

令和 4 年 5 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08814

研究課題名(和文) 多発性骨髄腫の予後予測バイオマーカーとしてのニッチ細胞解析の有用性

研究課題名(英文) Role of mesenchymal stromal cells in multiple myeloma

研究代表者

一井 倫子 (Ichii, Michiko)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30633010

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、間葉系細胞が多発性骨髄腫の進展にどのように関わっているかを明らかにすることを目的とした。骨髄腫研究はマウス実験や培養実験を中心に進められてきたが、今回の解析では実際の患者骨髄内での病態を明らかにするために、フローサイトメトリー法を用いて骨髄腫患者骨髄検体から直接に単離した間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells; MSC)を用いた。患者由来MSCは健常者由来の細胞集団とは異なるRNA発現パターンを有し、炎症性のシグナルの活性化が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨髄造血を維持する機構として、造血微小環境(niche; ニッチ)の重要性が知られている。近年の研究で、間葉系細胞が多発性骨髄腫の進展に関わっている事が報告されているが、その研究はマウス実験や培養実験から得られており、臨床的意義は未だ不明である。本研究ではニッチの重要な構成因子であるMSCが骨髄腫特異的な特徴を有する事を示した。今後ニッチの骨髄腫病態や予後への作用の詳細が明らかになれば、ニッチを標的とした治療や予後予測法が確立する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed mesenchymal stem/progenitor cells (MSCs) derived from multiple myeloma (MM) patient bone marrow (BM). Using flow cytometry, MSCs were directly isolated from BM, and used for RNA sequencing and functional analyses. We found that MM-MSCs showed distinct RNA expression pattern, compared to healthy donor MSCs. As single-cell RNA seq study showed, inflammatory pathways were activated in MM MSCs.

研究分野：血液・腫瘍内科

キーワード：多発性骨髄腫 造血微小環境

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫は、現在治療法が飛躍的に発展している。患者毎にその病態は非常に多彩であり、治療後には、治療不応性や治療後早期に再燃する患者群、治療反応性が良好であっても再発する群、長期に寛解を維持する群、骨髄腫の前癌状態ともいえる意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(monoclonal gammopathy of undetermined significance; MGUS)の状態を回復する患者群が存在する。治療後の予後を予測する手法の確立は喫緊の課題である。また治療不応性患者に対する新規治療薬の開発も待たれている。

一方、骨髄造血を維持する機構として、造血微小環境(niche; ニッチ)の重要性が知られている。骨髄ニッチに存在する非血液系細胞の機能研究は、主に HSC 維持機構の解明を中心に進んできたが、近年、骨髄内で発症する造血器悪性疾患の支持機構としてのニッチ細胞の役割についても検討が行われ、その重要性が報告されている。これらの研究からは、様々な造血器腫瘍において、ニッチ細胞が腫瘍細胞の影響を受けて性質を変化させる事、すなわち正常造血を維持する能力が低下し、腫瘍細胞を維持し増殖を促進する方向へ変化する事が明らかになっている。しかしながら、これらの研究のほとんどはマウスモデルを用いた実験系で行われている。実際の患者でニッチ細胞がどのように変化し、予後や治療反応性に関わっているかは、全く明らかになっていない。多発性骨髄腫についても、近年の研究で、間葉系細胞が疾患進展に関わっている事が報告されているが、その臨床的意義は未だ不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、患者 MSC が腫瘍の存在によりどのように変化し、その病態や予後に影響を与えているかを詳細に検討する事を目的とした。

3. 研究の方法

申請者らはフローサイトメトリー法を用いて、骨髄検査の際に得られる吸引骨髄液検体から間葉系幹・前駆細胞を(mesenchymal stem cells; MSC)を単離する事に成功した。そこで本研究では、骨髄腫患者骨髄検体から直接に MSC を単離し、フローサイトメトリー法によるマーカー発現、定量 PCR 法を用いた RNA 発現比較、線維芽細胞コロニー(CFU-F)形成能を健常者骨髄由来 MSC と比較し、さらに、RNAseq の解析を行い、骨髄腫特異的ニッチの機能の同定を試みた。同時に、骨髄腫ニッチのフェノタイプの変化が予後予測マーカーとして用いる事が可能であるかを検討する計画とした。

4. 研究成果

本研究初年度には、健常者骨髄から、フローサイトメトリー法により直接に単離した非血液細胞のフェノタイプを解析し、マウスモデルで造血支持細胞として報告されている CXCL12 陽性細網細胞(CXCL12-abundant reticular cells; CAR 細胞)に類似した細胞が、コラゲナーゼ処理を行った骨髄細胞から、CD45 陰性 CD71 陰性グリコフォリン A 陰性、CD31 陰性の血液細胞と血管内皮細胞分画を除いた細胞集団の中で CD271 陽性 PDGFRb 陽性の一集団として同定される事を確認した。

次年度は、同じ細胞表面抗原発現パターンを有する細胞分画を、多発性骨髄腫患者骨髄より単離して RNAseq 解析を行った。健常者骨髄由来の細胞と比較すると、その分化傾向や発現シグナルが有意に異なる事が確認された。

最終年度は、多発性骨髄腫細胞株・患者由来腫瘍細胞と骨髄由来 MSC の共培養実験系を用いて、RNAseq 解析の結果から機能に関わる遺伝子の抽出を開始した。また患者の臨床経過との相関関係についても検討を行った。骨髄腫骨髄には LEPR 発現が低下した健常者骨髄にはほとんど存在しない間葉系細胞が確認されたが、その存在と予後や患者の特徴との相関は明らかでなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ichii M, Hosen N.	4. 巻 13
2. 論文標題 Current Understanding of Myelomatous Mesenchymal Stromal Cells Extended through Advances in Experimental Methods	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers (Basel) .	6. 最初と最後の頁 25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13010025.	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 Aoki K, Kurashige M, Ichii M, Higaki K, Sugiyama T, Kaito T, Ando W, Sugano N, Sakai T, Shibayama H; HANDAI Clinical Blood Club, Takaori-Kondo A, Morii E, Kanakura Y, Nagasawa T.	4. 巻 193
2. 論文標題 Identification of CXCL12-abundant reticular cells in human adult bone marrow	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Br J Haematol .	6. 最初と最後の頁 659-668
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bjh.17396.	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 -

〔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	西東 秀晃 (Saitoh Hideaki) (50815496)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	
研究分担者	柴山 浩彦 (Shibayama Hirohiko) (60346202)	大阪大学・医学系研究科・招へい教授 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	戸田 淳 (Toda Jun) (90770834)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	

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