

第1回杏林医学会研究助成金 部門B 研究報告

急性リンパ性白血病幹細胞の酸化的リン酸化をターゲットとした新規治療の開発

吉野 浩 宮澤 永尚 安藤 理恵

杏林大学医学部小児科学教室

【緒言】

小児の急性リンパ性白血病（ALL）は治療成績が向上したものの小児の死亡原因の多くを占めており、さらなる治療の改善が必要である。白血病の治療には白血病幹細胞の根絶が必要であり、白血病幹細胞をターゲットとした治療の開発が重要である。近年、急性骨髄性白血病では白血病幹細胞がエネルギー産生を酸化的リン酸化に依存していること¹⁾、慢性骨髄性白血病細胞株では低栄養環境で培養すると白血病幹細胞の特性を再現できること²⁾が示された。本研究では、ALL細胞株について、低栄養培養による白血病幹細胞としての特性の再現性、そして酸化的リン酸化阻害による抗白血病効果について検討した。

【方法】

ヒトB前駆細胞性ALL由来のRS4;11、ヒトT細胞性ALL由来のCCRF-CEMの2種類の細胞株を用いた。低栄養培養（酸素1%, グルコース無添加）において、ALL治療で用いられる薬剤である6-Mercaptopurine (6-MP), Methotrexate (MTX), Dexamethasone (Dex), Vincristine (VCR) について薬剤感受性をtrypan blueによるcell viabilityで評価した。また、低栄養培養下において、酸化的リン酸化阻害作用を持つMetforminの抗白血病効果を検証した。さらに、Metforminと他薬剤との併用効果について解析を行った。

【結果】

ALL細胞株RS4;11, CCRF-CEMのいずれにおいても、低栄養環境で培養するとALLの治療において必須な薬剤に対する薬剤感受性が低下していた（図1A, B）。酸化的リン酸化阻害作用を持つMetforminについては、通常培養環境下においても低栄養環境下でも抗白血病効果を認めた（図1C）。さらに、その抗白血病効果は他のすべての薬剤との併用効果があることがわかった（図2）。

【考察】

白血病の治療のためには、白血病幹細胞の根絶が必要だが、白血病幹細胞ははっきりと同定されておらず、in vitroでの研究を困難にしている。白血病幹細胞は、白血病再構築能、薬剤抵抗性を持ち、細胞周期的に静止状態にあると考えられている³⁾。さらに白血病幹細胞は、骨髄のnicheと呼ばれる特殊な環境において、低酸素、低栄養環境下に適応して生存していることが知られている⁴⁾。近年、イタリアのSbarbaらのグループは、慢性骨髄性白血病の細胞株であるK562をグルコース無添加で培養するとコロニー形成能を保持しつつ、BCR/ABL蛋白の発現が減少し、チロシンキナーゼ阻害剤であるimatinibに対する薬剤感受性が低下し、白血病幹細胞としての特性を再現することを報告した²⁾。さらに、Jordanらのグループは、急性骨髄性白血病細胞において、細胞内の活性酸素種が少ない細胞群に白血病幹細胞が存在し、それらの細胞は、エネルギー産生を酸化的リン酸化に依存する代謝特性を持っていることを明らかにした¹⁾。しかし、急性リンパ性白血病においては、白血病幹細胞について明らかになっていることは乏しく、今後の研究の進展が急務である。

本研究では、急性リンパ性白血病細胞を低栄養培養することにより、薬剤感受性が低下し白血病幹細胞の特性の一部を再現することを示した。Metforminは、2型糖尿病の第一選択薬として頻用される薬剤であり、筋肉、肝臓、脂肪組織への糖の取り込みの増加、肝臓での糖新生の抑制などにより血糖低下作用を持つが、その分子的作用メカニズムはミトコンドリアの呼吸鎖Iの機能を障害し、酸化的リン酸化を阻害することによって考えられている⁵⁾。本研究で、低栄養環境下におけるMetforminの抗白血病効果を確認し、白血病幹細胞を標的とした治療の可能性を示唆した。さらに、ALL治療で使用される他の薬剤との併用効果を示し、現在行われている標準治療において、酸化的リン酸化阻害による白血病幹細胞をターゲットとした治療を

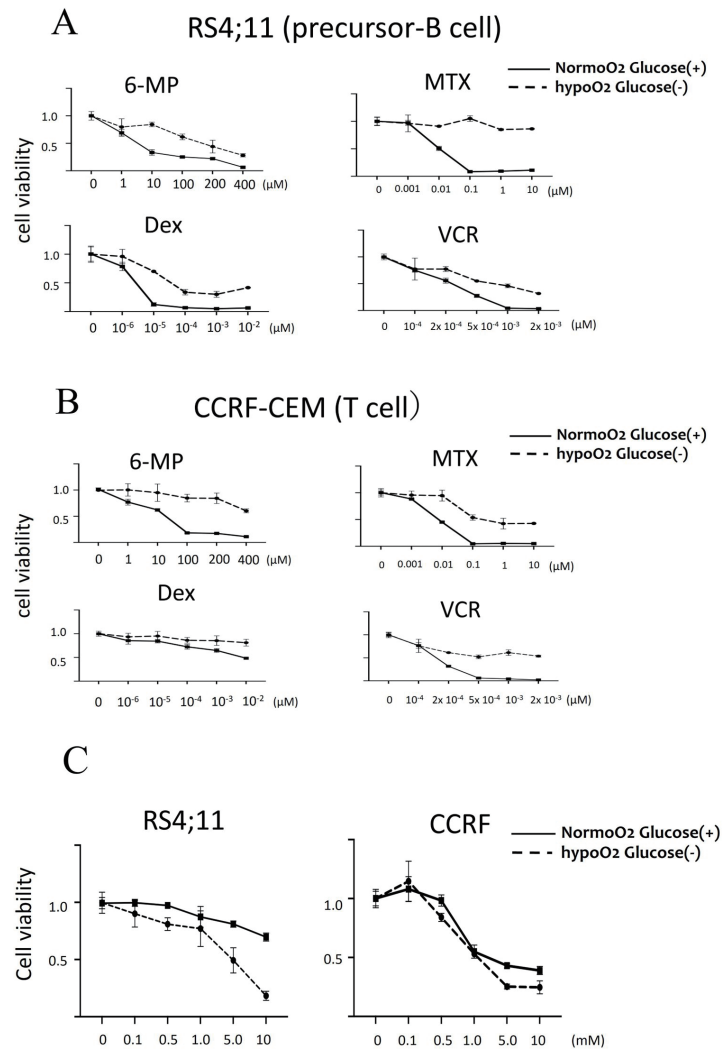


図1 低栄養培養による薬剤感受性
(A) RS4;11, (B) CCRF-CEMの各種薬剤のついで薬剤感受性, (C) Metforminの薬剤感受性+

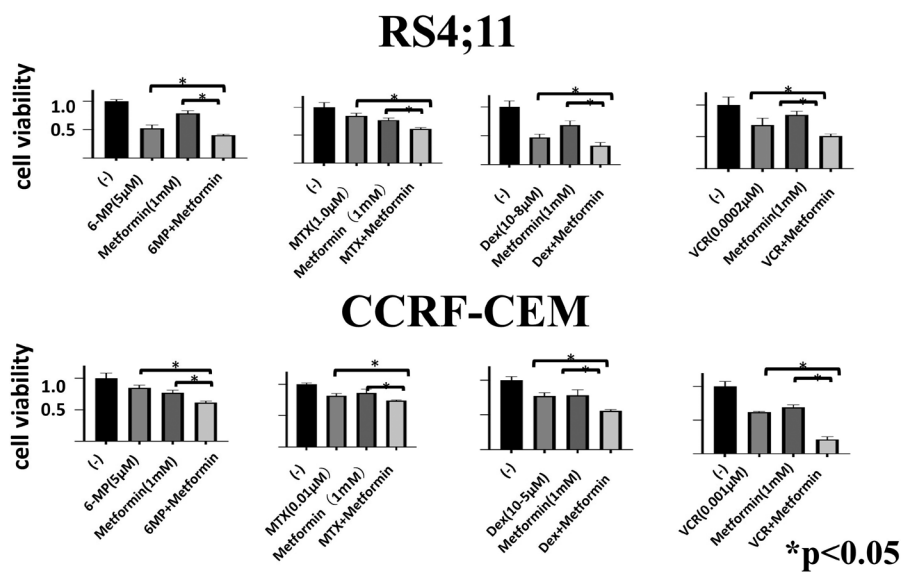


図2 Metforminと他薬剤との併用効果

併用することで、治癒の可能性を高める効果が期待されることが考えられる。

【まとめ】

ALL細胞株において低栄養培養により白血病幹細胞としての特性を一部再現すること確認され、今後のin vitro研究に有用であると考えられた。さらに酸化的リン酸化阻害により抗白血病効果を認め、白血病幹細胞を標的としたALLの新規治療開発の可能性が期待できる。

【文献】

- 1) Lagadinou ED, Sach A, Callahan K, Rossi RM, Neering SJ, Minhajuddin M, Ashton JM, Pei S, Grose V, O'Dwyer KM, Liesveld JL, Brookes PS, Becker MW, Jordan CT. BCL-2 inhibition targets oxidative phosphorylation and selectively eradicates quiescent human leukemia stem cells. *Cell Stem Cell*. 2013; 12: 329-341.
- 2) Bono S, Dello Sbarba P, Lulli M. Imatinib-mesylate enhances the maintenance of chronic myeloid leukemia stem cell potential in the absence of glucose. *Stem Cell Res*. 2018; 28: 33-38.
- 3) O'Reilly E, Zeinabad HA, Szegezdi E. Hematopoietic versus leukemic stem cell quiescence: challenges and therapeutic opportunities. *Blood Rev*. 2021; 50: 100850. doi:10.1016/j.blre.2021.100850.
- 4) Man CH, Li C, Xu X, Zhao M. Metabolic regulation in normal and leukemic stem cells. *Trends Pharmacol Sci*. 2024; 45: 919-930.
- 5) Biondani G, Peyron JF. Metformin, an anti-diabetic drug to target leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9: 446. doi:10.3389/fendo.2018.00446.