

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：	若手研究(B)
研究期間：	2007～2008
課題番号：	19790677
研究課題名(和文)	染色体 1 q 2 1 領域の増幅を認める多発性骨髄腫の臨床病態および分子病態の解析
研究課題名(英文)	Analysis of clinical feature and molecular pathogenesis of multiple myeloma with the gain of chromosome arm 1q21
研究代表者	花村 一郎 (Ichiro Hanamura) 愛知医科大学・医学部・講師
研究者番号：	70440740

## 研究成果の概要：

ヒト骨髄腫細胞株を用いた検討では、染色体 1q21 領域の増加/増幅の多くは 1 番染色体そのものまたは長腕の増多に伴って起きたものであり、jumping/tandem translocation といった複雑な転座様式をとったものは約 30%であった。未治療 MM 例とは異なり細胞株においては 1q21 の増加の有無や増幅様式の差と、13q14 欠失、17p13 欠失、Ig 領域との染色体転座で脱制御される *CCND1* や *FGFR3*、*c-MAF*、*MAFB* などとの間に有意な相関は認めなかった。このことは、細胞株は進行期の病変から樹立されることが多いためと思われるが、MM において 1 番染色体長腕その中でも特に 1q21 は特異な領域であることが改めて示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	390,000	3,690,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：①癌 ②多発性骨髄腫 ③1q21 ④染色体転座 ⑤FISH

## 1. 研究開始当初の背景

本研究申請当時、国外においては多発性骨髄腫 (MM; multiple myeloma) に対して、サリドマイドやレナリドナイド、ボルテゾミブに代表される新規薬剤が臨床導入され、EFS (無病生存期間) や OS (全生存期間) をはじめと

する治療予後の著明な改善が示されつつあった。しかしながらこれら新規薬剤にても、MM は完治困難なうえその生命予後の個人差が著しいことも推測されていた。また上記 3 剤以外の数多くの新規薬剤の開発・臨床治験

が行われており MM のさらなる治療予後の改善には、層別化治療を目指した予後不良因子や病状進展・増悪に関連した因子の同定、さらにはそれら因子が病態に及ぼすメカニズムの解明が極めて重要であると考えられていた。そうした中、研究代表者は、米国アーカンソー州立大学骨髄腫治療研究所 (Myeloma Institute for Research and Therapy, University of Arkansas for Medical Sciences) にて、染色体 1q21 領域のコピー数の増加/増幅が MM における新規の予後不良因子であることを最初に見出し報告した (Blood 2006)。染色体 1q21 領域のコピー数の増加/増幅は FISH 法にて同定可能で、その異常の検出も比較的簡便であり、我が国の MM 実地臨床において従来から行われていた 13 番染色体欠失の検出同様、必須であると思われた。また染色体 1q21 領域のコピー数の増加/増幅を有する MM 患者は、サリドマイド投与により EFS、OS とも改善されないこと、また本異常は再発時においても治療予後不良因子であることが示唆されており、1q21 コピー数の増加/増幅を検出することは、当時我が国において認可間近と考えられていたサリドマイド投与判断の一つの判断材料となると同時に MM 治療予後改善に向けて極めて重要な検査であると考えられていた。

## 2. 研究の目的

MM における新規の予後不良因子である染色体 1q21 領域のコピー数の増加/増幅の細胞遺伝学的・分子生物学的・臨床的特徴の解析および、その異常検出の臨床導入に向けた条件設定の確立を目的とした。

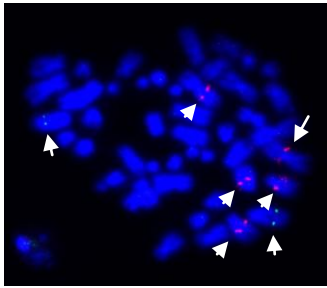
## 3. 研究の方法

染色体領域のコピー数の検討は、FISH (fluorescent *in situ* hybridization) 法

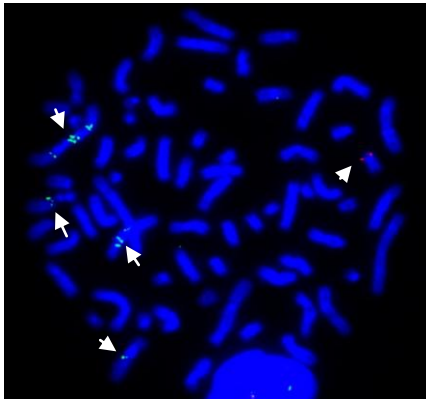
を用いて行った。1q21 領域の検討には、*CKS1B* を含む BAC (bacterial artificial chromosome) クローンを probe に用いた。他の領域 (13q14 や 17p13 など) も PAC (P1 artificial chromosome) や BAC クローンより FISH 用 probe を作製した。*CCND1* や *MMSET/FGFR3*、*c-MAF*、*MAFB* などの恒常的異所性過剰発現の有無は、以前の報告に加え市販の TaqMan probe を用いた real time PCR 法にて検討した。検体にはヒト MM 細胞株の metaphase を用いて MM における染色体 1q21 領域のコピー数および増加/増幅様式と代表的な MM の染色体異常との関係を検討した。

## 4. 研究成果

染色体 1q21 領域の増加/増幅は 80%以上の MM 細胞株に認められた。それらの多くは 1 番染色体そのものまたは長腕の増多に伴って起きたものであり、jumping translocation や tandem translocation といった複雑な転座様式をとったものは約 30%で認められた。以前に報告した未治療 MM の場合とは異なり、細胞株においては 1q21 増幅様式と、13q14 欠失、17p13 欠失、*Ig* 領域との染色体転座で脱制御される *CCND1* や *FGFR3/MMSET*、*c-MAF*、*MAFB* などとの間に関連は認められなかった。ほとんどすべての MM 株で 1q21 領域は増加/増幅傾向にあり、かつ 3 割以上の株で複雑な転座様式で生じるのに対し、13q14 や 17p13 は多くの株で欠失傾向にあり複雑な転座様式で増幅していた細胞株は皆無であった。これらの事象は MM の病態形成、特に病状進展に重要な役割を果たし、MM において 1 番染色体長腕中でも特に 1q21 は特異な領域であることが改めて示唆された。(投稿準備中)。



AMU-MM1 株 ; 緑 13q14 (*RB*)、赤 1q21 (*CKS1B*)



KMS11 株 ; 緑 1q21 (*CKS1B*)、赤 17p13 (*P53*)

1q21 領域の増加/増幅に伴って *CKS1B* 遺伝子 mRNA および蛋白発現量が増加し p27 蛋白の発現低下をもたらすことを米国滞在時に学会報告していたが、本研究期間中においてそれ以上の有意な結果は得られなかった。

また染色体 1q21 領域の増加/増幅を有する MM 患者の更なる臨床的特徴の解析のため、当施設における cIg FISH 法の確立を行った。現在、症例の集積を試みている。

その他、新規骨髄腫細胞株 AMU-MM1 を樹立し解析中である (投稿準備中)。また MM 患者において NF $\kappa$ B 経路を活性化する genome 異常の 1 つとして *Ig* 領域と *NIK* との転座を見出し共同著者として報告した。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y, Bellamy W, Gabrea A, Zhan F, Lenz G,

Hanamura I, Wright G, Xiao W, Dave S, Hurt EM, Tan B, Zhao H, Stephens O, Santra M, Williams DR, Dang L, Barlogie B, Shaughnessy JD Jr, Kuehl WM, Staudt LM. Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappaB pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. **Cancer Cell**. 12 (2): 115-30, 2007、査読有

- ② Shaughnessy JD Jr, Zhan F, Burington BE, Huang Y, Colla S, Hanamura I, Stewart JP, Kordsmeier B, Randolph C, Williams DR, Xiao Y, Xu H, Epstein J, Anaissie E, Krishna SG, Cottler-Fox M, Hollmig K, Mohiuddin A, Pineda-Roman M, Tricot G, van Rhee F, Sawyer J, Alsayed Y, Walker R, Zangari M, Crowley J, Barlogie B. A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. **Blood**. 109 (6): 2276-2284, 2007、査読有
- ③ 花村 一朗、多発性骨髄腫、成人病と成人習慣病 37 (2)、229-236、東京医学社：2007、査読無
- ④ 花村 一朗、MGUS から骨髄腫への発症と進展の分子機構、血液・腫瘍科 55 (2)、234-240、科学評論社：2007、査読無
- ⑤ 花村 一朗、多発性骨髄腫；自家移植併用大量化学療法後の thalidomide の有用性に関する第Ⅲ相試験、血液・腫瘍科 54 (1)、20-26、科学評論社：2007、査読無
- ⑥ 花村 一朗、多発性骨髄腫；分子標的となりうる分子病態、日本臨床 65 (12)、2202-2208、日本臨床社：2007、査読無

- ⑦ 花村 一朗、飯田 真介、造血器疾患治療の新しい潮流；多発性骨髄腫の最新治療・治療の動向、**Mebio 25 (2)**、メジカルレビュー社、108-123：2008、査読無
- ⑧ 花村 一朗、飯田 真介、骨髄腫患者の治療のために；治療の実際・新規薬剤、**臨床腫瘍プラクティス 4 (3)**、226-231：2008、査読無
- ⑨ 花村 一朗、飯田 真介、多発性骨髄腫発症の分子機構に関する研究の進展、**血液・腫瘍科 57 (2)**、139-147、科学評論社：2008、査読無
- ⑩ 花村 一朗、多発性骨髄腫に対する分子標的療法 up-date、サリドマイド、**血液・腫瘍科 57 (3)**、278-284、科学評論社：2008、査読無
- ⑪ Imai N, Miwa H, Shikami M, Suganuma K, Gotoh M, Hiramatsu A, Wakabayashi M, Watarai M, Hanamura I, Imamura A, Mihara H, Shitara K, Shibuya M, Nitta M. Growth inhibition of AML cells with specific chromosome abnormalities by monoclonal antibodies to receptors for vascular endothelial growth factor, **Leukemia Res 2009**, in press, 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① 稲垣 淳、飯田 真介、森 芙美子、伊藤 旭、田島 恵美、三田 貴臣、矢野 寛樹、李 政樹、粥川 哲、丁 建民、楠本 茂、石田 高司、花村 一朗、速水 芳仁、小松 弘和、稲垣 宏、上田 龍三、14q32 転座関連遺伝子 mRNA 発現に基づく病型分類は骨髄腫患者の生命予後予測に有用である、第70回日本血液学会総会、京都、2008年10月
- ② 爾見 雅人、渡會 雅也、平松 明人、後藤 麻友子、菅沼 和人、今井 敬和、

若林 基弘、花村 一朗、今村 明、三原 英嗣、三輪 啓志、仁田 正和、CD8 single-positive ATLL の一例、第70回日本血液学会総会、京都、2008年10月

- ③ 山本 英督、西巻 春明、今井 敬和、菅沼 和人、後藤 麻友子、平松 明人、若林 基弘、渡會 雅也、花村 一朗、爾見 雅人、今村 明、三原 英嗣、三輪 啓志、仁田 正和、大圓 修身、内科的治療が有効であった本態性血小板血症に合併した大動脈血栓症の一例、第70回日本血液学会総会、京都、2008年10月
- ④ 菅沼 和人、三輪 啓志、今井 敬和、爾見 雅人、後藤 麻友子、平松 明人、山本 英督、若林 基弘、渡會 雅也、花村 一朗、今村 明、三原 英嗣、仁田 正和、急性骨髄性白血病細胞における解糖系優位のエネルギー代謝について、第70回日本血液学会総会、京都、2008年10月
- ⑤ Hiroshi Miwa, Kazuto Suganuma, Masato Shikami, Norikazu Imai, Mayuko Sakai, Akihito Hiramatsu, Hidesuke Yamamoto, Motohiro Wakabayashi, Masaya Watarai, Ichiro Hanamura, Akira Imamura, Hidetsugu Mihara, Masakazu Nitta, **Energy Metabolism of Leukemia Cells: Glycolysis Vs. Oxidative Phosphorylation**、第50回アメリカ血液学会総会、米国サンフランシスコ、2008年12月

[図書] (計 1 件)

飯田 真介ら編、花村 一朗、多発性骨髄腫診療ハンドブック；3. 診断と検査の実際 7) 生物学的な予後因子、**多発性骨髄腫診療ハンドブック pp 51-53**、中外医学社、2008

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

花村 一朗 (Ichiro Hanamura)

愛知医科大学・医学部・講師

研究者番号：70440740

### (3) 連携研究者

仁田 正和 (Masakazu Nitta)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：70128669

飯田 真介 (Shinsuke Iida)

名古屋市立大学・医学部・准教授

研究者番号：50295614

谷脇 雅史 (Masafumi Taniwaki)

京都府立医科大学・医学部・教授

研究者番号：80163640

### (4) 研究協力者

後藤 麻友子 (Goto Mayuko)

John Shaughnessy