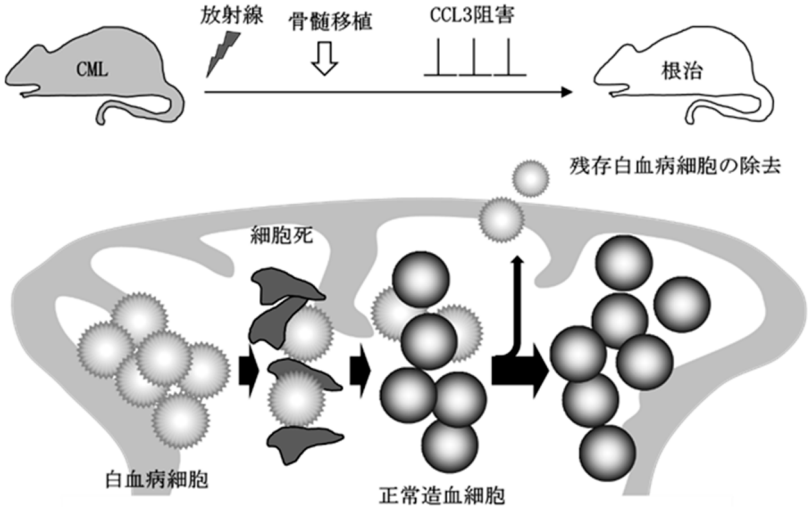
218　骨髄移植療法を基盤とした新たな白血病治療戦略の確立	馬場　智久

【目的】慢性骨髄性白血病（CML）は、原因遺伝子 BCR-ABL を発現することで、悪性転換した白血病幹細胞（LIC）を病態の起源としている。CML マウス実験モデルを用いた解析から、骨髄内において、LIC から分化、増殖した好塩基球様の白血病細胞から恒常的に産生される炎症性ケモカイン CCL3 が、LIC の維持・増殖、さらには CML の発症に重要であることを明らかにしてきた。本研究では、CCL3 を新たな分子標的とした治療法の確立を目的として、既存の CML 治療法である骨髄移植療法との併用効果の検討に着手した（図）。

【方法】骨髄移植の最適条件を決定するための予備的実験として、CML マウスに対して異なる強度で放射線照射した後、野生型マウス由来の骨髄細胞を移植し、治療後に残存した白血病細胞の経時的な変動を観察した。

【結果】最適条件で治療を行った際に、いったんはドナー由来の正常血球が再構築され、長期にわたり CML の再発が予防されたにもかかわらず、その後ほとんどのマウスが重度の貧血により死亡した。詳細な病理学的解析から、ドナー由来の細胞から骨髄異形成症候群（MDS）に類似した病態が発症していることを明らかにした。臨床的に骨髄移植後にドナー由来の細胞が、MDS を含む様々な白血病を新たに発症するドナー細胞由来白血病（DCL）が問題となっており、原因の解明が求められている。発症過程の類似性から、本病態の DCL 実験モデルとしての妥当性の確立、病態生理の解明が期待される。

CML に対する骨髄移植と CCL3 阻害の併用療法



218. 骨髄移植療法を基盤とした新たな白血病治療戦略の確立

馬場　智久

金沢大学 がん進展制御研究所 分子生体応答研究分野

Key words：慢性骨髄性白血病，白血病幹細胞，ドナー細胞由来白血病，骨髄移植，骨髄異形成症候群

緒　言

骨髄を主要病巣とする白血病は、様々な遺伝子異常が原因となって発症することが知られている。その共通の特徴として、骨髄造血の中心として多分化能をもつ正常造血幹細胞（HSC）や前駆細胞などが悪性転換した、白血病幹細胞（LIC）を起源として全身的な白血病病態が進展・増悪していくことが挙げられる。特に慢性骨髄性白血病（CML）では、9 番、22 番染色体間での染色体転座の結果生じた BCR-ABL 遺伝子産物が、HSC を LIC へと悪性転換させることが明らかになっている。

白血病の起源となっている LIC は、正常 HSC と同様に自己複製能をもち、増殖活性は低レベルに維持されているため、異常増殖細胞を標的とした各種白血病治療薬に対して比較的抵抗性を示し、治療後の白血病再発の原因となることが問題となっている。これらの問題点を解決するため、骨髄移植療法による白血病の根治を目的とした治療が臨床的に行われているが、やはりごく少数ではあるが骨髄内に LIC が残存し、再発の原因となることが指摘されており、新しい治療戦略の開発が必要である。

CML マウス実験モデルを用いた独自の研究から、CML 骨髄内で分化・増殖した好塩基球様の白血病細胞から恒常的に産生される炎症性ケモカイン CCL3 が、選択的に正常 HSC の増殖を抑制し、その結果として、正常 HSC と競合関係にある LIC が優位的に増殖し、CML 病態が増悪・進展していることを明らかにした。さらに CCL3、もしくはその主な産生細胞である好塩基球様の白血病細胞を除去することで、CML の発症を著しく抑制することに成功した。しかしながら、すでに発症している CML に対しては、治療効果は認められなかった［1］。

これらの知見を踏まえ、本研究では、白血病の根治を目的とした骨髄移植療法による正常骨髄造血の再構築と、CCL3 の機能阻害による残存白血病細胞の再増殖の予防を想定した併用療法の可能性を検討することを目的として、研究を行った。骨髄移植治療の最適条件を決定するために野生型マウス由来の骨髄細胞を移植した結果、CML マウス由来の白血病細胞の再発は抑制されたものの、ドナー骨髄細胞から骨髄異形成症候群（MDS）が発症してしまうことを見出した。臨床的に骨髄移植後にドナー由来の細胞が、MDS を含む様々な白血病を新たに発症するドナー細胞由来白血病（DCL）が問題となっていることから、本病態のさらなる解析により、未だ不明な DCL の原因の特定につながる可能性が期待される。

方　法

1. 骨髄移植治療の最適条件検討

CML の原因遺伝子である BCR-ABL とレポーター遺伝子 GFP をマウス正常 HSC に遺伝子導入し、LIC を作製した。LIC を骨髄移植することで CML マウス実験モデルを作製し、CML を発症したマウスに対して異なる強度で放射線照射した後に、正常マウス骨髄細胞を移植し、治療効果を検討した。

1） 移植後、2 週間毎に骨髄細胞を採取し、残存している lineage marker-c-kit＋BCR-ABL（GFP）陽性白血病前駆細胞の割合の変動を検討した。

2） 2 週間毎に末梢血を採取し、一般血液検査により、白血病の再発、および病態の変動を検討した。

2.　死亡マウスの病理学的解析

骨髄移植治療後の長期観察過程で臨床状態が悪化したマウスから、末梢血、骨髄、脾臓を採取し、病理学的解析を行った。

1)　BCR-ABL 陽性細胞の割合を観察し、CML の再発の有無を検討した。

2)　一般血液検査、血液塗抹を作製し、血液病理学的解析を行った。

3)　採取した骨髄細胞を正常マウスに移植し、病態の再現性を検討した。

結　果

1.　CML に対する骨髄移植治療による正常骨髄造血の再構築

CML 発症マウスに対して 3 Gy、4 Gy、および 5 Gy で X 線照射した後に、野生型マウスから採取した正常骨髄細胞を移植し、治療効果を検討した。その結果、3 Gy、4 Gy では、移植後早期に BCR-ABL 陽性の白血病細胞が再増殖し、CML の再発によりすべてのマウスが死亡した（図 1）。一方で、5 Gy の X 線照射後に骨髄移植を行った結果、骨髄内の lineage marker-c-kit＋BCR-ABL 陽性白血病前駆細胞が顕著に減少するとともに、正常骨髄造血が効果的に再構築された。また、その後も長期的に CML の再発は観察されなかった。しかしながら、治療後 70 日以降に、マウスの生存率が徐々に低下した（図 1）。ただし、死亡したマウスにおいても、BCR-ABL 陽性細胞の再増殖は、骨髄、脾臓、末梢血すべてにおいて観察されなかった。

2.　正常ドナー骨髄細胞由来の MDC の発症と重度の貧血

5 Gy 放射線前処置した骨髄移植治療後のマウスで観察された臨床症状の悪化の原因を解明するために、骨髄移植治療後、経時的に一般血液検査を行った。その結果、移植治療 8 週間後までは正常であったが、その後、死亡したマウスでは赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数が著減しており、重度の貧血を呈していることがわかった。また、血液塗抹を観察したところ、赤血球数の明らかな減少に加えて、MDS の特徴所見である偽ペルゲル核異常をもつ白血球が散見された（図 2）。

3.　MDS 様病態発症マウス由来の骨髄細胞からの急性白血病の発症

急性白血病の前がん病変であると考えられている MDS は、高頻度で急性白血病へと悪性転化することが報告されている。MDS からの悪性転化を検討するため、MDS 様の貧血を呈したマウスから、骨髄細胞を採取し、正常レシピエントマウスに 2 次移植した結果、約半数のマウスで急性白血病の発症を認めた。血液塗抹を観察した結果、明らかな形態異常を示す赤血球とともに、有核赤芽球が異常に増加していたことから、赤芽球性の白血病と考えられる。

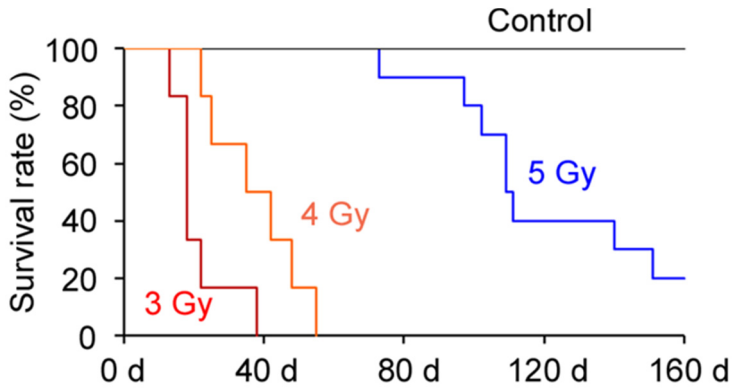


図 1.　CML マウスに対する骨髄移植治療後の生存率の変動

BCR-ABL 陽性 LIC を骨髄移植後、10 日目において 3 Gy（n = 6）、4 Gy（n = 6）、5 Gy（n = 10）で X 線照射し、正常マウス骨髄細胞を移植し、生存率の変動を観察した。同様の方法で、正常マウス骨髄細胞を移植後 10 日目において 5Gy で X 線照射した後、正常マウス骨髄細胞を移植したマウスを Control として観察した（n = 3）。

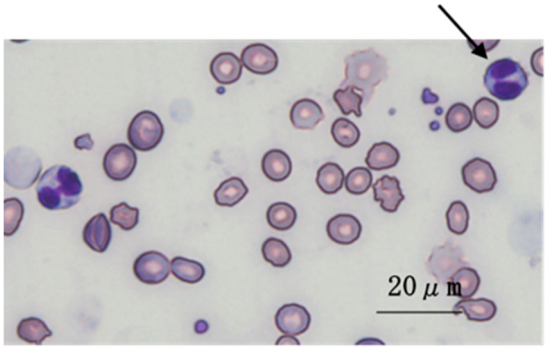


図 2. 骨髄移植治療後に重度貧血で死亡したマウスの血液塗抹標本（ライトギムザ染色）
赤血球の形態異常に加え、矢印で示した偽ペルゲル核異常を呈する白血球が観察された

考　察

本研究で観察された重度の貧血の原因としては、ドナー由来の正常骨髄細胞から MDS 様の造血異常が誘導された結果、赤血球や血小板の分化、成熟が傷害されたためと考えられる。したがって、本研究で観察された病態は、骨髄移植後に正常ドナー細胞から 2 次的に MDS を含む白血病を発症する、いわゆるドナー細胞由来白血病（DCL）であることが強く示唆された。DCL は発症頻度としては稀ではあるが、実験モデルも無く、いまだ原因不明であり、臨床的にも大きな問題となっている［2］。したがって、DCL との類似性についてさらに詳細に解析し、DCL 実験モデルとしての妥当性の確立と病態生理の解明を目的として研究を進めていく予定である。

文　献

1） Baba, T., Tanabe, Y., Yoshikawa, S., Yamanishi, Y., Morishita, S., Komatsu, N., Karasuyama, H., Hirao, A. & Mukaida, N. MIP-1alpha/CCL3-expressing basophil-lineage cells drive the leukemic hematopoiesis of chronic myeloid leukemia in mice, Blood. 2016 127(21):2607-17. Epub 2016 Mar 22. DOI: 10.1182/blood-2015-10-673087.

2） Wang, E., Hutchinson, C. B., Huang, Q., Lu, C. M., Crow, J., Wang, F. F., Sebastian, S., Rehder, C., Lagoo, A., Horwitz, M., Rizzieri, D., Yu, J., Goodman, B., Datto, M. & Buckley, P. Donor cell-derived leukemias/myelodysplastic neoplasms in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: a clinicopathologic study of 10 cases and a comprehensive review of the literature, American journal of clinical pathology. 2011 135(4):525-40. DOI: 10.1309/AJCPPJUQ9DNR1GHP.