

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791084

研究課題名(和文) 骨髄微小環境における骨髄腫細胞と単球及び骨髄ストローマの細胞との相互作用の解析

研究課題名(英文) Interaction between monocytes and bone marrow microenvironment in pathogenesis of multiple myeloma

研究代表者

池田 博 (IKEDA, HIROSHI)

札幌医科大学・道民医療推進学講座・特任助教

研究者番号：60570132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：多発性骨髄腫では、正常造血における造血幹細胞と同様、骨髄微小環境においてごく少数の骨髄腫幹細胞が未分化性を維持しつつ自己複製を行っていると考えられる。近年、多発性骨髄腫に対して、骨髄微小環境に作用する分子標的薬が使用されるようになったが、腫瘍細胞を根絶するのは依然困難であり、延命効果が得られても根治することは望めない。本研究では、これまで着目されていなかった多発性骨髄腫患者の骨髄微小環境下における単球の役割を解析し、多発性骨髄腫の根治療法につながる基礎研究を展開した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the role of monocyte, a component of bone marrow microenvironment, in the MM progression. We investigated the proliferation of MM cell lines cultured alone or co-cultured with BMSCs and/or monocytes of MM patients. Consistently, we observed increased proliferation of MM cell lines in the presence of either BMSCs or monocytes compared to cell line-only control. Furthermore, the co-culture of BMSCs plus monocytes induced the greatest degree of proliferation of myeloma cells. In addition to increased proliferation, BMSCs and monocytes decreased the rate of apoptosis of myeloma cells. Our results therefore suggest that highlights the role of monocyte as an important component of the bone marrow microenvironment.

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：多発性骨髄腫 骨髄微小環境 単球

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫は、B リンパ球の最終分化段階にある形質細胞に由来する難治性血液腫瘍である。1990年代まではMP療法が標準治療として行われ、生存期間中央値は約3年であった。その後、ASCTを併用した大量化学療法、分子標的薬の承認により、生存期間中央値が4-6年と延長しているが、10年以上の生存率は約5%程度であり、長期予後が望めない疾患であるのが現状である。また、他の血液腫瘍と比較して進行は比較的緩徐であるが、多彩な臨床症状を呈することが多く、特に本症の骨破壊性病変は進行性であり、骨痛や骨折のため患者のQOLは低下し、日常活動が大幅に制限される。さらに進行すると、高カルシウム血症、過粘稠度症候群に伴う腎不全、脊椎圧迫骨折による脊髄麻痺などを併発し生命予後を悪化させるが、実用可能な予後予測マーカーは見つかっていない。

多発性骨髄腫では、正常造血における造血幹細胞と同様、骨髄微小環境においてごく少数の骨髄腫幹細胞が未分化性を維持しつつ自己複製を行っていると考えられる。したがって、骨髄腫細胞の生存、増殖や浸潤能獲得には骨髄微小環境が重要であり、特に破骨細胞との接着や骨髄ストローマ細胞から分泌されるIL-6、IL-1、IGF-1、VEGF、TNF- α 、SDF-1などの多くのサイトカインやケモカインと、その受容体を介したRas-Raf-MAPK、Jak-Stat3、PI3K-Akt、TNF- α /CD40L-NF- κ Bなどのシグナル伝達経路が重要な役割を担っていることが明らかになってきている。骨髄微小環境

は骨髄腫細胞にこれらのサイトカインに対する依存性や上記シグナル伝達経路の恒常的活性化や増強をもたらし、腫瘍の進展や薬剤耐性獲得に寄与している。最近骨髄腫細胞と骨髄微小環境の両方に多くの作用機序を有する新規薬剤ボルテゾミブ、サリドマイド、レナリドマイドが使用可能となり、治療抵抗性の骨髄腫患者に対して延命効果は得られても、依然として根治を得ることは困難である。申請者は2006年4月から2009年9月までの間、多発性骨髄腫細胞と骨髄微小環境を標的とする薬剤の開発を推進するThe LeBow Institute for Myeloma Therapeutics and Jerome Lipper Multiple Myeloma Center, Dana-Farber Cancer Instituteにおいて新規薬剤の臨床前試験に携わりながら、多発性骨髄腫についての、基礎および臨床研究に従事した。多発性骨髄腫細胞の新規薬剤ボルテゾミブの開発とその作用機序の解明は同研究所で行われた。特に多発性骨髄腫の新規治療薬PI3K/Akt P110delta阻害剤やBT062-SPDB-DM1といったCD138に対する新規抗体治療が多発性骨髄腫細胞だけでなく、IL-6やIGF-1などのサイトカイン刺激した骨髄腫細胞に対して十分効果を発揮することも発見し、骨髄微小環境にある骨髄腫細胞株においてもこれらの新規薬剤が有効であるということを見いだした実績があり骨髄腫細胞の骨髄微小環境下の研究体系を熟知している。

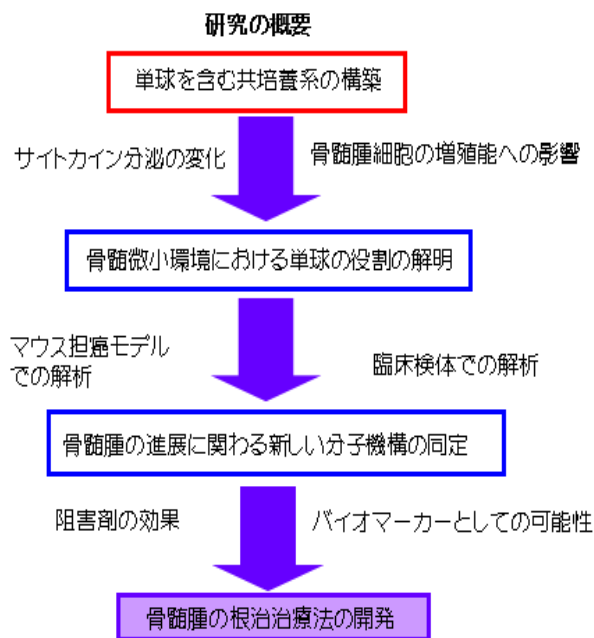
また予備的な実験において、骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞の相互作用に、単球、樹状細胞が大きく関わっていることを見いだした。具体的には、骨髄ストローマ細胞

と骨髄腫細胞株の共培養系に、単球を添加することで、骨髄腫細胞や単球自体の分化、増殖能が変化することが明らかになった。

2. 研究の目的

これまで多発性骨髄腫の進展、治療抵抗性における骨髄微小環境の影響は、骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞との直接的な相互作用について行われており、単球、樹状細胞のかかわりはほとんど研究されていなかった。本研究では骨髄ストローマ細胞と単球、あるいは骨髄腫細胞と単球の相互作用、また、骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞の相互作用における単球や樹状細胞の関わりについて解析することを思い立った。

3. 研究の方法



多発性骨髄腫患者または正常人由来骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞株を共培養し、上清中のサイトカイン濃度をサイトカインアレイ、ELISAで、細胞増殖をMTT法により、単球存在/非存在時に比較測定する。同条件で、各細胞をソーティン

グにより分離採取し、マイクロアレイによって遺伝子発現変化を解析する。さまざまな病期、浸潤性の多発性骨髄腫患者由来骨髄ストローマ細胞を使用し、骨髄腫細胞株も薬剤感受性の異なる株を解析することで、予後、薬剤耐性に直接関連するシグナル伝達系、遺伝子発現異常の同定を試み、多発性骨髄腫の根治療法の開発につながる基礎研究を目指す。

4. 研究成果

今回の研究で、骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞の相互作用に、単球、間葉細胞が大きく関わっていることを見いだしている。具体的には、患者骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞株の共培養下で、患者単球を添加することで、骨髄腫細胞の分化レベル、増殖能、薬剤感受性が変化することをつきとめた。これまで多発性骨髄腫の進展、治療抵抗性における骨髄微小環境の影響は、骨髄ストローマ細胞と骨髄腫細胞との直接的な相互作用について行われており、単球の関わりはほとんど研究されていなかった。本研究では骨髄ストローマ細胞と単球、あるいは骨髄腫細胞と単球の相互作用、また骨髄微小環境下で骨髄腫細胞の増殖能、薬剤感受性に対する単球、間葉細胞の関わりについてさらに解析を進めている所である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

1. Nojima M, Suzuki H, Yasui H, Maruyama R, Yamamoto E, Ashida M, Itagaki M, Asaoku H, Ikeda H, Hayashi T, Imai K, Mori M, Tokino T, Ishida T, Toyota M, Shinomura Y
Genomic vulnerability to LINE-1 hypomethylation is a potential determinant of the clinicogenetic features of multiple myeloma. Genome Medicine. 査読有 2013年 10月号 P88-
2. Usefulness of serum free light-chain assay for evaluation of therapeutic efficacy in non-secretory multiple myeloma. Maruyama Y, Hayashi T, Ikeda H, Yasui H, Ishida T, Shinomura Y. 臨床血液 査読有. 2013 1月号 P122-
3. Model of translational cancer research in multiple myeloma. Yasui H, Ishida T, Maruyama R, Nojima M, Ikeda H, Suzuki H, Hayashi T, Shinomura Y, Imai K. Cancer Science. 査読有 2012年 11月号 P1907-

[学会発表] (計 1 件)

池田 博 Target drug of symptomatic myeloma in bone marrow microenvironment 日本がん学会 2013年横浜

[図書] (計 1 件)

池田 博 日本臨床 血液症候群 IgM型多発性骨髄腫 2013. P1937-1940

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

{その他}
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者 池田 博
(Ikeda Hiroshi)

札幌医科大学道民医療推進学講座特任助教

研究者番号: 60570132