

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461433

研究課題名(和文) 骨髄腫微小環境におけるSLAMファミリー分子の機能解析と新規治療の開発

研究課題名(英文) Function of SLAM family molecules in tumor microenvironment and development of new therapeutic strategies in myeloma

研究代表者

田村 秀人 (Tamura, Hideto)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70256949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：多発性骨髄腫(MM)細胞に高発現するSLAMF3・7の発現と機能を解析し、MM病態と新規治療について検討した。MM細胞では病態進行に関係なくSLAMF発現は維持されていた。SLAMF陽性MM細胞は陰性細胞に比べ増殖能が高く薬剤耐性で、病態進行に關与した。またMM細胞のSLAMF関連アダプター蛋白以外の新たな活性型アダプター蛋白を同定した。さらに進行期MMでは血清中可溶性SLAMFが高く、病勢進行に關与していた。in vitroでFITC標識抗SLAMF7抗体およびFITC標的キメラ抗原受容体T細胞の併用によりMM細胞を特異的に傷害した。SLAMFは抗体薬やT細胞を用いた免疫治療の標的となる。

研究成果の概要(英文)：SLAMF3/7 are highly expressed on multiple myeloma (MM) cells, although their role in MM pathogenesis remains unclear. In this study, we investigated the functions of those molecules to elucidate MM pathophysiology and attempted to develop new therapeutic strategies. High levels of SLAMF expression were detected in most patients. The proliferative potential and percentage of antimyeloma drug-induced apoptotic cells in SLAMF+ MM cells were significantly higher and lower than in SLAMF- cells, respectively. And we identified new adaptor proteins that could mediate activation signaling in MM cells. The serum levels of soluble SLAMF in MM patients were significantly higher than in healthy controls. in vitro study showed that the combination of FITC-conjugated anti-SLAMF7 antibody and FITC-targeted CART cells induced specific lysis of SLAMF+ MM cells. Our results demonstrated that SLAMFs could be good targets for immunotherapies including antibody treatment and T cell-mediated immunotherapy.

研究分野：骨髄腫

キーワード：多発性骨髄腫 SLAMファミリー分子 腫瘍微小環境 免疫治療

### 1. 研究開始当初の背景

(1)多発性骨髄腫はクローナルな形質細胞の増殖と骨病変、腎障害、血球減少などの臓器症状を特徴とする治癒困難な疾患である。近年、ボルテゾミブなどの新規薬剤の登場により予後は改善したものの未だ治癒困難であり、さらなる予後改善のためには、腫瘍微小環境での腫瘍細胞の増殖や薬剤耐性メカニズムの解明が必須だと考えられる。

(2)骨髄腫細胞で高発現しているSignaling lymphocytic activation molecules(SLAM)ファミリー分子CD229及びSLAMF7(骨髄腫関連SLAMF分子)は、正常リンパ球に発現しており、正常リンパ球では同分子と結合、SAPファミリーアダプター蛋白を介して活性化シグナルを入れるが、MM細胞における機能については不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

骨髄腫関連SLAMF分子とSAPファミリーアダプター分子の発現と機能を解析することにより、腫瘍細胞の増殖やアポトーシス回避、骨髄腫治療薬への耐性、腫瘍微小環境における腫瘍免疫の異常を解明し、新たな骨髄腫病態を明らかにするとともに、骨髄腫関連SLAMF分子群を標的とした新規治療法の開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、(1)ヒト骨髄腫細胞株および患者骨髄腫細胞、さらには免疫細胞(T・B・NK細胞、樹状細胞、骨髄由来抑制細胞など)の骨髄腫関連SLAMF分子群およびSAPファミリーアダプター分子群の発現を解析、(2)骨髄腫細胞や腫瘍微小環境での骨髄腫関連SLAMF分子群の機能(骨髄腫細胞の増殖と薬剤耐性機序など、免疫細胞の活性化あるいは増殖抑制など)を解析する。また、(3)骨髄腫細胞同定抗原としての骨髄腫関連SLAMF分子群、特にCD229抗

原の有用性について検討を行う。これらの知見を基に、(4)これら骨髄腫関連SLAMF分子群による新規治療戦略の開発を検討した。

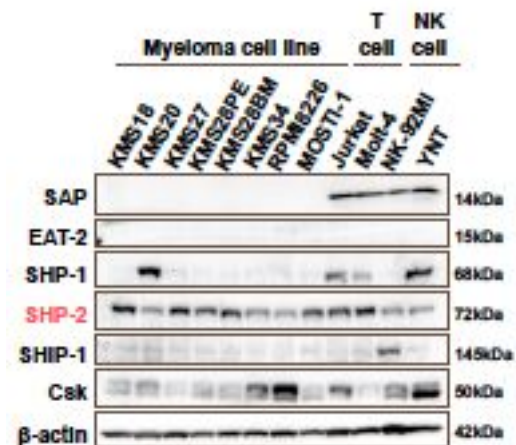
### 4. 研究成果

(1) 意義不明単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)及びMM患者213例での形質細胞解析では、病態進行とともに形質細胞特異的抗原CD138の発現は低下するが、これらSLAMF3分子の発現強度は維持されていた。

Comparison of disease stage	CD138		SLAMF3	
	Expression (%)	P-value	Expression (%)	P-value
Symptomatic myeloma vs. MGUS vs. asymptomatic myeloma	62.0 ± 24.5 vs. 71.4 ± 18.1 vs. 77.0 ± 14.6	— 0.0295 0.009	81.0 ± 18.8 vs. 76.1 ± 21.7 vs. 86.6 ± 13.4	— N.S. N.S.
ISS III/IV vs. ISS I	60.3 ± 23.3 vs. 71.8 ± 23.8	0.0065	80.3 ± 19.1 vs. 84.2 ± 16.9	N.S.
Relapse/refractory myeloma vs. newly diagnosed myeloma	52.2 ± 19.4 vs. 63.9 ± 24.0	0.006	81.6 ± 14.8 vs. 81.7 ± 18.3	N.S.

また、10種以上のヒト骨髄腫細胞株の解析でも、これらSLAMF3/7分子の発現強度は高く、骨髄腫の病勢進行に関与している可能性が示唆された。

(2)SLAMF陽性骨髄腫細胞では陰性細胞に比べて増殖能が高く、骨髄腫治療薬に耐性であり、それら腫瘍増殖及び薬剤耐性の原因遺伝子を同定した。骨髄腫細胞には既知の活性化シグナルを伝達するSAPファミリーアダプター蛋白は発現してなかった。今回、骨髄腫細胞に増殖シグナルと伝達するアダプター蛋白を同定した。



これらの結果からもSLAMFが病態進行に重要な役割を果たすと考えられた。

(3)進行期骨髄腫患者では、血清可溶性 SLAMF 分子が高値になっており、可溶性も病勢進行に関与する可能性が示唆された。

また、in vitro で可溶性 SLAMF7 は抗 SLAMF7 抗体との結合により抗体依存性細胞傷害活性を低下させ、抗体治療の効果を減弱させた。しかし、患者血清可溶性 SLAMF7 は抗 SLAMF7 抗体治療薬エロツズマブ投与後、急速に低下することが明らかとなった。また、エロツズマブ以外の治療薬でも部分奏効以上となった患者では、血清可溶性 SLAMF7 値が測定感度以下に低下していた。

(4)SLAMF 分子の発現は進行症例でも維持されており、MM 細胞の同定抗原となるとともに抗体や T 細胞を用いた免疫治療の標的となる可能性が示唆された。そこで、Chimeric antigen receptor-modified T cell (CART) 細胞を用いた免疫治療について検討した。in vitro において、FITC 標識抗 SLAMF7 抗体薬および FITC 標的 CART 細胞療法の併用は、SLAMF7 発現 MM 細胞を特異的に傷害した。これらの結果からも SLAMF 分子が免疫標的となることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 8 件)

Akiko Yamada, et al. Clinical utility of SLAM family member CD229 in identifying tumor cells and high-risk disease markers, CD86 (B7-2) and CD126 (IL-6 receptor), using flow cytometric analysis in multiple myeloma. 米国血液学会年次総会 (San Francisco) 2014.12.8.

山田晃子ら. 骨髄腫における SLAM ファミリー分子 SLAMF3 と SLAMF7 の発現と機能. 第 40 回日本骨髄腫学会学術集会(熊本) 2015 年 5 月 16 日.

Akiko Yamada, et al. Expression and function of SLAM family molecule SLAMF3 (CD229) in myeloma. 15<sup>th</sup> International Myeloma Workshop (Rome, Italy) 2015.9.24.

高橋理紗ら. 多発性骨髄腫における SLAM ファミリー分子 CD229 の発現と病態との関連. 第 77 回日本血液学会学術集会(金沢) 2015 年 10 月 16 日.

添田沙織ら. 多発性骨髄腫における血清可溶性 SLAMF7 の臨床的意義. 第 41 回日本骨髄腫学会学術集会(徳島)2016.5.29.

Mariko Ishibashi, et al. The immunoreceptor SLAMF3 is associated with acquired drug resistance in multiple myeloma. 第 78 回日本血液学会学術集会(横浜) 2016 年 10 月 13 日.

添田沙織ら. 多発性骨髄腫における血清可溶性 SLAMF7 の病態進行と抗 SLAMF7 抗体治療への影響. 第 78 回日本血液学会学術集会(横浜) 2016 年 10 月 13 日.

坪田朝子ら. 多発性骨髄腫における血清可溶性と形質細胞上の SLAMF3 発現の臨床的意義. 第 78 回日本血液学会学術集会(横浜) 2016 年 10 月 13 日.

〔図書〕(計 1 件)

石橋真理子、田村秀人. 「多発性骨髄腫における SLAM ファミリー分子の発現と機能」『多発性骨髄腫学』日本臨牀 74 (Suppl

5) : 158-162; 2016. (7月) (日本臨牀社)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田村 秀人 (TAMURA, Hideto)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号 : 70256949

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :

### (4) 研究協力者

石橋 真理子 (ISIBASHI, Mariko)

奥山 奈美子 (OKUYAMA, Namiko)