トピックス

I. 病因と病態—最新の知見—

1. 白血病幹細胞

宮本 敏浩

要 旨

急性白血病は正常造血細胞の分化過程において、ある段階での分化停止と増殖能獲得が生じて発症する造血器腫瘍性疾患である。急性白血病は、正常造血幹細胞システムを模倣するかのようにより、自己複製能と白血病芽球への分化能を有する白血病幹細胞を頂くことにより白血病細胞集団を構成する。未熟性を維持する白血病幹細胞は治療抵抗性を示し、再発の根源となっている。白血病幹細胞の生物学的特性が解明され、白血病幹細胞を直接標的とした治療法の開発が進行しつつある。

〔日内会誌 102 : 1652~1660, 2013〕

Key words 幹細胞, 急性白血病, 標的治療

はじめに

造血幹細胞とは、多系統の成熟血液細胞に分化する多分化能を持ち、それとは相反して未熟な幹細胞状態を維持したまま自己複製するmultipotentialな細胞と定義される。少数の造血幹細胞を頂点とし、その下流に各系統に分化方向が決定された前駆細胞群、さらにその下流に機能性を持つ成熟血球を多数配置して造血ヒエラルキーを構成している。これにより出血や感染などのストレスに対して迅速かつ柔軟に対応可能な造血幹細胞システムが構築され、揺るぎない造血の恒常性が維持される。そのため、造血幹細胞の特性である自己複製能と多分化能とが適切に制御される必要がある。すなわち、造血幹

細胞システムには自己複製を促す機構と同時に、それを抑制する機構が存在し、この2つの機構が調律良く精緻に制御されている。自己複製を抑制する機構が破綻してしまえば、細胞は制御不能の自己複製、つまりがん化の状態に陥ってしまう。

急性白血病は造血細胞システムのある分化段階において細胞分化が停止し、強力な増殖能力を獲得して腫瘍化し、正常造血が抑制されて発症する腫瘍性疾患である。強力な化学療法により白血病細胞を根絶せしめ寛解状態を獲得したにも関わらず、その後に再現性よく同一の生物学的特徴を持つ白血病細胞にて再発することから、化学療法に抵抗性で、増殖能(自己複製能)を有する極少数の白血病幹細胞が存在することが以前より想定されてきた。さらにこの白血病

九州大学病院血液・腫瘍内科（第一内科）

Leukemia : Recent Progress in Diagnosis and Treatment. Topics : I. Recent Findings in Pathogenesis and Pathophysiology ; 1. Acute leukemia stem cells.

Toshihiro Miyamoto : Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Graduate School of Medical Science, Japan.

図1. 正常造血および急性白血病における幹細胞システム。急性白血病は、自己複製能を有する造血幹細胞が白血病幹細胞化する場合、分化の方向性が決定した前駆細胞が自己複製能を再獲得して白血病幹細胞化する場合が証明されている。

幹細胞が、あたかも正常の造血幹細胞システムを模倣するかのように、構成される白血病集団の頂点に座し、自己複製をしながら多数の白血病芽球を供給することで白血病全体を構築する白血病幹細胞システムの存在も併せて想定されてきた(図1)¹⁾。従って白血病幹細胞が同定できれば白血病発症機構解明の大きなブレイクスルーとなり、さらには白血病幹細胞を直接標的としたより有効な副作用の少ない究極の治療法の開発に繋がると考えられ、白血病幹細胞をめぐる研究が展開されてきた。

1. 幹細胞純化の技術的基盤

白血病は正常造血の分化増殖様式を基盤として発症する。そのため造血幹細胞システムの分化様式や自己複製制御機構を詳らかにし、白血

病幹細胞システムと対比させ、その相違と類似をひとつひとつ明らかにすることで、正常および白血病幹細胞の生物学的特性を初めて解明できる。

正常造血および白血病幹細胞研究の端緒を開いたのはマルチカラー・フローサイトメトリーの技術革新と高度免疫不全マウスの開発に負うところが大きい。「極少数の白血病幹細胞」を純化するため、表面抗原に対する蛍光標識抗体を多数組合せることで、その生物学的特性が酷似した正常造血幹細胞と微妙な発現レベルの差異で区別し、かつその他の細胞集団のコンタミネーションがなく高精度に正確に白血病幹細胞を純化可能なフローサイトメトリーの高い技術力が必要である。波長が異なるレーザーを複数組合せ、微小な発現レベルの差異が検出可能な蛍光検出器と精緻なアナライザー、正確な細胞分取装置セルソーターなどの開発・技術革新が進み、高精度のセルソーターを備えたマルチカラーレーザー搭載フローサイトメトリーの登場により、極少数の幹細胞を純化することが可能となった。

こうして純化された幹細胞の機能解析には「幹細胞」の所以たる自己複製能と多分化能を*in vivo*で検証する必要がある。そのため、高度免疫不全レシピエントを用いた連続移植系の開発、さらに幹細胞の定量的評価や機能解析のため高効率なヒト細胞の生着と分化増殖を可能とする異種移植アッセイシステムが必須である。汎用されているレシピエントの動物モデルとしては、T細胞、B細胞を欠損したNOD-scidマウスを基本とし、さらに免疫不全を強化するために様々な修飾が加えられている。なかでも、IL-2やIL-4、IL-15などに共通したcommon[®]鎖をノックアウトしてNK細胞活性を消去したNOG/NSGマウスの開発により、ヒト造血細胞の生着効率の向上とバランス良い多系統への分化が可能となっている²⁾。その結果、ヒト造血系のみならず免疫リンパ球系の再構築、そしてヒト白血病の再構築は

トピックス

飛躍的に向上した。また近年マクロファージによる自己/非自己認識に重要な役割を果たす分子SIRPαを遺伝子導入することで、マウスマクロファージによるヒト細胞の非自己認識が回避可能である免疫不全マウスが開発され、ヒト造血細胞の生着が効率よく得られることが報告されている³⁾。ヒト化マウスの進化により、ヒト正常造血・免疫システムのより深い理解と造血器腫瘍や自己免疫疾患の再現、さらにはヒト疾患モデルマウスを用いた治療法の開発が期待できる。

2. 急性骨髄性白血病における幹細胞の同定

上述した種々の技術革新の恩恵を蒙り、1990年代にカナダ・トロント大学のJohn Dickらが、急性骨髄性白血病（Acute myelogenous leukemia：AML）において初めて、ヒトがん幹細胞の存在、すなわち白血病幹細胞の同定に成功した¹⁾。ヒト正常造血では、造血幹細胞は分化抗原陰性CD34⁺CD38⁻細胞分画に濃縮して存在し、その下流の前駆細胞群は分化抗原陰性CD34⁺CD38⁺細胞分画、さらに分化が進行するに従いCD34の発現レベルは低下していく。AML患者の発症時骨髄では、大多数のAML細胞はCD34⁺CD38⁺またはCD34⁻CD38⁺細胞であるが、これらの細胞分画を免疫不全マウスに移植してもAMLを発症しなかった。一方、発症時AMLの中にも極少数のみ存在するCD34⁺CD38⁻分画はマウスに同一のAMLを再現させ、再構築された白血病細胞の大多数はCD34⁺CD38⁺またはCD34⁻CD38⁺細胞であった。さらに移植後発症したヒトAML細胞を、2次マウスに連続移植しても同じAMLの発症が確認された。Dickらは、ヒトAMLをレシピエントマウスに再構築する能力を有する白血病幹細胞は、CD34⁺CD38⁻分画に限定して存在すると報告した¹⁾。さらに彼らは、ウイルスベクターを用いて遺伝子マーキングしたAML

細胞を連続して継代移植して、そのクローンを追跡したところ、CD34⁺CD38⁻白血病幹細胞集団にも長期にわたって白血病を再構築できる幹細胞と短期間しかAMLを維持できない前駆細胞が混在する細胞集団であることを明らかにした。以上の実験結果から、正常造血幹細胞システムを模倣するかの如く、AMLにも機能的に階層性を形成した白血病幹細胞システムを構築していることが提唱された（図1）。

3. 遺伝子異常の集積する幹細胞・前駆細胞

白血病は、単発の遺伝子異常のヒットで発症するのではなく、複数の遺伝子異常が蓄積して発症する多段階白血病発症機構が一般的である。従って、自己複製能を有する造血幹細胞は生存期間も長いと、多彩な遺伝子変異に遭遇する機会も必然と多く、さらに獲得された遺伝子変異も長期間にわたり蓄積されることから、白血病の標的になり易いと想定される。さらに造血幹細胞の特性として既に獲得されている自己複製機構が、白血病幹細胞の自己複製能としても巧みに利用されれば、造血幹細胞レベルで白血病化する可能性も高まる。

長期間に渡り多種類の遺伝子異常を蓄積した造血幹細胞は、既に正常の幹細胞とは異なる“pre-leukemic stem cell”と呼称すべき状態で自己複製しながら、同一の遺伝子異常を有する前駆細胞群を産生する（図2）。これら複数の異常前駆細胞の中のひとつが、白血病幹細胞化に必須である最後の遺伝子異常を終には獲得し、白血病幹細胞に形質転換すると考えられる。上述した多段階の白血化過程は、8；21転座型AMLや慢性骨髄性白血病のみならず、慢性リンパ性白血病などにおいて証明されている。

動物実験系による検討では、MLL-ENL、MLL-AF9、MOZ-TIF2など一部の白血病関連遺伝子

図2. 急性骨髄性白血病の多段階白血病発症機構モデル。自己複製能を有する造血幹細胞に複数の遺伝子異常が蓄積して“pre-leukemic stem cell”へと形質転換する。これらの細胞は白血病前駆細胞群を産生しながら、終には白血病幹細胞化に必須である遺伝子異常を獲得して、白血病幹細胞に進展する。

は、造血幹細胞のみならず前駆細胞を白血病幹細胞化させ得ることが実証されている。自己複製能を喪失し分化系統が決定された前駆細胞群に、新たに増殖能を賦与可能な遺伝子異常が生じた場合に、既にコミットした分化系統で白血病幹細胞に形質転換できる可能性を示している。また最近、種々のヒト白血病細胞移植実験において、 $CD34^{+}CD38^{+}$ のAML細胞にもAML発症能力があることや、急性リンパ性白血病（acute lymphocytic leukemia：ALL）では $CD34^{+}CD38^{+}$ 細胞や $CD34^{-}$ 細胞にもALL発症能力を有することが報告されている。特にALLにおいては、リンパ系分化マーカーを発現した前駆細胞に相当する $CD34^{+}CD38^{-}CD19^{+}$ 分画や $CD34^{+}CD38^{+}CD19^{+}$ 分画にも高頻度にALL発症能を認め、継代移植においても同一のALLの発症が確認された^{4,5)}。また少数の細胞でマウスにALLを再現させ得ることが可能であり、白血病幹細胞活性が極めて高いことが報告された。従来の報告と異

なる理由として、レシピエントマウスの免疫不全状態がさらに高度に改変され、効率良いアッセイ系に進化し、従来の手法では検出できなかった幹細胞活性が見出されるようになったのかもしれない。すなわち、白血病発症原因となる遺伝子異常においてheterogeneityの高い急性白血病では、病型によっては階層性と幹細胞フェノタイプが全てに共通して認められるわけではない可能性が示されている。

さらに近年ALLにおいて、FISH（fluorescence *in situ* hybridization）法によりPax5やCDKN2遺伝子等のコピー数の変化（欠失もしくは増幅）や、SNPアレイを用いてDNAコピー数の変化（DNA copy number alteration：CNA）を解析して、個々のALL細胞のゲノム異常状態が検討されている^{6,7)}。これらの解析結果では、オリジナルのクローンに加えて、ゲノム欠失や増幅が加わって新たに派生した多様なサブクローン集団から構成されていること、派生したサブクロー

トピックス

図3. 急性リンパ性白血病（ALL）の発症および進展モデル。ALL診断時にすでに複数の白血病幹細胞活性を有するサブクローン（foundingクローン）が存在している。治療によりクローンサイズの減少または根絶がもたらされても、残存するサブクローンに新規の遺伝子異常が加わり、別のサブクローンが派生する。治療抵抗性を獲得したサブクローンが再発時に優性となり、初診時とクローン構成が変化し得る（branching model）。

ンは発症時と再発時で異なり二次マウスへの継代移植で優性クローンが変化することも示された。サブクローンの系統樹解析では、疾患の進展に伴ってオリジナルクローンに新規の変異が生じ、多様なサブクローンの派生がみられる分枝構造を呈していた。実際のALL臨床症例においても、診断時と再発時では異なるCNAプロファイルが認められ、再発時の優性クローンには新たに細胞周期制御やB細胞分化関連遺伝子のCNAを認めるが、既にこのクローンは診断時にも少数クローンとして存在することも示された^{6,7)}。すなわち、ALLにおいては階層性モデルとは異なり、オリジナルのALL幹細胞にゲノム異常が加わり、ゲノム的に異なる多様なサブクローン白血病幹細胞が次々とダイナミックに派生する分枝モデル（branching model）が提唱されてい

る（図3）。これにより、多彩なゲノム異常が獲得されて派生したサブクローンが治療抵抗性または再発に寄与するメカニズムが推測される。

4. 白血病幹細胞化に必要な遺伝子異常

白血病幹細胞が獲得する多種類の遺伝子異常は、増殖優位性を賦与する遺伝子異常（class I）と分化を障害する遺伝子異常（class II）に大別され分類されてきた（図3）⁸⁾。例えば、実験的に単離した細胞群にclass I遺伝子異常のみを導入しても、造血幹細胞から分化過程の前駆細胞・成熟細胞が増加する骨髓増殖性腫瘍（myeloproliferative neoplasm：MPN）の病態を呈し、急性白血病の発症には至らない。同様に、class II遺伝子異常は分化障害を招来するのみで、この異常

を獲得したクローンが正常造血に対して増殖優位性を得ることはできず、急性白血病は発症しない。class Iとclass II遺伝子異常を2つ併せて遺伝子導入して初めてAMLを発症する。すなわち、多くの白血病発症には、少なくともこれらclass Iとclass II双方の遺伝子異常が必要と考えられ、白血病発症の“two hit model”として提唱されている⁸⁾。白血病キメラ遺伝子PML-RARAやAML1-ETO (MTG8)を造血幹細胞や顆粒球前駆細胞に遺伝子導入しても急性白血病を発症しないが、例えば抗アポトーシス蛋白bcl2を共発現させると、顆粒球前駆細胞からもAMLを発症することが実証されている。極めて人工的な実験系ではあるが、造血幹細胞のみならず、分化の方向付けが決定された前駆細胞においてさえ、class II変異に加えてclass I遺伝子異常の獲得により、一度喪失した自己複製能を再獲得して白血病幹細胞へとリプログラミングされ得ることが示されている。

8:21 転座型AMLは、造血分化に必須のマスター制御転写因子AML1を転座対象としてAML1-ETOキメラが形成され生じる白血病で、この融合遺伝子は正常のAML1の血液分化機構を障害する代表的なclass II異常に分類される。私どもは、10年以上長期寛解を維持し臨床的には治癒と見なされる8:21 転座型AML患者において、AML1-ETO mRNAが持続的に検出されることを報告している^{9,10)}。長期寛解期に検出されるAML1-ETO遺伝子の起源を検索したところ、極少数の造血幹細胞がAML1-ETOを発現しており、AML1-ETO陽性造血幹細胞は自己複製をしながら、赤芽球・巨核球・好中球・単球・B細胞に分化し、正常造血に寄与することを明らかにした。すなわち、1) 8:21 転座は自己複製能を有する造血幹細胞レベルに生じるが、2) 8:21 転座の獲得のみでは白血化に至らず、加えて増殖力強化に関与するclass I遺伝子異常の獲得がAML発症に必要な多段階発症機構である、こと

を示している^{9,10)}。付加的な遺伝子異常の候補として、8:21 転座型AMLに比較的高頻度に認められるc-Kit, N-Ras, Flt3 遺伝子異常など増殖力賦与に関与する異常が想定されている。

さらに次世代シーケンサーによる網羅的全ゲノム解析に代表されるように近年の遺伝子解析技術の進歩に伴い、AMLなど骨髄系腫瘍における新たな遺伝子変異が次々と報告され、その臨床的意義や白血病発症機構の細分類が検討されている¹¹⁾。従来のclass Iやclass II遺伝子異常のように白血病細胞のジェネティックな遺伝子異常に加え、種々のエピジェネティックな遺伝子異常が白血病発症に関与していることが明らかにされている。例えば、IDH1/2, TET2, DNMT3AなどDNAメチル化制御関連遺伝子や、EZH2やASXL1などヒストン制御に関わる遺伝子など様々なエピジェノム修飾分子の遺伝子変異により遺伝子発現制御が破綻することで、白血病発症に深く関与することが示されている¹¹⁾。また、TP53やCDKN2A/Bなど癌抑制遺伝子の異常、さらに、U2AF1やSF3B1などRNAスプライシング関連遺伝子変異も白血病発症に関連している。それぞれに異なる白血病発症機序を有する多彩な遺伝子変異が複雑にからみ合って、最終的に白血病の発症・進展に至るものと考えられる(図4)。これら多数の遺伝子変異の中から、どの遺伝子変異が、どのタイミングで、どの順番で組み合わさることで、どのフェノタイプを示す白血病・造血器腫瘍に進展するのか、今後の研究の展開が期待される。

5. 白血病幹細胞のニッチ

正常造血幹細胞が未分化性を維持するためには、骨髄の内骨膜骨芽細胞や類洞血管内皮細胞など支持細胞と接着して存在する必要がある、この特殊な微小環境は造血幹細胞ニッチと呼ばれている。白血病幹細胞も造血幹細胞と同様に

トピックス

図 4. 白血病化には 2 種類以上の遺伝子異常が必要なtwo-hit theoryが提唱されている⁸⁾。細胞増殖・生存関連class I 遺伝子異常と、細胞分化関連class II 遺伝子異常に加え、近年はエピジェノム修飾分子、癌抑制遺伝子 RNAスプライシング関連遺伝子変異等も白血病の発症と病態形成に深く関与していることが明らかにされている¹¹⁾。

白血病ニッチを必要とし、その場で自己複製や生存に必要なシグナルを伝達され、自己の未分化性を維持すると想定されてきた。IshikawaらはヒトAML細胞を免疫不全マウスに異種移植し、マウス骨髓内にヒトAML幹細胞であるCD34⁺CD38⁻細胞が内骨膜に接して存在していることを報告した¹²⁾。この部位は、正常造血幹細胞が存在する内骨膜ニッチと解剖学的に一致し、このニッチに存在するヒトAML幹細胞の大多数は細胞周期の静止期G0に留まっていた。細胞周期依存性抗癌薬cytosine arabinosideをこのヒト化AMLマウスに投与すると、大多数の細胞回転の早い白血病芽球は死滅するが、細胞周期静止期にあるCD34⁺CD38⁻細胞は抗癌薬抵抗性を示し、内骨膜上のニッチに接して生存し得た。このヒト化AMLマウスに顆粒球コロニー刺激因子G-CSFを投与したところ、内骨膜に接する白血病幹細胞の多数が細胞周期に導入されることが明ら

かにされた¹²⁾。以上より、AML幹細胞は内骨膜ニッチを占拠することで、AMLを維持・進展させることが示された。また白血病幹細胞ニッチに何らかの修飾を加えることにより、白血病幹細胞を根絶させる新たな治療法開発の可能性も併せて示された。

6. 白血病幹細胞を標的とした新規治療法

白血病幹細胞と正常造血幹細胞は、細胞表面抗原、未分化性を維持する分子機構、自己複製に関与する遺伝子、幹細胞ニッチなど非常に類似した共通点が多い。従って白血病幹細胞を標的とした治療法を確立するには、白血病幹細胞と正常造血幹細胞の極微小な生物学的特性の差異を明らかにし、正常造血幹細胞を温存する治療戦略を見出す必要がある。そのため白血病幹細胞に特異的な、1) 表面抗原、2) 自己複製関

連分子, 3) 細胞増殖・生存関連分子, 4) ニッチとの相互作用に関与する分子, 5) 細胞周期関連分子, などが治療標的候補として考えられる。

これらの標的候補の中で, サイトカイン併用化学療法¹²⁾や白血病幹細胞特異的の表面抗原 (CD123¹³⁾, CD44¹⁴⁾, CD47¹⁵⁾) に対するモノクローナル抗体は, ヒト化白血病マウスモデルにおいてAML白血病幹細胞に対する効果が検証されている。治療効果および特異性の観点からは, 細胞表面抗原を標的としたモノクローナル抗体による治療は有望である。しかしながら, これら報告のある表面抗原は, 正常造血幹細胞にも発現が認められ, よりAML白血病幹細胞特異的かつ高発現する抗原の同定が必要であった。この問題点を解決するために, 私どもは, AML白血病幹細胞および正常造血幹細胞を純化し, マイクロアレイを用いて網羅的遺伝子発現解析を行い, 正常造血幹細胞には発現せず, 白血病幹細胞に特異的に高発現する細胞表面抗原としてT cell immunoglobulin mucin-3 (TIM-3) を新規に同定した。TIM-3 を標的としたモノクローナル抗体治療が*in vivo*で正常造血幹細胞には影響を与えず, AML幹細胞を特異的に傷害しうることを報告した¹⁶⁾。

おわりに

AML幹細胞同定の最初の報告から20年以上が経過し, 種々の技術革新により白血病幹細胞研究は著しく進展し, その理解もより一層深まっている。正常造血幹細胞と同一フェノタイプとされていた白血病幹細胞はCD34⁺CD38⁻細胞以外にも存在しており, 極めてheterogenousな白血病では必ずしも共通した階層性が認められるわけではない可能性も示されている。また白血病幹細胞化に必要な遺伝子異常も, 増殖能亢進 (class I) と分化停止 (class II) に加えて, 様々なジェネティックな遺伝子異常とエピジェノム

修飾分子の遺伝子変異が複雑に絡み合い白血病化に至る過程が明らかになりつつある。白血病幹細胞をめぐる冒険は未だ序章にすぎないのかもしれない。しかし, このような研究成果を基盤に, 現在では白血病発症機序の解明のみならず, 白血病幹細胞を直接の治療標的として臨床応用を目指す段階にまで到達しつつある。今後もさらなる白血病幹細胞研究の発展に期待したい。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Bonnet D, Dick JE: Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 3: 730-737, 1997.
- 2) Ishikawa F, et al: Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor γ chain (null) mice. *Blood* 106: 1565-1573, 2005.
- 3) Takenaka K, et al: Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 8: 1313-1323, 2007.
- 4) Tanizaki R, et al: Irrespective of CD34 expression, lineage-committed cell fraction reconstitutes and reestablishes transformed Philadelphia chromosome-positive leukemia in NOD/SCID/IL-2R γ chain^{-/-} mice. *Cancer Sci* 101: 631-638.
- 5) Kong Y, et al: CD34⁺CD38⁺CD19⁺ as well as CD34⁺CD38⁻CD19⁺ cells are leukemia-initiating cells with self-renewal capacity in human B-precursor ALL. *Leukemia* 22: 1207-1213, 2008.
- 6) Anderson K, et al: Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia. *Nature* 469: 356-361, 2011.
- 7) Mullighan CG, et al: Genomic analysis of the clonal origins of relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Science* 322: 1377-1380, 2008.
- 8) Gilliland DG, Tallman MS: Focus on acute leukemias. *Cancer Cell* 1: 417-420, 2002.
- 9) Miyamoto T, et al: Persistence of multipotent progenitors expressing AML1/ETO transcripts in long-term remission patients with t(8;21) acute myelogenous leukemia. *Blood* 87: 4789-4796, 1996.
- 10) Miyamoto T, et al: AML1/ETO-expressing nonleukemic stem cells in acute myelogenous leukemia with 8;21 chromosomal translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 7521-7526, 2000.

トピックス

- 11) Murati A, et al : Myeloid malignancies : mutations, models and management. BMC Cancer 12 : 304, 2012.
 - 12) Ishikawa F, et al : Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone-marrow endosteal region. Nat Biotechnol 25 : 1315-1321, 2007.
 - 13) Jin L, et al : Monoclonal antibody-mediated targeting of CD123, IL-3 receptor alpha chain, eliminates human acute myeloid leukemic stem cells. Cell Stem Cell 5 : 31-42, 2009.
 - 14) Jin L, et al : Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells. Nat Med 12 : 1167-1174, 2006.
 - 15) Majeti R, et al : CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells. Cell 138 : 286-299, 2009.
 - 16) Kikushige Y, et al : TIM-3 is a promising target to selectively kill acute myeloid leukemia stem cells. Cell Stem Cell 7 : 708-717, 2010.
-