

京都大学	博士（医学）	氏名	加藤 格
論文題目	Identification of hepatic niche harboring human acute lymphoblastic leukemic cells via the SDF-1/CXCR4 axis (SDF1-CXCR4 を介したヒト白血病細胞の肝臓における微小環境の同定)		
(論文内容の要旨) 【背景】 癌細胞の増殖・進展・転移・治療抵抗性を検討する際に、癌幹細胞の概念に加えて、微小環境との関わりが注目されている。近年、急性リンパ性白血病（以下 ALL）においても、造血支持組織である骨髄内微小環境が治療反応性、再発に関わる重要な因子であることが知られてきた。一方で、白血病初発時には肝脾腫やリンパ節腫大などの髄外臓器腫大を高頻度で認め、白血病再発には中枢神経などの髄外における白血病細胞残存が大きく寄与していることが知られている。しかしながら、このような臨床的に再発に寄与する髄外微小環境における白血病細胞の増殖や支持システムの詳細は未だ明らかにされていない。 【方法】 小児 ALL 患者の骨髄より採取した白血病細胞を、高度免疫不全マウスである NOD/SCID/ γ cnull マウス（以下 NOG マウス）の尾静脈より前処置なしで投与し、マウス体内で肝脾腫などの髄外浸潤を含めたヒト白血病を再構築させた。このヒト白血病マウスモデル（以下白血病化 NOG マウス）を利用し、白血病細胞の髄外浸潤、髄外微小環境について検討した。 【結果】 白血病化 NOG マウスの腫大した肝臓では胆管周囲に白血病細胞が集属しておりヒト白血病肝臓の病理像を再現していることが確認されたため、肝臓を髄外微小環境のモデルとして解析を行った。骨髄、末梢血、肝臓由来の白血病細胞の細胞周期を比較すると、末梢血由来の白血病細胞が骨髄由来の白血病細胞よりも増殖細胞が少なかったのに対し、肝臓には増殖白血病細胞が骨髄と同等レベルに存在していた。さらには FACS 解析にて肝臓由来の白血病細胞表面で CXCR4 が強く発現することが分かり、免疫染色では CXCR4 のリガンドである SDF-1 が強く発現する胆管上皮細胞の周囲に CXCR4 陽性の白血病細胞が集属し、その場で増殖している病理像が得られた。CXCR4/SDF-1 axis が白血病細胞の migration と proliferation を刺激するという in vitro データと合わせて、肝臓の胆管上皮細胞が白血病髄外微小環境として CXCR4/SDF-1 axis を介して白血病細胞を支持している可能性が示唆された。さらに肝臓に存在する白血病細胞を回収し、NOG マウスに2次移植すると骨髄由来の白血病細胞と同等以上の白血病再構成能力があることが示されたことから、髄外微小環境に存在する白血病細胞が再発に寄与する可能性が示唆され、白血病再発阻害のために、このような髄外微小環境に存在する白血病細胞をターゲットとした治療戦略の必要性を確認した。化学療法薬剤である Cytarabine を用い白血病 NOG マウス治療後再発モデルを作成し、化学療法後には静止期にいる細胞が胆管上皮を中心とした肝臓内微小環境に残存し、再発に寄与していることを明らかにした。さらには化学療法後に CXCR4/SDF-1 axis を阻害する AMD3100 を投与することで、胆管周囲での白血病細胞の再増加を阻害した。この効果は骨髄に比べ CXCR4 が強く発現している白血病細胞の多い肝臓でより高かった。結果として全身性の白血病再発を防ぎ、白血病 NOG マウスの生命予後をも有意に改善した。 【結語】 肝臓に胆管を中心とした白血病細胞微小環境が存在し、そこでは SDF1-CXCR4 Axis を利用したシステマティックな浸潤と増殖が起こっていることを示した。白血病 NOG マウスを利用した本システムにより髄外微小環境をターゲットとした新たな治療戦略が可能であることが明らかになった。			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、小児急性リンパ性白血病患者の骨髄より採取した白血病細胞を、高度免疫不全マウスである NOD/SCID/ γ cnull (NOG) マウスに前処置なしで移植し、マウス体内で髄外浸潤を含めたヒト白血病を再構築するヒト白血病マウスモデルを開発し、白血病細胞の髄外浸潤・髄外微小環境について検討した。ヒト白血病マウス体内で白血病患者の病理像再現が確認された肝臓には、増殖期白血病細胞が骨髄と同等レベルに存在した。CXCR4 陽性細胞が骨髄よりも多く存在し、免疫染色で CXCR4 のリガンドである SDF-1 が強発現する胆管上皮細胞周囲に CXCR4 陽性白血病細胞が集簇・増殖している病理像を確認した。以上の結果より肝臓の胆管上皮細胞が白血病髄外微小環境として CXCR4/SDF-1 axis を介して白血病細胞を支持し再発に寄与している可能性が示唆されたため、髄外微小環境に存在する白血病細胞をターゲットとした白血病再発予防を試みた。ヒト白血病マウス治療後再発モデルを作成し、抗癌剤治療後寛解状態のヒト白血病マウスに CXCR4/SDF-1 axis 阻害薬を投与すると、肝臓での白血病細胞の再増加を阻害した。結果として白血病再発を防ぎ、ヒト白血病マウスの生命予後をも有意に改善した。以上の研究は白血病の髄外臓器浸潤のメカニズム解明に貢献し、臨床的に再発に寄与する髄外臓器浸潤を標的とした治療開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 2 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降