

研究の分類・属性

内科系

研究の概要

本研究班の目的は、難治性造血器腫瘍である多発性骨髄腫の分子病態をより明確にし、分子基盤に基づく新たな治療法を開発し、多発性骨髄腫の治療成績を向上させることである。そのために、これまでの研究成果を基盤とした抗骨髄腫効果を有する新たな低分子化合物の臨床応用や骨髄腫幹細胞/前駆細胞の同定とこれらを標的にした次世代の骨髄腫治療を開発することを目的とした。さらに、新規薬剤の臨床応用に欠かせない臨床像を忠実に反映するモデルマウスの樹立を同時に行い、基礎的研究成果を臨床に応用する一貫した研究システムを構築することも目指した。また、実臨床における課題として新規治療薬としてのプロテアソーム阻害剤の効果や毒性を予測する分子バイオマーカーの同定と治療薬による末梢神経障害発症機序の解明などの具体的な課題のもとに実用性の高い応用研究を推進した。具体的な成果として、

1. 関節リウマチ治療薬である金製剤オーラノフィン (AF) は JAK2/STAT3 および NF- κ B 活性を阻害し、また XBP-1 阻害剤 トヨカマイシンは小胞体ストレス負荷により骨髄腫細胞の細胞死を誘導するとともにマウスモデルを用いた検討でも抗骨髄腫効果をしめし、新たな治療薬となりうる可能性が示唆された。
2. 骨髄腫細胞により骨病変部に誘導される破骨細胞、間質細胞や血管内皮細胞は“骨髄腫ニッチ”と言うべき骨髄腫細胞の生存・増殖に好適な細胞環境を形成しており、骨髄腫細胞は、自らが骨髄内に誘導する細胞により形成された骨髄腫ニッチで生まれ、骨破壊・骨喪失を進行させつつ骨髄腫ニッチを拡大するという悪循環を形成していることを示した。骨髄腫ニッチを標的とし、骨病変と腫瘍進展を共に抑制しうる候補治療薬として、放線菌の代謝物リベロマイシン A と Pim キナーゼ阻害薬を見出した。リベロマイシン A は、骨髄腫骨病変部に形成される酸性環境を標的とし、破骨細胞による骨吸収の抑制とともに酸性環境で薬剤耐性を獲得している骨髄腫細胞を死滅させた。Pim-2 キナーゼは、骨髄腫細胞と骨髄微小環境との相互作用で骨髄腫細胞と骨髄間質細胞の両者に発現が亢進し、骨髄腫細胞の生存促進と薬剤耐性を惹起し、骨髄間質細胞では骨芽細胞分化の負の制御因子として作用していた。
3. ボルテゾミブ耐性骨髄腫細胞株を樹立して作用機序を検討した結果、プロテアソームの $\beta 5$ サブユニットに G322A 変異を認めた。その結果、ボルテゾミブによるユビキチン化蛋白の蓄積は軽減され小胞体ストレスを介した細胞死から免れていることを見いだした。さらに、新規 NF- κ B 阻害剤 TM233 を開発し、ボルテゾミブ耐性克服の可能性を示した。
4. 形質細胞マーカーとして広く使われている CD138 陰性分画に *in vitro* でも *in vivo* でも多数の骨髄腫細胞を産生できる細胞 (Clonogenic 骨髄腫細胞) が存在するが、それらは形質細胞の一分画であって、以前に報告されているような B 細胞の一部ではないことを示し、この分画に骨髄腫幹細胞/前駆細胞が存在する可能性が示された。さらに、CD138 陰性 clonogenic 骨髄腫細胞を含め全ての骨髄腫形質細胞に高発現する抗原として CD48 を同定し、それに対するモノクローナル抗体による治療の可能性を示した。
5. 実臨床においてしばしば問題となるプロテアソーム阻害剤ボルテゾミブによる末梢神経障害は、misfold 蛋白の蓄積による aggresome 形成によるものであり、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤や Hsp90 阻害剤によって misfold 蛋白の細胞外への排出が可能であった。さらに、ボルテゾミブの効果および毒性を予測する分子マーカーの探索を 44 例の患者検体を用いて検討した。
6. 健常人の免疫グロブリン L 鎖には糖鎖付加を認めないが、骨髄腫患者血清中 M 蛋白 L 鎖には、さまざまな糖鎖が結合し、M 蛋白 L 鎖結合糖鎖構造解析が臨床像を反映するバイオマーカーになることを明らかとした。さらに、レクチンブロット法により、糖鎖構造と骨融解病変との関連が認められ、M 蛋白 L 鎖中の糖鎖を定量する ELISA 法を確立した。さらに DNA ミスマッチ修復に関連するマイクロサテライト不安定性が病勢を反映することも見いだした。
7. 再発・難治多発性骨髄腫を対象に、塩酸イリノテカン (CPT-11) と関節リウマチ治療薬金製剤オーラノフィンを用いた臨床試験を当該施設倫理委員会の承認のもとに施行した。

研究経費

年度	
平成21年度	12,300千円
平成22年度	11,660千円
平成23年度	9,328千円

研究班の組織

木崎 昌弘	埼玉医科大学総合医療センター 血液内科/教授	総括と骨髄腫に対する新規分子標的療法 の開発
飯田 真介	名古屋市立大学大学院 医学研究 科/准教授	分子病態に基づいた効果的な治療法の 開発
安倍 正博	徳島大学大学院 ヘルスバイオサイ エンス研究部 生体情報内科学 /准教授	骨破壊機序の解明と治療法の開発およ び骨髄腫マウスモデルの開発
保仙 直毅	大阪大学大学院 医学系研究科 生体情報科学/准教授	骨髄腫幹/前駆細胞の同定
渡辺 隆	国立がんセンター中央病院 血液 内科/特殊病棟部医長	1) ボルテゾミブの毒性軽減の検討 2) ボルテゾミブの薬理作用の個人差判 定と臨床効果との相関関係の検討
服部 豊	慶應義塾大学 薬学部 病態生理 学講座/教授	M蛋白の糖鎖構造に着目した骨髄腫の新 たなバイオマーカーの開発
宮下 要 (平成23年3 月で終了)	独立行政法人国立病院機構九州 がんセンター 血液内科/医員	多発性骨髄腫におけるマイクロサテラ イト不安定性の実態とその意義に関す る研究
安部 康信 (平成23年4 月より開始)	独立行政法人国立病院機構九州 がんセンター 血液内科/医長	多発性骨髄腫におけるマイクロサテラ イト不安定性の実態とその意義に関す る研究

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

本研究の目的

多発性骨髄腫は高齢者に好発し、通常の化学療法や造血幹細胞移植を用いた大量化学療法によっても治癒が難しい

ために、高齢化社会を迎えた今日、最も治療法の進展が期待される造血器腫瘍である。分子病態の解明とともに、ボルテゾミブやサリドマイドなどの新規治療薬が開発され、大規模臨床試験により骨髄腫の治療成績は向上してはいるものの、新規治療薬の様々な有害事象や薬剤耐性の問題が指摘されている。したがって、これらの諸問題を解明し新たな治療法を開発する事は、骨髄腫の治療成績をさらに向上させるために必要である。本研究は、これまでの研究成果を基に新規治療薬の薬効や耐性を予測するバイオマーカーを確立し、骨髄腫診療における諸問題の解決を図り分子病態に基づく新たな骨髄腫に対する治療薬を開発することが目的である。さらに、いまだ国内外で明らかにされていない骨髄腫幹細胞/前駆細胞の同定とそれらを標的にした次世代の骨髄腫に対する治療法開発も目的とする(別添図1)。

到達目標

多発性骨髄腫の分子様態を骨髄腫細胞におけるシグナル伝達系および特異的生育環境である骨髄微小環境の腫瘍進展・薬剤耐性に及ぼす影響の両面から解明する。特に骨髄腫における骨破壊機構とその治療法を明らかにする。さらに、多発性骨髄腫における DNA ミスマッチ修復 (MMR) およびマイクロサテライト不安定性 (MSI) の実態と病態形成における意義を明らかにする。最近注目されている骨髄腫幹細胞/前駆細胞の生物学的特性とそれらを標的にしたモノクローナル抗体の開発を行う。これらの分子病態に基づく様々な低分子化合物や抗体を用いた次世代の骨髄腫治療を確立するために、本研究班において独自に開発した SCID-rab マウスを用いた骨髄腫モデルマウスによる薬効評価システムを作成し前臨床試験を行う。

実臨床における課題としては、本研究班全体の課題と班全体で解析してきたプロテアソーム阻害剤ボルテゾミブの治療効果や有害事象を予測する分子バイオマーカーの臨床的有用性の validation を行う。「再発・再燃・治療抵抗性多発性骨髄腫に対する週 1 回イリノテカン (CPT-11) の臨床第 II 相試験 (UMIN000001213)」(名古屋市立大学) および「再発難治多発性骨髄腫に対するオーラノフィンの有用性の検討」(埼玉医科大学) に関しては、施設倫理委員会の承認のもとに臨床試験として既に行われており班員各施設で多数の症例に実施することを目標とする。

(研究終了時点の実績要点)

1. 患者骨髄腫病変を再現させるため、骨内で進展し骨破壊病変を形成することが可能なモデルマウスを、SCIDマウスの皮下に移植したウサギ骨にヒト骨髄腫細胞を移植して作成した (SCID-rab骨髄腫モデル)。
2. シグナル伝達阻害による新規治療薬の開発：金製剤オーラノフィン (AF) によるIL-6シグナル伝達阻害活性を明らかにした。
3. 小胞体ストレスを介する新規治療薬の開発：小胞体ストレスの増強を目指したトヨカマイシンは骨髄腫細胞の細胞死を誘導し、マウス移植モデルでの検討でも抗腫瘍効果を示すことを確認した。
4. 酸性環境下に作用する新規薬剤の開発：放線菌の代謝物リベロマイシンAは酸性環境下でその極性が変化し、細胞内に移行し骨髄腫細胞および破骨細胞の細胞死を誘導した。
5. 新規薬剤耐性機構の解明とその克服：独自に樹立したボルテゾミブ耐性骨髄腫細胞株KMS-11/BTZを用いてボルテゾミブ耐性機構を明らかにし、新たなNF- κ B阻害活性を有する化合物を開発した。
6. ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤ポリノスタットに対する耐性骨髄腫細胞株を作成した。
7. 新規抗アポトーシス分子Pim-2の骨髄微小環境を介する骨髄腫細胞増殖抑制機構を明らかにした。
8. 骨髄腫幹細胞はCD138陰性分画に存在する形質細胞でありB細胞ではないことを明らかにした。
9. 骨髄腫細胞と骨髄間質細胞の接着を阻害する抗体を同定した。
10. 骨髄腫細胞におけるMSIの意義について患者検体を用いて検討した。
11. レクチンプロット法によるM蛋白結合糖鎖解析と臨床像の関係について解析し、糖鎖構造と骨融解病変との関係を明らかにした。M蛋白L鎖中の糖鎖をレクチンを用いて定量化するELISA法を確立した。
12. ボルテゾミブによる末梢神経障害発症にはchaperon-mediated autophagy (CMA)が関与することを明らかにし、HSP-70蛋白が重要な役割を果たす。ボルテゾミブ投与前患者血清を5施設から21検体集め、末梢神経障害予測バイオマーカー検索のために米国Hitachi Chemical Research Centerにて解析中である。
13. 「再発・再燃・治療抵抗性多発性骨髄腫に対する週 1 回イリノテカン (CPT-11) 療法の臨床第II相試験 (UMIN000001213)」の登録と実施。
11. 「再発難治多発性骨髄腫に対するオーラノフィン (AF) の有用性の検討」の実施。

研究方法

1. 金製剤 AF の作用機構解明の研究

種々の骨髄腫細胞株および患者検体を用いて種々のシグナル伝達系の解析を行った。

2. トヨカマイシンの抗骨髄腫効果の研究

本年度は *in vivo* での抗骨髄腫作用の検討を行った。SCID マウスの皮下にヒト RPMI-8226 細胞を皮下移植したマウス

モデルを作成し、2群に分けてトヨカマイシン投与群とコントロール群で腫瘍の縮小効果について検討した。

3. 臨床検体を用いたボルテゾミブおよびHDAC阻害剤耐性化機序の分子生物学的検討の研究

ボルテゾミブに耐性化した患者検体についてのプロテアソームβ5サブユニット、Bip/Grp78などの小胞体シャペロン蛋白、Nrf2によって制御される抗酸化因子をはじめとした耐性関連遺伝子発現や変異の有無を検討するための多施設共同の遺伝子研究計画書を作成し、試料収集を開始した。またHDAC阻害剤であるボリノスタットに対する耐性骨髄腫細胞株を樹立し、各HDACの発現レベルや遺伝子変異の有無を中心に検討した。

4. ボルテゾミブ耐性を克服する新規NF-κB阻害剤の開発に関する研究

われわれが既に明らかにしたNF-κB阻害活性を有する1'-acetoxychavicol acetate (ACA)を構造展開して得られた種々の化合物の構造-機能解析にて得られたTM233を用いて、ボルテゾミブ耐性細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。

5. 骨髄腫幹細胞あるいは前駆細胞の同定法に関する研究

- 1) Lymphocyte conditioned media 添加メチルセルロース培地でのコロニーアッセイを行った。
- 2) SCID-rabモデルを用いた*in vivo*でのヒト骨髄腫再構築について検討した。
- 3) NOGマウス新生児への経静脈的あるいは成体NOGマウスへの骨髄内移植を用いた*in vivo*でのヒト骨髄腫再構築を検討した。

6. 骨髄腫幹細胞/前駆細胞がB細胞に存在するのか形質細胞に存在するのかを明らかにするための研究

CD19, CD34, CD38, CD138抗体で染色した骨髄腫患者由来検体をFACS-sortingしたのちに5-1)の解析系にて解析した。

7. 骨髄腫幹/前駆細胞に結合し抗骨髄腫活性を持つモノクローナル抗体の同定に関する研究

- 1) 新規CD48モノクローナル抗体を作製し、その抗骨髄腫細胞効果を*in vitro*および*in vivo*にて検討した。
- 2) INA-6骨髄腫細胞株(SCID-rabモデルでは骨髄内ニッチ依存的に生存する性質を有する)を抗原としてモノクローナル抗体ライブラリーを作製した。
- 3) 各抗体をGFPを発現させた骨髄腫細胞と骨髄ストローマ細胞の共培養に加え、非接着細胞を回収したのち、GFPの蛍光を定量することにより接着細胞の数を測定した。

8. 高精度MSI解析系による治療反応性に関する研究

患者由来腫瘍および正常組織標品からgenomic DNAを抽出し、蛍光プライマーと自動シーケンサーを用いた高精度MSI解析系によるMSI解析を行った。また、genomic PCR-direct sequencing法を用いて、TP53やRASなどの発がん遺伝子群の構造解析を行い、変異解析を行った。

9. M蛋白L鎖結合糖鎖の構造解析に関する研究

糖鎖構造の解析のためにMALDI-TOF-MSを用いて質量分析法を行った。患者血清で特に反応するレクチンに着目し、レクチンアフィニティーカラムを作成し、トリプシン消化物の精製を行った。PNGaseF等により糖鎖を遊離させ、糖鎖部をBlotGlycoによりラベル化し、MALDI-TOF-MSを用いて構造解析した。さらに、M蛋白L鎖の種々のレクチンとの反応性と合併症の相関について検討した。

10. ボルテゾミブの毒性軽減の検討に関する研究

RT4-D6P2T細胞(2×10^5 /ml)を6-well plateにて培養し、SAHA 5 μMを単独投与し(2, 3, 4, 6, 24, 30時間後)mRNAを抽出する。HSC70をコードする2つのHSPA8、LAMP2、PIK3C3、DNAJB4およびHSP70をコードするHSPA4の遺伝子発現変動をRT-PCR法にて確認した。

11. ボルテゾミブの薬理作用の個人差判定と臨床効果との相関関係の検討の研究

ボルテゾミブ投与前および投与後2-3日、1-2週間後に採血し、-80°Cに保存し、米国Hitachi Chemical Research Centerに送付し、網羅的遺伝子発現解析を行うとともに、対象患者のCRFを収集回収した。

12. 再発・難治性骨髄腫患者を対象とした塩酸イリノテカン療法の臨床第II相試験研究

メルファランによる治療歴を有し、ボルテゾミブまたは免疫調節薬の治療歴と測定可能M蛋白病変を有する20歳~75歳のPS2以下の再発・再燃・治療抵抗性の骨髄腫患者を対象に、文書による同意を得てCPT-11 100mg/m²をday 1,8,15に投与し4週毎に最長8サイクルまで繰り返すというプロトコル治療を実施し治療効果を判定する。

1. 再発難治多発性骨髄腫に対するオーラノフィン(AF)の有用性の検討に関する研究

既存の治療に抵抗性でPS2以下の再発・難治骨髄腫患者を対象に、文書にて同意を得た後にAF 6 mg/日を増悪するまで投与し、治療効果を判定する。

研究成果と考察

1. 新規低分子化合物による新たな骨髄腫治療薬の開発

1) 金製剤AFの作用機構の解明：関節リウマチ治療薬でもある金製剤AFはRbの脱リン酸化を介して骨髄腫細胞を細胞周期G1期に停止させた。さらに、骨髄腫細胞の増殖に必須のIL-6シグナルにおけるSTAT3のリン酸化を抑制し、

Mcl-1 の転写活性を抑制し細胞死を誘導した。さらに、NF- κ B活性の抑制効果も示した。

2) 小胞体ストレスを増強する XBP-1 阻害剤トヨカマイシンは、RPMI-8226 細胞を SCID マウスに移植した骨髄腫モデルにて、コントロールと比較して有意に腫瘍縮小効果を認めた。

3) 新規抗アポトーシス分子 Pim-2 は、供培養系を用いた解析により、骨髄腫細胞が骨髄間質細胞に発現誘導された。培養骨芽細胞分化誘導系に Pim-2 siRNA を処理し Pim-2 の発現を抑制すると BMP-2 による骨芽細胞分化が著明に亢進されることを見出した。Pim-2 の阻害によりマウス頭蓋冠の器官培養でも骨形成能の亢進を来することが示され、Pim-2 の阻害は骨芽細胞分化を惹起することが確認された。このような結果から、Pim-2 の阻害は骨髄腫の生存の抑制だけでなく、骨破壊部に骨形成を惹起する新規治療法になる可能性が示された。

2. ボルテゾミブおよび HDAC 阻害剤耐性機構の解明とその克服

1) 「ボルテゾミブ耐性患者における骨髄腫細胞の遺伝子変異及び遺伝子発現解析研究」の研究計画書を作成し、事務局施設の遺伝子倫理審査委員会で承認を得た。班員所属施設の施設遺伝子倫理申請を行い、班として検討する予定である。HDAC 阻害剤であるボリノスタットを長期間にわたり添加し、段階的に薬剤濃度を上げることによりボリノスタットに耐性化した骨髄腫細胞株 KMS-11/SAHA と XG-7/SAHA を樹立した。親株に対する IC₅₀ は、各々 3.3 倍と 4.1 倍であった。これらの株ではボリノスタットによる HDAC 活性阻害は抑制されており、ボリノスタット添加時のアセチル化ヒストンやカスパーゼの活性化も親株に比して抑制されていた。遺伝子配列を検討したが、HDAC2,3,4,8 には明らかな遺伝子変異は認めなかった。

2) ボルテゾミブ耐性の克服

われわれが明らかにした NF- κ B 阻害活性を有する 1'-acetoxychavicol acetate (ACA)誘導体である TM233 は KMS-11/TMZ の細胞死を誘導しボルテゾミブ耐性を克服した。

3. 骨髄腫幹細胞/前駆細胞の解析とそれらを標的にした新規治療法の開発

1) 骨髄腫幹細胞あるいは前駆細胞が B 細胞に存在するのか形質細胞に存在するのかに関しては、SCID-rab モデルでは、以前の報告通り、CD38⁺⁺形質細胞のみが骨髄に生着し増殖した。骨髄腫患者骨髄検体を CD138 陰性細胞と陽性細胞に分離し SCID-rab モデルに移植したところ、9 症例中 3 症例で CD138 陰性分画を移植したマウスで非常に急速な骨髄腫の発症が見られた。骨髄に生着した細胞はやはり CD38 強陽性の骨髄腫形質細胞のみで CD19+B 細胞は見られなかった。したがって、少なくとも一部の症例において、CD138 陰性分画に clonogenic 骨髄腫細胞が存在すること、そして、それらは B 細胞でなく形質細胞の一部であることが明らかになった。

2) 骨髄腫細胞に結合しその骨髄内ニッチへの接着を阻害する活性を持つモノクローナル抗体の同定を行った。約 250 クローンの抗骨髄腫細胞抗体を作製したのち、骨髄由来ストローマ細胞への接着を阻害するモノクローナル抗体をスクリーニングし 2 抗体を得た。これらの抗体は、患者由来骨髄腫形質細胞に対しても非常に強い抗接着効果を持ち、その抗原を発現クローニングにて同定したところ、 α 4 インテグリンであった。

4. 治療反応性や毒性を予測するバイオマーカーの検討

1) ボルテゾミブ投与前後の多数の遺伝子発現変化結果を米国 Hitachi Chemical Research Center で解析中であり、効果あるいは毒性との関連性を、今年度中に検討予定である。

2) Bortezomib、lenalidomide、thalidomide を用いた治療を受けた 20 例をについて、患者由来腫瘍および正常組織標品から genomic DNA を抽出し、蛍光プライマーと自動シーケンサーを用いた高精度 MSI 解析系による MSI 解析を施行している。

5. 骨髄腫およびボルテゾミブによる末梢神経障害の病態解明のための検討

1) ボルテゾミブによる末梢神経障害の原因を明らかにするために、schawanomma 細胞株 RT4-D6P2T を用いてボルテゾミブ投与による種々の遺伝子変異および蛋白レベルでの発現に関して検討した。その結果、蛋白レベルでは区別できなかった HSP70 と HSC70 のうち、chaperon-mediated autophagy (CMA) に関与するとされる HSC70 が、HDAC 阻害剤 (SAHA) により mRNA レベルで発現が誘導され、CMA の活性化に関与している可能性が示唆された。PIK3C3 発現の増加については、この遺伝子産物は、ライソゾームの酵素前駆体がライソゾームに輸送されるのに関与しているので、この遺伝子も CMA に影響を及ぼしていることが示唆された。ボルテゾミブと SAHA を併用投与する場合、蛋白レベルでは LAMP-2A の顕著な増加が確認されていたが、SAHA 単独投与 30 時間後まで、mRNA レベルでの変化は確認されなかった。したがって、これらの遺伝子発現の変化より、末梢神経障害の原因として aggresome 形成の関与が考えられ、薬剤を併用することで細胞質内 misfolded 蛋白を細胞外へ排出することで末梢神経障害が軽減される可能性が示唆された。

2) M 蛋白に付加している糖鎖を解析するため、20 種類のレクチン等との反応性について検討した。その結果、健常人では、L 鎖においていずれのレクチンにも反応が認められなかったのに対して、多くの骨髄腫患者試料中の L 鎖では、患者により異なるもののレクチンと反応し、糖鎖が付加していることを明らかにした。この、付加糖鎖中にはフコースおよびガラクトース、マンノースが多く存在し、これらは大きく 2 種類のパターンに分類された。すなわち各パターンの糖鎖構造は、マンノース及びガラクトースと N-アセチルグルコサミンの繰り返し構造を有し N および O 複合型糖鎖を結合したパターンと、バイセクティング構造を基

本骨格とし、フコース、N-アセチルノイラミン酸を持つ N 型糖鎖を結合したパターンに大別されることを見出した。さらに、骨融解病変を有さない患者の M 蛋白 L 鎖糖鎖構造を MALDI-TOF/MS 質量分析した、その結果、Hex6 - dHex2 - NeuGc1 - HexNAc5 構造であり、レクチンとの反応性を合わせて構造を推定すると、バイセクティング GlcNAc 構造を有する複合型糖鎖であることを明らかとした。

6. 臨床試験の実施

- 1) 再発・難治性骨髄腫患者を対象とした塩酸イリノテカン療法の臨床第 II 相試験研究：平成 23 年度はボルテゾミブおよび免疫調節薬の両者に耐性化した再発・難治性骨髄腫患者 2 名から署名による同意を得て、塩酸イリノテカン 100mg/m²day 1, 8, 15 で 4 週毎のプロトコール治療を実施した。1 名は効果は認めず PD 中止となった。もう 1 例は一時的に髄外腫瘍の縮小と M 蛋白の減少を示し奏効したがイリノテカンによる grade 3 の下痢を来し週 1 回の投与が行えず有害事象中止となった。
- 2) 再発難治多発性骨髄腫に対するオーラノフィン (AF) の有用性の検討に関する研究：これまでに、既存の治療に低抗性患者 9 例に AF 6mg/日投与し、10ヶ月の観察期間では 7 例が SD であり病勢コントロールが可能であった。平成 23 年度は新たな患者登録および試験の実施はなかった。

全期間（研究終了時点）

1. 新規低分子化合物による新たな骨髄腫治療薬の開発および骨髄微小環境を標的にした新たな治療法の開発

- 1) 金製剤 AF の作用機構の解明と抗骨髄腫効果：関節リウマチ治療薬 AF は、種々の骨髄腫細胞株 (U266, RPMI8226, IM9) および患者骨髄腫細胞の増殖を濃度 (0-1μM) および時間依存性 (0-48 h) に抑制した。AF は骨髄腫細胞の増殖を細胞周期 G1 期に停止させ、その後細胞死を誘導した。その際、Rb 蛋白の脱リン酸化とともに caspase-3, -8, -9 および Bid の発現を誘導するとともに Mcl-1 の発現を抑制した。同時に、AF は骨髄腫細胞の増殖に必須の IL-6 のシグナル伝達に重要である Jak2, Stat3 のリン酸化は阻害された。U266 細胞に Mcl-1 遺伝子を過剰発現させた場合は、AF による細胞死は抑制された、したがって、AF の骨髄腫細胞の細胞死誘導は Jak/Stat 系の阻害により、下流の Mcl-1 の転写抑制によるものと考えられた。さらに、AF は NF-κB の細胞内移行を阻害するとともに、Fas の発現も抑制した。これらの結果より、AF は骨髄腫細胞に対して複数の増殖シグナルを阻害することにより細胞死を誘導するものと考えられた。
- 2) 骨髄腫細胞においては XBP-1 の spliced form が有意となっており小胞体ストレスを反映して恒常的に IRE-1 α-XBP-1 経路が活性化していることを見いだした。そこで、慶応義塾大学理工学部田代博士らが XBP-1 阻害剤として見いだしたトヨカマイシンの抗骨髄腫効果について検討した。トヨカマイシンは 30 nM 以下の濃度で大多数の骨髄腫細胞株において XBP-1 のスプライシングを抑制して細胞死を誘導した。同様に臨床分離骨髄腫細胞に対しても細胞死を誘導した。SCID マウス皮下に RPMI-8226 細胞を異種移植したモデルマウスの腫瘍に対しても顕著な腫瘍縮小効果を示した。
- 3) 新規骨髄腫モデルマウスの開発：家兔の大腿骨骨髄内にヒト IL-6 依存性骨髄腫細胞株 INA6 を移植することにより 4 週間後ほぼ 100% に腫瘍病変と骨破壊病変を形成する患者骨髄腫病変を再現した SCID-rab 骨髄腫モデルが作成されたことにより、種々の候補薬の *in vivo* での評価が可能になった。
- 4) 骨髄腫微小環境を標的とし、骨病変と腫瘍進展を共に抑制しうる治療薬の候補としてリベロマイシン A と Pim 阻害薬を見出した。リベロマイシン A は骨髄腫骨病変部に形成される酸性環境を標的とし、破骨細胞を抑制するだけでなく酸性環境で薬剤耐性を獲得している骨髄腫細胞を好んで細胞死を惹起させるため骨破壊の抑制とともに治療抵抗性を改善する薬剤の候補と考えられた。また、骨髄腫骨病変部内では骨髄腫細胞と骨髄間質細胞の両者に Pim-2 キナーゼの発現が亢進していることを見出し、Pim 阻害薬は新規の機序により骨髄腫にアポトーシスを誘導させるだけでなく、直接骨芽細胞系の細胞に作用し骨喪失部位に骨形成を回復させる活性があることを新しく見出した。Pim-2 キナーゼの抑制は、腫瘍の進展や薬剤耐性の獲得を抑制するとともにこれまでの治療では回復が見込めなかった骨喪失病変部に骨形成をもたらす、抗腫瘍作用と骨形成誘導作用を併せ持つユニークな抗腫瘍薬となる可能性がある。

2. ボルテゾミブおよび HDAC 阻害剤耐性機構の解明とその克服

- 1) ボルテゾミブ耐性機構の解明：ボルテゾミブに対して IC₅₀ で各々 24.6 倍と 16.5 倍耐性化した骨髄腫細胞株 KMS-11/BTZ と OPM-2/BTZ の耐性化機序を検討した。両細胞株ともプロテアソーム β5 サブユニットの 49 番目のコドンが Ala→Thr に変異しており、ボルテゾミブ添加時のユビキチン化蛋白蓄積が抑制され、その結果 Noxa の誘導、Mcl1 の断片化、CHOP の発現誘導、カスパーゼ-4/12 などの過剰な小胞体ストレス応答が抑制されていた。実際にレンチウイルスを用いて変異 β5 cDNA を親株で発現させると耐性株と同様のボルテゾミブ耐性を示した。その後、*in vivo* で耐性化した骨髄腫細胞において同様の耐性化機構、あるいはそれ以外の耐性化機構が存在するか否か検討するために「ボルテゾミブ耐性患者における骨髄腫細胞の遺伝子変異及び遺伝子発現解析研究」の研究計画書を作成し、事務局施設の遺伝子倫理審査委員会で承認を得た。現在、参加協力施設の施設遺伝子倫理申請を行っている。
- 2) HDAC 阻害剤耐性機構の解明：HDAC 阻害剤であるボリノスタットを長期間にわたり添加し、段階的に薬剤濃度を上げることによりボリノスタットに耐性化した骨髄腫細胞株 KMS-11/SAHA と XG-7/SAHA を樹立した。親株に対する IC₅₀ は、各々 3.3 倍と 4.1 倍であった。これらの株ではボリノスタットによる HDAC 活性阻害は抑制されており、ボリ

ノスタット添加時のアセチル化ヒストンやカスパーゼの活性化も親株に比して抑制されていた。遺伝子配列を検討したが、HDAC2,3,4,8には明らかな遺伝子変異は認めなかった。

3) ボルテゾミブ耐性を克服する新たな NF- κ B 阻害剤の開発：東南アジアに自生する植物の根茎から得られた 1'-acetoxychavicol acetate (ACA)はNF- κ B の細胞質から核内への移行を阻害することにより *in vitro* および *in vivo* において骨髄腫細胞の細胞死を誘導する。ACA の骨髄腫細胞の増殖抑制における IC₅₀ は 1.5 μ M であるが、さらに IC₅₀ の低い臨床応用可能な新たな NF- κ B 阻害剤を開発するために、東京大学分生研橋本祐一博士と共同で ACA の構造展開を行い、種々の化合物を得た。NF- κ B 阻害活性を指標として阻害剤を探索した結果、TM233 に IC₅₀ が 1 μ M 以下のオーダーで骨髄腫細胞の増殖抑制効果を有することが明らかになり、さらにボルテゾミブ耐性骨髄腫細胞株 KMS-11/TMZ の細胞死を誘導しボルテゾミブ耐性を克服した。現在、詳細な分子作用機構を検討している。

3. 骨髄腫幹細胞/前駆細胞の解析とそれらを標的にした新規治療法の開発

1) 骨髄腫幹細胞あるいは前駆細胞の同定法の確立と骨髄腫幹細胞あるいは前駆細胞が B 細胞に存在するのか形質細胞に存在するかに関する検討：

① Lymphocyte conditioned media 添加メチルセルロース培地で骨髄腫形質細胞からなるコロニーを作るのは CD19-CD38⁺CD138⁻形質細胞が主であり、15 例中 4 例でコロニーの形成が見られた。一方、CD19⁺B 細胞はコロニーを形成しなかった。

② SCID-rab モデルでは、以前の報告通り、CD38⁺形質細胞のみが骨髄に生着し増殖した。骨髄腫患者骨髄検体を CD138 陰性細胞と陽性細胞に分離し SCID-rab モデルに移植したところ、9 症例中 3 症例で CD138 陰性分画を移植したマウスで非常に急速な骨髄腫の発症が見られた。骨髄に生着した細胞はやはり CD38 強陽性の骨髄腫形質細胞のみで CD19⁺B 細胞は見られなかった。したがって、少なくとも一部の症例において、CD138 陰性分画に clonogenic 骨髄腫細胞が存在すること、そして、それらは B 細胞でなく形質細胞の一部であることがわかった。

③ NOG マウスへの CD19⁺B 細胞の移植を 13 症例について行ったが、生着は認めなかった。

2) 骨髄腫幹/前駆細胞に結合し抗骨髄腫活性を持つモノクローナル抗体の同定：

① マイクロアレイを用いて、患者由来 CD138 陽性あるいは陰性骨髄腫形質細胞のいずれにも高発現している細胞表面抗原を探索し、CD48 を同定した。さらに、新規抗 CD48 モノクローナル抗体を作製し、それが、*in vivo* および *in vitro* で高い抗腫瘍効果を持つことを示した。正常血球においても CD48 の発現は見られ、血液毒性が懸念されるが、少なくとも、CD34 陽性造血幹/前駆細胞での CD48 発現は極めて低く、CD48 抗体により傷害されないことを示した。

② 上記の方法により、約 250 クローンの抗骨髄腫細胞抗体を作製したのち、骨髄由来ストローマ細胞への接着を阻害するモノクローナル抗体をスクリーニングし、2 抗体を得た。これらの抗体は、患者由来骨髄腫形質細胞に対しても非常に強い抗接着効果を持ち、その抗原を発現クローニングにて同定したところ、 α 4 インテグリンであった。 α 4 インテグリンが骨髄腫とストローマ細胞と接着に重要であることはすでに報告されている。また、 α 4 インテグリンを標的とした抗体医薬はすでに Natalizumab として臨床使用されているが、その副作用である中枢神経内ウイルス再活性化が問題となっている。今後、我々が同定した α 4 インテグリン抗体と SCID-rab モデルを用いて、 α 4 インテグリンを介した骨髄ストローマへの接着が *in vivo* における薬剤抵抗性にどの程度寄与しているかを明らかにする。

4. 治療反応性や毒性を予測するバイオマーカーの検討

1) ボルテゾミブによる毒性を予測するバイオマーカーの同定：本研究班 3 年次の今年 11 月までに、本研究参加に同意された患者数は、6 施設合わせて 44 名であった。米国 Hitachi Chemical Research Center へ輸送した検体の患者数は、昨年 5 施設から 20 名、今年 7 月 11 日に 5 施設から 21 名で、目標症例数の 52 名 (3 年間) に対し、約 80 % に相当する 41 名であった。CRF は、11 月の時点で患者 44 名に対し、約 90 % にあたる 40 名分集まった。現在、これらの検体を用いた遺伝子解析と臨床像との関係からボルテゾミブの毒性を予測するバイオマーカーの抽出を試みている。

2) 骨髄腫の合併症に関与する M 蛋白糖鎖構造の解析：各試料と骨髄腫の合併症である骨融解病変、貧血、腎障害、髄外腫瘍形成との関連を検討したところ、骨融解病変を有する M 蛋白では H 鎖 L 鎖ともに ConA レクチンとよく反応した。このことより、ConA レクチンが反応する高マンノース型糖鎖と骨融解病変との関連が示唆された。以上より、M 蛋白 L 鎖中糖鎖構造解析は、骨髄腫の新たなバイオマーカーとなる可能性を示した。

5. 骨髄腫およびボルテゾミブによる末梢神経障害の病態解明のための検討

1) 高精度 MSI 解析系による MSI 解析：多発性骨髄腫 20 例中 1 例 (5%) に発症時において MSI を認めた。これまでに高精度 MSI 解析系を用いることで、ヒト腫瘍には 2 つのモードの MSI、Type A および Type B が存在し、Type A が MMR 異常に直接起因する MSI であることを明らかにしている。観察された MSI は Type A MSI であったことから、骨髄腫においても MMR 異常を呈する集団が存在することが明らかとなった。経時的な MSI 解析では、発症時に MSI を認めた

症例においては、疾患の進展の過程で常に MSI が観察され、MSI ピークの高低は骨髄中腫瘍細胞比率の増減と相関した。経時的な MSI 解析が可能であった 7 例のうち 1 例で疾患の進展時に初めて MSI が観察された。観察された MSI は Type A MSI であり、骨髄腫には MMR 異常を呈する集団が確かに存在することが明らかとなった。MSI と発がん遺伝子群の変異との関係では、TP53 においては、MM 20 例中 1 例 (5%) にミスセンス変異 (C141W) を認め、その症例は発症時に MSI を認めた症例であった。一方で、KRAS においては、MM 20 例中 1 例 (5%) にミスセンス変異 (G12V) を認めたが、MSI を呈していない症例であった。

2) レクチンプロットによる M 蛋白付加糖鎖の解析: M 蛋白に付加している糖鎖を解析するため、20 種類のレクチン等との反応性について検討した。その結果、健康人では、L 鎖においていずれのレクチンにも反応が認められなかったのに対して、多くの骨髄腫患者試料中の L 鎖では、患者により異なるもののレクチンと反応し、糖鎖が付加していることが明らかになった。この付加糖鎖中にはフコースおよびガラクトース、マンノースが多く存在し、これらは、大きく 2 種類のパターンに分類された。すなわち各パターンの糖鎖構造は、マンノース及びガラクトースと N-アセチルグルコサミンの繰り返し構造を有し N および O 複合型糖鎖を結合したパターンと、バイセクティング構造を基本骨格とし、フコース、N-アセチルノイラミン酸を持つ N 型糖鎖を結合したパターンに大別されることを見出した。

3) ボルテゾミブによる末梢神経障害の原因として aggresome 形成の関与が考えられ、併用薬剤が細胞質内 misfolded 蛋白を細胞外へ排出することで末梢神経障害が軽減される可能性が示唆された。② 前述の細胞質内に蓄積された misfolded 蛋白の細胞外排出機構に chaperon-mediated autophagy (CMA) が関与している可能性が確認された。③ 蛋白レベルでは鑑別できなかった HSP70 と HSC70 のうち、SAHA により遺伝子レベルで HSC70 の発現が誘導され、CMA の活性化を誘導している可能性が裏付けられた。

6. 臨床試験の実施

1) 再発・難治性骨髄腫患者を対象とした塩酸イリノテカン療法 of 臨床第 II 相試験研究

メルファランによる治療歴を有し、ボルテゾミブまたは免疫調節薬の治療歴と測定可能 M 蛋白病変を有する 20 歳~75 歳の PS 2 以下の再発・再燃・治療抵抗性の骨髄腫患者を対象に、文書による同意を得て CPT-11 100mg/m² を day 1,8,15 に投与し 4 週毎に最長 8 サイクルまで繰り返すというプロトコール治療を実施し IMWG の効果判定規準により治療効果を判定した。これまでに 4 例の患者様から同意を得て全例にプロトコール治療を実施した。最良効果は、PR 1 例、SD 1 例、PD 1 例で 1 例は有害事象 (grade 3 の下痢) 中止となった。期待奏効割合は 25% であるが、まだ少数例の登録であり本治療が再発・難治性骨髄腫患者に対して有効か否かの判断は出来ない。

2) 再発難治多発性骨髄腫に対するオーラノフィン (AF) の有用性の検討に関する研究: これまでに、既存の治療に低抗性患者 9 例に AF 6mg/日投与し、10 ヶ月の観察期間では 7 例が SD であり病勢コントロールが可能であった。3 年次である平成 23 年度は新たな患者登録および試験の実施はなかったが、これまでに実施した 7 例全員に有害事象は認めなかった。AF 単独での骨髄腫への効果は難しいと思われ、今後は他の抗骨髄腫作用を有する薬剤との併用使用を念頭に、*in vitro* での効果についても検討していく予定である。

倫理面への配慮

ヒト検体を用いる研究においては、ヘルシンキ宣言を遵守し、施設倫理審査委員会または遺伝子倫理審査委員会での研究承認を得た後に、専用の説明・同意文書を用いて患者様の署名による同意を得てから検体採取を行っている。実験動物を用いる実験に関しては、動物愛護の精神に則り、研究目的毎に研究計画書を作成し、当該施設実験動物研究センターに研究計画書申請を行い承認された研究のみを行っている。臨床試験は、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針 (厚生労働省告示第 255 号・平成 20 年 7 月改正) に従って実施計画書を作成し、各施設 IRB での承認と UMIN への登録を行い実施している。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

3 年次

木崎昌弘

Tozawa K, Sagawa M and Kizaki M. Quinone methide tripterine, celastrol, induces apoptosis in human multiple myeloma cells via NF-κB pathway. *Int J Oncol* 39: 1117-1122, 2011.

Tokuhira M, Kizaki M et al. Successful treatment of bortezomib with modified schedules up to weekly administration for the patients with refractory/resistance multiple myeloma.

Leuk Res 35 (5): 591-597, 2011.

Nakaya A, Kizaki M, et al. The gold compound auranofin induces apoptosis of human multiple myeloma cells through both down-regulation of STAT3 and inhibition of NF-κB activity. *Leuk Res* 35 (2): 243-249, 2011.

Sagawa M, Kizaki M, et al. A new disulfide-linked dimer of a single-chain antibody fragment against human CD47 induces apoptosis in lymphoid malignant cells in vitro and in vivo via the HIF-1 α pathway: A possible new agent for B-CLL. *Cancer Sci* 102 (6): 1208-1215, 2011.

Iriuchishima H, Kizaki M, et al. In vivo behavior of multiple myeloma cells and their niche in immunodeficient mice. *PLoS One* 7 (2): e30557.doi: 10.1371/journal.pone.0030557.

飯田真介

Grass S, Iida S, et al. Risk of Japanese carriers of hyperphosphorylated paratarg-7, the first autosomal-dominantly inherited risk factor for hematological neoplasms, to develop MGUS and multiple myeloma. *Cancer Sci* 2011; 102: 565-568.

Chou T, Iida S, et al. Melphalan-prednisolone and vincristine-doxorubicin-dexamethasone chemotherapy followed by prednisolone/interferone maintenance therapy for multiple myeloma: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0112. *Jpn J Clin Oncol* 2011;41: 586-589.

Shimizu K, Iida S, et al. Efficacy of long-term treatment with low-dose thalidomide for patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Int J Clin Med.* 2 (5): 570-575, 2011.

安倍正博

Nakano A, Abe M, et al. Glycolysis Inhibition Inactivates ABC Transporters to Restore Drug Sensitivity in Malignant Cells. *PLoS One.* 6(11):e27222, 2011

Miki H, Abe M, et al. KRN5500, a spicamycin derivative, exerts anti-myeloma effects through impairing both myeloma cells and osteoclasts. *Br J Haematol.* 155(3): 328-339, 2011.

Asano J, Abe M, et al. The serine/threonine kinase Pim-2 is a novel anti-apoptotic mediator in myeloma cells. *Leukemia.* 25(7): 1182-1188, 2011.

Ozaki S, Abe M, et al. Transient inflammatory reaction during lenalidomide plus reduced-dose dexamethasone therapy in two patients with relapsed multiple myeloma. *Int J Hematol.* 93: 257-259, 2011

保仙直樹

Hosen N, Iida S, et al. CD48 as a novel molecular target for antibody therapy in multiple myeloma. *Br J Haematol* 156: 213-224, 2011.

渡辺隆

Nakano A, Watanabe T, et al. Delayed treatment with vitamin C and N-acetyl-cysteine protects Schwann cells without compromising the anti-myeloma activity of bortezomib. *Int J Hematol* 93: 727-735, 2011.

服部豊

Hattori Y, et al., Prospective study of combination therapy with low-dose thalidomide plus prednisolone ameliorating cytopenia in primary myelofibrosis. *Int J Hematol*, 93 129-131 2011.

安倍康信 (宮下要)

Yoshida R, Miyashita K, et al. Concurrent genetic alterations in DNA polymerase proofreading and mismatch repair in human colorectal cancer. *Eur J Hum Genet.* 19: 320-325, 2011.

2 年次

木崎昌弘

Hanzawa K, Kizaki M, et al. Y-Box binding protein-1 expression in diffuse large B-cell lymphoma: an impact on prognosis in Rituximab era. *Leuk Lymphoma* 51(11): 2054-2062, 2010

飯田真介

Ri, M., Iida, S., et al., Bortezomib-resistant myeloma cell lines: A role for mutated PSMB5 in preventing the accumulation of unfolded proteins and fatal ER stress. *Leukemia* 24: 1506-1512, 2010.

Ishii, T., Iida, S., et al., Defucosylated humanized anti-CCR4 monoclonal antibody KW-0761 as a novel immunotherapeutic agent for adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Clin Cancer Res* 16:1520-1531, 2010.

安倍正博

Takeuchi, K., Abe, M., et al., TGF- β Inhibition Restores Terminal Osteoblast Differentiation to Suppress Myeloma Growth. *PLoS One.* 5: e9870, 2010.

Taniguchi, T., Abe, M., et al., Induction of endosomal/lysosomal pathways in differentiating osteoblasts as revealed by combined proteomic and transcriptomic analyses. *FEBS Lett*, 584:3969-3974, 2010.

Matsumoto T, Abe M. TGF- β -related mechanisms of bone destruction in multiple myeloma. *Bone.* 48:129-34, 2010.

渡辺隆

Watanabe, T., et al., Schwann cell autophagy induced by SAHA, 17-AAG, or clonazepam can reduce bortezomib-induced peripheral

neuropathy. *Br J Cancer*, 103: 1580-1587, 2010.

Tamura, D., Watanabe, T., et al., Bortezomib potentially inhibits cellular growth of vascular endothelial cells through suppression of G2/M transition. *Cancer Sci*, 101: 1403-1408, 2010.

1 年次

木崎昌弘

Kuramori C, Kizaki M, et al. Capsaicin inhibits the mitochondrial function of prohibitin 2 and induces apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 379 (2): 519-525, 2009.

Tokuhira M, Kizaki M, et al. Simultaneous co-existence of acute myeloid leukemia with multilineage dysplasia and Epstein-Barr virus associated T-cell lymphoproliferative disorder in rheumatoid arthritis. *J Hematol Oncol* 2009 June 30. doi: 10.1186/1756-8722-2-27.

飯田真介

Ri, M., Iida, S., et al., Bortezomib-induced apoptosis in mature T-cell lymphoma cells partially depends on up-regulation of Noxa and functional repression of Mcl-1. *Cancer Sci* 100: 341-348, 2009.

Kodama, T., Iida, S., et al., A pharmacokinetic study evaluating the relationship between treatment efficacy and incidence of adverse events with thalidomide plasma concentration in patients with refractory multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma*, 9: 154-159, 2009.

Ito, A., Iida, S., et al., Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exerts potent ADCC against primary ATLL cells mediated by autologous human immune cells in NOD/Shi-scid, IL-2Rnull mice in vivo. *J Immunol*, 183: 4782-4791, 2009.

安倍正博

Hiasa, M., Abe, M., et al., GM-CSF and IL-4 induce dendritic cell differentiation and disrupt osteoclastogenesis through M-CSF receptor shedding by up-regulation of TNF- α converting enzyme (TACE). *Blood*, 114: 4517-4526, 2009

Nakano, A., Abe, M., et al., Pin1 downregulates TGF signaling by binding Smad2/3 and inducing Smurf2-mediated degradation of Smad2/3. *J Biol Chem*, 284:6109-6115, 2009.

Abe, M., Hiura, K., et al., Vicious cycle between myeloma cell binding to bone marrow stromal cells via VLA-4-VCAM-1 adhesion and macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α and MIP-1 β production. *J Bone Miner Metab*, 27:16-23, 2009.

服部豊

Tahara, K., Hattori, Y., et al., Production of a reactive metabolite of troglitazone by electrochemical oxidation performed in nonaqueous medium. *J Pharm Biomed Anal*, 50:1030-1036, 2009.

宮下要

Fujii, K., Miyashita, K., et al., Simulation-based analyses reveal stable microsatellite sequences in human pancreatic cancer. *Cancer Genet Cytogenet*, 189:5-14, 2009.

(学会発表)

3 年次

木崎昌弘

Kizaki M: New therapeutic approach for multiple myeloma: Development of novel molecular targeting agents. The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Disease. 平成 23 年 8 月 15-17 日、東京

木崎昌弘: 多発性骨髄腫に対する治療の新たな展開。第 25 回札幌冬季がんセミナー。平成 23 年 2 月、札幌

飯田真介

Inagaki A, Iida S, et al. Global real-time quantification/reverse transcription-polymerase chain reaction (RQ/RT-PCR) detecting proto-oncogenes associated with 14q32 chromosomal translocation as a valuable marker for predicting survival in multiple myeloma (MM). 13th International Workshop on Multiple Myeloma, May 5, 2011, Paris, France (Poster Session)

Iida S: Proteasome inhibitors in the treatment of lymphoid malignancies. 第 9 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2011 年 7 月 23 日 横浜 (シンポジウム 11: 造血器腫瘍に対する新薬・次世代分子標的療法の現状と展望)

Iida S: The present and future roles of lenalidomide in the treatment of lymphoid malignancies. 第 51 回日本リンパ網内系学会総会 2011 年 7 月 1 日 福岡 (シンポジウム 1: New agents for lymphoid malignancy: English session)

保仙直樹

藤岡由佳、保仙直樹、他: Myeloma-initiating cell の同定 第 70 回日本癌学会総会、10/3/2011, 名古屋

服部豊

服部豊, 飯島史朗, 松下麻衣子: 難治性造血器腫瘍治療の現状と問題点。日本分析化学会第 60 年会 招待講演 名古屋市、2011

2年次

木崎昌弘

Sagawa M, Kizaki M, et al. Gold compound auranofin has clinical potential against patients with refractory multiple myeloma by targeting STAT3 and NF- κ B pathways. 15th Congress of the European Hematology Association.平成22年6月11日、Barcelona, Spain

Nemoto T, Kizaki M, et al. Successful maintenance therapy with bortezomib less than weekly schedule for refractory multiple myeloma. 第72回日本血液学会総会 平成22年9月、横浜

飯田真介

Grass S, Iida S, et al: Association of hyperphosphorylated paratarg-7, the first autosomal-dominantly inherited risk factor for hematological neoplasms, with MGUS and multiple myeloma in different ethnic groups. Abstract #8111, ASCO Annual Meeting, June 5, 2010, Chicago, Illinois, USA. (General Poster Session)

飯田真介: 多発性骨髄腫:病態に基づいた新しい治療戦略。第69回日本癌学会総会 2010年9月22日 大阪 (腫瘍別シンポジウム:造血器腫瘍)

飯田真介: 再発・難治性骨髄腫に対する治療戦略と新規薬剤のさらなる開発。第72回日本血液学会 2010年9月25日 横浜 (教育講演)

保仙直樹

保仙 直毅、岸田 諭、松岡 由和、杉山 治夫 Identification and targeting of multiple myeloma progenitor cells 幹細胞シンポジウム 平成22年5月13日

保仙 直毅 腫瘍幹細胞: B細胞性腫瘍幹細胞からの考察 (ランチョンセミナー) 日本癌学会 平成22年9月22日

保仙 直毅、杉山 治夫 Clonogenic myeloma progenitor exists in CD19-CD38++ plasma cells. 米国血液学会 平成22年12月4日

1年次

木崎昌弘

Sagawa M, Kizaki M, et al. Gold compound auranofin (RIDAURA[®]) induces apoptosis of human myeloma cells by targeting STAT3 and NF- κ B pathways, with clinical potential. 51th Annual Meeting of American Society of Hematology 平成21年12月, New Orleans

Kizaki M. Gold compound auranofin induces apoptosis of human multiple myeloma cells through both down-regulation of STAT3 and inhibition of NF- κ B activity with clinical potential. 12th International Conference on Differentiation Therapy 平成21年11月, Chicago

木崎昌弘: 形質細胞腫瘍の病態研究と治療開発の最近の進歩。腫瘍別シンポジウム5 造血器腫瘍研究の新展開。第68回日本癌学会総会 平成21年10月、横浜

木崎昌弘: 形質細胞腫瘍と類縁疾患の治療:現状と将来展望。第49回日本リンパ網内系学会モーニングセミナー 平成21年7月10日、淡路島

飯田真介

Ri M, Iida S, et al: Establishment and characterization of bortezomib-resistant myeloma cell lines: A possible role of mutated proteasome b5 subunit in preventing the accumulation of unfolded protein, which is otherwise followed by catastrophic endoplasmic reticulum(ER) stress. Abstract # 3772, 51st. Annual Meeting of American Society of Hematology, Dec 5-8, New Orleans, LA, USA. (Poster Session)

稲垣淳、飯田真: 造血器腫瘍薬の作用と治療効果「多発性骨髄腫の新規治療薬」日本検査血液学会第10回学術総会 2009年7月4日 甲府 (シンポジウム)

安倍正博

M. Abe Mutual interaction between myeloma cells and bone marrow microenvironment. Session 4. Multiple Myeloma and Myeloproliferative disease. 8th International Conference on Cancer Induced Bone Diseases 3.25, 2009. Sydney, Australia

安倍正博: 骨髄腫骨病変がもたらす腫瘍進展機序。ミニシンポジウム10. Osteohematology 第27回日本骨代謝学会学術集会 2009年7月25日 大阪 大阪国際会議場

(書籍)

3年次

木崎昌弘

木崎昌弘(編著): 白血病リンパ腫骨髄腫。今日の診断と治療。第4版。中外医学社、東京、2011。

得平道英、木崎昌弘：多発性骨髄腫。小松則夫、片山直之、富山佳昭(編) 専門医のための薬物療法 Q&A 血液第2版、中外医学社、東京、pp283-299, 2011.

木崎昌弘：多発性骨髄腫に対する治療の進め方と治療指針。木崎昌弘(編) 多発性骨髄腫治療マニュアル。南江堂、東京、2011.

飯田真介

稲垣淳、飯田真介 7. 多発性骨髄腫および類縁疾患 4. 移植非適応高齢者多発性骨髄腫の治療 白血病 リンパ腫 骨髄腫 今日の診断と治療 第4版(木崎昌弘 編) 中外医学社 pp485-496, 2011.

矢野寛樹、飯田真介 VII. 多発性骨髄腫 現場で役立つ血液腫瘍治療プロトコール集 改訂版 (直江知樹 編) pp164-179, 2011.

安倍正博

安倍正博：高カルシウム血症。みんなに役立つ悪性リンパ腫の基礎と臨床 医薬ジャーナル社 押見和夫編集。pp. 288-293, 2011年2月20日改訂版発行

2年次

木崎昌弘

木崎昌弘：多発性骨髄腫。血液疾患 最新の治療 2011-2013、南江堂、東京、pp228-233, 2010.

得平道英、木崎昌弘：IMiDsの基礎。小澤敬也、堀田知光(編) IMiDsの基礎と臨床。医薬ジャーナル社、大阪、pp14-26, 2010.

木崎昌弘：多発性骨髄腫。門脇孝、宮地良樹、小室一成(監修) 診療ガイドライン Up-To-Date 2010-2011。メディカルビュー社、東京、pp616-623, 2010.

飯田真介

飯田真介/稲垣淳、飯田真介 8. 重鎖病(H鎖病), 9. 形質細胞腫瘍, 9e. 単クローン性免疫グロブリン沈着病, 9b. 形質細胞骨髄腫; 多発性骨髄腫 WHO血液腫瘍分類~WHO分類2008をうまく活用するために~リンパ系腫瘍 (中村栄男、飯田真介、他 編) 医薬ジャーナル社

pp293, 305, 331, 310-322, 2010.

飯田真介 第4部 多発性骨髄腫(飯田真介 編) 5.2.国際骨髄腫作業部会統一効果判定規準(International Myeloma Working Group uniform response criteria; IMWG)の効果判定規準 造血器腫瘍取り扱い規約 2010年3月第一版 (日本血液学会、日本リンパ網内系学会/編) 金原出版 pp192-196, 2010.

飯田真介 4. その他の疾患におけるレナリドミド IMiDs(免疫調節薬)の基礎と臨床(小澤敬也、堀田知光 編) 医薬ジャーナル社 pp113-122, 2010.

矢野寛樹、飯田真介 2) 小分子物質 ボルテゾミブ インフォームドコンセントのための図説シリーズ 抗悪性腫瘍薬 分子標的治療薬 (西條長宏 編) 医薬ジャーナル社 pp92-97, 2010.

安倍正博

安倍正博、尾崎修治、他：第4部 多発性骨髄腫、2. 治療前検査。造血器腫瘍取り扱い規約第1版 日本血液学会、日本網内系学会編、直江知樹、堀田知光、下山正徳監修、金原出版株式会社 pp169-178, 2010.

三木浩和、安倍正博：治療におけるIMiDsの副作用マネジメント IMiDs[免疫調節薬]の基礎と臨床 医薬ジャーナル社 小澤敬也、堀田知光正編集。pp. 104-112, 2010年8月10日発行

安倍正博：多発性骨髄腫患者の骨痛が悪化している。さてどうしよう?造血器腫瘍治療2版 これは困ったぞ、どうしよう 中外医学社 押見和夫監修、木崎昌弘、松村到編集。pp. 236-239, 2010年10月1日発行

1年次

木崎昌弘

押見和夫(監修) 木崎昌弘、田丸淳一(編著) WHO分類第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学。中外医学社、東京、2009.

金倉譲、木崎昌弘、鈴木律郎、神田善伸(編集)EBM血液疾患の治療 2010-2011。中外医学社、東京、2009.

飯田真介

上田龍三、飯田真介 第7章 血液・造血器疾患 骨髄腫と類縁疾患 新臨床内科学 第9版 医学書院 pp.922-930, 2009.

飯田真介、矢野寛樹 多発性骨髄腫に対するレナリドミド Annual Review 2009 血液 (高久史麿、小澤敬也、他 編) 中外医学社 pp166-173, 2009.

安倍正博

安倍正博、竹内恭子、若槻真吾：骨孤立性形質細胞腫 WHO血液腫瘍分類~WHO分類2008をうまく活用するために~

服部豊

服部豊. 今日の治療指針 2009 血液疾患 多発性骨髄腫 医学書院, 東京, pp511-513, 2009/01.

(知的財産権)

服部豊

多発性骨髄腫に伴う骨融解症状を診断するための診断剤およびその使用法 (特願 2011-017058)

図1 本研究班の課題と目的および研究体制

