

令和 2 年 5 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09916

研究課題名(和文)多発性骨髄腫に対するHDAC阻害療法の最適化の検討

研究課題名(英文)Optimization of treatment for multiple myeloma with HDAC inhibitors

研究代表者

今井 陽一 (IMAI, YOICHI)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：10345209

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：HDAC阻害がセレブロン非依存性のIKZF1の低下をもたらす抗腫瘍効果を示した。IKZF1はADCC活性に重要なNKG2DリガンドMICA発現を抑制するが、HDAC阻害でIKZF1発現低下を介しMICAの発現を増強し治療抗体のADCC活性を増強することを示した。骨髄腫414症例の解析でMICAの高発現により有為に生存率が高くなった。細胞内シグナル分子GSK-3のリン酸化によるc-Myc分解抑制がレナリドミド耐性をもたらす、AKT阻害薬はGSK-3リン酸化阻害によりレナリドミド耐性を克服した。以上よりHDAC+AKT阻害は抗腫瘍効果と免疫賦活化で難治性を克服する可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性骨髄腫は、プロテアソーム阻害薬・IMiDs (immunomodulatory drugs)などの新規薬剤の導入により、生存率の改善がみられている。一方で、プロテアソーム阻害薬・IMiDsの両方に抵抗性を示すdouble refractory症例に対する治療は困難なことが多く有効な治療法の開発が急務となっている。悪性腫瘍の再発・難治化には腫瘍免疫からの回避(escape)が深く関与する。本研究によって得られた知見は、HDAC阻害薬を含む低分子化合物により細胞内シグナル修飾などによる抗腫瘍効果と免疫賦活化の両面から造血管腫瘍の難治性を克服する新規治療法の開発の基盤を形成すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We focused on the effect of histone deacetylase (HDAC) inhibitors in MM resistant to lenalidomide. We found that the HDAC inhibitors could activate NK cell activity by enhancing the expression of natural killer group 2D ligands (NKG2DLs) initiating an immune response against the target cells. Thus, HDAC inhibitors strengthen antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) of monoclonal antibodies (mAbs) irrespective of cereblon (CRBN), a primary target for lenalidomide. Resistance to lenalidomide is also caused by enhanced phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 (p-GSK-3). GSK-3 is known to degrade c-Myc and inactivated through phosphorylation by PI3K/Akt. Thus, enhanced p-GSK-3 by Akt leads to stabilization of c-Myc and elongated survival of MM cells. Akt inhibitor, blocked p-GSK-3 and this inhibition was enhanced by addition of HDAC inhibitors. Combination of HDAC and Akt inhibitors had a synergistic effect in terms of cell cytotoxicity and c-Myc suppression.

研究分野：血液内科学

キーワード：多発性骨髄腫 HDAC阻害 AKT阻害 ADCC NKG2D GSK-3 IKZF1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、多発性骨髄腫細胞でカルシニューリン酵素活性サブユニット PPP3CA の高発現が NF- $\kappa$ B シグナルの活性化と病勢悪化をもたらすことを明らかにした。さらに、ヒストン脱アセチル化酵素(histone deacetylase: HDAC)阻害剤は PPP3CA の発現抑制効果を示した。本研究では PPP3CA による NF- $\kappa$ B シグナル活性化の分子機構を解明し、HDAC 阻害剤の NF- $\kappa$ B シグナル抑制による抗骨髄腫効果を効率的に増強する法を探索する。また、予備実験で HDAC 阻害による骨髄腫細胞の腫瘍免疫抗原の発現の変化を見出した。本研究では、HDAC 阻害による骨髄腫細胞に対する腫瘍免疫応答の変化の機構を明らかにする。両知見を基に、腫瘍性を維持する細胞内シグナルの阻害と腫瘍免疫の賦活化の双方から骨髄腫に対する HDAC 阻害治療の最適化を目指す。

#### 2. 研究の目的

研究代表者は、骨髄腫細胞における PPP3CA による NF- $\kappa$ B シグナルの活性化・HDAC 阻害による腫瘍免疫抗原の発現の変化を独自に見出した。これらの知見を基に、NF- $\kappa$ B シグナル制御による骨髄腫細胞の増殖抑制と腫瘍免疫賦活化の両面から多発性骨髄腫に対する HDAC 阻害療法の最適化をめざし、新たな難治性骨髄腫治療の基盤を形成する。特に、本研究による HDAC 阻害剤と抗体の併用療法の preclinical research で有望な結果が得られれば、当施設を中心として併用療法の臨床試験を積極的に進めていく。

#### 3. 研究の方法

パノピノスタット、ロミデプシン、ACY-1215 処理による NK 細胞の細胞傷害活性の標的抗 (MICA/MICB、ULBP-2/5/6、CD112、CD155 など)、CD55、CD59 及び PD-L1 の発現を U266、KMS-11、KMS-18、KMS-12PE、KMS-26、RPMI8226 などの骨髄腫細胞株で解析する。発現の変化の分子機構について mRNA の解析からエピジェネティクスによる制御を検討する。mRNA に変化がない場合には、プロテアソーム阻害薬によるタンパク質安定性の変化やタンパク質安定性をもたらす HSP90 などの分子シャペロンとの結合性を SDS-PAGE、ウエスタン・ブロッティング、免疫沈降法を用いて解析する。

elotuzumab や daratumumab などの抗体はこれまで主にボルテゾミブあるいはレナリドミドとデキサメタゾンとの併用が検討されてきた。そこで、ボルテゾミブ・レナリドミド・デキサメタゾン処理による上記抗原の発現の変化を解析し、HDAC 阻害剤の場合と比較し腫瘍免疫の賦活化に最適な治療法を検討する。

骨髄腫細胞株にレンチウイルスを用いてルシフェラーゼ発現ベクターを導入し、ADCC 活性(エフェクター細胞を含む健常者末梢血単核球存在下で治療抗体とコントロール抗体で細胞傷害活性を比較)と CDC 活性(複数人の健常者血清とその非動化血清存在下で治療抗体による細胞傷害活性を比較)を評価する。細胞数は IVIS を用いて計測する。症例由来骨髄腫細胞についても、ToPro-3 色素を用いたフローサイトメトリーにより生細胞数をカウントし評価する (Nijhof et al., Leukemia 2015)。HDAC 阻害剤による NK 細胞機能の低下も報告されており (Garrido et al., Front Immunol 2016)、ADCC・CDC 活性を総合的に評価し最も効果が高い HDAC 阻害剤と抗体の併用療法の確立を目指す。

#### 4. 研究成果

HDAC 阻害がセレブロン非依存性の IKZF1 の低下をもたらす抗腫瘍効果を示した。IKZF1 は ADCC 活性に重要な NKG2D リガンド MICA 発現を抑制するが、HDAC 阻害で IKZF1 発現低下を介し MICA の発現を増強し治療抗体の ADCC 活性を増強することを示した。骨髄腫 414 症例の解析で MICA の高発現により有為に生存率が高くなった。細胞内シグナル分子 GSK-3 のリン酸化による c-Myc 分解抑制がレナリドミド耐性をもたらす、AKT 阻害薬は GSK-3 リン酸化阻害によりレナリドミド耐性を克服した。以上より HDAC+AKT 阻害は抗腫瘍効果と免疫賦活化で難治性を克服する可能性を明らかにした。

(1) Hirano H, Imai Y, Murayama T, Sato K, Yamamoto J, Takumi Ito, Futami M, Ri M, Yasui H, Gotoh N, Iida S, Ishida T, Handa H, Tojo A. Combined Inhibition of HDAC and AKT As a Strategy to Overcome Multi-Drug Resistance in Patients with Multiple Myeloma. 61th American Society of Hematology Annual meeting, Dec 9, 2019, Orlando, USA

(2) 薬剤抵抗性多発性骨髄腫に対する新規戦略としての HDAC 阻害薬と AKT 阻害薬、平野 光人、今井 陽一、村山 貴彦、佐藤 広太、山本 淳一、二見 宗孔、李 政樹、伊藤 拓水、安井 寛、後藤 典子、飯田 真介、半田 宏、東條 有伸、第 81 回日本血液学会学術集会、2019 年 10 月 12 日、東京

1) Imai Y\*, Hirano M, Kobayashi M, Futami M, and Tojo A. HDAC inhibitors exert anti-myeloma effects through multiple modes of action. *Cancers* 11, 475; doi: 10.3390/cancers11040475, 2019 (2018 impact factor 6.1602) \*: corresponding author

2) Imai Y\*, and Tojo A. Chapter 16 Regulation of Calcineurin Signaling Through Blocking

of the Chaperone Function of Hsp90 by HDAC Inhibitors. ***Heat Shock Proteins in Signaling Pathways, Heat Shock Proteins 17*** (Editors, Asea AAA and Kaur P), pp 317-328, Springer, 10 July 2019

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ishibashi M, Takahashi R, Tsubota A, Sasaki M, Handa H, Imai Y, Tanaka N, Tsukune Y, Tanosaki S, Ito S, Asayama T, Sunakawa M, Kaito Y, Kuribayashi-Hamada Y, Kondo-Onodera A, Moriya K, Komatsu N, Tanaka J, Odajima T, Sugimori H, Inokuchi K, and Tamura H.	4. 巻 18
2. 論文標題 SLAMF3-mediated signaling via ERK pathway activation promotes aggressive myeloma behaviors in multiple myeloma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 632-643
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1541-7786.MCR-19-0391.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukune Y, Sasaki M, Isoda A, Ando J, Koike M, Matsumoto M, Sawamura M, Tamura H, Handa H, Imai Y, Yahata Y, and Komatsu N.	4. 巻 9
2. 論文標題 Safety of lenalidomide, dexamethasone, and cyclophosphamide in elderly Japanese patients with relapsed and refractory multiple myeloma: results of phase 1 study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Myeloma	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishibashi M, Ueda K, Imai Y, Inokuchi K, Morita R, Tamura H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Notch1&JAG1 signaling induces aggressive myeloma cell behaviors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Myeloma	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imai Y*, Hirano M, Kobayashi M, Futami M, and Tojo A.	4. 巻 11
2. 論文標題 HDAC inhibitors exert anti-myeloma effects through multiple modes of action.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 475
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.3390/cancers11040475	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Imai Y, Hirano M, Kobayashi M, Futami M, and Tojo A.	4. 巻 11
2. 論文標題 HDAC inhibitors exert anti-myeloma effects through multiple modes of action.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 475-489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11040475	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishibashi M, Soeda S, Sasaki M, Hand H, Imai Y, Tanaka N, Tanosaki S, Ito S, Odajima T, Sugimori H, Asayama T, Sunakawa M, Kaito Y, Kinoshita R, Kuribayashi Y, Onodera A, Moriya K, Tanaka J, Tsukune Y, Komatsu N, Inokuchi K and Tamura H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Clinical impact of serum soluble SLAMF7 in multiple myeloma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 34784-34793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirano M, Ota Y, Koibuchi T, Takei T, Takeda R, Kawamata T, Yokoyama K, Uchimaru K, Yotsuyanagi H, Imai Y, Tojo A.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Nested polymerase chain reaction with specific primers for Mucorales in the serum of patients with hematological malignancies.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wang YH, Imai Y, Shiseki M, Tanaka J, Motoji T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Knockdown of the Wnt receptor Frizzled-1 (FZD1) reduces MDR1/P-glycoprotein expression in multidrug resistant leukemic cells and inhibits leukemic cell proliferation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Leuk Res	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komeno Y, Ota Y, Koibuchi T, Imai Y, Iihara K, Ryu T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Secondary syphilis with tonsillar and cervical lymphadenopathy and a pulmonary lesion mimicking malignant lymphoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Am J Case Rep	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maki H, Nannya Y, Imai Y, Yamaguchi S, Kamikubo Y, Ichikawa M, Nakamura F, Kurokawa M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Nonmyelomatous ascites resulting from the increased secretion of vascular endothelial growth factor in multiple myeloma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasu T, Imai Y, Ohno N, Uchimaru K, Kurokawa Y, Tojo A.	4. 巻 -
2. 論文標題 Hypersensitivity reaction to beta-lactam antibiotics in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma treated with mogamulizumab.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Clin Pharmacol Ther	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa M, Yokoyama K, Hirano M, Jimbo K, Ochi K, Kawamata T, Ohno N, Shimizu E, Yokoyama N, Yamaguchi R, Imoto S, Uchimaru K, Miyano S, Imai Y*, Tojo A.	4. 巻 -
2. 論文標題 Different clonal evolution of chronic myeloid leukemia between bone marrow and the central nervous system.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Br J Haematol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirano M, Jimbo K, Ogawa M, Ochi K, Makiyama J, Kawamata T, Yokoyama K, Tanaka T, Inamoto Y, Yamano Y, Fukuda T, Uchimaru K, Imai Y, Tojo A.	4. 巻 -
2. 論文標題 Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in adult T-cell leukemia-lymphoma patients following allogeneic stem cell transplantation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplantation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Hirano H, Imai Y, Murayama T, Sato K, Yamamoto J, Takumi Ito, Futami M, Ri M, Yasui H, Gotoh N, Iida S, Ishida T, Handa H, Tojo A.
2. 発表標題 Combined Inhibition of HDAC and AKT As a Strategy to Overcome Multi-Drug Resistance in Patients with Multiple Myeloma.
3. 学会等名 61th American Society of Hematology Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平野 光人、今井 陽一、村山 貴彦、佐藤 広太、山本 淳一、二見 宗孔、李 政樹、伊藤 拓水、安井 寛、後藤 典子、飯田 真介、半田 宏、東條 有伸
2. 発表標題 薬剤抵抗性多発性骨髄腫に対する新規戦略としてのHDAC阻害薬とAKT阻害薬
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Imai Y
2. 発表標題 Combined HDAC and AKT inhibition as a strategy to overcome multi-drug resistant multiple myeloma.
3. 学会等名 4th SNU BIO symposium, 26th East Asia Joint Symposium on Biomedical Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirano M, Imai Y, Ung WC, Sato K, Futami M and Tojo A.
2. 発表標題 Histone Deacetylase Inhibitors with or without AKT Inhibition Potentially Increase the Efficacy of Daratumumab in Multiple Myeloma By Enhancing the Antibody-Dependent Cell-Mediated and Complement-Dependent Cytotoxicity As Well As Apoptosis.
3. 学会等名 10th American Society of Hematology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井 陽 一、平野光人、佐藤広太、二見宗孔、東條有伸
2. 発表標題 骨髄腫治療におけるHDAC阻害による細胞内シグナル阻害と腫瘍免疫賦活化
3. 学会等名 日本骨髄腫学会学術集会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平野 光 人、今井 陽一、二見 宗孔、東條 有伸
2. 発表標題 HDAC and AKT inhibitors enhance anti-myeloma effects of daratumumab.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mitsuhiro Hirano, Yoichi Imai, Wengchif Ung, Kota Sato, Muneyoshi Futami, Arinobu Tojo.
2. 発表標題 HDAC and AKT inhibitors enhance anti-myeloma effects of daratumumab.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Kobayashi M, Chanda B, Futami M, Yamashita M, Hirano M, Yokoyama K, Imai Y, Shimizu E, Yusa N, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S, Tojo A.
2. 発表標題 A Novel Mutant WASp in X-linked Neutropenia Partially Recapitulates Defective Neutrophil Production through its Expression in WASP-deficient NB4 Cells.
3. 学会等名 The 59th Annual Meeting of American Society of Hematology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ishibashi M, Tamura H, Asayama T, Kuribayashi-hamada Y, Onodera A, Moriya K, Sasaki M, Handa H, Imai Y, Tanaka N, Tanaka J, Tanosaki S, Ito S, Komatsu N, Inokuchi K.
2. 発表標題 The new immunoreceptor SLAMF3 promotes aggressive biological and clinical characteristics in multiple myeloma.
3. 学会等名 The 59th Annual Meeting of American Society of Hematology, 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 平野 光人、今井 陽一、神保 光児、小川 弥穂、越智 清純、川俣 豊隆、横山 和明、大野 伸広、山野 嘉久、福田 隆浩、内丸 薫、東條 有伸
2. 発表標題 ATL患者の同種造血幹細胞移植後に慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーを発症した3症例の解析
3. 学会等名 第4回日本HTLV-1学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hirano M, Imai Y, Jimbo K, Ogawa M, Ochi K, Kawamata T, Yokoyama K, Ohno N, Yamano Y, Fukuda T, Uchimaru K, Tojo A.
2. 発表標題 Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in ATL patients after allo-SCT.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jimbo K, Imai Y, Ogawa M, Hirano M, Ochi K, Kawamata T, Yokoyama K, Yasui H, Ohno N, Uchimaru K, Tojo A.
2. 発表標題 Viral infections in acute myeloid leukemia accompanied with adult T-cell leukemia/lymphoma.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Imai Y, and Tojo A	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 600
3. 書名 Heat Shock Proteins in Signaling Pathways, Heat Shock Proteins 17	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----