

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 5 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25830120

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間葉系細胞との相互作用の解析

研究課題名(英文) The Relationship of Myeloma cells, Stromal cells and Monocyte under bone marrow microenvironment

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・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

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。本研究では、多発性骨髄腫患者の骨髄微小環境下における間葉系細胞の役割、およびこれまで着目されていなかった骨髄ストローマ細胞における遺伝子異常(遺伝子変異、コピー数異常、miRNA発現)を解析し、多発性骨髄腫の治療抵抗性の解明と根治療法につながる基礎研究を展開した。今後につながる研究を展開できたことは成果として大きかった。

研究成果の概要(英文)：Multiple myeloma (MM) is a disease characterized by clonal B-cell tumors of slowly proliferating plasma cells within the bone marrow. Myeloma cells contacts with bone marrow stromal cells (BMSCs), which secrete factors/cytokines, Our results therefore suggest that the role of monocyte is an important component of the BM microenvironment.

研究分野：臨床血液

キーワード：多発性骨髄腫

### 1. 研究開始当初の背景

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。また骨髄腫細胞の生存、増殖や浸潤能獲得には骨髄微小環境が強く影響し、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- $\alpha$ , SDF-1 など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, NF- $\kappa$ 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す、腫瘍の進展や薬剤耐性獲得に寄与している。

### 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、およびサイトカイン、ケモカイン分泌測定、シグナル伝達系の解析等の生化学的アプローチが主に用いられており、分子レベルでの解析は充分とは言えない。本研究ではこれまで解析されていなかった骨

髄腫患者骨髄ストローマ細胞の遺伝子異常を次世代シーケンサーを用いて網羅的に分析し、新たな視点で骨髄腫進展における骨髄微小環境の関連性を解析する。本研究成果は骨髄腫の再発、治療抵抗性獲得の分子メカニズム解明につながる可能性がある。

### 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 <sup>3</sup>H-Uptake または MTT 法により、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、次世代シーケンサーによって遺伝子異常（遺伝子変異、コピー数異常、miRNA 発現）を分析する。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

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。本研究では、多発性骨髄腫患者の骨髄微小環境下における間葉系細胞の役割、およびこれまで着目されていなかった骨髄ストローマ細胞における遺伝子異常(遺伝子変異,コピー数異常、miRNA 発現)を解析し、多発性骨髄腫の治療抵抗性の解明と根治療法につながる基礎研究を展開した。今後につながる研究を展開できたことは成果として大きかった。

#### 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 2件)

[\[Molecular diagnostics of a single drug-resistant multiple myeloma case using targeted next-generation sequencing.\] Ikeda H, Ishiguro K,](#)

Igarashi T, Aoki Y, Hayashi T, Ishida T, Sasaki Y, Tokino T, Shinomura Y. *Oncotargets Ther.* 2015 Oct 5;8:2805-15 査読有

[Decrease of B-type natriuretic peptide to less than 200 pg/mL predicts longer survival in cardiac immunoglobulin light chain amyloidosis.](#)

Ishiguro K, Hayashi T, Igarashi T, Maruyama Y, Ikeda H, Ishida T, Shinomura Y. *Int J Hematol.* 2015 Aug;102(2):200-4.

査読有

学会発表)(計 5 件)

#### 第 74 回日本癌学会学術総会

演題名: 多発性骨髄腫における単球と骨髄ストローマ細胞の関連性

#### 第 75 回日本癌学会学術総会

薬剤耐性を示した多発性骨髄腫患者の次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析

#### 第 77 回日本血液学会学術集会

自家末梢血幹細胞移植を施行した多発性骨髄腫 25 症例に対する治療成績: 単施設における後方視的検討

#### 第 78 回日本血液学会学術集会

新規多発性骨髄腫患者 11 症例に対する次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現解析

AACR Annual Meeting 2016 in New Orleans, Louisiana

Targeted semiconductor sequencing of 409 cancer-related genes for somatic mutations and copy number variations in multiple myeloma

[図書](計 1 件)

日本臨床 多発性骨髄腫学 次世代シーケンシングによる骨髄腫の遺伝子異常

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者：

( )

権利者：

種類：

研究者番号：

番号：

出願年月日：

(3)連携研究者

国内外の別：

( )

取得状況 (計 0 件)

研究者番号：

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

## 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

研究者番号：6050132

### (2)研究分担者