

同種造血幹細胞移植後に残存するヒト白血病幹細胞が依存する分子メカニズムの同定と治療モデルの確立

菊繁吉謙

九州大学病院 遺伝子細胞療法部

【研究の背景】

急性骨髄性白血病(AML)に対する根治的細胞療法としての同種造血幹細胞移植後再発は、臨床的に克服すべき重要な課題である。申請者は、同種移植後に残存する TIM-3+白血病幹細胞の存在が臨床的に再発を予測する上で重要なことを見出し、残存 TIM-3+白血病幹細胞が残存時に特異的に発現する分子群の解析を通して、治療後残存ヒト白血病幹細胞の根絶を目指した研究に取り組む。

【目 的】

同種移植後に残存するヒト白血病幹細胞が、その生存を依存する分子メカニズムを明らかにし、白血病幹細胞根絶のための治療モデルを確立することを目的とする。

【方 法】

我々は single cell RNA-seq により移植後残存 TIM-3+LSCs の遺伝子発現解析を行い、複数症例で共通して残存時特異的に発現上昇する遺伝子を抽出している。研究計画書に記載のある通り、残存時ヒト白血病幹細胞に特異的に高発現する遺伝子として、スフィンゴシン1リン酸受容体(S1PR1)、corticotropin releasing hormone binding protein(CRHBP)を先行研究において同定した。本研究では、この二つの治療抵抗性残存白血病幹細胞における分子機能解明に取り組んだ。さらにこれらの基礎的検討に加えて、治療後臨床サンプルを用いたマルチパラメーターフローサイトメトリー(MFC)による残存ヒト白血病幹細胞の定量系の構築にも取り組んだ。

【結 果】

1) S1PR1 および CRHBP の残存白血病における機能解析

まず、臨床検体を用いた S1PR1 の細胞表面発現解析を行い、どのような遺伝子変異を有する AML で発現が亢進するのかの解析を行っている。また、S1PR1 のリガンドである S1P を AML 細胞自身が合成し、autocrine 様式で作用している可能性を見出し、この S1P 合成系の律速段階酵素の阻害により、抗 AML 作用が生じることを *in vitro* で確認し、現在は PDX モデルを用いた *in vivo* での治療モデルの構築に取り組んでいる。また、CRHBP については、強制発現 AML 細胞株を複数株樹立し、細胞内で特定のタンパクと結合することで機能を発揮する可能性を見出した。質量分析装置を用いた実験により、AML 細胞内で CRHBP と結合して機能の変化をきたすタンパク X の同定に成功した。さらに CRHBP のある部位に対して変異を誘導することで、X との結合能力が完全に欠損することを見出した。X の下流で p21 の安定化が生じることで、細胞周期を負に制御し、細胞周期依存的な化学療法に対して抵抗性を獲得する可能性が考えられた。実際に CRHBP 発現 AML 細胞株では、PDX モデルにおいて細胞周期が負に制御されることを確認し、現在治療抵抗性モデルを構築している。

2) MFC による残存ヒト白血病幹細胞の定量系の構築

先行研究結果(Sakoda et al., Cancer Science in press)を発展させ、10-color MFC パネルを設計した。このパネルは single

tube で、European LeukemiaNet (ELN) が推奨する3つの微小残存病変 (MRD) 評価項目 (LAIP, DfN, LSC) を同時に測定可能な設計である。このパネルを用いて、すでに保存している検体を用いて臨床的予後の層別化が可能なことまで確認している。現在、前向きコホート研究により、この測定系の最適化 (測定タイミング、判定閾値、解析プロトコール) に取り組んでいる。

【考 察】

本研究の遂行により、治療抵抗性残像ヒト白血病幹細胞が依存する分子メカニズムの解明に大きく貢献できるものと考えられる。従来の白血病幹細胞研究が主として、初診時や再発時の検体を用いた研究であるが、本研究は治療抵抗性残存白血病幹細胞を可視化することで初めて遂行可能となった点がユニークである。現在までのデータを統合して、引き続き研究を継続し、次年度は治療モデルの構築に取り組む。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は、基礎的研究の側面としての特定の治療抵抗性関連分子の同定、機能解析に加えて、臨床応用を重視した MRD 測定系の 2 つを両輪とした研究計画である。したがって、本研究から得られた成果は、前臨床段階と直接的な臨床応用への両方のアウトカムが期待される。

【参考・引用文献】

- 1) Kawano, G., Ikeda, R., Ishihara, D., Shima, T., Sakoda, T., Yamamoto, S., Kochi, Y., Semba, Y., Ashitani, S., Mori, Y., Kato, K., Maeda, T., Miyamoto, T., Soga, T., Akashi, K. & Kikushige, Y. (2025) Guanine nucleotides drive ribosome biogenesis and glycolytic reprogramming in acute myeloid leukemia stem cells. *Blood*. in press.
- 2) Minami, M., Sakoda, T., Kawano, G., Kochi, Y., Sasaki, K., Sugio, T., Jinnouchi, F., Miyawaki, K., Kunisaki, Y., Kato, K., Miyamoto, T., Akashi, K. & Kikushige, Y. (2025) Distinct leukemogenic mechanism of acute promyelocytic leukemia based on genomic structure of PML::RARalpha. *Leukemia*, **39**, 844–853.
- 3) Sakoda, T., Kikushige, Y., Irifune, H., Kawano, G., Harada, T., Semba, Y., Hayashi, M., Shima, T., Mori, Y., Eto, T., Kamimura, T., Iwasaki, H., Ogawa, R., Yoshimoto, G., Kato, K., Maeda, T., Miyamoto, T. & Akashi, K. (2025) TIM-3 marks measurable residual leukemic stem cells responsible for relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Cancer Sci*, **116**, 698–709.