

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16316

研究課題名（和文）多発性骨髄腫ハイリスク染色体異常MAFBの低酸素骨髄微小環境における機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of multiple myeloma high-risk chromosomal abnormality MAFB in the hypoxic bone marrow microenvironment

研究代表者

池田 翔（Ikeda, Sho）

秋田大学・医学系研究科・講師

研究者番号：20791495

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）：本研究では、難治性の造血器腫瘍である多発性骨髄腫の治療抵抗性に関する骨髄微小環境の低酸素ストレスとがん遺伝子MAFBの働きについて検討した。MAFBは低酸素環境で増加する活性酸素種（ROS）を中和するHMOX1遺伝子の発現と強い正の相関を示し、そのノックダウンによる阻害でHMOX1は低下した。また、ノックダウン細胞株を用いたin vitroおよびin vivoの実験により、HMOX1はROSを中和することでプロテアソーム阻害薬の抵抗性に関与していると考えられた。したがってMAFBはジェネティックだけでなくエピジェネティックな高発現により治療抵抗性に関与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって多発性骨髄腫において低酸素応答が抗がん剤を効きにくくすることが改めて確認された。がん遺伝子MAFBはがん細胞の遺伝子異常高発現するがん遺伝子であるが、低酸素ストレスによっても発現が非常に高まることがはじめて明らかとなった。MAFBの機能として、さまざまながん遺伝子の発現を高める役割が知られているが、その中にHMOX1遺伝子があることを突き止めた。HMOX1は活性酸素を中和することでがん細胞を守っている。HMOX1がなくなると抗がん剤であるプロテアソーム阻害薬の効きが良くなった。したがって、低酸素ストレスが起すMAFBの高発現は治療の標的になりうると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the function of the oncogene MAFB in relation to hypoxic stress in the bone marrow microenvironment, which is involved in resistance to therapy in multiple myeloma, a refractory hematopoietic malignancy. MAFB showed a strong positive correlation with the expression of the HMOX1 gene, which neutralizes reactive oxygen species (ROS) increased in hypoxic environments, and inhibition by its knockdown reduced HMOX1. In vitro and in vivo experiments using knockdown cell lines suggested that HMOX1 plays a role in proteasome inhibitor resistance by neutralizing ROS. Thus, MAFB may be involved in therapeutic resistance not only genetically but also epigenetically through its high expression.

研究分野：血液内科学

キーワード：多発性骨髄腫 低酸素 MAFB HMOX1 ROS

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

難治性造血器悪性腫瘍の多発性骨髄腫においては、複数の予後不良遺伝子転座が見出されているが、t(14;20)による MAFB/MafB の過剰発現の意義についてはいまだ知見が不足している。一方で、骨髄微小環境でおこる低酸素応答が、骨髄腫細胞の遺伝子発現の多様性や薬剤耐性に寄与していることが明らかとなってきた。しかしながら低酸素微小環境における MafB の機能については報告がなかった。申請者らは低酸素環境で発現が上昇する遺伝子の機能を研究してきたが、今回、転座による過剰発現がなくても MafB は低酸素環境で発現が上昇し、さらに低酸素環境特異的な転写標的を有する可能性を見出した。これは、低酸素環境で MafB が腫瘍促進的に機能している可能性、微小環境適応分画に対する治療標的としての有用性を示唆している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、MafB の低酸素環境における転写標的を網羅的に解析し、その分子病態への寄与を明らかにし、さらに転座がない症例に対しても MafB がバイオマーカーや治療標的として有望であることを証明することである。

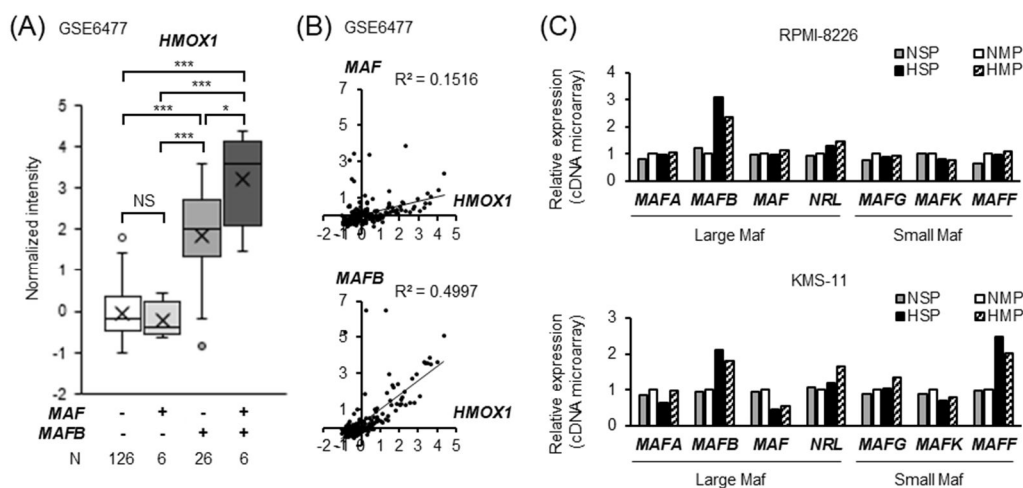
3. 研究の方法

(1) 低酸素環境における MafB の転写標的を明らかにするために、データセット解析によって MafB の阻害により発現が低下する遺伝子と MafB の発現と強い正の相関を示す遺伝子を網羅的に抽出し、低酸素環境で MafB が実際に当該遺伝子の発現亢進に関与しているか検討する。
 (2) MafB が制御していると考えられる遺伝子の機能を解析し、薬剤耐性とのかかわりを in vitro および in vivo の実験で明らかにする。

4. 研究成果

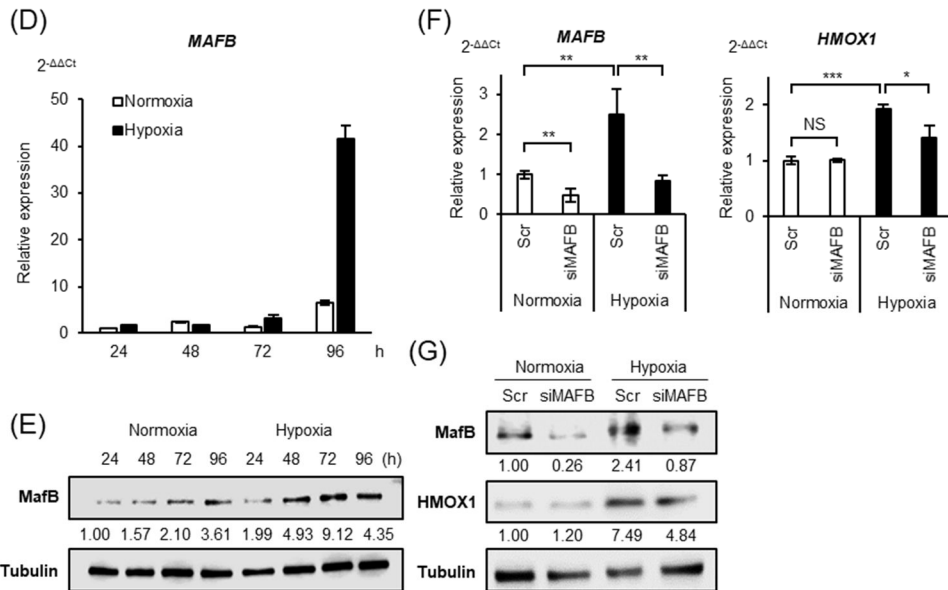
(1) MafB の発現はヘムオキシゲナーゼ-1 (HMOX1) の発現と強い正の相関を示す

もともと我々は低酸素刺激によって幹細胞様分画 (side population) で HMOX1 の発現が亢進することに注目していた。HMOX1 は既報で MafB の制御が示唆されていたため、さらにデータセット解析を行うと、MafB と HMOX1 に強い正の相関がみられた。Maf もまた骨髄腫の重要ながん遺伝子であるが、こちらの正の相関は弱かった。さらに、低酸素刺激した side population (hypoxic side population: HSP) では MafB の発現は亢進していた。



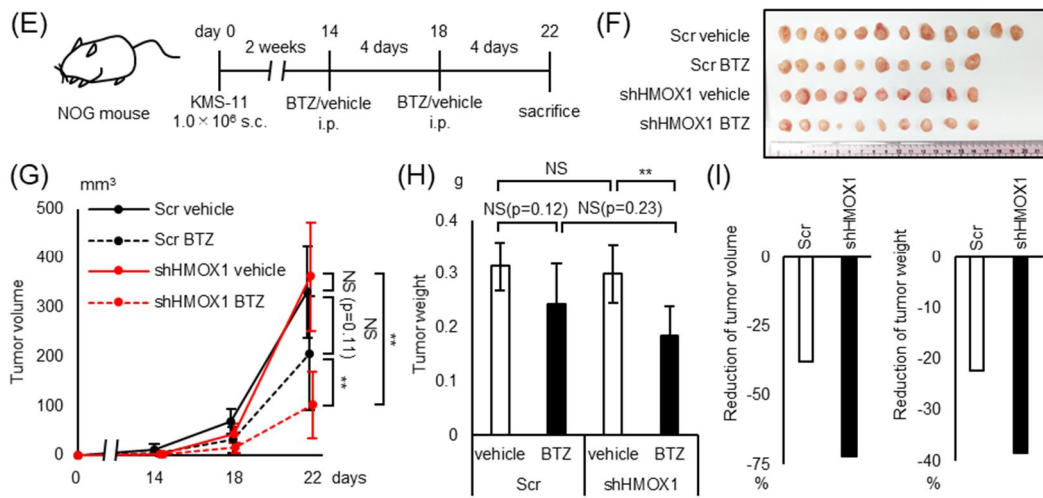
(2) 低酸素ストレスによる MafB の発現亢進と、ノックダウンによる HMOX1 低下

低酸素ストレスにより MafB の発現は著明に亢進した。MafB を siRNA でノックダウンしたところ、正常酸素では HMOX1 の発現に影響を与えなかったのに対し、低酸素環境では HMOX1 の発現を低下させた。

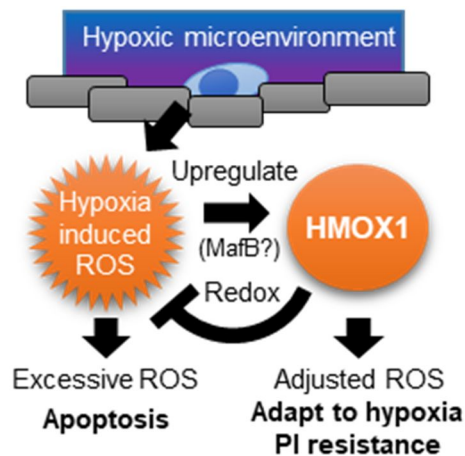


(3) 低酸素環境で HMOX1 はプロテアソーム阻害薬抵抗性に寄与する

HMOX1 をノックダウンして薬剤耐性とのかわりを検討した。HMOX1 のノックダウンにより、in vitro で低酸素環境でよりプロテアソーム阻害薬ボルテゾミブ (BTZ) のアポトーシス誘導効果が高まった。次に免疫不全マウス (NOG マウス) を用いて in vivo の実験を行った。NOG マウスに HMOX1 をノックダウンした細胞株または Scramble shRNA を導入した骨髄腫細胞株を皮下に移植し、2 週間後より BTZ または PBS を皮下注射したその結果、HMOX1 ノックダウンだけでは抗腫瘍効果は見られなかったが、ボルテゾミブへの感受性が亢進する結果となった。



以上の結果より、低酸素微小環境で発生した過剰な活性酸素は、そのままでは細胞毒性があるため、中和のため HMOX1 が発現亢進するが、この転写に MAFB が関与していることが示唆された。MAFB-HMOX1 軸は低酸素環境における薬剤耐性に深く関与していると考えられ、今後は転座によって MAFB が過剰発現しているタイプでなくとも、MAFB の造腫瘍性を標的とした治療戦略が考慮されるようになると考えられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Abe K, Ikeda S, Nara M, Kitadate A, Tagawa H, Takahashi N.	4. 巻 12
2. 論文標題 Hypoxia-induced oxidative stress promotes therapy resistance via upregulation of heme oxygenase-1 in multiple myeloma.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 9709-9722
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.5679	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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 阿部滉、池田翔、奈良美保、松田悠佳、北館明宏、田川博之、高橋直人
2. 発表標題 多発性骨髄腫の低酸素SP細胞において上昇する遺伝子の網羅的探索とその機能解析
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 池田翔、阿部滉、北館明宏、田川博之、高橋直人
2. 発表標題 活性酸素種はヘムオキシゲナーゼ-1の発現上昇を介して低酸素状態の骨髄腫細胞の薬剤耐性に寄与する
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Abe, K., Ikeda, S., Nara, M., Kitadate, A., Tagawa, H., Takahashi, N.
2. 発表標題 Hypoxia-induced oxidative stress promotes proteasome inhibitor resistance via upregulation of heme oxygenase-1 in multiple myeloma.
3. 学会等名 The 64th ASH Annual Meeting and Exposition（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Abe, K., Ikeda, S., Nara, M., Tagawa, H., Takahashi, N.
2. 発表標題 Hypoxia-inducible reactive oxygen species upregulate MAFB and HMOX1, leading to drug resistance in multiple myeloma.
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022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