

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06875

研究課題名(和文) DPP8/9阻害剤を用いた新たな多発性骨髄腫の治療法の開発

研究課題名(英文) Efficacy for treating MM with DPP8/9 inhibitor.

研究代表者

井山 諭 (Iyama, Satoshi)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：50398319

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：多発性骨髄腫の予後は新薬の登場によって改善されたものの、造血幹細胞移植を行ってすら治癒を得られる症例はなく、新たな機序の治療法が希求されている。我々はこれまでにDPP4ファミリーに属するDPP8/9の活性を阻害する1G244は骨髄腫細胞にアポトーシス細胞死を誘導することを見出した。このことはDPP8/9の阻害を機序とする新たな骨髄腫の治療を示唆していると考えている。そこで本研究では、1G244の抗骨髄腫効果を検討し、更にそのシグナルを解析した。

研究成果の概要(英文)：Recently, the prognosis of patients with multiple myeloma (MM) has considerably improved due to the use of autologous hematopoietic stem cell transplantation and the introduction of new agents such as the immunomodulatory drugs, proteasome inhibitors. However, no curable treatment is available. We have previously shown that the DPP8/9 inhibitor, 1G244, induced MM cells to cell death by apoptosis. Hence, we demonstrated efficacy for treating MM with DPP8/9 inhibitor.

研究分野：造血器悪性腫瘍に対する治療

キーワード：多発性骨髄腫 DPP8/9

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫は代表的な形質細胞性腫瘍のひとつであり、骨髄由来の造血幹細胞から分化したリンパ球の一種である形質細胞が腫瘍化し、異常増殖することにより発症する。その症状は、破骨細胞の活性化による骨病変および高カルシウム血症、免疫機能の低下に起因する感染症の併発、造血能力の低下に伴う貧血、免疫グロブリンの異常産生に伴う腎障害など多岐にわたる。多発性骨髄腫の治療薬としては、従来はメルファラン、プレドニゾン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、ドキシソルピシン、デキサメタゾンなどの抗がん剤を組み合わせて用いられてきた。近年、サリドマイドが多発性骨髄腫に有効であることが確認された他、サリドマイドの誘導体であるレナリドミドやボマリドミド、プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブなど、多発性骨髄腫に高い有効性を示す新薬が次々と開発されている。また、造血幹細胞の移植なども治療の選択肢の一つとして挙げられる。上記新薬の登場などにより、多発性骨髄腫の予後はかなり改善されたといえるが、それでも未だ完全に治癒されたとの報告はなく、また昨今では治療による二次発癌の増加が問題となっており、依然として新たな治療薬に対するニーズは大きい。

ジベプチジルベプチダーゼ - 4 (DPP - 4) は、110 kDa の分子量を有する細胞表面糖タンパク質である。セリンプロテアーゼとしての機能を有し、Tリンパ球、内皮細胞、上皮細胞などを含む多様な組織の細胞において発現していることが知られている。DPP - 4 は、そのセリンプロテアーゼ活性により、腸管ホルモンであるインクレチンの不活性化を司っており、インクレチンの不活性化はインスリン分泌の抑制をもたらすことが知られている。したがって DPP - 4 の阻害剤は、インクレチンの活性を維持することでインスリンの分泌を促し、それにより

血糖値をコントロールすることで2型糖尿病を治療する治療薬として用いられている。また DPP - 4 は、リンパ系腫瘍細胞において高発現していることが知られている。例えば非特許文献1には、未分化大細胞型リンパ腫細胞株 Karpas 299 において CD26 / DPP - 4 の発現を抑制すると、インテグリン₁ および p38 マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) の脱リン酸化を引き起こし、それによりフィブロネクチンおよび I 型コラーゲンなどの細胞外マトリクスへの接着能を失うこと、また造腫瘍能も失うことが記載されている。DPP - 4 ファミリーには、DPP - 4 の他に、DPP - 4 と構造的に類似した DPP - 8 や DPP - 9 が含まれる。DPP - 8/9 は細胞内に局在していることが知られており、DPP - 4 との構造的類似性から、T細胞の活性化や免疫機能において何らかの機能を果たしているのではないかと考えられているが、実際にはその機能は解明されていない。

2. 研究の目的

本研究の主な目的は、DPP - 8/9 阻害剤を用いた、形質細胞性腫瘍、とくに多発性骨髄腫をに対する、新たな治療法の開発にある。また、申請者らは DPP - 8/9 の活性を阻害する IG244 が骨髄腫細胞にアポトーシス細胞死を誘導することを見出しているが、このメカニズムに関する検討も研究の目的としている。

3. 研究の方法

健常対象の形質細胞における DPP - 8 の発現量と多発性骨髄腫または原発性マクログロブリン血症に罹患した対象の骨髄サンプルにおける発現量を比較する。

各種の DPP - 4 阻害剤を用いた場合の骨髄腫細胞への細胞死誘導効果を検討する。

各種骨髄腫細胞株に対する DPP - 8 / 9 選択的阻害剤である 1 G 2 4 4 の細胞死誘導効果を検討する。

骨髄腫細胞に DPP - 8 / 9 選択的阻害剤 1 G 2 4 4 を加えた際の細胞死パターンを確認する。7 - A D D / アネキシン V を用いたフローサイトメトリー法による解析をする。

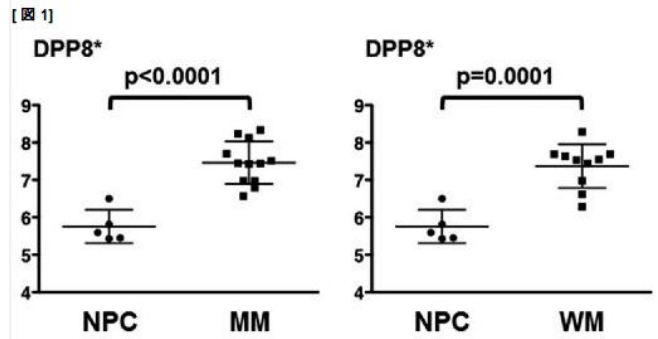
D P P - 8 および D P P - 9 の s i R N A を用いて、骨髄腫細胞におけるこれら遺伝子の発現を抑制した場合の骨髄腫細胞に対する効果を検討した。

ボルテゾミブと 1 G 2 4 4 の併用による相乗効果の有無について、複数の骨髄腫細胞株を用いて *in vitro* で検討した。

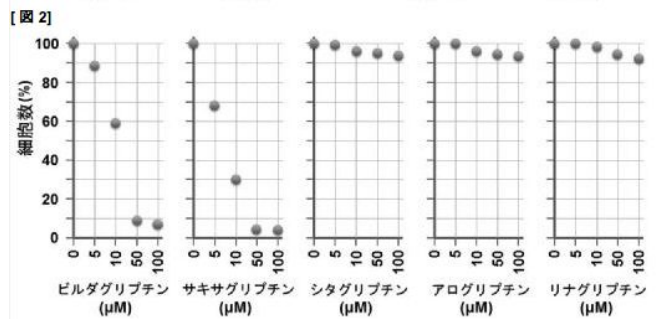
骨髄腫細胞担癌マウスを用いて、1 G 2 4 4 を投与した場合の抗腫瘍効果を確認した。

4. 研究成果

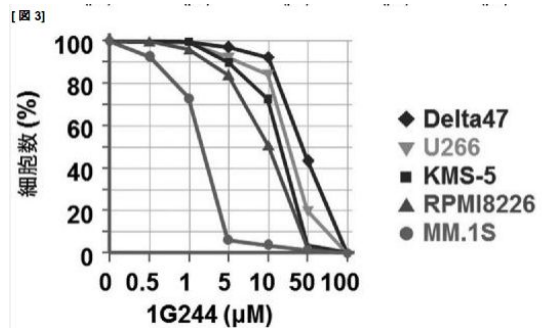
[図 1] 健常対象の形質細胞における DPP - 8 の発現量と多発性骨髄腫または原発性マクログロブリン血症に罹患した対象の骨髄サンプルにおける DPP - 8 の発現量とを比較したグラフである。形質細胞性腫瘍である多発性骨髄腫および原発性マクログロブリン血症に罹患した対象の骨髄サンプルのどちらにおいても、健常対象の形質細胞と比較して有意に高い DPP - 8 発現が確認された。



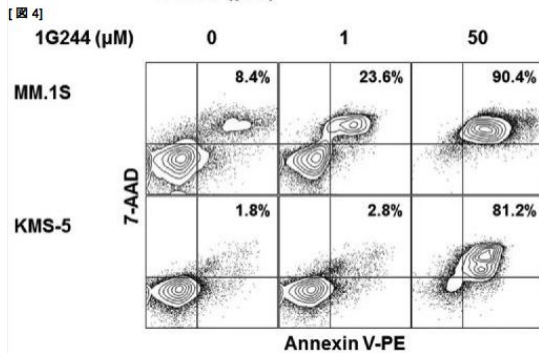
[図 2] 各種の DPP - 4 阻害剤を用いた場合の骨髄腫細胞への細胞死誘導効果を表す。D P P - 4 阻害剤として既知の 5 種のうち、D P P - 8 / 9 も一緒に阻害することが知られているビルダグリプチンおよびサキサグリプチンにおいてのみ細胞死誘導効果が確認された。



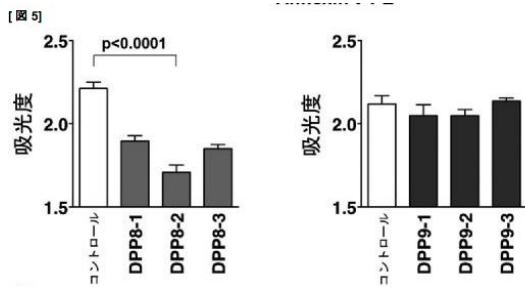
[図 3] 各種骨髄腫細胞株に対する DPP - 8 / 9 選択的阻害剤 1 G 2 4 4 の細胞死誘導効果。感受性において多少の差異はあるが、全ての細胞株において細胞死誘導効果が確認された。



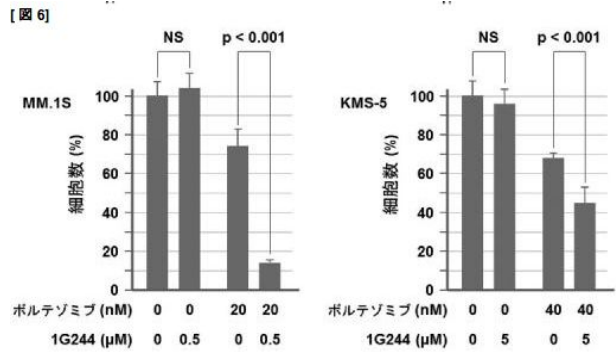
[図4] 骨髄腫細胞にDPP-8/9選択的阻害剤1G244を加えた際の細胞死パターンを確認した図である。1G244の添加量の増加と共に7-AAD/アネキシンVの両陽性集団が増大することから、誘導される細胞死がアポトーシスであることが確認された。



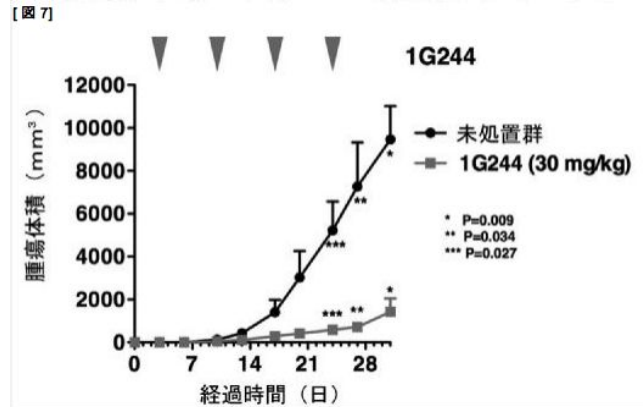
[図5] DPP-8およびDPP-9のsiRNAを用いて、骨髄腫細胞におけるこれらの遺伝子の発現を抑制した場合の骨髄腫細胞に対する効果。DPP-8のsiRNAはいずれも有意に吸光度が減少したことから、有意に生細胞数が減少したことがわかったが、DPP-9のsiRNAは吸光度に変化がなく、生細胞数に影響を与えないことがわかった。



[図6] ボルテゾミブと1G244の併用による相乗効果。MM.1S細胞株に対しても、KMS-5細胞株に対しても、少量の1G244を加えることによりボルテゾミブの効果を格段に向上させることができた。



[図7] MM.1S担癌マウスに1G244を投与した場合の腫瘍体積の増加を、未処置群と比較したグラフである。12日目前後から腫瘍体積の増加に差が出始め、24日目には有意差が確認された。



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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(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：

取得状況(計 1 件)

名称：THERAPEUTIC AGENT FOR PLASMA CELL
NEOPLASM
発明者：TSUTOM SATO
権利者：TSUTOM SATO
種類：国際特許
番号：国際公開番号 WO/2017/159835、国際
出願番号 PCT/JP2017/010828
出願年月日：PUBLICATION DATE: 21.09.2017,
INTERNATIONAL FILLING DATE: 17.03.2017
国内外の別：国際特許

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井山 諭 (IYAMA, Satoshi)
札幌医科大学・医学部・助教
研究者番号：50398319

(2) 研究分担者

佐藤 勉 (SATO Tsutomu)
順天堂大学・大学院医学研究科寄付講座
(免疫病・がん先端治療学講座)・非常勤講
師
研究者番号：40404602

小船 雅義 (KOBUNE, Masayoshi)
札幌医科大学・医学部・助教
研究者番号：90336389

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者