

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「がん幹細胞を標的とした根治療法の開発」

(予後不良急性骨髄性白血病の幹細胞を標的とした低分子化合物の開発)

2. 研究開発代表者：国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター

ヒト疾患モデル研究グループ グループディレクター/主任研究員 石川 文彦

3. 研究開発の成果

急性骨髄性白血病は、細胞に起きた遺伝子異常が多岐にわたるため、その根治に向けた創薬は容易でなかった。このような背景のもとに、本研究においては、急性骨髄性白血病に見られる変異の一つである FLT3-ITD 変異に着目し、ほかの体細胞変異が共存するか、その場合にヒト化マウスモデルを作製して、HCK/FLT3 2つの分子を阻害した場合の薬効について検討することを目的とした。

まず、遺伝子解析と移植実験の両面から病態理解を深めるため、白血病細胞の表面に存在する抗原分子の発現を解析し、FLT3 遺伝子の変異解析を実施した。FLT3 遺伝子解析の結果、juxta-membrane region に ITD 変異が認められた 14 症例については、モノクローナル抗体を用いて、複数の細胞分画から核酸を抽出し、FLT3-ITD 変異の長さに変異挿入部位を確認した。FLT3 以外の遺伝子変異を調べたところ、IDH1、IDH2、WT1、NPM1、DNMT3A など複数の異なる遺伝子異常が FLT3-ITD 変異と共存することが分かった。ヒト化マウスにおける治療応答性の検討を実施するため、患者検体で同定した遺伝子変異が確かにヒト化マウスに生着し、白血病を発症した細胞にも維持されているかについて検証した。1次レシピエントのみならず、2次レシピエントにおいても、患者検体で同定した体細胞変異は、マウス環境においても維持されると判明した。さらに、遺伝子異常の多様性が存在する中で、HCK、FLT3 の両分子を阻害することで、白血病細胞自体をどの程度死滅させられるかについて、治療面での定量的評価を末梢血・骨髄・脾臓の組織において実施した。ソーティングにて純化した細胞を、新生仔免疫不全マウスに経静脈的に移植後、4週～6週おきに採血を実施し、ヒト白血病細胞のキメリズムを定量的に測定した。その結果、マウス血液中の hCD45+CD33+細胞の存在から、60匹以上の白血病ヒト化マウスの作製に成功したことを確認した。治療応答性の検討のため、50%以上の血中の白血球がヒト CD45+CD33+の白血病細胞に置き換わったことを待って、骨髄・脾臓に於ける白血病細胞の生着率・浸潤を評価した。フローサイトメトリーにて、マウス白血球、赤血球の残存がどの程度であるかについて、anti-mCD45、anti-mTer119抗体を用いて定量的に解析した。フローサイトメトリーにてヒト白血病細胞に対する RK-20449 の薬効と、それに伴う正常な白血球の回復について検討を加えた。投薬したすべてのレシピエントマウスにおいて、白血病細胞の減少が末梢血中で確認できたことから、RK-20449 の薬効が FLT3-ITD 変異陽性の急性骨髄性白血病にあると結論づけられた。例えば、体細胞変異 X、Y などが存在する症例において、RK-20449 を 30mg/kg にて投薬したところ、末梢血中のみならず、骨髄・脾臓でも白血病細胞が完全に消失した。一方、特定の転座 Z を有する症例では、骨髄に、RK-20449 のみでは残存する白血病細胞が確認された。すなわち、ゲノム複雑性がある場合も、HCK、FLT3 分子に対する阻害剤である RK-20449 について、急性骨髄性白血病の治療薬として成立しうる可能性を見出した。一方、特定の染色体異常を有する症例では、それらによる細胞の機能異常を標的とした治療薬の開発が必要であると判断した。