

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17850

研究課題名（和文）POEMS症候群患者血小板および骨髄間質細胞の遺伝子発現解析

研究課題名（英文）Gene expression analysis of platelets and bone marrow stromal cells from patients with POEMS syndrome

研究代表者

塚本 祥吉（Tsukamoto, Shokichi）

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00814617

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）：本研究はPOEMS症候群において、疾患特異的に高値を示すVEGF産生細胞の候補として主に骨髄間質細胞（Bone Marrow Stromal Cells: MSCs）に着目し、その遺伝子発現解析、機能解析を行うことを目的とした。POEMS症候群MSCs（n=9）は多発性骨髄腫（MM）MSCs（n=3）と比較してVEGF mRNA発現に有意差を認めず、POEMS症候群におけるVEGF産生細胞は骨髄間質細胞ではないことが示唆された。また、POEMS症候群MSCs（n=9）はMM-MSCs（n=2）に比べ、Gene Ontology解析で骨化や骨芽細胞分化に関連する遺伝子群の発現上昇が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

稀少難病であるPOEMS症候群は骨髄モノクローナル形質細胞の存在を基盤に発症していると考えられており、形質細胞異常の観点から多発性骨髄腫に対する新規薬剤の開発、導入により治療成績が向上しつつある。しかし、依然として治療困難な疾患であり再発再燃を繰り返すため、患者救済のための総合的治療戦略は未解決と言える。本研究では形質細胞以外の治療標的細胞として骨髄間質細胞に着目しその遺伝子解析を行ったが、疾患特異的に高値を示すVEGFの産生細胞は骨髄間質細胞ではないことが示唆された結果であり、今後さらなる治療標的細胞の探索による病態解明が必要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal gammopathy or M protein, and skin changes (POEMS) syndrome is a rare monoclonal plasma cell disorder, with unique symptoms distinct from those of other plasma cell neoplasms, including high serum VEGF levels. This study focused mainly on bone marrow stromal cells (MSCs) as candidates for VEGF-producing cells in POEMS syndrome, and we aimed to analyze their gene expression and function.

MSCs that were obtained from patients with POEMS syndrome (n=9), were cultured, and were purified in vitro (POEMS-MSCs) showed no significant difference in VEGF mRNA expression compared to multiple myeloma (MM) MSCs (n=3), suggesting that VEGF-producing cells in POEMS syndrome are not bone marrow stromal cells. In addition, RNA sequencing analysis revealed that POEMS-MSCs (n=9) showed increased expression of gene clusters related to ossification and osteoblast differentiation compared to MM-MSCs (n=2) in gene ontology analysis.

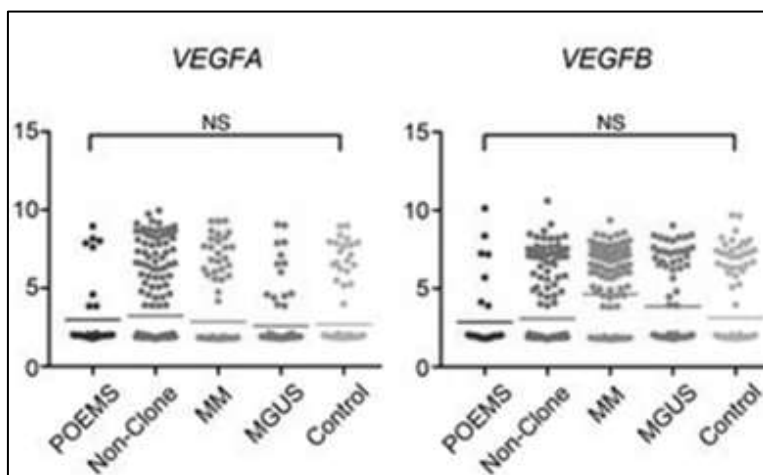
研究分野：形質細胞性腫瘍

キーワード：POEMS症候群 骨髄間質細胞 血小板 VEGF RNAシーケンス

1. 研究開始当初の背景

POEMS 症候群 (クロウ・深瀬症候群、高月病) は骨髄単クローン性 (モノクローナル) 形質細胞の存在を基盤に、多発神経炎による末梢神経障害、臓器腫大、浮腫・胸腹水、皮膚症状、M 蛋白 (単クローン性ガンマグロブリン) 血症、血小板増多などを呈する難治性の全身性、稀少疾患である。特に末梢神経障害が患者の ADL を著しく障害し、末期には四肢麻痺、多臓器不全に至り予後不良の経過を辿る。本疾患の病態には、M 蛋白を産生するモノクローナル形質細胞が関与していると考えられているが、未だ本疾患の詳細な病態解明には至っていない。特に、POEMS 症候群では VEGF を始めとする各種サイトカインが患者血中に異常高値である点が他疾患に比べて特徴的だが、未だにこれら各種サイトカインの産生細胞は同定されていない。我々は先行する POEMS 症候群患者骨髄形質細胞の RNA シークエンスの結果、骨髄形質細胞以外の細胞より VEGF が産生されているとの結論に至った

(Nagao Y et al. *Leukemia*. 2019, 右図: Isshiki Y, *JCI Insight*. 2022)。血中 VEGF 値が患者の病勢を鋭敏に反映するバイオマーカーとなっていることから、VEGF 産生細胞の同定が POEMS 症候群患者に対する新規治療法の導入へとつながり、この



難治性疾患の根治を可能とするものと考えられるため、形質細胞以外の VEGF 産生細胞候補の探索、解析が急務である。

2. 研究の目的

本研究では形質細胞以外の VEGF 産生細胞候補として①骨髄間質細胞、②骨髄巨核球・血小板に着目し、POEMS 症候群におけるこれら 2 つの細胞の遺伝子発現解析、機能解析を行うことを目的とした。

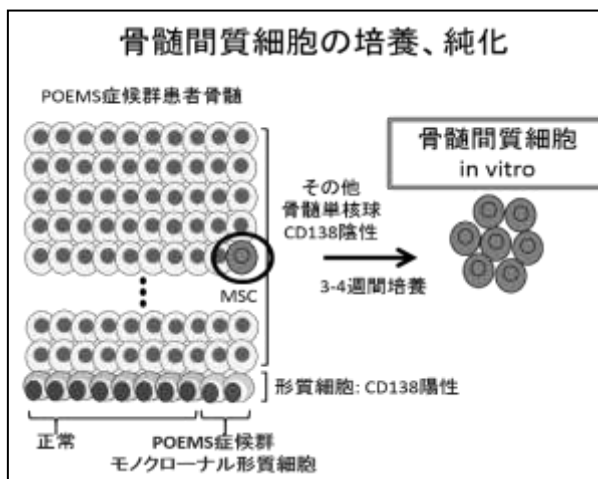
多発性骨髄腫 (Multiple myeloma: MM) や意義不明の単クローン性免疫グロブリン血症 (Monoclonal gammopathy of undetermined significance: MGUS) では骨髄間質細胞 (Bone Marrow Stromal Cells: MSCs) が腫瘍の進展や治療抵抗性に深く関わっていることが知られており、これまで数多くの研究がなされている。一方、POEMS 症候群における MSCs の研究は皆無であり、病的形質細胞と MSCs との関係は明らかとなっていない。

血小板に関しては、POEMS 症候群患者では血小板増多を認め、血清 VEGF 値が著明高値を示す一方で血漿 VEGF 値は上昇しておらず、血小板中に VEGF が蓄積されていると考えられている (Hashiguchi et al. *Muscle Nerve*. 2000)。しかしながら、他の細胞が産生した VEGF が結果として血小板中に蓄積されているのか、それとも血小板に分化する骨髄中の巨核球が VEGF を産生し血小板中にそのまま保持されているのか、その点を解明した研究はこれまで存在しない。

3. 研究の方法

(1) POEMS 症候群患者骨髄間質細胞の遺伝子発現解析

骨髄 CD138 陰性細胞から *in vitro* で MSCs を培養し (右図)、POEMS 症候群患者由来 MSCs と MM 患者由来の MSCs とを RNA シークエンスによる遺伝子発現解析にて比較検討した。



(2) POEMS 症候群患者血小板・骨髄巨核球の VEGF 発現解析

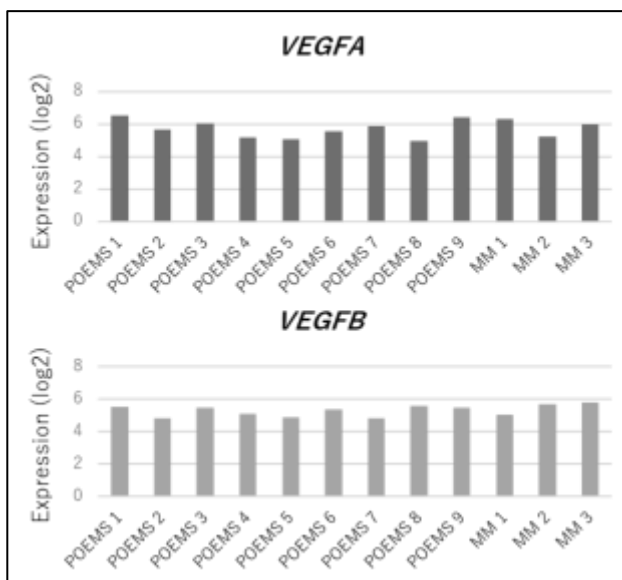
①末梢血より遠心分離により多血小板血漿を得、さらに多血小板血漿を遠心分離し、血小板を純化後、血小板よりタンパクを抽出、ELISA 法にて VEGF タンパクの発現を解析した。

②骨髄生検検体の病理標本を用いて VEGF mRNA *in situ* hybridization 染色を行い、骨髄巨核球中の VEGF mRNA 発現を解析した。

4. 研究成果

(1) POEMS 症候群患者骨髄間質細胞の遺伝子発現解析

POEMS 症候群患者骨髄細胞より培養した *in vitro* の間質細胞 (n=9) は多発性骨髄腫 (MM) 患者骨髄由来の *in vitro* 間質細胞 (n=3) と比較して VEGF mRNA 発現に有意差を認めず、POEMS 症候群における VEGF 産生細胞は骨髄間質細胞ではないことが示唆された (右図)。また、骨髄間質細胞の RNA シークエンスの結果、POEMS 症候群骨髄間質細胞 (n=9) は MM 骨髄間質細胞 (n=2) に比べ、Gene Ontology 解析において複数の immune response に関連する遺伝子群、ossification や osteoblast differentiation



に関連する遺伝子群の発現上昇が見られた。POEMS 症候群では溶骨性病変を生じる MM と異なり、骨硬化性病変が特徴的なため、これらの結果は両疾患における骨髄間質細胞の機能の違いを示唆している可能性があり、今後さらなる研究を予定している。

(2) POEMS 症候群患者血小板・骨髄巨核球の VEGF 発現解析

POEMS 症候群患者血小板 (n=18) 中に含まれる VEGF タンパクは健常者血小板 (n=6) に比べ有意に高値であることが示された。また少数例での検討ではあるが、POEMS 症候群患者骨髄検体の VEGF mRNA *in situ* hybridization 染色において巨核球中に VEGF mRNA 発現が上昇していることが示唆された。今後さらに多数例での検討を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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