

## **Leukaemia hijacks a neural mechanism to invade the central nervous system**

Hisayuki Yao<sup>1,6,9</sup>, Trevor T. Price<sup>1,9</sup>, Gaia Cantelli<sup>1</sup>, Brandon Ngo<sup>1</sup>, Matthew J. Warner<sup>1,7</sup>, Lindsey Olivere<sup>1</sup>, Sarah M. Ridge<sup>1</sup>, Elizabeth M. Jablonski<sup>2,8</sup>, Joseph Therrien<sup>3</sup>, Stacey Tannheimer<sup>3</sup>, Chad M. McCall<sup>4</sup>, Anjen Chenn<sup>5</sup> & Dorothy A. Sipkins<sup>1\*</sup>

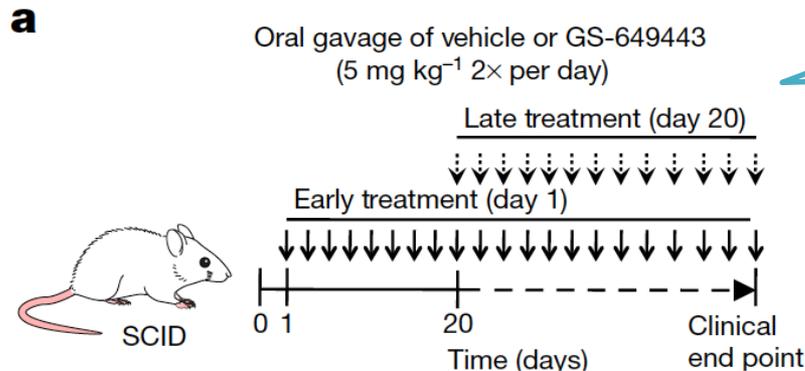
水城和義 / 御指導 真部淳先生

# Abstract

- ALL患者では、予防治療を行わなければ、30-70%でCNS病変が発生する。
- ALL細胞は、
  - ① 骨髄とくも膜を繋なく血管に沿い、CNSに浸潤。
  - ② 血管基底膜にはLamininが豊富、また、そのレセプターである $\alpha 6$  integrinが、ALL細胞に多く発現。
  - ③  $\alpha 6$  integrin中和抗体、PI3K $\delta$ 阻害薬でCNS病変減少。
- ALL細胞は神経前駆細胞の遊走路を利用し、CNSへ浸潤していた。

# PI3K $\delta$ blockade reduces CNS disease burden

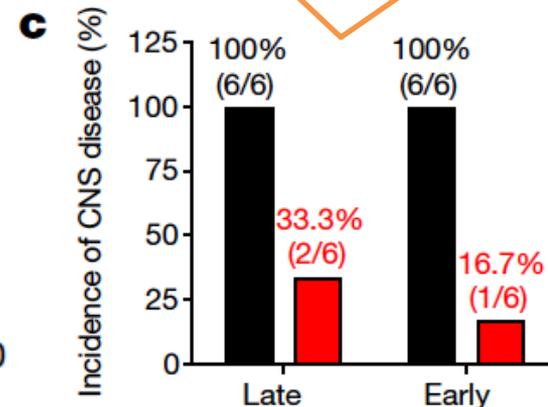
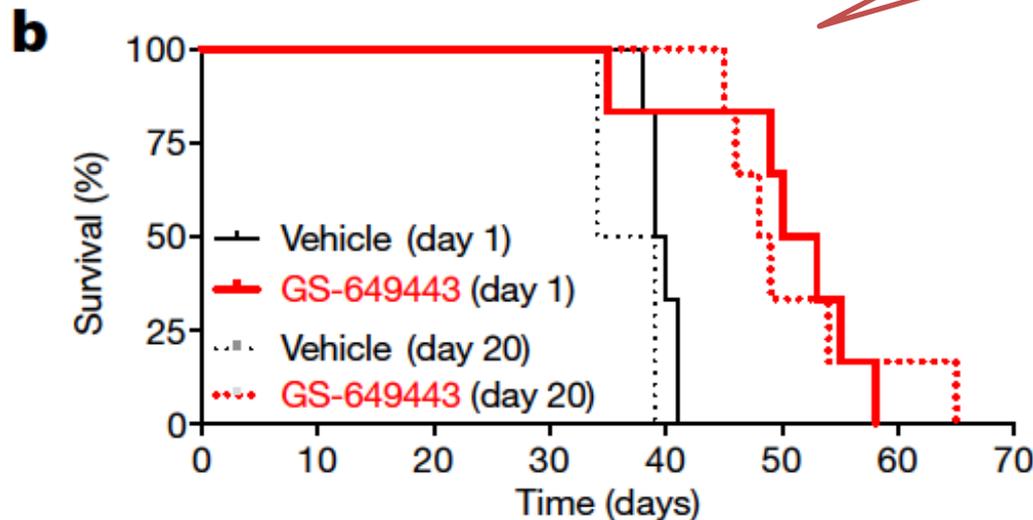
- PI3K $\delta$ は免疫細胞や神経細胞に多く発現しており、阻害薬である Idelalisibは緩徐進行型B細胞性リンパ腫の治療薬。
- PI3K $\delta$ 阻害薬として、マウスに適したGS-649443を投与。



Nalm-6細胞移植マウスにGS-649443を投与。

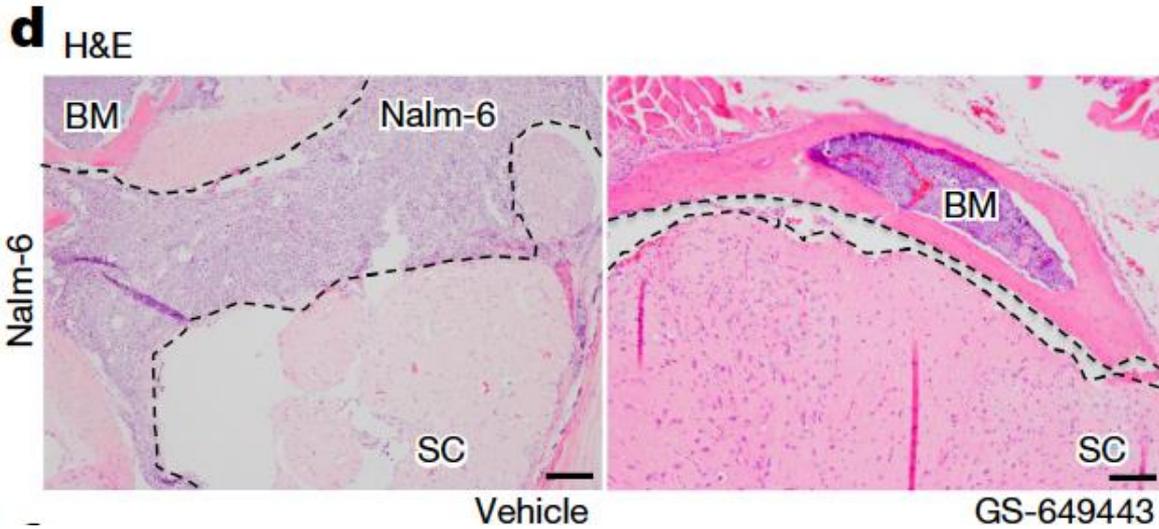
早期・後期ともにプラセボより50%観察期間が延長。

Clinical end pointでのCNS病変は、1/6-1/3に減少。



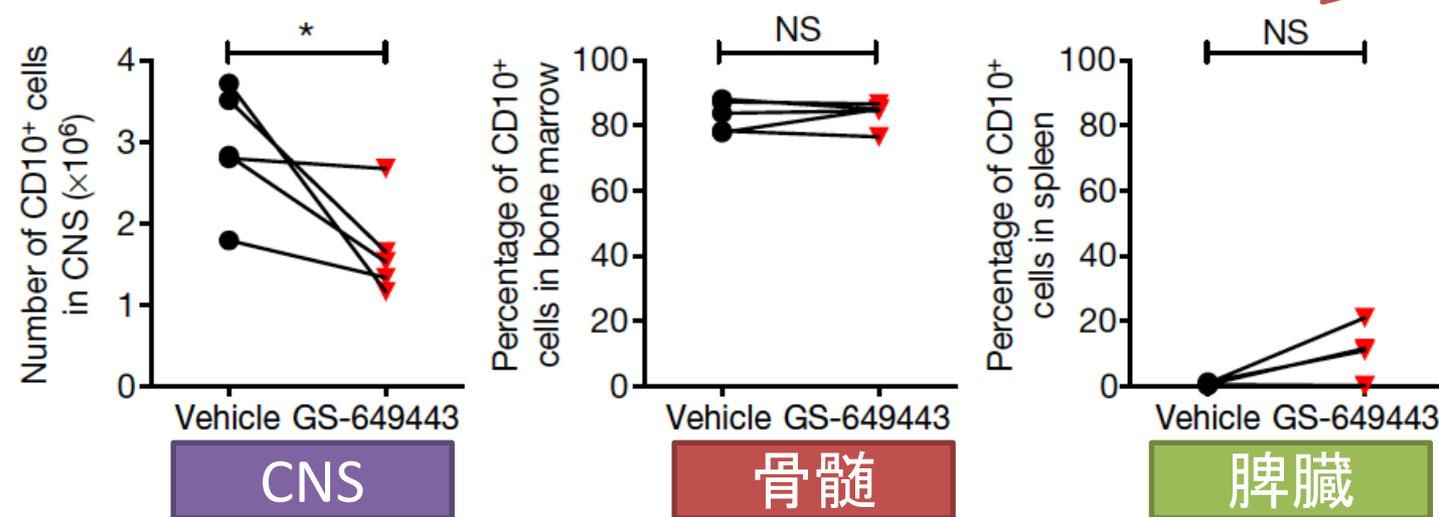
# PI3K $\delta$ blockade reduces CNS disease burden

➤ 全体の病勢を抑えたのか、CNSのみかを検討。



病理組織で、  
クモ膜下腔に充満していた  
Nalm-6細胞の減少を確認。

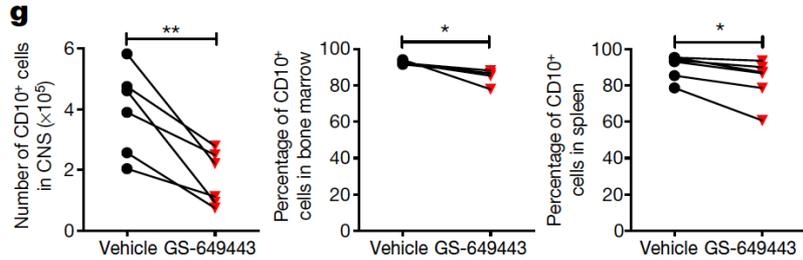
CNSのみで有意に減少。  
骨髄、脾臓で有意差なし。



# PI3K $\delta$ blockade reduces CNS disease burden

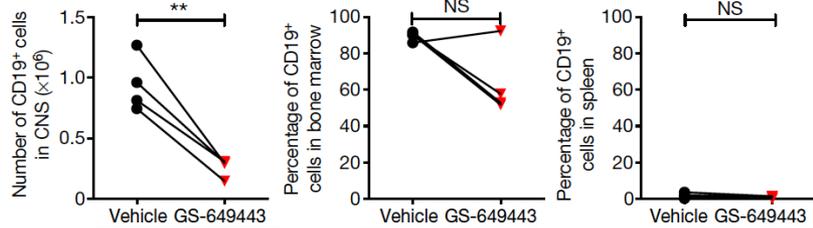
➤ Nalm-6細胞以外でも同様の結果が得られるか検討。

NOGマウス  
に移植した  
ヒトALL細胞



他のモデルでも、  
PI3K $\delta$ 阻害により、  
CNS病変発生が抑制。

RCH-ACV  
ALL細胞

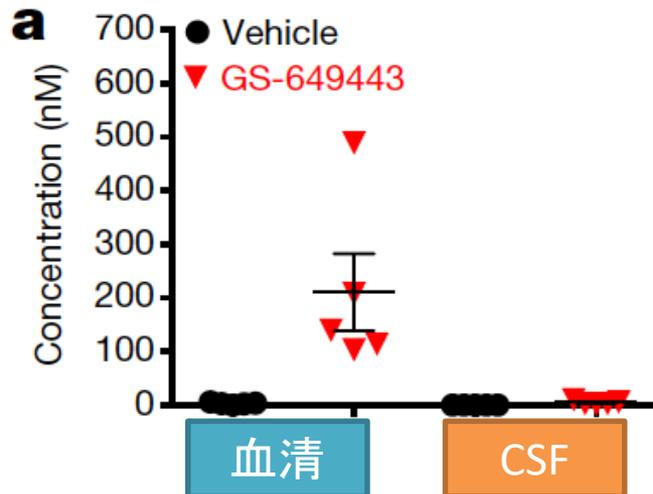


PI3K $\delta$ シグナルは、ALL細胞がCNS内で生存・増殖のために必要？

CNS

骨髄

脾臓

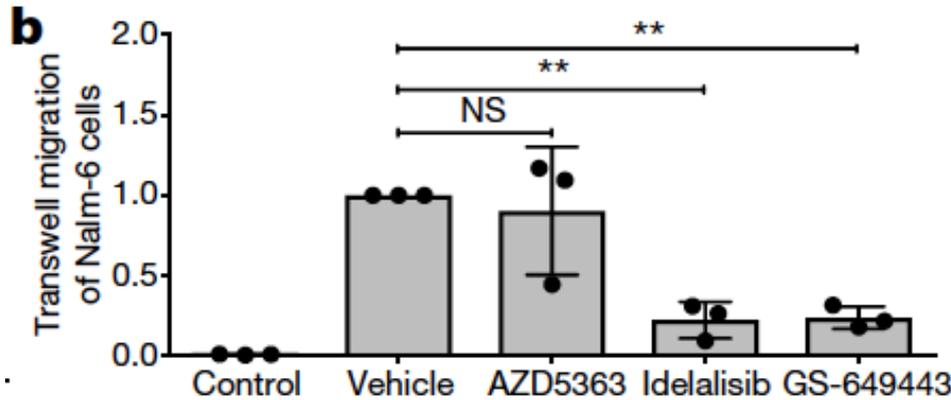


GS-649443の濃度は髄液中では上昇しなかった。

PI3K $\delta$ 阻害はALL細胞の生存・増殖に直接的に作用してはいない。

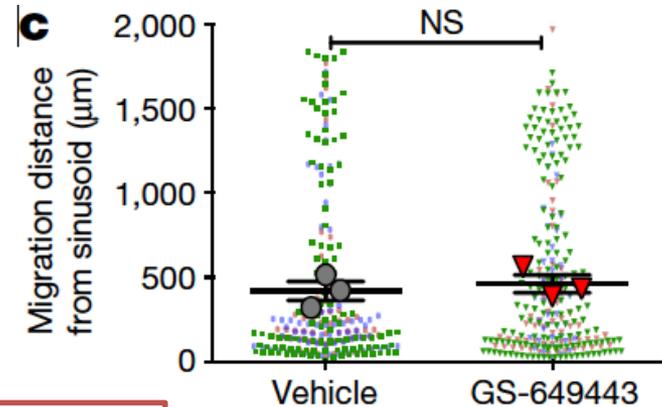
# PI3K modulates the motility of ALL cells

- PI3Kは、RhoやFAK経路を介し、Actomyosinに作用。  
→細胞の遊走を制御。
- 細胞遊走Assay上で、PI3K $\delta$ 阻害によるALL細胞遊走を測定。



In vitroでは、PI3K $\delta$ 阻害により、ALL細胞の遊走は減少。

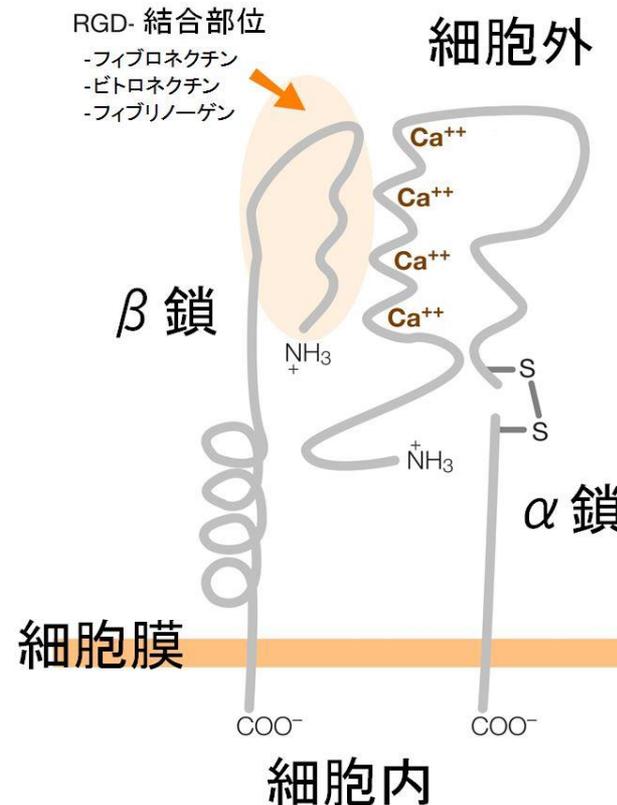
ALL細胞全体の遊走が阻害され、CNSに到達できない？



in vivoでは、骨髄内でのALL細胞の遊走は変わらなかった。

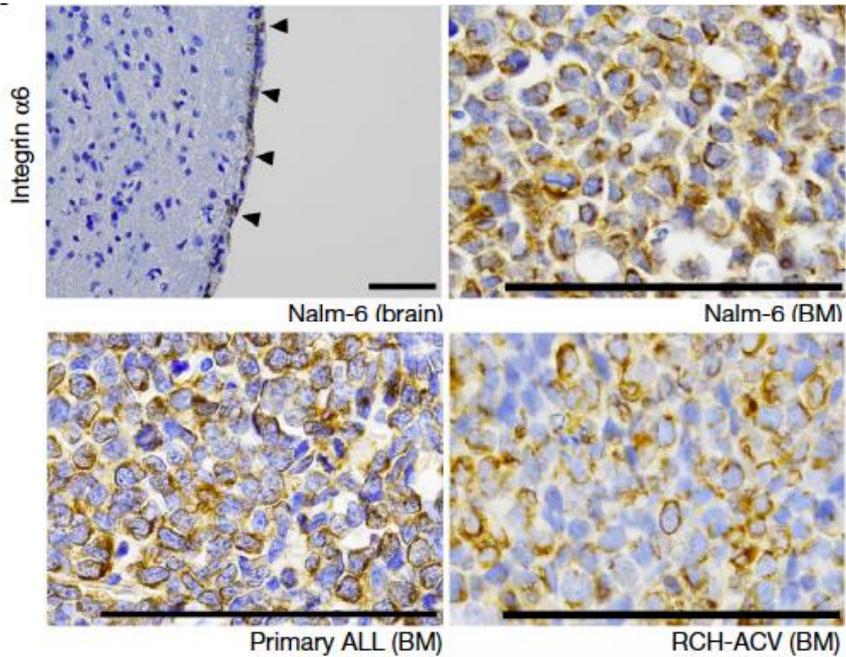
# PI3K regulates $\alpha 6$ integrin in ALL cells

- $\alpha 6$  Integrin-細胞外マトリックスであるLamininと結合。
- 生体内では、神経前駆細胞(NSPCs)が $\alpha 6$  integrinを持ち、Lamininと結合ながら遊走。
- 多くのALL細胞で発現していることが分かってきた。

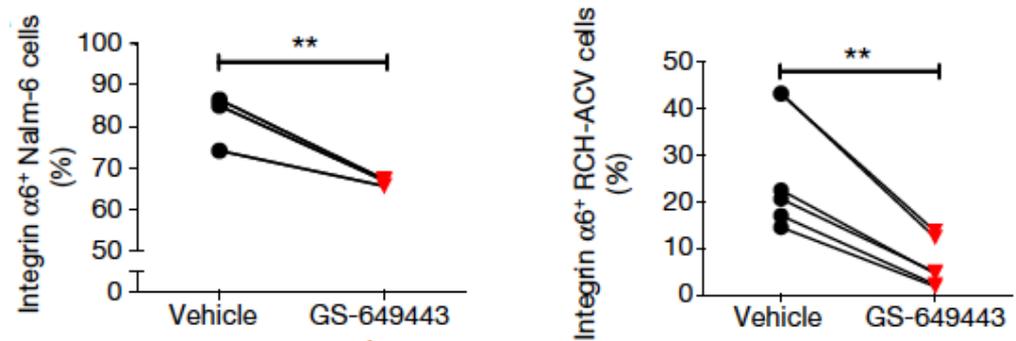


# PI3K regulates $\alpha 6$ integrin in ALL cells

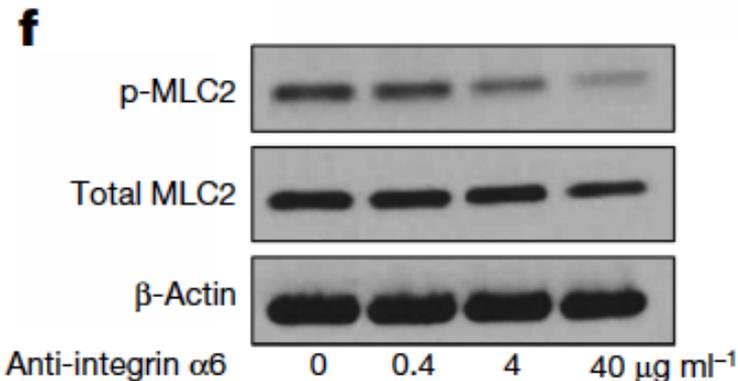
➤  $\alpha 6$  IntegrinがCNS浸潤に関わっているかを検討。



各ALLモデルにおいて、 $\alpha 6$  Integrinは多く発現していた。



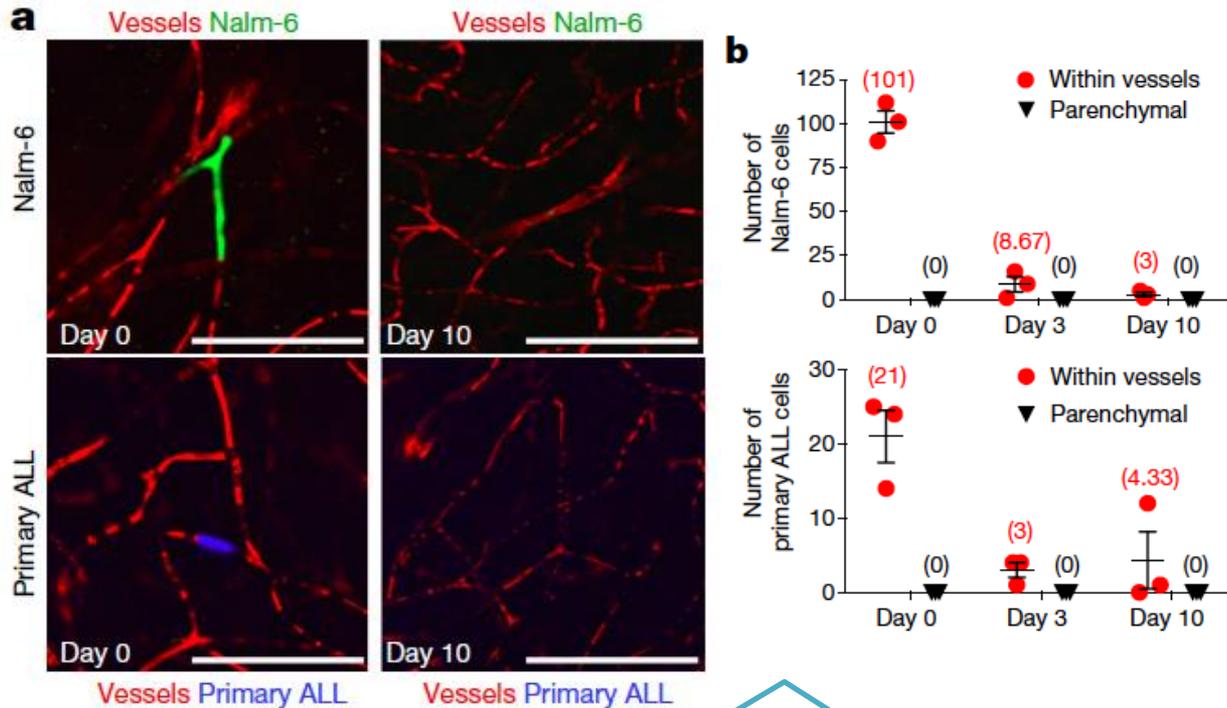
GS-649443で、ALL細胞上の $\alpha 6$  integrinが減少。



リン酸化されたMLC2が有意に減少。

# ALL cells fail to breach blood-brain barrier

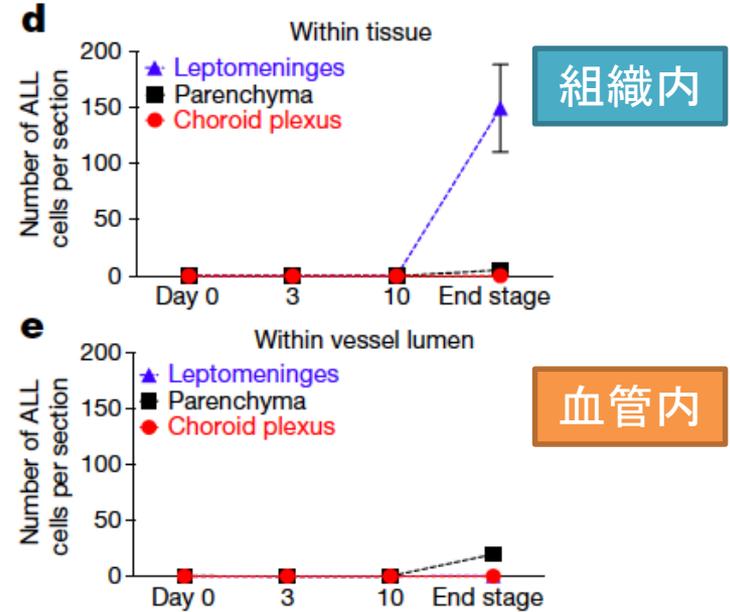
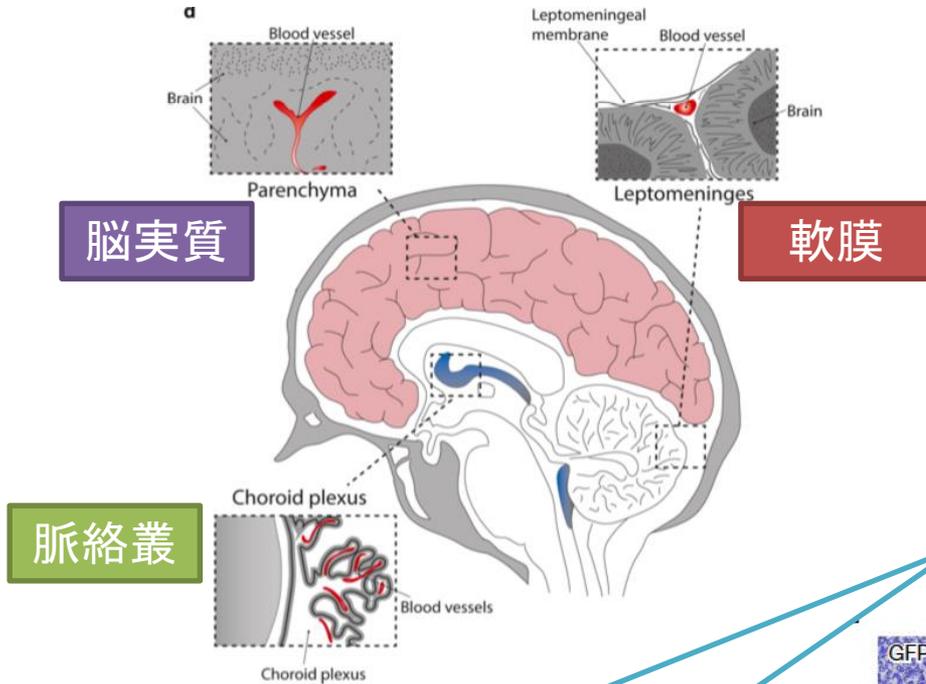
- 神経系のLaminin+微小血管を利用してCNSに浸潤するか検討。
- まず、脳実質の血管系から浸潤するか。



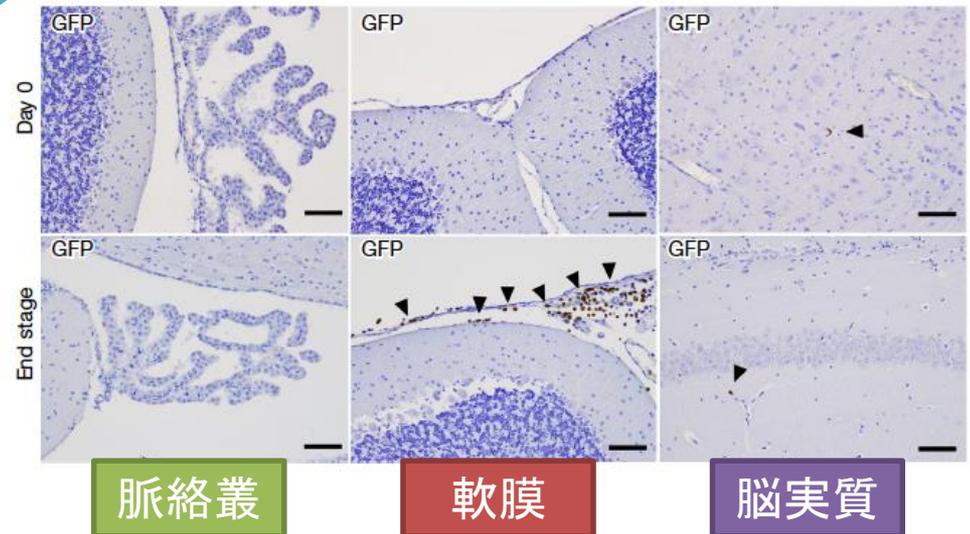
固形腫瘍は微小血管の分岐部から直接実質に浸潤するが、ALL細胞ではみられなかった。

# ALL cells fail to breach blood-brain barrier

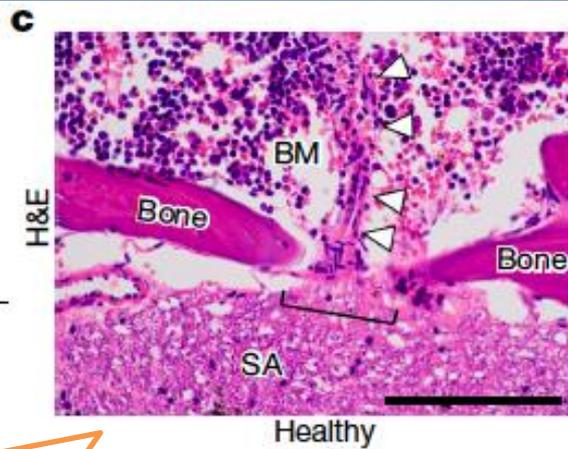
➤ 脳実質、軟膜、脈絡叢いずれのBBBを通過しているか。



脳実質、軟膜、脈絡叢のいずれの血管系においても、浸潤する様子は観察できなかった。

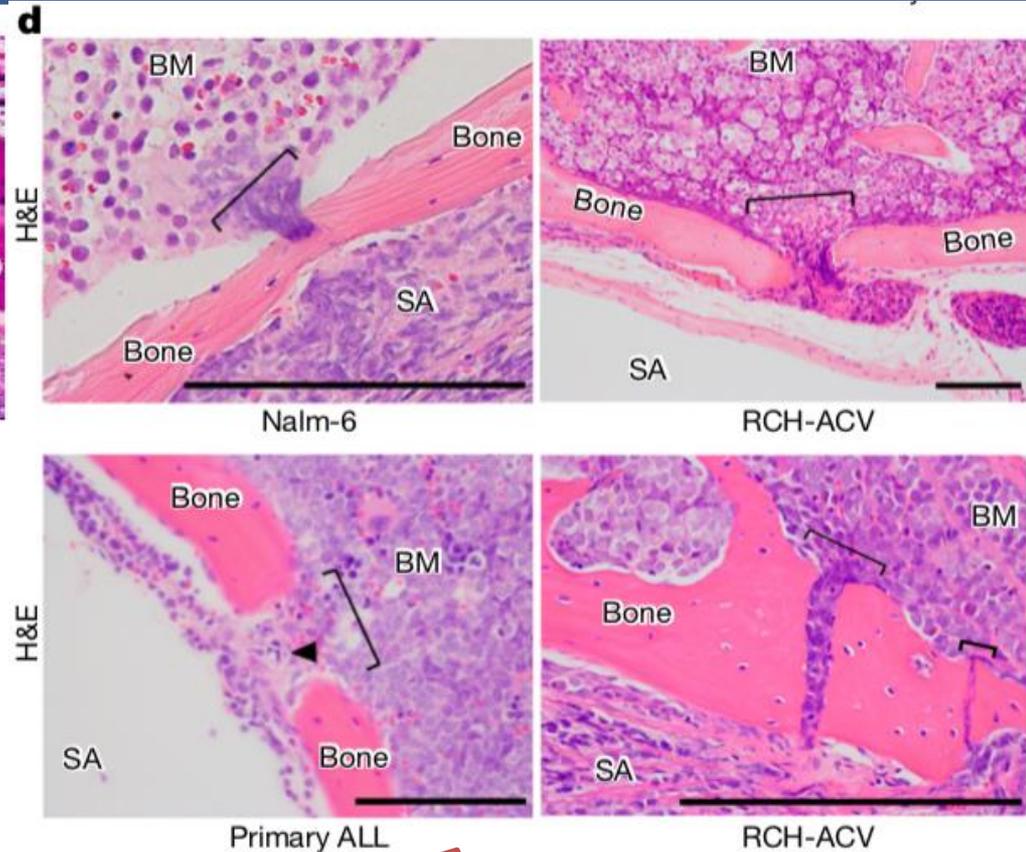


# ALL cells enter the CNS along emissary vessels

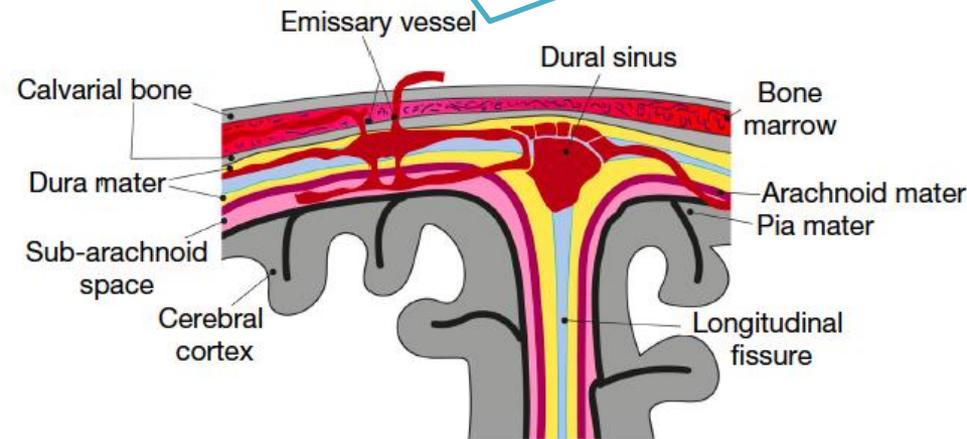


正常マウスの組織で導出静脈を特定。

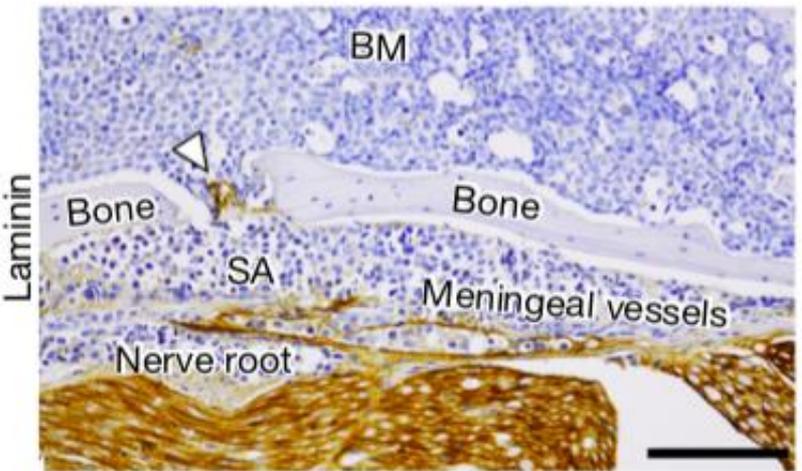
導出静脈は、  
髄膜とくも下膜腔を繋いでいる。



各ALL細胞移植マウスの導出静脈とその周囲が、ALL細胞で充満していた。

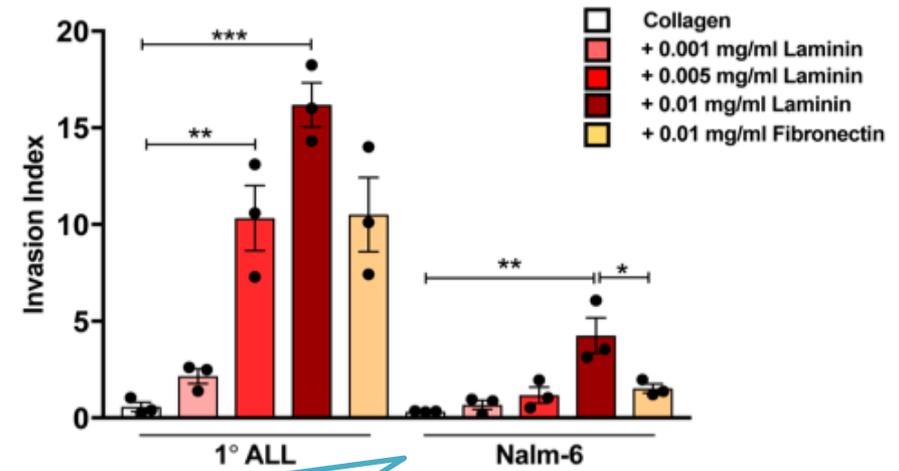


# ALL cells enter the CNS along emissary vessels

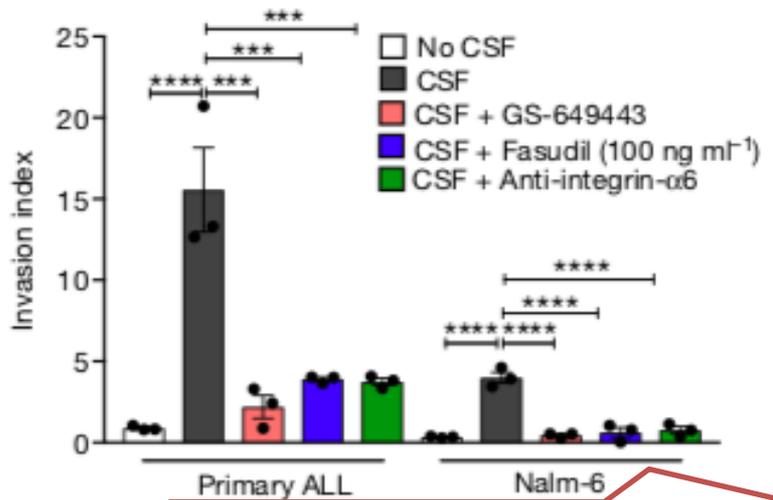


Nalm-6

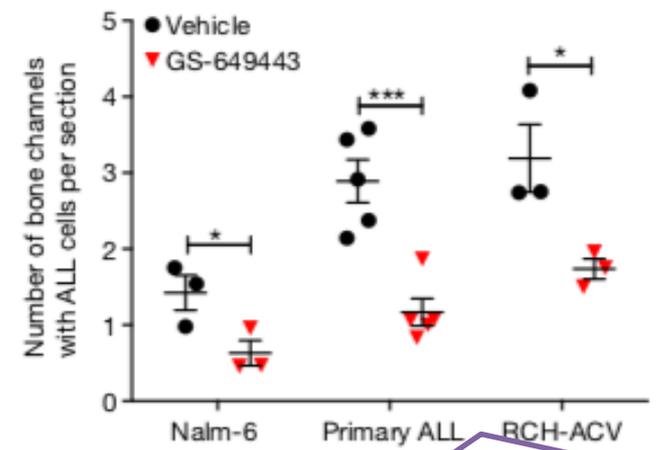
導出静脈でLaminin陽性。



Lamininの発現が多いほど、ALL細胞の浸潤は増加。

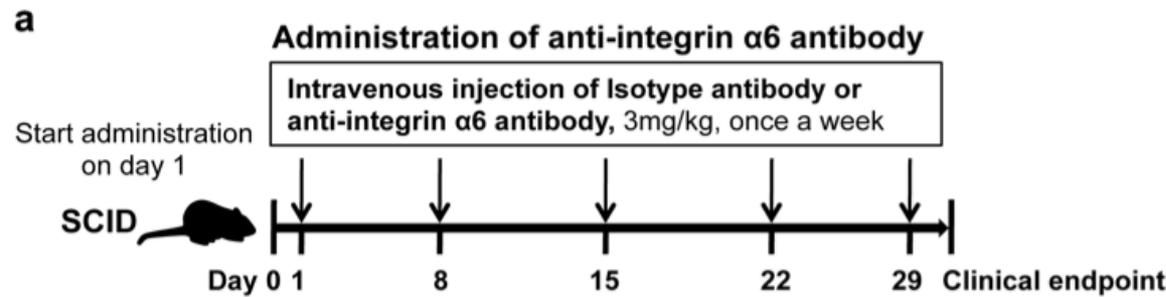


α6 integrinを各方法で阻害すると、ALL細胞の浸潤は減少。

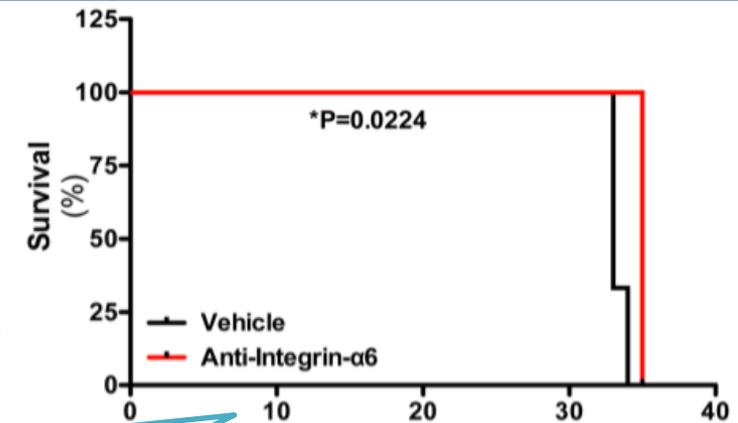


実際にマウスにGS-649443投与して、ALL細胞の浸潤が減少。

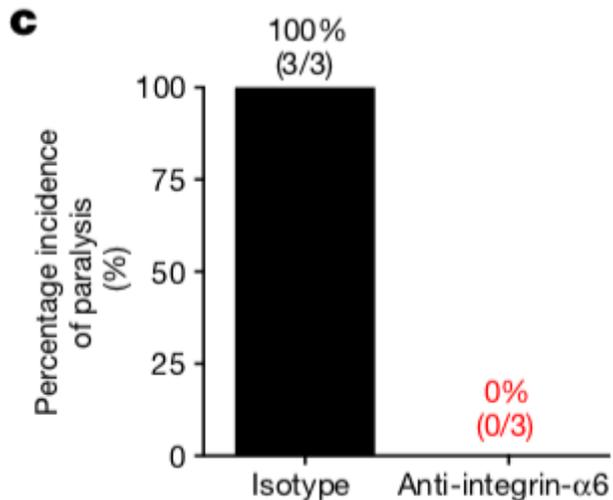
# $\alpha 6$ integrin enables abluminal invasion



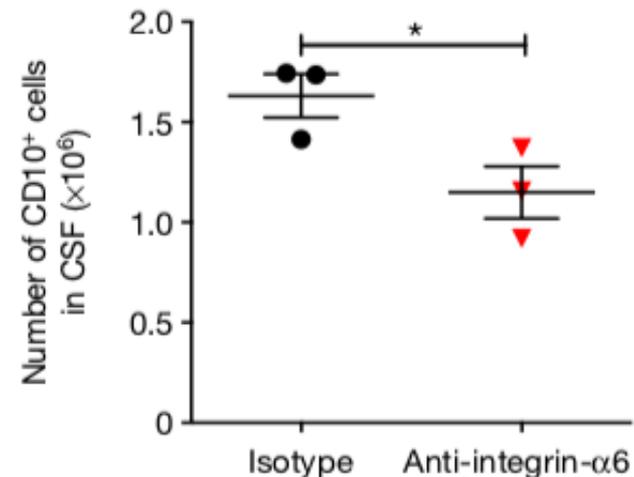
週1回  $\alpha 6$  Integrin中和抗体を投与。



脾臓や骨髄病変に差はなかったが、有意に投与群の生存率が高い。

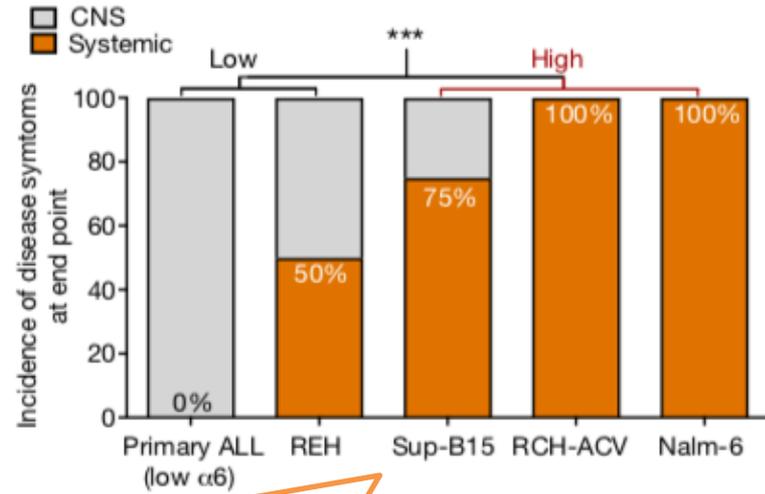
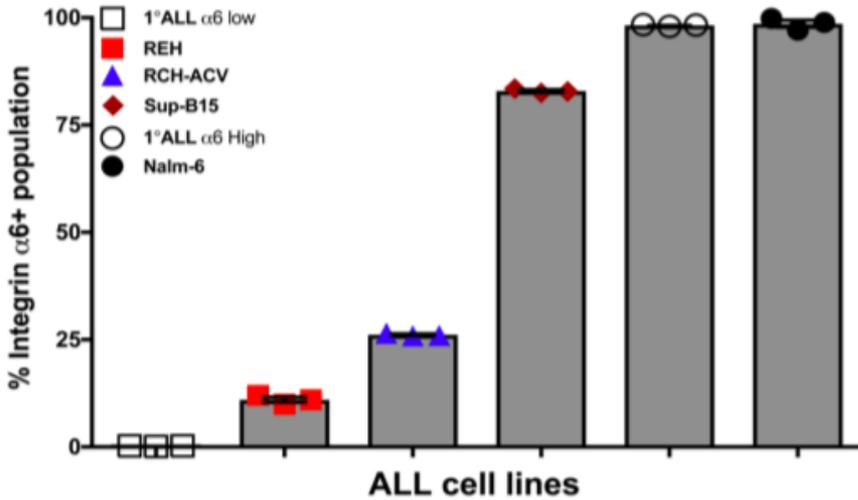


非投与群はすべてで麻痺が生じたが、投与群では認めなかった。

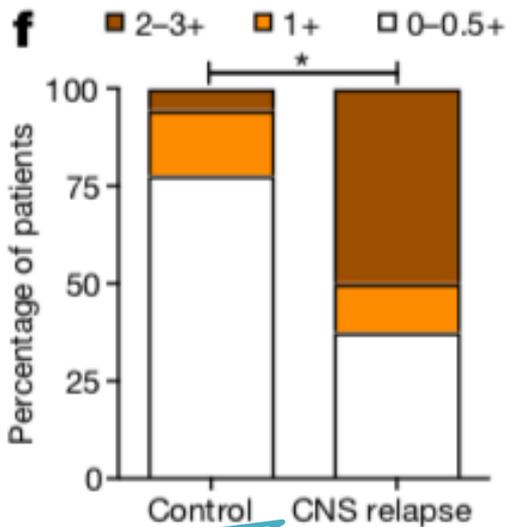


非投与群に比較し、投与群で、髄液中の芽球数が約1/3ほど低かった。

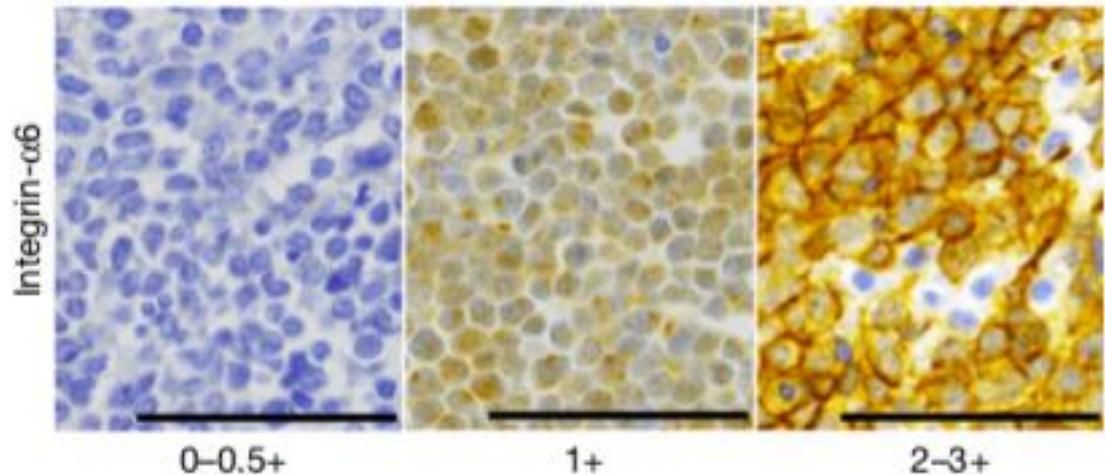
# $\alpha 6$ integrin enables abluminal invasion



$\alpha 6$  integrin高発現群の方が CNS病変が多い。



CNS再発群の方が、 $\alpha 6$  Integrinの発現量が多い。



# さいごに

- ALL細胞は神経前駆細胞の遊走メカニズムを利用。
- 骨髄と髄膜を繋ぐ導出静脈からCNSへに侵入。
- 他のIntegrinなどの、細胞外マトリックスを利用した侵入機構がないか。
- そこから特異的な治療法が解明されるかもしれない。

