

令和 2 年 4 月 28 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09937

研究課題名(和文) Toll様受容体CD180を介した感染に伴う多発性骨髄腫の進展機序解明

研究課題名(英文) Myeloma cells are activated in bone marrow microenvironment by the CD180/MD-1 complex, which senses lipopolysaccharide.

研究代表者

菊池 次郎 (Kikuchi, Jiro)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60371035

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：多発性骨髄腫の薬剤耐性獲得における骨髄微小環境の役割と機序の解明は重要な課題である。本研究では骨髄腫細胞が骨髄微小環境において、1)Toll様受容体CD180発現が亢進していること、2)LPS刺激が増殖を誘導すること、3)CD180遺伝子が転写因子Ikarosにより転写活性化されること、4)免疫調節薬がCD180発現抑制を介してLPSによる増殖を抑制すること、5)免疫調節薬が感染をきっかけとした病態悪化の予防に有効なことを明らかにした。これらの結果から、感染予防と免疫調節薬の継続的な服用が骨髄腫患者の生存率改善に有効となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、病態の進展に与える感染の影響や、その機序におけるCD180の役割を明らかにした初めての報告である。また、CD180発現の阻害に働く免疫調節薬が感染に伴う病態の進展の予防にも有効となる可能性を示す等、臨床的に意義のある研究内容と言える。

研究成果の概要(英文)：Multiple myeloma (MM) is one of the most intractable malignancies characterized by the infiltration and growth of malignant plasma cells in the bone marrow. Elucidation of the mechanisms underlying cell adhesion-mediated drug resistance may prolong remission and ultimately improve the survival of MM patients. We found that CD180, a non-canonical LPS receptor, was markedly up-regulated in marrow microenvironment. Bacterial LPS enhanced the growth of MM cells in positive correlation with the expression levels of CD180 in vitro and in vivo. Promoter analyses identified IKZF1 as a pivotal transcriptional activator of the CD180 gene. Immunomodulatory drugs (IMiDs) could prevent the LPS-triggered activation of myeloma cells by targeting CD180. Taken together, IMiDs prevented the infection-triggered disease progression via inhibition of CD180 expression and would be effective for prolonging survival in MM patients.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：多発性骨髄腫 Toll様受容体 骨髄微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

予後不良な造血器腫瘍である多発性骨髄腫の発症や進展機序の解明は重要な研究課題である。私たちは、骨髄腫細胞に増殖能や抗がん剤耐性を付与する骨髄微小環境との相互作用を介した機序の解明を進めてきた。その結果、骨髄間質細胞と骨髄腫細胞の接着時に、抗アポトーシスに働く HIF-1 α や Bcl2、IGF1 などの発現亢進の他、CD180 発現の亢進を明らかにした。CD180 は、その細胞外領域が Toll 様受容体(TLR)のうち、TLR4 に高い相同性を持つことから TLR 関連分子とされている。生理的なりガンドとして TLR4 と同様グラム陰性菌由来のリポ多糖(LPS)が、その下流ではNF- κ Bや Akt、Pim キナーゼ経路の活性化を介して増殖亢進や抗アポトーシスに働くことが示されている。しかしながら、多発性骨髄腫における CD180 の発現様式とその機能の他、病態の進展に与える感染の影響は未解明であった。

2. 研究の目的

本研究では多発性骨髄腫における CD180 の機能を解明し、細菌感染が病態の進展に与える影響について考察を加える。

3. 研究の方法

- (1)LPS を含む TLR リガンドの細胞増殖や薬剤耐性への作用を、間質細胞との接着/非接着下および低酸素下や、CD180 をノックダウンさせた骨髄腫細胞株で解析する。
- (2)CD180 遺伝子発現制御機構を解析し、阻害剤ライブラリーや shRNA を用いた網羅的スクリーニングから CD180 発現抑制に働く低分子阻害剤を探索する。
- (3)骨髄腫細胞株を移植したマウスモデルへの LPS 等 TLR リガンド投与による腫瘍増殖への作用を解析する。
- (4)CD180 発現抑制に働く低分子阻害剤の腫瘍増殖抑制効果をマウスモデルにより検証する。
- (5)骨髄腫患者において細菌感染が病態に与える影響を後方視的に解析する。

4. 研究成果

- (1) 多発性骨髄腫における TLR の発現様式を Oncomine データベース (<https://www.oncomine.org/>)と半定量 RT-PCR により解析の結果、有意な CD180 の発現亢進を明らかにした。
- (2)骨髄腫細胞株における CD180 発現は、間質細胞との接着時に亢進し低酸素下ではより増強された。
- (3)LPS 刺激が、*in vitro* 及びマウスモデルを用いた *in vivo* で CD180 発現レベルに相関して骨髄腫細胞株の増殖を有意に亢進させた。
- (4)CD180 遺伝子のプロモータ領域に、転写因子 Ikaros の結合部位を明らかにした。なお、Ikaros は、多発性骨髄腫の治療に有効な免疫調節薬(lenalidomide 及び pomalidomide)の標的分子である。
- (5)免疫調節薬は、転写因子 Ikaros 発現低下を介して骨髄腫細胞の CD180 発現を有意に低下させた。*in vitro* 及び *in vivo* における lenalidomide の投与が、LPS 刺激による増殖亢進を有意に抑制できることを明らかにした。
- (6)症候性骨髄腫患者 36 症例について、感染が起きる前後の病態の変化を後方視的に解析した。その結果、細菌感染に伴う CRP 値の上昇が見られた 10 例のうち 8 例で M タンパク値の継続的な上昇が見られた。なお、M タンパク値の上昇が見られなかった 2 症例は、共に免疫調節薬投与中の患者であった。

CD180 発現は骨髄微小環境内に局在する骨髄腫細胞で高く、細菌感染時に LPS を介した

シグナルを受けて増殖能が亢進、病態の進展に働く機序が示唆される。従って、感染予防と免疫調節薬の継続的な服用が骨髄腫患者の生存率改善に有効となる可能性が示唆される(図)。本研究は、病態の進展に与える感染の影響や、その機序におけるCD180の役割を明らかにした初めての報告であると共に、CD180 発現の阻害に働く免疫調節薬が、感染に伴う病態の進展の予防にも有効となる可能性を示す等、臨床的に意義のある研究内容と言える。

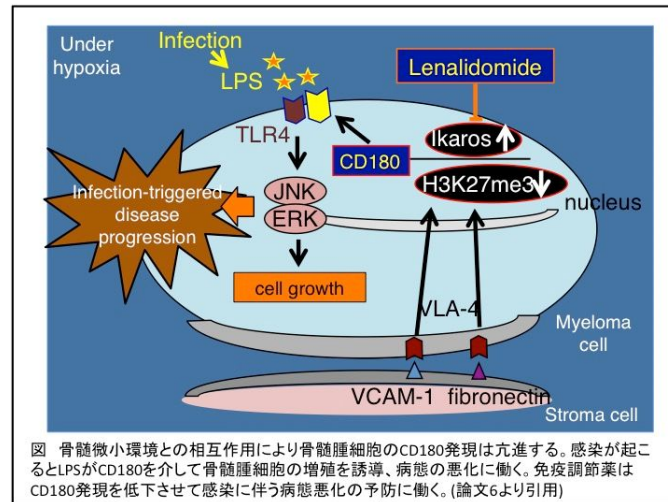


図 骨髄微小環境との相互作用により骨髄腫細胞のCD180発現は亢進する。感染が起こるとLPSがCD180を介して骨髄腫細胞の増殖を誘導、病態の悪化に働く。免疫調節薬はCD180発現を低下させて感染に伴う病態悪化の予防に働く。(論文6より引用)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kikuchi J, Hori M, Iha H, Toyama-Sorimachi N, Hagiwara S, Kuroda Y, Koyama D, Izumi T, Yasui H, Suzuki A, Furukawa Y	4. 巻 34
2. 論文標題 Soluble SLAMF7 promotes the growth of myeloma cells via homophilic interaction with surface SLAMF7	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 180-195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-019-0525-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kikuchi J, Hayashi N, Osada N, Sugitani M, and Furukawa Y.	4. 巻 518
2. 論文標題 Conversion of human fibroblasts into multipotent cells by cell-penetrating peptides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 134-140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.08.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Wada T, Kikuchi J, Koyama D, Honda H and Furukawa Y	4. 巻 82
2. 論文標題 Lysine-specific demethylase 1 accelerates oncogenesis in p53 heterozygous mice via transcriptional repression of the residual Trp53 allele	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Leukemia Res	6. 最初と最後の頁 29-32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.leukres.2019.05.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kikuchi J, Kuroda Y, Koyama D, Osada N, Izumi T, Yasui H, Kawase T, Ichinohe T, Furukawa Y.	4. 巻 78
2. 論文標題 Myeloma cells are activated in bone marrow microenvironment by the CD180/MD-1 complex, which senses lipopolysaccharide.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Res	6. 最初と最後の頁 1766-1778
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/0008-5472.CAN-17-2446	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Saito S, Kikuchi J, Koyama D, Sato S, Koyama H, Osada N, Kuroda Y, Akahane K, Inukai T, Umehara T, Furukawa Y.	4. 巻 25
2. 論文標題 Eradication of central nervous system leukemia of T-cell origin with a brain-permeable LSD1 inhibitor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Cancer Res	6. 最初と最後の頁 1601-1611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-18-0919	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Furukawa Y, Kuroda Y, Kikuchi J.	4. 巻 59
2. 論文標題 Involvement of innate immunity in the expansion of multiple myeloma cells and therapeutic intervention with lenalidomide	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki	6. 最初と最後の頁 1048-1057
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.59.1048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osada N, Kikuchi J, Umehara T, Sato S, Urabe M, Abe T, Hayashi N, Sugitani M, Hanazono Y, and Furukawa Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Lysine-specific demethylase 1 inhibitors prevent teratoma development from human induced pluripotent stem cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 6450-6462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.24030. eCollection 2018 Jan 19.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi J, Kuroda Y, Koyama D, and Furukawa Y.	4. 巻 107
2. 論文標題 Cell adhesion-induced phosphorylation and inactivation of EZH2 confer drug resistance to acute myeloid leukemia cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Hematol	6. 最初と最後の頁 383-385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1007/s12185-017-2376-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi K, Inukai T, Imamura T, Yano M, , Nemoto A, Sato H, Huang M, Abe M, Kagami K, Shinohara T, Watanabe A, Somazu S, Oshiro H, Akahane K, Goi K, Kikuchi J, Furukawa Y, Goto H, Minegishi M, Iwamoto S, Sugita K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Anti-leukemic activity of bortezomib and carfilzomib on B-cell precursor ALL with IKZF1 deletion.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0188680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1371/journal.pone.0188680. eCollection 2017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Kikuchi J, Furukawa Y.
2. 発表標題 Toll-like receptor and marrow microenvironment as therapeutic targets in multiple myeloma.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koyama D, Kikuchi J, Kuroda Y, Ohta M, Furukawa Y.
2. 発表標題 Subcellular localization of BCR-ABL is regulated by AMPK in response to ATP demand in CML cells.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊池次郎、長田直希、小山大輔、黒田芳明、安井寛、古川雄祐
2. 発表標題 骨髄腫細胞間相互作用による薬剤耐性獲得機構の解明
3. 学会等名 第44回日本骨髄腫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊池次郎、黒田芳明、小山大輔、長田直希、和泉透、安井寛、川瀬孝和、一戸辰夫、古川雄祐
2. 発表標題 免疫調節薬はToll様受容体CD180の発現抑制を介して感染をきっかけとした病態の進展を予防する
3. 学会等名 第43回日本骨髄腫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eradication of central nervous system leukemia of T-cell origin by a brain-permeable LSD1 inhibitor
2. 発表標題 Jiro Kikuchi, Shiori Saito, Daisuke Koyama, Shin Sato, Hiroo Koyama, Naoki Osada, Yoshiaki Kuroda, Koshi Akahane, Takeshi Inukai, Takashi Umehara, Yusuke Furukawa
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Furukawa, Yoshiaki Kuroda, Jiro Kikuchi
2. 発表標題 Modulation of innate immunity as a mechanism of Lenalidomide maintenance for multiple myeloma
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshiaki Kuroda, Daisuke Toyama, Jiro Kikuchi, Yusuke Furukawa
2. 発表標題 Microenvironment-induced autophagy promotes bortezomib resistance in mantle cell lymphoma
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jiro Kikuchi, Yoshiaki Kuroda, Daisuke Koyama, Naoki Osada, Tohru Izumi, Hiroshi Yasui, Takakazu Kawase, Tatsuo Ichinohe, Yusuke Furukawa
2. 発表標題 The Toll-like receptor CD180 pathway mediates infection-triggered progression in multiple myeloma.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 菊池次郎、黒田芳明、小山大輔、長田直希、和泉透、安井寛、川瀬孝和、一戸辰夫、古川雄祐
2. 発表標題 Toll様受容体CD180を介した多発性骨髄腫の進展機序
3. 学会等名 第42回日本骨髄腫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Iha H, Ikebe M, Fajardo L, Suzuki A, Kikuchi J, Furukawa Y.
2. 発表標題 SLAMF7 expression profiles in hematologic malignancies: an interpretation for clinical significance.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 リジン特異的脱メチル化酵素1阻害活性を有する新規化合物、その製造方法及びその用途	発明者 古川雄祐、菊池次郎 ほか6名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-134173	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 多能性幹細胞からのテラトーマ形成抑制剤及びその用途	発明者 古川雄祐、菊池次郎、梅原崇史、佐藤心	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-133951	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 多能性幹細胞からのテラトーマ形成抑制剤及びその用途	発明者 古川雄祐、菊池次郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-133702	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

- (1)自治医科大学幹細胞制御研究部ホームページ
<http://www.jichi.ac.jp/laboratory/molecular/stem/index.html>
- (2)自治医科大学ホームページ「多発性骨髄腫の抗体薬エロツズマブの新たな作用機序を発見」<http://www.jichi.ac.jp/news/research/2019/20190820.html>
- (3)自治医科大学ホームページ「小児・AYA世代の白血病に有効な治療薬を発見」<http://www.jichi.ac.jp/news/research/2018/20181213.html>
- (4)自治医科大学ホームページ「多発性骨髄腫が感染をきっかけに悪化するメカニズムを発見」<http://www.jichi.ac.jp/news/research/2017/20180206.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----