

令和元年6月20日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16179

研究課題名(和文) HDAC阻害薬によって骨髄腫細胞で変動するmicroRNAとその機能解析

研究課題名(英文) Function analysis of microRNAs regulated by HDAC inhibitors in multiple myelomas

研究代表者

池田 翔 (Ikeda, Sho)

秋田大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20791495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：多発性骨髄腫の新規治療薬であるHDAC阻害剤パノビノスタットの標的遺伝子解明と感受性患者の層別化を目指して研究を行った。網羅的microRNA発現解析によりHDAC阻害薬によって共通して発現が上昇するmicroRNA-188に着目し、その標的はIL-6レセプターであることがわかった。HDAC阻害薬は腫瘍抑制的microRNAの発現を回復させることで骨髄腫細胞の生存を阻害する可能性があると考えられた。さらに、腫瘍の生存がIL-6に依存している場合HDAC阻害薬の効果が高いと考えられ、今後患者検体と臨床データを検討する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性骨髄腫は悪性の血液腫瘍であり、次々と新規薬剤が登場し予後は延長しているものの、やがて新規薬剤へ抵抗性を獲得することや、新規薬剤に初めから耐性を示すクローンが存在することが認められる。HDAC阻害薬は近年骨髄腫に対し使用できるようになった、エピジェネティクスを標的とする新規薬剤であるが、その感受性は患者により大きく差異が認められる。HDAC阻害薬の標的microRNAや遺伝子を検討することで、HDAC阻害薬感受性患者の抽出ができる可能性がある。今回の研究でHDAC阻害薬はIL-6経路を阻害する可能性があり、今後さらに研究を進める予定である。

研究成果の概要(英文)：We studied to elucidate target genes of the HDAC inhibitor panobinostat, a novel therapeutic agent for multiple myeloma, and to stratify susceptible patients. By focusing on microRNA-188 whose expression is commonly elevated by HDAC inhibitors by comprehensive microRNA expression analysis, it was found that its target is the IL-6 receptor. It was thought that HDAC inhibitors may inhibit the survival of myeloma cells by restoring the expression of tumor suppressive microRNAs. In addition, if tumor survival is dependent on IL-6, the effects of HDAC inhibitors are likely to be high, and we plan to review patient specimens and clinical data in the future.

研究分野：血液内科学

キーワード：多発性骨髄腫 microRNA HDAC阻害薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫は悪性の血液腫瘍であり、次々と新規薬剤が登場し予後は延長しているものの、やがて新規薬剤へ抵抗性を獲得することや、新規薬剤に初めから耐性を示すクローンが存在することが認められる。HDAC 阻害薬は近年骨髄腫に対し使用できるようになった、エピジェネティクスを標的とする新規薬剤であるが、その感受性は患者により大きく差異が認められる。

2. 研究の目的

我々はこれまで、microRNA の発現変化を通じて造血管腫瘍の分子病態を研究してきたが、本研究ではHDAC 阻害薬により回復する microRNA や抑制される microRNA を骨髄腫患者検体を用いて同定し、その機能解析を行うことで、薬剤感受性をもつ患者の層別化を目標として研究を行った。

3. 研究の方法

骨髄腫細胞株 (KMS-11、MM.1S) に HDAC 阻害薬 (パノビノスタット、ポリノスタット) を添加し培養を行ったのち、RNA を抽出して網羅的 microRNA 発現解析を行った。変動した microRNA に対して、骨髄腫における重要な標的遺伝子を検討した。

4. 研究成果

1) 主な変動した microRNA として、miR-630 (上昇) miR-188 (上昇) miR-192 (上昇) などを見出した (図 1)

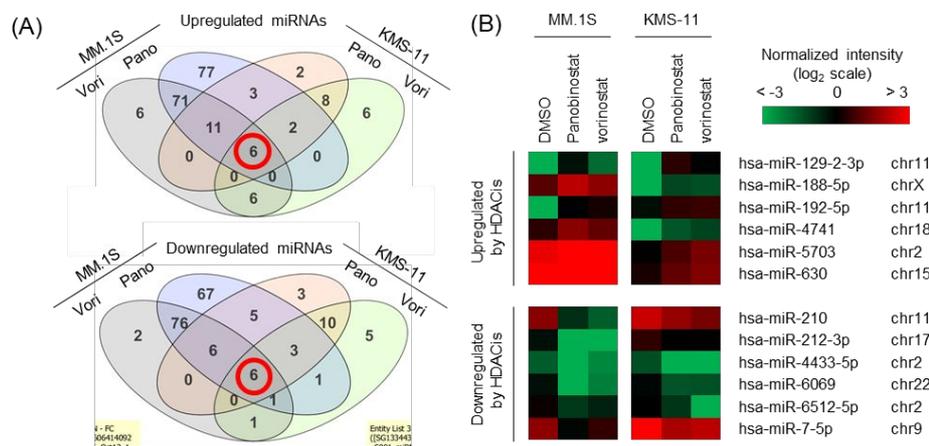


図 1、骨髄腫細胞株 (KMS-11、MM.1S) に HDAC 阻害薬 (パノビノスタット : Pano、ポリノスタット:Vori) を加えて変動がみられた microRNA を示す。(A)ベン図、(B)ヒートマップにより示す

2) はじめに miR-188 の検討を行った。miR-188 は病気が進行するにしたがって発現が低下することを見出した (図 2)。これは、miR-188 はエピジェネティックな抑制を受ける可能性を示唆する。

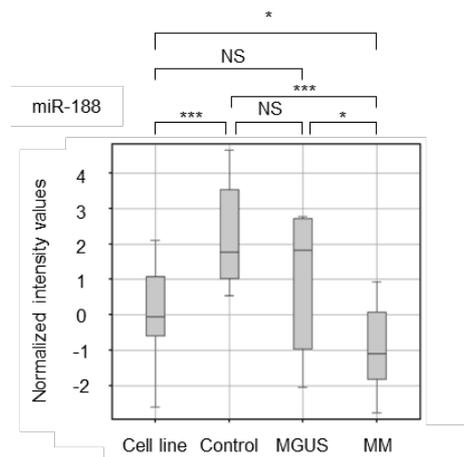


図 2、細胞株、正常形質細胞 (Control)、MGUS、MM における miR-188 の発現 (GSE24371)。正常形質細胞に比べ、骨髄腫細胞や細胞株では miR-188 の発現が抑制されている。

3) miR-188 の標的遺伝子を in silico で検討したところ IL-6 レセプターをコードする IL6ST が候補にあがった。IL-6 は骨髄腫の生存に重要なシグナルを伝達するインターロイキンである。IL6ST の 3'UTR には miR-188 結合サイトが 4 か所推測された (図 3A)。細胞株 6 種類 (KMS-11、RPMI-8226、MM.1S、H929、KMS-12-BM、U266) に、エレクトロポレーションにて miR-188 を導入すると、IL6ST の mRNA レベルが低下した (図 3B)。MM.1S についてはフリーサイトメトリーで、IL6ST/gp130 の発現を検討し、miR-188 導入による細胞表面の IL-6 レセプター (gp130) の抑制を観察できた (図 3C)。

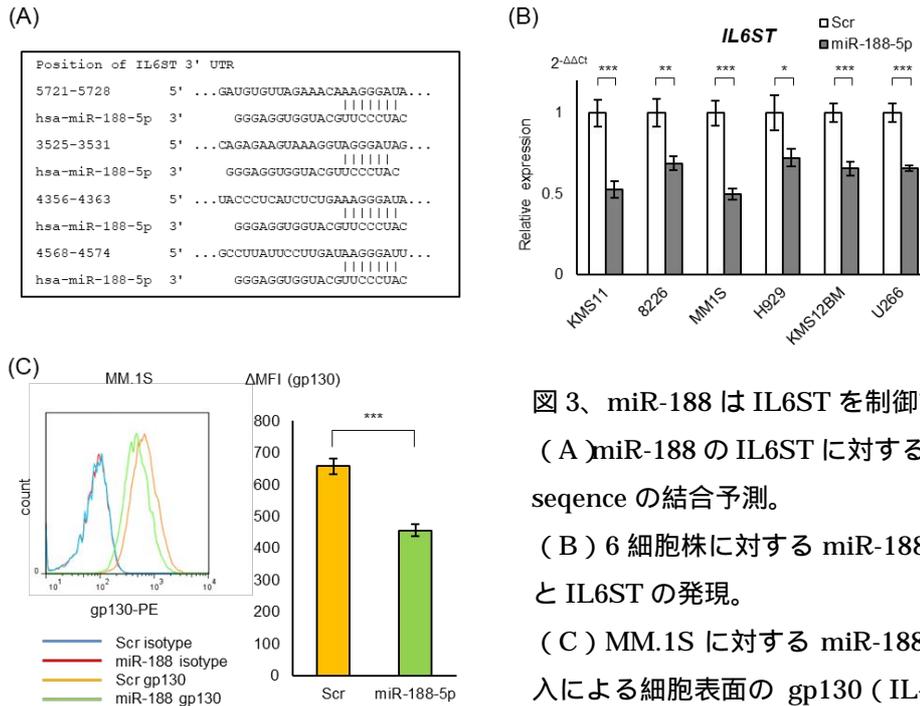
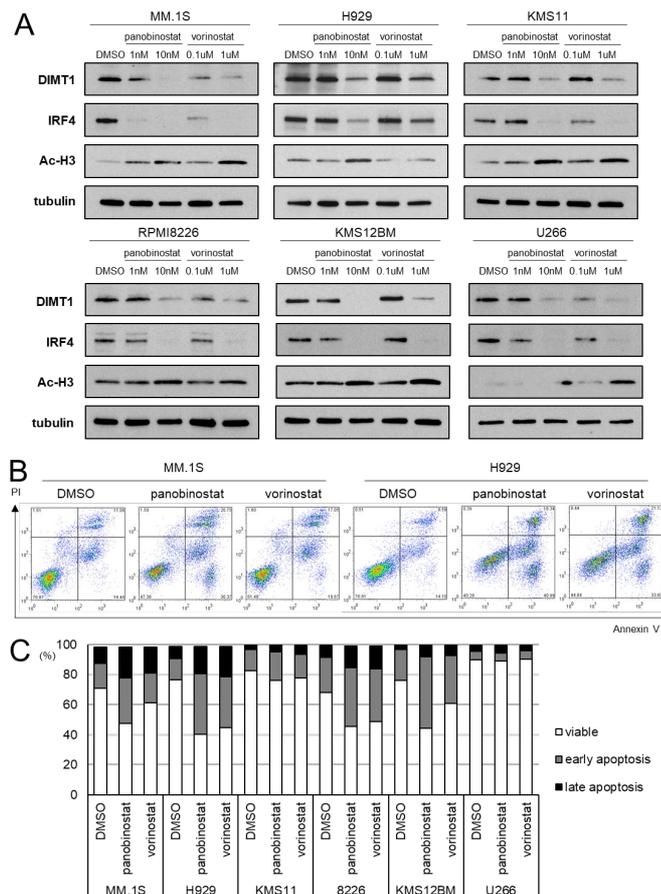


図 3、miR-188 は IL6ST を制御する。
 (A) miR-188 の IL6ST に対する seed sequence の結合予測。
 (B) 6 細胞株に対する miR-188 導入と IL6ST の発現。
 (C) MM.1S に対する miR-188 の導入による細胞表面の gp130 (IL-6R) の発現

4) また、HDAC 阻害薬により抑制される miR-192 の標的は新規骨髄腫がん遺伝子 DIMT1 であり、DIMT1 は IRF4 や MYC といったがん遺伝子を正に制御する。HDAC 阻害薬によりこれらのがん遺伝子は抑制され、細胞死が誘導された (図 4)。

図 4、HDAC 阻害薬によるがん遺伝子抑制とアポトーシス誘導
 (A) HDAC 阻害薬によるがん遺伝子 DIMT1 と IRF4 の抑制。
 (B、C) 細胞株に対する HDAC 阻害薬暴露によるアポトーシスの誘導。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

- 1) 池田翔、田川博之 マイクロ RNA を介した治療抵抗性の機序 血液内科 77(3) 336-342
2018年(査読なし)
- 2) Ikeda S, Kitadate A, Abe F, Takahashi N, Tagawa H. Hypoxia-inducible KDM3A addiction in multiple myeloma. Blood Advances 27;2(4)323-334 2018年(査読あり)
- 3) 池田翔、田川博之 骨髄腫を育む骨髄微小環境 Hypoxia, 血管新生 VEGF ほか. 多発性骨髄腫 Updating 10: : 骨髄腫治療を理解するための Myeloma Biology(10)176-182 2018年(査読なし)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

: なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 田川 博之

ローマ字氏名: Tagawa Hiroyuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。