

令和 5 年 11 月 2 日現在

機関番号：94313

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08830

研究課題名(和文) 骨髄液エクソソームにフォーカスした低リスクMDSの造血不全の病態解明と、治療応用

研究課題名(英文) Pathophysiology of low-risk MDS with a focus on bone marrow fluid exosomes, and therapeutic applications

研究代表者

平田 大二 (Hirata, Hirokazu)

株式会社関西メディカルネット(関西電力医学研究所)・臨床腫瘍研究部・上級特別研究員

研究者番号：00372160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、低リスクMDSにおける根源的な問いである、“なぜ生存に不利な変異を持つ腫瘍細胞が骨髄内で増殖優位性を呈するのか”を解明するため、エクソソームに着目した解析を行った。低リスクMDS、およびコントロールとして骨髄穿刺を行ったもののMDSが否定された健常者の骨髄液からエクソソーム由来miRNAを抽出し、次世代シーケンサーによる網羅的な解析を行ったところ、3つのmiRNAで有意な変動を認めた。現在間葉系幹細胞と造血細胞の共培養モデルにおいて同定したmiRNAが及ぼす影響を検証中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低リスクMDSは白血病への進展リスクは低いものの、一部の患者は輸血依存であり、造血幹細胞移植を除いて有効な治療法に乏しいのが現状である。この疾患の原因の一端を解明することで、新しい治療法への糸口を見出すことができる。本研究ではエクソソームが骨髄内環境を悪化させている可能性が示唆されており、現時点ではエクソソームを標的とした治療は未確立であるものの、将来的な新規治療方につながるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on exosomes to answer the fundamental question of low-risk MDS: "Why do tumor cells with survival-damaging mutations show a growth advantage in the bone marrow? Exosome-derived miRNAs were extracted from bone marrow fluid of low-risk MDS patients and healthy controls who had undergone bone marrow puncture but were denied MDS, and comprehensive analysis using next-generation sequencing revealed significant variation in three miRNAs. We are currently examining the effects of the identified miRNAs in a co-culture model of mesenchymal stem cells and hematopoietic cells.

研究分野：血液学

キーワード：骨髄異形成症候群 エクソソーム miRNA

1. 研究開始当初の背景

骨髄異形成症候群(MDS)は造血不全、白血病への進展を特徴とする造血器悪性腫瘍であり、高齢化社会の影響もあって年々増加傾向にある。高齢者に多い疾患であるが故に移植の適応となる例は少なく、ほとんどは輸血を含めた対症療法が選択される。しかしながら一部の患者では頻回輸血による患者負担、社会負担が大きく、新たな治療方の開発への社会的需要が大きい。

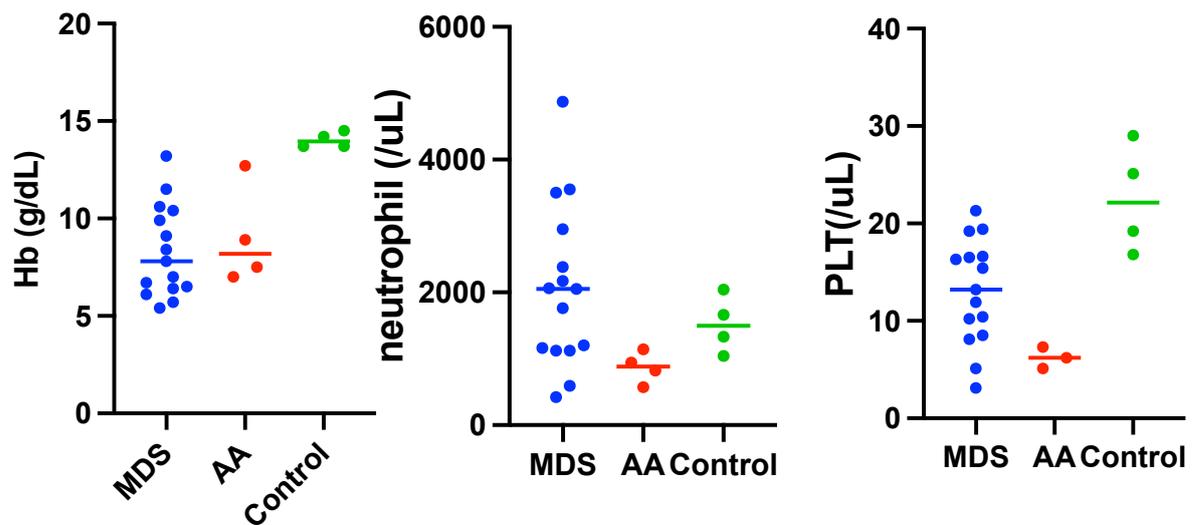
2. 研究の目的

治療法の開発には正確な病因の把握が必要である。MDSの原因となる様々な遺伝子変異が同定されているものの、これらは多くが細胞増殖にとって不利となる変異である。しかしながら生体内では病勢の進行に伴い正常造血を抑制してMDSクローンは優勢となるが、そのメカニズムは不明のままである。そこで、本研究ではMDS細胞が分泌するエクソソームに着目して解析を行い、治療法の開発を目指して研究を開始した。

3. 研究の方法

上述の点を明らかにするため、MDS患者の骨髄液中からエクソソームを抽出し、抽出したmiRNAを次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析した。長期間にわたり患者サンプルを収集する必要が生じたため、exoRNeasy Midi kit (QIAGEN)を用いて抽出したmiRNAは症例集積の間-80度で保存した。

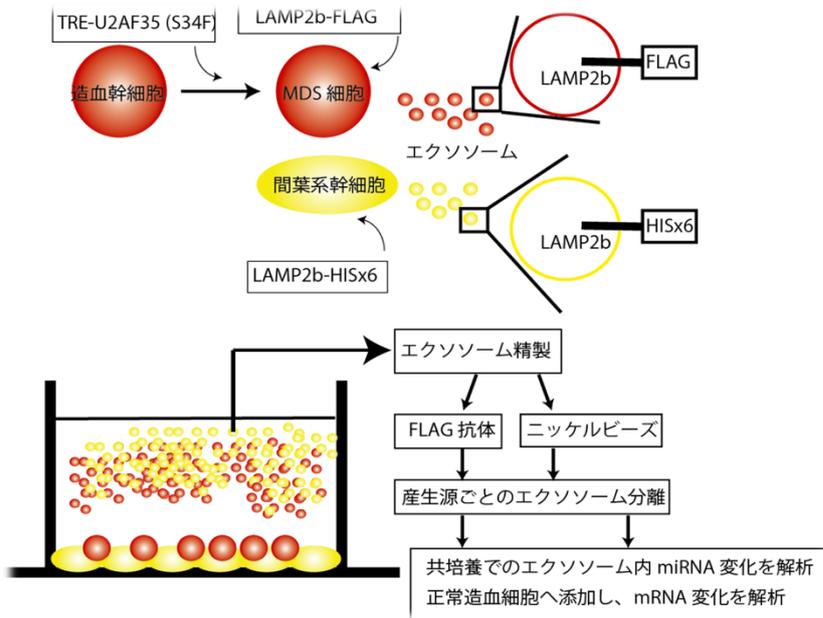
結果的に、low risk MDS 15例、比較対象として特に骨髄に異常を認めなかった4例、再生不良性貧血の4例を加えた症例の集積が可能であった。症例ごとの末梢血データは以下の通りとなった。



上記を用いて Small RNA-Seq Library Prep Kit (LEXOGEN)を用いて pooled library を作成した。Quality check の後、80M read/sample でシーケンスを行った。

4. 研究成果

次世代シーケンサーの結果からは、コントロールと比べて low risk MDS で有意に上昇している miRNA を 3 種類同定することができた。この miRNA は再生不良性貧血では変動が見られず、骨髄不全に影響している可能性も考えられるため、現在 in vitro の系(下図)で検証を進めている段階である。この検証結果を持って論文報告予定としている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	稲野 将二郎 (INANO SHOJIRO) (70811199)	株式会社関西メディカルネット(関西電力医学研究所)・臨床腫瘍研究部・上級特別研究員 (94313)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関