

神経メディエーター受容体シグナル刺激による微小環境制御を介した新規白血病治療法の開発

浅田 騰

岡山大学学術研究院医歯薬学域 血液・腫瘍・呼吸器内科学

【研究の背景】

白血病は難治性血液悪性腫瘍の代表的疾患であり、近年さまざまな新規治療法の開発が進められているものの、治療成績はまだまだ十分とは言えない。白血病の病態形成には、血液細胞自体に生じる遺伝学的異常に加え、非血液細胞から構成される微小環境、いわゆる「白血病ニッチ」による腫瘍化の促進や白血病細胞の維持機構が重要な役割を果たすことが明らかとなっている。一方、自律神経系は造血制御に深く関与しており、交感神経や感覚神経からのシグナルが正常造血幹細胞ニッチの機能を調節することが示されている¹⁻³⁾。白血病ニッチにおいても骨髄内の交感神経シグナルの重要性が報告されているが⁴⁾、いまだ治療薬開発には結びついていない。

【目 的】

我々はこれまでに、骨髄内の末梢神経シグナルがニッチ細胞を制御し、アドレナリン受容体 $\alpha 2A$ ($\alpha 2a$ -AR) アゴニストが白血病細胞の増殖を抑制することを見出した。本研究では、 $\alpha 2a$ -AR アゴニストの白血病抑制作用の分子機序を明らかにするとともに、従来の抗がん剤や免疫チェックポイント阻害剤との併用効果を検証し、新たな白血病治療法の開発を目指す。

【方 法】

1. $\alpha 2a$ -AR アゴニストによる白血病抑制効果の検討

MLL-AF9 (GFP) を導入したマウス白血病細胞を用いて白血病モデルマウスを作製した。 $\alpha 2a$ -AR アゴニストである clonidine (CLD, 5mg/kg) を連日腹腔内投与し、生存期間の評価を行った。また、白血病細胞接種 21 日後に末梢血、骨髄、脾臓を採取し、flowcytometry により白血病細胞、正常造血細胞およびニッチ細胞の解析を行った。

2. $\alpha 2a$ -AR アゴニストによる白血病抑制機序の解析

上記 1 において CLD を投与した白血病マウスから、CD45(-)TER119(-)CD31(-)CD51(+) $CD140a$ (+) 分画のニッチ細胞を FACS にて分取し、real-time PCR を用いて遺伝子発現解析を行った。さらに、CLD がニッチ細胞に与える影響を *in vitro* で検討するため、マウス骨髄由来ストローマ細胞株 ST-2 を用い、MLL-AF9 細胞との共培養系を構築し、CLD 添加後のニッチ細胞における遺伝子発現変化を real-time PCR で解析した。

【結 果】

$\alpha 2a$ -AR アゴニストである CLD を投与した白血病マウスでは、vehicle 投与対照群と比較して生存期間が有意に延長した。また、末梢血中の循環白血病細胞数の減少に加え、貧血および血小板減少の改善を認めた。さらに、CLD 投与マウスでは骨髄中の白血病幹細胞分画の減少と正常造血前駆細胞数の回復が認められ、CLD による白血病抑制効果が確認された。*In vitro* 解析においては、CLD による白血病細胞への直接的な増殖抑制作用は認められず、本作用が白血病微小環境を介した間接的効果であることが示唆された。骨髄内ニッチ細胞の遺伝子解析では、CLD 投与マウスから単離したニッチ細胞

において、*Notch1*、*Notch2*、*Jag1*、*Hes1* など Notch シグナル経路関連遺伝子の発現低下を認めた。同様の変化は、MLL-AF9 細胞と ST-2 細胞の共培養系において CLD を添加した条件下でも確認された。

【考 察】

本研究では、アドレナリン受容体 $\alpha 2A$ アゴニストである clonidine が、白血病モデルマウスにおいて生存期間を有意に延長し、白血病細胞数の減少および正常造血の回復をもたらすことを明らかにした。これらの効果は in vitro における白血病細胞への直接的な増殖抑制作用を伴わず、白血病微小環境、すなわち白血病ニッチを介した間接的作用であることが示唆された点が本研究の重要な知見である。骨髄ニッチ細胞の解析により、CLD 投与によって *Notch1*、*Notch2*、*Jag1*、*Hes1* などの Notch シグナル経路関連遺伝子の発現が低下することが明らかとなった。Notch シグナルは、白血病幹細胞の自己複製能や生存維持に関与することが報告されており、特にニッチ細胞由来の Notch リガンドを介したシグナル活性化が白血病の進展に寄与することが知られている⁵⁾。本研究の結果は、 $\alpha 2a$ -AR アゴニストがニッチ細胞に作用し、Notch シグナルを抑制することで、白血病幹細胞の維持機構を破綻させる可能性を示すものである。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で示したアドレナリン受容体 $\alpha 2A$ ($\alpha 2a$ -AR) アゴニストによる白血病抑制効果は、白血病細胞への直接毒性に依存しない点が特徴であり、既存の化学療法や分子標的薬と併用した場合に、毒性を増強することなく治療効果を高める可能性がある。特に、高齢者や合併症を有する患者など、強力な化学療法の適応が限られる症例において、新たな治療選択肢を提供し得る点は臨床的意義が大きい。

さらに、clonidine は高血圧や鎮静目的で既に臨床使用されている薬剤であり、その安全性プロファイルが比較的確立されている。本研究成果は、薬剤再目的化 (drug repositioning) の観点からも重要であり、基礎研究成果を迅速に臨床応用へ橋渡しできる可能性を有する。新規化合物の開発と比較して、開発期間やコストの低減が期待できる点も、社会的・医療経済的意義が高い。

【参考・引用文献】

- 1) Asada, N., Katayama, Y., Sato, M., Minagawa, K., Wakahashi, K., Kawano, H., Kawano, Y., Sada, A., Ikeda, K., Matsui, T., and Tanimoto, M. (2013). Matrix-embedded osteocytes regulate mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells. *Cell Stem Cell* 12, 737-747.
- 2) Katayama, Y., Battista, M., Kao, W.M., Hidalgo, A., Peired, A.J., Thomas, S.A., and Frenette, P.S. (2006). Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell* 124, 407-421.
- 3) Gao, X., Zhang, D., Xu, C., Li, H., Caron, K.M., and Frenette, P.S. (2021). Nociceptive nerves regulate haematopoietic stem cell mobilization. *Nature* 589, 591-596.
- 4) Hanoun, M., Zhang, D., Mizoguchi, T., Pinho, S., Pierce, H., Kunisaki, Y., Lacombe, J., Armstrong, S.A., Dührsen, U., and Frenette, P.S. (2014). Acute myelogenous leukemia-induced sympathetic neuropathy promotes malignancy in an altered hematopoietic stem cell niche. *Cell Stem Cell* 15, 365-375.
- 5) Ahmed HMM, Nimmagadda SC, Al-Matary YS, et al. Dexamethasone-mediated inhibition of Notch signalling blocks the interaction of leukaemia and mesenchymal stromal cells. *Br J Haematol.* 2022;196(4):995-1006.