

慢性骨髄性白血病とケモカイン

著者	向田 直史, 馬場 智久
雑誌名	臨床血液 = The Japanese journal of clinical hematology
巻	57
号	2
ページ	129-136
発行年	2016-02-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/45899

doi: 10.11406/rinketsu.57.129

慢性骨髄性白血病とケモカイン

向田直史¹⁾、馬場智久¹⁾

1) 金沢大学がん進展制御研究所・分子生体応答研究分野

Chemokines in chronic myeloid leukemia

Naofumi Mukaida¹⁾、Tomohisa Baba¹⁾

1) Division of Molecular Bioregulation, Cancer Research Institute,
Kanazawa University

Corresponding author: 向田直史

住所： 〒920-1192 石川県金沢市角間町

電話：076-264-6735 FAX:076-234-4520

e-mail: mukaida@staff.kanazawa-u.ac.jp

和文抄録

慢性骨髄性白血病 (CML) に特徴的に認められる BCR-ABL 遺伝子を標的とした、チロシン・キナーゼ阻害剤が開発され、著明な治療成績の改善を見ている。BCR-ABL 遺伝子発現 CML 細胞は、正常造血細胞と、骨髄内の限られた空間を巡って競合しながら増殖する。さらに、CML 細胞は骨髄内微小環境を利用することで、チロシン・キナーゼ阻害剤に対して耐性を獲得する可能性も指摘されている。したがって、CML の新たな治療戦略の開発には、骨髄微小環境内での CML と正常造血細胞との相互作用の細胞・分子基盤を解明する必要がある。本論文では、CML 細胞による骨髄内微小環境の再構築過程において、ケモカイン、なかでも CXCL12・CCL3 が果たしている役割について解説を加えるとともに、これらのケモカインを標的とした新たな CML 治療法の可能性についても論じる。

英文抄録

Several tyrosine kinase inhibitors have been developed to target BCR-ABL fusion gene, a pathognomonic genetic change in chronic myeloid leukemia, and have dramatically improved the prognosis of CML patients. BCR-ABL-expressing CML cells compete with normal hematopoietic cells over a limited space of bone marrow to proliferate. Moreover, CML cells can gain resistance to tyrosine kinase inhibitors by utilizing bone marrow microenvironments. Thus, in order to develop a novel treatment strategy against CML, it is necessary to elucidate the cellular and molecular basis underlying the interactions between CML and normal hematopoietic cells. Here, we discuss the roles of chemokines, particularly CXCL12 and CCL3, in reconstruction processes of bone marrow microenvironments by CML cells and the possibility of novel treatment modalities against CML, by targeting these chemokines.

Keywords

BCR-ABL、白血病幹細胞、CXCL12、CCL3

1. はじめに

慢性骨髄性白血病 (Chronic myeloid leukemia, CML) は骨髄造血幹細胞 (Hematopoietic stem cell, HSC) の腫瘍性形質転換を起源とした骨髄増殖性疾患であり、染色体異常として第 9 染色体と第 22 染色体の間における相互転座により生じるフィラデルフィア染色体が特徴的に認められる (図 1) (1)。この染色体の相互転座によって、第 22 染色体上の BCR 遺伝子と第 9 染色体上のチロシン・キナーゼ活性を保有する ABL 遺伝子が融合して、BCR-ABL 融合遺伝子が生じる。BCR-ABL 遺伝子産物は恒常的にチロシン・キナーゼ活性を示し、細胞増殖の増進・アポトーシスへの抵抗を引き起こすことで、骨髄造血幹細胞の腫瘍性増殖を誘導する。

BCR-ABL 遺伝子は CML のドライバー変異である上に、正常細胞には存在せず、CML 細胞にのみ存在することから、格好の標的分子であると考えられる。この想定のもと、Drucker らは CML に対する分子標的薬として、BCR-ABL のチロシン・キナーゼ活性の阻害剤であるイマチニブの開発を行い、治療成績の画期的な改善をもたらした (2, 3)。一方で、治療中に BCR-ABL 遺伝子の増幅あるいは新規変異のために、チロシン・キナーゼ阻害剤に耐性が生じることがある (1)。薬剤耐性の克服を目指して、ダサチニブなどの第二世代のチロシン・キナーゼ阻害剤が開発されている (4, 5)。

チロシン・キナーゼ阻害剤治療により、分子レベルにおいても BCR-ABL 発現白血病細胞が検出されない、いわゆる分子レベルでの寛解後に、休薬すると約 40% の患者で再発が起こることも報告されている (6)。このような現象は、チロシン・キナーゼ阻害剤への感受性が低い CML の白血病幹細胞 (Leukemia initiating cell, LIC) が残存することが原因として考えられている (7)。マウス CML モデルでの検討から、骨髄内微小環境由来の transforming growth factor (TGF)- β の作用で CML の LIC がチロシン・キナーゼ阻害剤に耐性になる可能性を示唆する結果も報告されている (8)。

CML の発症初期段階やチロシン・キナーゼ阻害剤にて寛解状態になった段階では、HSC を含む多数の正常造血細胞のなかに、少数の BCR-ABL 遺伝子発現 LIC が存在する (図 1)。その後、LIC は正常造血細胞との競合に打ち勝ち、骨髄を占拠し、種々の細胞系列に分化しながら、他部位の骨髄や脾臓などに移動・浸潤するとともに、末梢血には分化した CML 細胞が出現すると考えられる。したがって、CML の新たな治療戦略の構築には、骨髄内微小環境の細胞・分子基盤に

着目して、骨髄内での LIC の生存機構を解明する必要があると考えられる。

2. ケモカイン

ケモカイン・ファミリーとして、これまでに 50 種近い分子が同定されているが、それらの多くの分子量は 1 万以下で、保存された位置に存在する 4 つのシステイン残基を有する。1 番目と 3 番目、2 番目と 4 番目のシステイン残基の間で、2 つの S-S 結合が生じる結果、アミノ末端側に 3 列の β シート構造、カルボキシル末端側に α ヘリックス構造を取る (9)。この α ヘリックス構造部分の等電点が高く、血管内に可溶性タンパクとして分泌されても、血管壁に存在するアミノグリカンと強固に会合し、あたかも膜タンパクとして挙動すると考えられる(9)。

ケモカインは、顆粒球・単球など炎症時に浸潤してくる自然免疫に関与する白血球に対する走化因子として当初発見された。しかし、その後の研究から、NK 細胞を含むリンパ球や樹状細胞のリンパ組織からの出入過程を制御し、生体内での免疫反応を制御することで、自然免疫のみならず獲得免疫の成立過程にも重要な役割を果たしていると考えられるに至っている(9)。

ケモカイン・レセプターは 7 つの膜貫通ドメインを持つ構造を取っている(10)。同様の構造を取るレセプターと同様に、 $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ からなる 3 量体の G タンパクとともに、G タンパク会合レセプター (GPCR) ・キナーゼが会合している (図 2)。不活型の 3 量体の G タンパクは GDP と結合しているが、ケモカインがレセプターに結合することによって活性化され、GDP を遊離し、GTP と結合し、 α と $\beta \gamma$ とに解離する。解離した α ならび $\beta \gamma$ 複合体は、PI3K γ を始めとする種々のキナーゼを活性化し、Rac/Rho、Cdc42などを活性化することによって、走化性・接着能の亢進や活性酸素種の産生を引き起こす(11)。その一方で、ケモカインがレセプターと結合することで活性化された GPCR キナーゼが、アレクチンをリン酸化することで、レセプターの細胞内取り込みなどを通して、シグナルを終息させる方向に働くと考えられている(11)。

保存された位置に 4 つのシステイン残基が存在することから、ケモカイン・ファミリーのメンバーの統一化した名称として、以下のような提案が 2000 年になされ(9)、現在汎用されている。

1)1 番目と 2 番目のシステイン残基の間にアミノ酸が 1 つ存在するものを CXC ファミリー、3 個存在するものを CX3C ファミリー、1 番目と 2 番目のシステ

ン残基が隣接してものを CC ファミリー、1 番目のシステイン残基を欠くものを XC ファミリーとする。

2) サブファミリー名の後に、リガンドは L、レセプターを R として置き、さらにそれに数字を付ける。

本稿では、基本的にはこの命名法に従い、ケモカインとケモカイン・レセプターを記載しているが、必要に応じて従来から用いられている名称も併記することとした。

3. ケモカインの造血幹/前駆細胞 (Hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC) への作用

G-CSF によって、HSPC が末梢血に動員されることは広く知られていて、実際に末梢血造血幹細胞移植に応用されている (12)。G-CSF と同様に、幾つかのケモカインが末梢血への HSPC の動員を引き起こすことが報告されている。CCL3/macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α は、CCR1・CCR5 を発現している HSPC の末梢血への動員を誘導することが報告されているが、その詳細な機序は不明である (13)。さらに、CXCL12/stromal cell-derived factor (SDF) アナログ (14) ならびに CXCL12 レセプターである CXCR4 のアンタゴニスト (15) は、HSPC 上の CXCR4 発現を低下させることによって、HSPC の末梢血への動員を引き起こすことが報告されている。さらに、HSPC は CXCR2 を発現していないが、CXCL2/Gro β が CXCR2 発現顆粒球のプロテアーゼを活性化することで、間接的に HSPC の CXCR4 に作用し、HSPC の末梢血への動員を誘導することも報告されている (16, 17)。

CCL3 は、HSPC の末梢血への動員のみならず、*vitro* でのコロニー形成アッセイにおいては、HSPC のコロニー形成能を抑制することから、HSPC の細胞周期を休止期に誘導するいわゆる stem cell inhibitor (SCI) としての作用がある可能性が古くから報告されている (18)。しかし、CCL3 遺伝子欠損マウス (19) あるいは CCL3 に対するレセプターである CCR1 遺伝子欠損マウス (20)・CCR5 遺伝子欠損マウス (我々の未発表データ) では、未刺激の正常状態では、骨髄の HSC 数を始めとした造血機能には明らかな変化が認められないことから、CCL3-CCR1・CCR5 系の個体内での造血機構への役割については、長年疑問がもたれてきた。致死放射線照射したマウスに対する骨髄移植の解析を通して、野生型マウス由来の骨髄細胞を移植したマウスに比べ、CCL3 ならびに CCR1・CCR5 欠損

マウス由来の骨髄細胞を移植したマウスで、骨髄内での HSC・多能性前駆細胞 (multi-potent progenitor、MPP) 数が多いことを、最近我々は認めた (我々の未発表データ)。さらに、CCL3 欠損マウス由来骨髄細胞を移植したマウスの骨髄内での HSC・MPP 数の増加は、二次骨髄移植の際にも認められた。これらの結果から、骨髄移植時などのストレス下においては、CCL3 が HSC・MPP などの増殖を負に制御している可能性が示唆される。

骨芽細胞・血管内皮細胞・間葉系幹細胞などの骨髄内の種々の間質細胞が、CXCL12 を恒常的に発現している (21)。骨髄内で発現している CXCL12 は、HSC を骨髄に貯留させ (22)、HSC を休止期に保ち (23)、増殖能を保持する (24) ことによって、HSC の維持に働いていると考えられている。CXCL12 を発現している細胞のなかでも、傍血管領域に存在する、レプチン・レセプター陽性・ネスチン陽性の網状細胞が大量に CXCL12 を発現していることから、CXCL12-abundant reticular (CAR) 細胞と呼ぶことを Nagasawa らが提唱している (21, 22)。骨芽細胞特異的な CXCL12 欠損が HSC 数・機能に影響を与えないのに対して (24)、CAR 細胞特異的な CXCL12 欠損によって HSC 数が減少することから、HSC 維持機構における CAR 細胞の重要性が示唆されている (22, 25)。

4. CML とケモカイン

HSC レベルで生じた BCR-ABL 融合遺伝子が CML の病因であることから、HSC の恒常性・機能の制御に関与することが報告されている、上記のケモカインが CML の病態形成に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。ここでは、HSC に作用すると考えられている CXCL12 ならびに CCL3 の CML の病態形成への関与について述べた後に、他のケモカインの関与に関する報告も紹介する。

4.1. CML と CXCL12

Bhatia らのグループは、BCR-ABL 遺伝子を誘導性に発現するトランスジェニック・マウスを用いて、BCR-ABL 遺伝子発現を誘導して CML を発症させた。この CML モデルにおいては、骨髄内の CXCL12 濃度が低下する上に、正常人骨髄に比べてヒト CML 患者骨髄において、CXCL12 濃度が低下していることが報告している (26)。しかし、その病態生理学的な意義については、十分な解析がなされていない。

正常人由来に比べて、CML 患者由来の CD34 陽性細胞の CXCL12 存在下での遊走

能が低下していることが報告されている(27)。さらに、CML 患者由来 CD34 陽性細胞は、vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1・フィブロネクティンに対する接着能が弱いことも報告された(28)。さらに、CML 患者由来 CD34 陽性細胞は、CXCR4 とともにプラコグロブリンの発現とともに接着能が低下していることも報告されている(29)。CXCL12 に対する CML 細胞の運動性の変化は、BCR-ABL 遺伝子によって、CXCL12-CXCR4 下流に存在する Cdc42GTPase 活性が抑制されていることが関与していると考えられる(30)。したがって、CML においては CXCL12 産生低下と CML 細胞の CXCR4 発現低下、さらには CXCL12 への反応性の低下とがあいまって、CML 細胞が骨髄内ニッチに留まることができず、骨髄外に流出し、CML の進展に関与している可能性が考えられる。

骨髄内においては、ニッチの作用などによって、CML 細胞、特に LIC がチロシン・キナーゼ阻害剤に対して比較的耐性である可能性が指摘されている(7)。CXCR4 阻害剤投与で CML 細胞を骨髄内から流出させて、チロシン・キナーゼ阻害剤の効果を高める試みがマウス CML モデルを用いて行われたが、むしろ中枢神経系への CML 細胞の浸潤を引き起こした(31)。一方で、イマチニブによる CXCR4 のリピッド・ラフトへの移動と活性化 Lyn との会合が、イマチニブに対する薬剤耐性に関与している可能性があること(32)、さらには CXCL12-CXCR4 軸が Erk・Akt・STAT3 などの細胞生存に関係するシグナル伝達系を活性化することから(33)、イマチニブに対する薬剤抵抗性の成立に CXCR4 が関与している可能性が示唆された。このため、イマチニブと CXCR4 阻害剤の併用がヒト CML 細胞株 K562 の皮下接種モデルで試みられ、皮下での腫瘍形成に対して抑制効果が認められた(33)。しかし、このモデル自体が CML の実際の病態と乖離していることを考えると、ヒトへの外挿には十分な注意が必要であると考えられる。

4.2. CML と CCL3

Bhatia らのグループは、BCR-ABL 遺伝子発現を誘導して発症させる CML モデルの骨髄内の CCL3 濃度が上昇していることを報告しているが、その病態生理学的な意義については不明であった(26)。CCL3 が正常 HSC に対しては SCI としての作用を示すことから、複数のグループが CML 細胞増殖過程への CCL3 の影響を検討した。その結果、CML 患者から採取した CD34 陽性の CML 前駆細胞は CCL3 に対するレセプターを正常 HSPC と同様に発現しているにもかかわらず、CCL3 によっては増殖が抑制されないことが明らかになった(34, 35)。ABL の発現を誘導さ

せると、CCL3 によって細胞内カルシウム濃度の上昇が起きない(36)ことから、ABL のチロシキン・キナーゼ活性が直接的に CCL3 に対する反応を抑制していると考えられている。

正常 HSC に BCR-ABL 遺伝子導入して得られた LIC を、放射線非照射マウスの骨髄内へ直接接種して、CML 様病変を発症するモデルを我々は新規に開発した(37)。このモデルにおいても、血清 CCL3 濃度が上昇するとともに、骨髄内においては、BCR-ABL を発現し、LIC マーカーを欠いた一部の CML 細胞と非 CML 細胞が CCL3 を発現していた。CCL3 欠損マウスの HSC から作成した LIC は、放射線照射マウスへ静脈内投与すると CML を発症させるが、放射線非照射マウスの骨髄内接種では CML を発症させなかった。さらに、正常 HSPC が CCR1 あるいは CCR5 を発現していない場合には、野生型マウスから得られた LIC を直接骨髄内に接種しても、CML が発症しなかった(37)。したがって、白血病細胞由来 CCL3 は、CCR1 あるいは CCR5 を発現している正常 HSPC に作用することによって、CML の発症に関与している可能性が示唆された。

CCL3 ならびに CCR1 または CCR5 を欠損しているマウス骨髄細胞を用いた骨髄移植時には、造血細胞の再構築が過剰に起きた(我々の未発表データ)ことから、CCL3 は正常 HSC の増殖に対して抑制作用を示すと考えられる。したがって、白血病細胞は、正常 HSPC 増殖抑制作用を示す CCL3 を産生し、自分自身に有利な環境を骨髄内に形成していると考えられる(図 3)。一方で、ヒト CML 患者においても、ダサチニブ投与 3 か月後の骨髄内 BCR-ABL コピー数が著減した患者では、CCL3 発現が低い傾向が認められた(我々の未発表データ)(図 4)。さらに、放射線照射マウスを用いた CML モデルでは、CCL3 欠損マウス由来の LIC を接種した場合、野生型マウス由来の LIC 接種に比べて、イマチニブ投与中止後の再発が有意に延長した(37)。以上のことから、CCL3 ならびに CCR1・CCR5 が CML の新たな治療標的である可能性が示唆される。

4.3 CML とその他のケモカイン

CML 細胞では CD69 とともに CXCL8 の発現が亢進していて、チロシキン・キナーゼ阻害剤処理によって CXCL8 発現が低下することが報告されている(38)。さらに、CML 細胞由来のエクソームが骨髄内の間質細胞からの CXCL8 の産生を誘導し、CXCR1・CXCR2 発現 CML 細胞の増殖を亢進することも報告されている(39)。したがって、CXCL8 が直接的に CML 細胞の増殖を制御している可能性も考えられ

る。

臍帯血由来の CD34 陽性細胞に BCR-ABL 遺伝子導入すると、intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 遺伝子とともに CCR7 遺伝子の発現が低下する上に、CCR7 に対するリガンドである CCL19/MIP-3 β ・CCL21/secondary lymphoid tissue chemokine (SLC)による遊走能が低下することが報告されている(40)。その一方で、マウス造血細胞 Ba/F3 細胞においては、BCR-ABL 遺伝子産物が、signal transducing adaptor protein (STAP)-2 と協調して、CCR7 と同時に CCL19・CCL21 遺伝子発現を亢進させることも報告されている(41)。しかも、CCL21 が vitro において正常 HSC のみならず、CML 前駆細胞の増殖も抑制することが報告されている(42)。このように、CML の病態形成における CCL19・CCL21-CCR7 系の役割のみならず動態についても一致した結果が得られておらず、今後のさらなる解析が必要である。

CML 細胞あるいは BCR-ABL 遺伝子導入によって、CCL2 遺伝子発現が誘導されることが報告されている(43)。transforming growth factor (TGF)- β と協調して、正常造血前駆細胞の細胞周期進行を抑制する一方で、CML 前駆細胞の細胞周期進行には影響を与えないことが報告されている(44)ことから、CCL2 が CML 細胞の骨髄内での生存に有利に働いている可能性が考えられる。

5. おわりに

従来 CML 細胞の遺伝子変異を標的として、チロシン・キナーゼ阻害剤が開発され、治療成績の顕著な改善を見ている。しかし、今後薬剤耐性の克服・完全治癒を目指した治療法を開発するに当たっては、骨髄内微小環境と CML 細胞、なかでも LIC との相互作用の細胞・分子基盤を解明する必要があると考えられる。

本稿で解説したように、CML の骨髄内微小環境の構築過程においては、ケモカイン、なかでも CXCL12・CCL3 が重要な役割を果たしていることを示唆する研究成果が報告されている。したがって、ケモカインの役割を分子・細胞レベルで解明することを通して、従来のチロシン・キナーゼ阻害剤を補完する新たな治療戦略が開発されることが期待される。

引用文献

- 1) Apperley JF. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2015; **385**:1447-1459.
- 2) Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nature Med*. 1996; **2**: 561-566.
- 3) Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *New Engl. J. Med*. 2002; **346**: 645-652.
- 4) Talpaz M, Shah NP, Kantarjian H, et al. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemias. *New Engl. J. Med*. 2006; **354**: 2531-2541.
- 5) Giles FJ, le Coutre PD, Pinilla-Ibarz J, et al. Nilotinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: 48-month follow-up results of a phase II study. *Leukemia*. 2013; **27**: 107-112.
- 5) Mahon FX, Rea D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010; **11**: 1029-1035.
- 7) Apperley JF. Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol*. 2007; **8**:1018-1029.
- 8) Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, et al. TGF- β -FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature*. 2010; **463**: 676-680.
- 9) Zlotnik A, Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*. 2012; **36**: 705-716.
- 10) Kufareva I, Salanga CL, Handel TM. Chemokine and chemokine receptor structure and interactions: implications for therapeutic strategies. *Immunol. Cell Biol*. 2015; **93**: 372-383.
- 11) Zweemer AJ, Toraskar J, Heitman LH, AP IJ. Bias in chemokine receptor signalling. *Trends Immunol*. 2014; **35**: 243-252.

- 12) Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, et al. Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *New Engl. J. Med.* 2001; **344**: 175-181.
- 13) Lord BI, Woolford LB, Wood LM, et al. Mobilization of early hematopoietic progenitor cells with BB-10010: a genetically engineered variant of human macrophage inflammatory protein-1 α . *Blood.* 1995; **85**: 3412-3415.
- 14) Pelus LM, Bian H, Fukuda S, Wong D, Merzouk A, Salari H. The CXCR4 agonist peptide, CTCE-0021, rapidly mobilizes polymorphonuclear neutrophils and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood and synergizes with granulocyte colony-stimulating factor. *Exp. Hematol.* 2005; **33**: 295-307.
- 15) Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp DW, et al. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J. Exp. Med.* 2005; **201**: 1307-1318.
- 16) Wang J, Mukaida N, Zhang Y, Ito T, Nakao S, Matsushima K. Enhanced mobilization of hematopoietic progenitor cells by mouse MIP-2 and granulocyte colony-stimulating factor in mice. *J. Leukoc. Biol.* 1997; **62**: 503-509.
- 17) Pelus LM, Bian H, King AG, Fukuda S. Neutrophil-derived MMP-9 mediates synergistic mobilization of hematopoietic stem and progenitor cells by the combination of G-CSF and the chemokines GRO β /CXCL2 and GRO β T/CXCL2 δ 4. *Blood.* 2004; **103**: 110-119.
- 18) Graham GJ, Wright EG, Hewick R, et al. Identification and characterization of an inhibitor of haemopoietic stem cell proliferation. *Nature.* 1990; **344**: 442-444.
- 19) Cook DN. The role of MIP-1 alpha in inflammation and hematopoiesis. *J. Leukoc. Biol.* 1996; **59**: 61-66.
- 20) Broxmeyer HE, Cooper S, Hangoc G, Gao JL, Murphy PM. Dominant myelopoietic effector functions mediated by chemokine receptor CCR1. *The J. Exp. Med.* 1999; **189**: 1987-1992.
- 21) Nagasawa T. CXC chemokine ligand 12 (CXCL12) and its receptor

- CXCR4. *J. Mol. Med.* 2014; **92**: 433-439.
- 22) Sugiyama T, Kohara H, Noda M, Nagasawa T. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity.* 2006; **25**: 977-988.
- 23) Tzeng YS, Li H, Kang YL, Chen WC, Cheng WC, Lai DM. Loss of Cxcl12/Sdf-1 in adult mice decreases the quiescent state of hematopoietic stem/progenitor cells and alters the pattern of hematopoietic regeneration after myelosuppression. *Blood.* 2011;**117**: 429-439.
- 24) Greenbaum A, Hsu YM, Day RB, et al. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature.* 2013; **495**: 227-230.
- 25) Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H, et al. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity.* 2010; **33**: 387-399.
- 26) Zhang B, Ho YW, Huang Q, et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Cell.* 2012; **21**: 577-592.
- 27) Durig J, Rosenthal C, Elmaagacli A, et al. Biological effects of stroma-derived factor-1 α on normal and CML CD34+ haemopoietic cells. *Leukemia.* 2000; **14**: 1652-1660.
- 28) Peled A, Hardan I, Trakhtenbrot L, et al. Immature leukemic CD34+CXCR4+ cells from CML patients have lower integrin-dependent migration and adhesion in response to the chemokine SDF-1. *Stem Cells.* 2002; **20**: 259-266.
- 29) Kronenwett R, Butterweck U, Steidl U, et al. Distinct molecular phenotype of malignant CD34(+) hematopoietic stem and progenitor cells in chronic myelogenous leukemia. *Oncogene.* 2005; **24**: 5313-5324.
- 30) Chang YC, Tien SC, Tien HF, Zhang H, Bokoch GM, Chang ZF. p210(Bcr-Abl) desensitizes Cdc42 GTPase signaling for SDF-1 α -directed migration in chronic myeloid leukemia cells. *Oncogene.* 2009; **28**: 4105-4115.
- 31) Agarwal A, Fleischman AG, Petersen CL, et al. Effects of plerixafor in combination with BCR-ABL kinase inhibition in a murine model of CML. *Blood.* 2012; **120**: 2658-2668.

- 32) Tabe Y, Jin L, Iwabuchi K, et al. Role of stromal microenvironment in nonpharmacological resistance of CML to imatinib through Lyn/CXCR4 interactions in lipid rafts. *Leukemia*. 2012; **26**: 883-892.
- 33) Beider K, Darash-Yahana M, Blaier O, et al. Combination of imatinib with CXCR4 antagonist BKT140 overcomes the protective effect of stroma and targets CML in vitro and in vivo. *Mol.Cancer Ther*. 2014; **13**: 1155-1169.
- 34) Eaves CJ, Cashman JD, Wolpe SD, Eaves AC. Unresponsiveness of primitive chronic myeloid leukemia cells to macrophage inflammatory protein 1 alpha, an inhibitor of primitive normal hematopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1993; **90**: 12015-12019.
- 35) Chasty RC, Lucas GS, Owen-Lynch PJ, Pierce A, Whetton AD. Macrophage inflammatory protein-1 α receptors are present on cells enriched for CD34 expression from patients with chronic myeloid leukemia. *Blood*. 1995; **86**: 4270-4277.
- 36) Wark G, Heyworth CM, Spooncer E, et al. Abl protein kinase abrogates the response of multipotent haemopoietic cells to the growth inhibitor macrophage inflammatory protein-1 alpha. *Oncogene*. 1998; **16**: 1319-1324.
- 37) Baba T, Naka K, Morishita S, Komatsu N, Hirao A, Mukaida N. MIP-1 α /CCL3-mediated maintenance of leukemia-initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. *J. Exp. Med*. 2013; **210**: 2661-2673.
- 38) Hantschel O, Gstoettenbauer A, Colinge J, et al. The chemokine interleukin-8 and the surface activation protein CD69 are markers for Bcr-Abl activity in chronic myeloid leukemia. *Mol. Oncol*. 2008; **2**: 272-281.
- 39) Corrado C, Raimondo S, Saieva L, Flugy AM, De Leo G, Alessandro R. Exosome-mediated crosstalk between chronic myelogenous leukemia cells and human bone marrow stromal cells triggers an interleukin 8-dependent survival of leukemia cells. *Cancer Lett*. 2014; **348**: 71-76.
- 40) Jongen-Lavrencic M, Salesse S, Delwel R, Verfaillie CM. BCR/ABL-mediated downregulation of genes implicated in cell adhesion and motility leads to impaired migration toward CCR7 ligands CCL19 and CCL21 in primary BCR/ABL-positive cells. *Leukemia*. 2005; **19**: 373-380.
- 41) Kubo K, Iwakami M, Muromoto R, et al. CCR7 is involved in

BCR-ABL/STAP-2-mediated cell growth in hematopoietic Ba/F3 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015; **463**: 825-831.

42) Hromas R, Cripe L, Hango G, Cooper S, Broxmeyer HE. The exodus subfamily of CC chemokines inhibits the proliferation of chronic myelogenous leukemia progenitors. *Blood.* 2000; **95**: 1506-1508.

43) Gerber JM, Gucwa JL, Esopi D, et al. Genome-wide comparison of the transcriptomes of highly enriched normal and chronic myeloid leukemia stem and progenitor cell populations. *Oncotarget.* 2013; **4**: 715-728.

44) Cashman JD, Eaves CJ, Sarris AH, Eaves AC. MCP-1, not MIP-1 α , is the endogenous chemokine that cooperates with TGF-beta to inhibit the cycling of primitive normal but not leukemic (CML) progenitors in long-term human marrow cultures. *Blood.* 1998; **92**: 2338-2344.

Legends to Figures

Figure 1. Presumed CML development processes

Figure 2. Schematic representation of chemokine-mediated signal transduction mechanisms

Figure 3. Presumed roles of CCL3 in CML development.

Figure 4. Relative upregulation of CCL3 expression in CML patients after TKI treatment. Alteration of copy number of *BCR-ABL* gene (**a**) and fold increase of CCL3 expression (**b**) after the administration of dasatinib for 3 months were determined. Fold increase of CCL3 expression = $\Delta\Delta\text{Ct}$ value of CCL3 after TKI treatment/that before treatment. Two open-diamond-shaped symbols indicate patients exhibiting the outstanding reduction of *BCR-ABL* gene expression after TKI treatment. Each symbol represents an individual patient (n = 12).

Figure 1

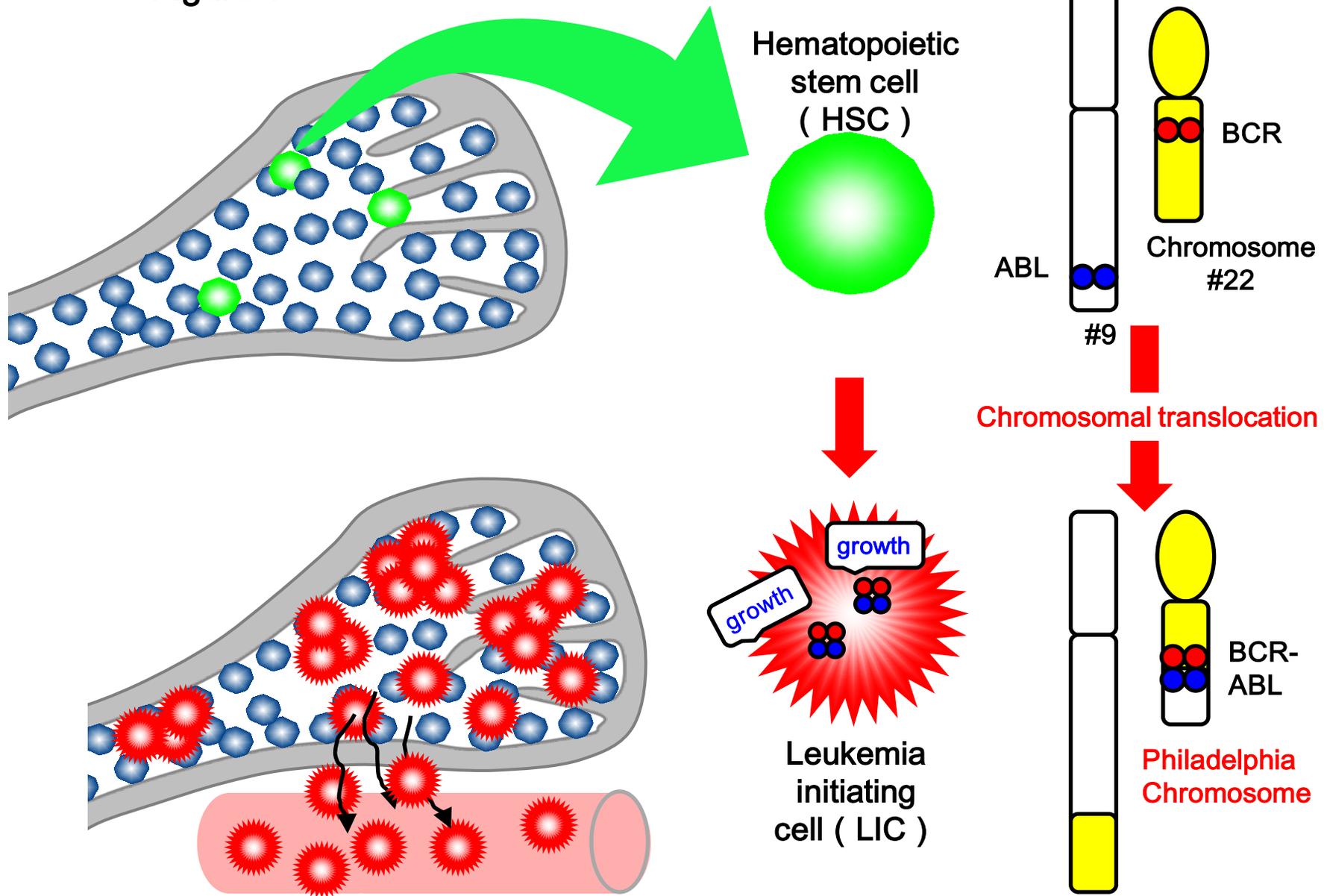


Figure 2

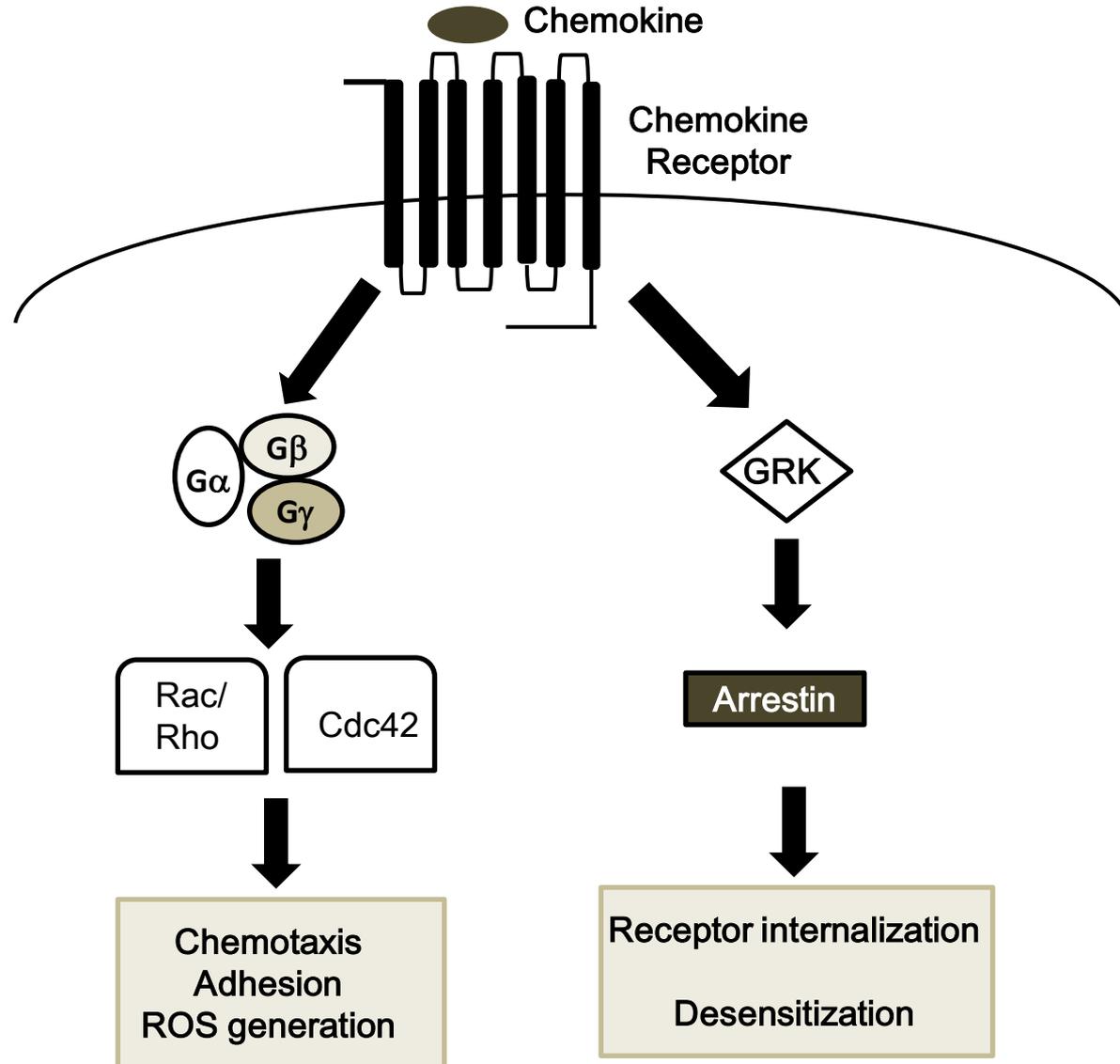


Figure 3

