメカニズムに基づき、白血病幹細胞を標的とした治療開発の基盤創成を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 急性骨髄性白血病 (初発) モデルの構築

①セルラオートマトン法に基づいて、正常造血幹細胞と白血病幹細胞の増殖と分化を数理的にモデル化する。

②まず、「1 個の正常造血幹細胞からの増殖と分化により恒常的維持機構が成立した正常骨髄系造血モデル」を構築する。

③次に、上記の正常骨髄系造血モデルの細胞動態を基本として、「1 個の白血病幹細胞から白血病前駆細胞を経て、白血病細胞を供給する白血病幹細胞システム (白血病造血モデル)」を構築する。

④さらに、正常骨髄系造血モデルに上記の白血病造血モデルを導入し、「正常骨髄系造

血内で生じた 1 個の白血病幹細胞から急性骨髄性白血病が成立する」モデルを構築する。

(2) 急性骨髄性白血病治療モデルの構築

急性骨髄性白血病 (初発) モデルに治療を導入する。治療は日本小児白血病リンパ腫研究グループの臨床試験で用いられた急性骨髄性白血病治療プロトコール (AML-05) を基にモデル化した治療を設定する。設定された治療期間中で、分裂期にある細胞の消去率を変化させる事で治療強度を変化させることができる。白血病幹細胞システムの細胞動態、治療期間、治療回数、および治療強度をパラメータとして以下のモデルを構築する。

- ①寛解維持型 (完全治癒型) モデル
- ②早期再発型モデル
- ③晚期再発型モデル

4. 研究成果

(1) 急性骨髄性白血病 (初発) モデルの構築

①正常造血幹細胞と白血病幹細胞の細胞動態の数理的モデル化

実験データに基づく正常骨髄系細胞の分化段階を数理モデル化した (図 1A)。これを基本として、白血病幹細胞システムの細胞動態 (白血病造血) を数理的モデル化した (図 1B)。白血病造血の実験的データはないため、すべてを変数パラメータとして扱う。

A. 正常骨髄系細胞造血

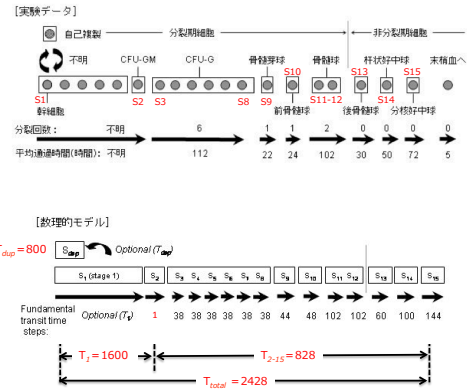


図 1A

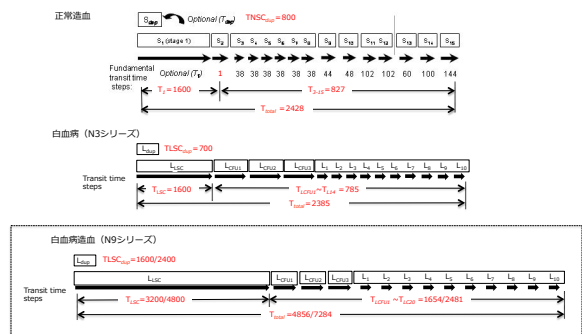


図 1B

②急性骨髄性白血病モデルの構築

白血病造血のパラメータを変化させて、「1個の白血病幹細胞から細胞が増殖し、定常状態を形成する白血病造血モデル」を構築した。図1B中段には白血病造血のパラメータを正常骨髄系細胞造血に近似させた数理モデルを、下段には正常骨髄系細胞造血の分化段階の時間を2倍(Nx2)と3倍(Nx3)に延長させた数理モデルを示す。

Nx3で構築した白血病造血を正常骨髄系造血モデルに導入すると「白血病細胞が増殖し、正常骨髄系細胞が減少する」急性骨髄性白血病モデル(初発)が構築可能であった(図2)。

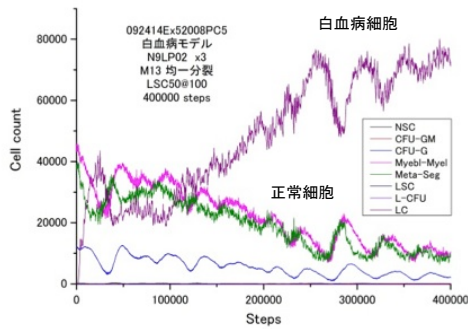


図2

(2) 急性骨髄性白血病治療モデルの構築

上記の急性骨髄性白血病(初発)モデルに治療を導入した。治療は日本小児白血病リンパ腫研究グループの臨床試験で用いられた急性骨髄性白血病治療プロトコル(AML-05)を基に治療をモデル化した(図3)。

治療モデルは「3週間毎に1サイクル12日間の治療を5サイクル実施」する高治療強度のプロトコルを導入した。その結果、10年間再発を認めない「寛解維持型(治癒型)」治療モデル(原型)が構築できた(図4)。

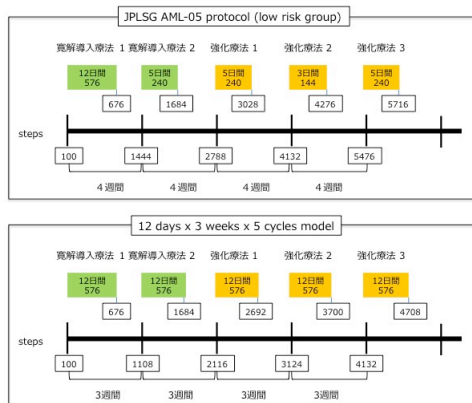


図3

白血病治療モデル(10年無再発)
093014Ex12012PC1
AML-05治療(12days3wks5cycles)
白血病造血N9LP02
白血病モデル70%LC
消去率N/L=1/30

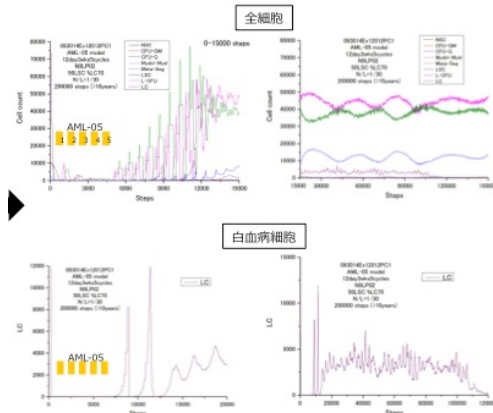


図4

上記寛解維持型モデルの白血病幹細胞動態からは、治療期間中および治療終了後の寛解状態期間にも白血病幹細胞、白血病前駆細胞、および白血病細胞は微少残存病変として一定期間存在した。この現象は臨床データに極めて一致していた。さらに、正常骨髄系造血が維持される過程で白血病幹細胞が消失していく現象が観察された。この分岐点における正常骨髄系細胞と白血病幹細胞の細胞動態と相互作用を解析することで、再発と寛解を分ける機序を解明できる可能性がある。

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5件)

1. Nakamura T, Tamanuki K, Ko G, Oguri M, Akita C, Kitaoka C, Nakamura T, and Saikawa Y. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension related to hemangiolympangioma. Case Reports in Clinical Medicine, 3:36-37, 2014. (査読有り)
2. Oguri M, Nakamura T, Tamanuki K, Akita C, Kitaoka C, Saikawa Y, and Takahashi M. Subclinical arterial stiffness in young children after Kawasaki disease. Cardiology in the Young, 24:87-94,

2014. (査読有り)
3. Wada T, Itoh M, Maeba H, Toma T, Niida Y, Saikawa Y, and Yachie A. Intermittent X-linked thrombocytopenia with a novel WAS gene mutation. *Pediatr Blood Cancer*, 64:746-748, 2014. (査読有り)
 4. Tanaka C, Hasegawa M, Fujimoto M, Iwatsuki K, Yakamoto T, Yakada K, Kawa K, Saikawa Y, Toga A, Mase S, Wada T, Takehara K, and Yachie A. Phenotypic analysis in a case of hydroa vacciniforme-like eruptions associated with chronic active Epstein-Barr virus disease of $\gamma \delta$ T cells. *Br J Dermatol*. 166:216-218, 2012. (査読有り)
 5. Shimizu M, Yokoyama T, Sakashita N, Sato A, Ueno K, Akita C, Ohta K, Kitano E, Hatanaka M, Kitamura H, Saikawa Y, and Yachie A. Thomsen-Friedenreich antigen exposure as a cause of Streptococcus pyogenes-associated hemolytic-uremic syndrome. *Clin Nephrol*. 78:328-31, 2012. (査読有り)

[学会発表] (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

http://www.ped-kanazawa-med.jp/study_introduction/blood_tumor1.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

犀川 太 (SAIKAWA Yutaka)
金沢医科大学・医学部・教授
研究者番号：60283107

(2) 研究分担者

小松崎 俊彦 (KOMATSUZAKI Toshihiko)
金沢大学・機械工学系・准教授
研究者番号：80293372