

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17382

研究課題名(和文) 多発性骨髄腫におけるCD38経路を介した腫瘍細胞生存機構の解明と新規治療への応用

研究課題名(英文) Dissecting the role of CD38 function in multiple myeloma cell biology

研究代表者

河野 和 (Kawano, Yawara)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教

研究者番号：70776244

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)：CD38陰性の多発性骨髄腫細胞で有意に高いNAD⁺/NADHを認め、骨髄腫細胞上のCD38が細胞内NAD⁺濃度に寄与することを明らかにした。CD38陰性骨髄腫細胞はCD38陽性骨髄腫細胞と比較して解糖系代謝経路が亢進しており、レナリドミドやボルテゾミブといった抗骨髄腫治療薬に対する感受性が低下していた。一方でCD38陰性骨髄腫細胞は解糖系阻害剤への感受性が高かった。CD38のNAD⁺酵素活性阻害は骨髄腫細胞に代謝変化、細胞増殖抑制、細胞死を誘導した。さらにCD38抗体薬の骨髄腫細胞に対する直接的作用にCD38のNAD⁺酵素活性が寄与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗CD38抗体は多発性骨髄腫治療の中心的な薬剤と位置付けられている。しかしながら、CD38抗体併用の化学療法をもってしても多発性骨髄腫は治療困難であるといった問題点も依然として存在する。我々は、CD38酵素活性を阻害し、骨髄腫細胞の増殖・生存への影響とその機序を解析することにより、CD38が抗体療法の標的抗原分子としただけではなく、低分子化合物による機能阻害の対象となりえることを明らかにした。さらに、CD38の酵素活性阻害に伴う変化の解析を行うことで、多発性骨髄腫細胞におけるCD38 NAD⁺経路の役割、ひいては多発性骨髄腫細胞に特有な代謝経路の解明につながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we analyzed differences in multi-omics profile, cell proliferation and drug sensitivity between CD38 positive and negative multiple myeloma cells (MM). Additionally, changes in MM cell homeostasis under CD38 enzyme inhibition was examined. CD38 negative MM cells had increased intracellular NAD⁺/NADH ratio, higher glycolytic activity, reduced cell proliferation, lower sensitivity to anti-MM agents (lenalidomide, bortezomib), while higher sensitivity to glycolytic inhibition, compared to CD38 positive cells. CD38 NADase inhibition led to reduced cell cycle and increased cell death in CD38 positive MM cells, while the effect against CD38 negative cells were minimal. The direct effect of CD38 therapeutic antibody was diminished in CD38 NADase inhibitor resistant cells.

研究分野：血液内科学

キーワード：多発性骨髄腫 CD38

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫は免疫グロブリンを産生する形質細胞の悪性腫瘍であり、白血病、悪性リンパ腫と並ぶ代表的な血液悪性腫瘍の一つである。多発性骨髄腫は主に 65 歳以上の高齢者で発症し、高齢化社会に伴い日本における患者数は増加傾向にある。近年の各種新規治療薬の登場により多発性骨髄腫の治療成績は向上したものの、依然として治癒困難な疾患である。その要因の一つとして、骨髄腫細胞の生存機構や各治療薬に対する耐性獲得機序に不明な点が多いためである。したがって、骨髄腫の治癒のためには骨髄腫細胞の生存機構の解明とそれをもとに既存の治療薬とは異なる新たな作用機序を有する骨髄腫治療薬が必要とされている。CD38 は骨髄腫細胞上に高発現し、CD38 抗体は多発性骨髄腫の治療薬の一つとして臨床応用されているしかしながら、CD38 抗体の骨髄腫細胞への直接的作用や骨髄腫細胞の生存・増殖における CD38 酵素活性の意義や機能については十分に研究されていない。

2. 研究の目的

多発性骨髄腫は高齢化社会に伴い増加中の治癒困難な造血器腫瘍であり、骨髄腫の治癒のためには骨髄腫細胞の生存・増殖メカニズムの解明と既存の治療薬とは異なる作用機序の治療戦略が望まれている。骨髄腫細胞に特異的にかつ高発現する分子の一つとして CD38 が知られている。近年、骨髄腫細胞の表面に発現する CD38 に対する抗体療法が多発性骨髄腫の治療法の一つとして確立されつつある。しかしながら、骨髄腫細胞の生存・増殖における CD38 の意義は依然として不明である。我々は CD38 が骨髄腫細胞の表面上に存在することの細胞生物学的意義を検証することを第一の目的として研究を開始した。また、CD38 は 1 回膜貫通型の糖蛋白質であり、哺乳類の主要な NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide) 分解酵素であることが知られている。一方で CD38 の NAD⁺ 分解酵素活性が骨髄腫細胞の生存に果たす意義は十分に分かっていない。CD38 酵素活性阻害が多発性骨髄腫の治療標的となり得るかも明らかではない。我々は骨髄腫細胞上の CD38 酵素活性を阻害することで骨髄腫細胞の生存・増殖における CD38 の NAD⁺ 分解酵素活性意義を明らかにし、CD38 の酵素活性を標的とした多発性骨髄腫の新規治療法の開発へとつなげることを次の研究目的と位置付けた。

3. 研究の方法

骨髄腫細胞上の CD38 による NAD 分解酵素活性を検討するため、骨髄腫細胞株の中で CD38 陽性分画と CD38 陰性分画の双方を有する骨髄腫細胞株 (KMS12BM, KMS11) を CD38 陽性と陰性分画へと分離し、細胞内 NAD 濃度を解析することで骨髄腫細胞上の CD38 酵素活性を検証した。また、NAD は細胞内の様々な代謝経路に關与する補酵素であるため、CD38 陽性分画と陰性分画とで細胞内の代謝活性や経路が異なると考えられるため、骨髄腫細胞株の CD38 陽性分画と陰性分画のメタボローム解析を行い、両分画での代謝生成物の差を定量的に比較することによりエネルギー代謝の違いを検討した。さらに、CD38 陽性分画と陰性分画の間の蛋白発現量の差を網羅的に検討するため、両細胞間で質量分析法を用いたプロテオーム解析を行い、両分画の生存の鍵となる分子の抽出を試みた。骨髄腫細胞株の検討だけでなく、多発性骨髄腫患者由来の CD138 陽性骨髄腫細胞のプロテオーム解析を行い、CD38 発現と相関、あるいは逆相関する分子を抽出することで、患者由来骨髄腫細胞の CD38 と関連する因子を検討した。骨髄腫細胞は治療経過中に一部の症例で CD38 発現が低下することが知られており、CD38 陰性骨髄腫細胞に対しては CD38 抗体の有効性が低下することが知られている。CD38 陰性の骨髄腫細胞株や患者由来骨髄腫細胞に対してメタボローム解析やプロテオーム解析の結果で得られた CD38 陰性分画細胞での主要な代謝経路や分子の阻害剤を用いて CD38 陰性骨髄腫細胞への有効性を検討した。また、CD38 陰性・陽性骨髄腫細胞間での抗骨髄腫治療薬 (ボルテゾミブ、レナリドミド) に対する感受性の差を解析した。

CD38 の NAD 分解酵素活性を低濃度でかつ選択的に阻害する化合物 (78c) が骨髄腫細胞株や患者由来骨髄腫細胞に細胞周期抑制効果、細胞死の誘導を引き起こすかを検証した。さらに、CD38 CD38 酵素活性阻害に伴う細胞内の代謝経路の変化に関してメタボローム解析を用いて解析し、CD38 酵素阻害に伴う細胞内 NAD 増加による骨髄腫細胞内のエネルギー代謝の変化と CD38 酵素活性阻害に伴う細胞死の機序を検討した。また、*in vitro* において MOLP8 骨髄腫細胞株に 78c を持続的に暴露させることにより、CD38 酵素活性阻害剤抵抗性 (すなわち、CD38 酵素活性に非依存的に生存可能) の MOLP8 細胞株の樹立を試み、野生株との間で CD38 抗体薬 (イサツキシマブ) との感受性の差を解析することにより、CD38 抗体薬が骨髄腫細胞の生存において CD38 酵素活性に及ぼす影響を検討した。

4. 研究成果

CD38 陽性分画と陰性分画との間で細胞内 NAD⁺/NADH を解析したところ、CD38 陰性分画で有意に高い NAD⁺/NADH を認め、骨髄腫細胞上の CD38 が細胞内 NAD⁺濃度に寄与することが明らかになった。また、CD38 陽性・陰性分画で特異的に発現する蛋白分子をプロテオーム解析とメタボローム解析を用いて検討したところ、CD38 陰性骨髄腫細胞は CD38 陽性骨髄腫細胞と比較して解糖系代謝経路が亢進していることを証明した。多発性骨髄腫患者由来の骨髄腫細胞を用いたプロテオーム解析においても CD38 低発現細胞は PKM、HK といった解糖系関連蛋白の発現が上昇していることを確認した。さらに、CD38 陽性・陰性分画間での抗骨髄腫治療薬の感受性の差を検討したところ、CD38 陰性細胞は有意にボルテゾミブ、レナリドミドの感受性が低下していた。これらの薬剤感受性の差は両群間での IKZF や解糖系関連蛋白の発現量の差によるものであることが推測された。以上より、CD38 陽性骨髄腫細胞と CD38 陰性骨髄腫細胞との間の細胞生物学的差異が明らかとなった。

CD38 の NAD⁺酵素活性阻害剤である 78c は骨髄腫細胞に代謝変化、細胞増殖抑制、細胞死を誘導した。以上より、CD38 の NAD⁺酵素活性は多発性骨髄腫の治療標的となり得ることが明らかとなった。さらに 78c を 60 日間 *in vitro* にて MOLP8 骨髄腫細胞株に暴露させた結果、CD38 酵素活性阻害抵抗性の MOLP8 細胞株の樹立に成功した。78c 抵抗性の MOLP8 骨髄腫細胞株は *in vitro* の CD38 抗体薬作用が減弱しており、CD38 抗体薬の骨髄腫細胞に対する直接的作用に CD38 の NAD⁺酵素活性が寄与していることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 河野 和	4. 巻 84
2. 論文標題 多発性骨髄腫における CD38標的療法の意義	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 血液内科	6. 最初と最後の頁 532-535
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 河野和、串間咲希、畑裕之、松岡雅雄
2. 発表標題 CD38は骨髄腫細胞の代謝と増殖を制御する
3. 学会等名 第47回日本骨髄腫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河野和、串間咲希、畑裕之、松岡雅雄
2. 発表標題 骨髄腫細胞の代謝と増殖におけるCD38の役割
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河野和、串間咲希、松岡雅雄、畑裕之
2. 発表標題 骨髄腫細胞生存におけるCD38の意義
3. 学会等名 第46回日本骨髄腫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yawara kawano
2. 発表標題 Dissecting the role of CD38 in multiple myeloma: Not only a surface marker but also a therapeutic target
3. 学会等名 The 12th JSH International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yawara Kawano, Saki Kushima, Hiroyuki Hata, Masao Matsuoka
2. 発表標題 CD38 is responsible for cell metabolism and proliferation of myeloma cells
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yawara Kawano, Saki Kushima, Hiroyuki Hata, Masao Matsuoka
2. 発表標題 The Role of CD38 in Multiple Myeloma Cell Biology
3. 学会等名 63rd ASH Annual Meeting & Exposition (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 串間咲希, 河野 和, 笹野 孝行, 畑 裕之, 松岡 雅雄
2. 発表標題 Multiple myeloma cell death by CD38-NADase inhibition.
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔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
---------	---------