

(様式4)

学位論文の内容の要旨

氏名 石原 領 印

(学位論文のタイトル)

Myeloma microenvironmental TIMP1 induces the invasive phenotype in fibroblasts to modulate disease progression

(骨髄腫における微小環境中のTIMP1は病気の進展を調節するために線維芽細胞の浸潤を引き起こす)

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

【序論】

多発性骨髄腫 (Multiple Myeloma : MM)は、B細胞の最終分化段階にある形質細胞が骨髄内で増殖する悪性腫瘍であり、免疫グロブリンを単クローン性に産生することを特徴とする。無症候性の前がん病変であるMonoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS)は、単クローン性に免疫グロブリンを産生し1年で約1%の割合でMMへと移行することが明らかにされている。MMの進展は形質細胞中のがん遺伝子やがん抑制遺伝子への変異が関与し、それらの変異はがん関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblast : CAF)にも影響を与えている可能性があることが報告されている。通常MM細胞は骨髄中で増殖するが、初発時からあるいは治療経過中に、骨髄外で腫瘤を形成することが知られている。この髄外形質細胞腫 (Extramedullary Myeloma : EMM)を形成するMMはプロテアソーム阻害薬や免疫調整薬、細胞傷害性の抗癌薬を含む様々な治療薬に抵抗性を示すことが多く、特に治療経過中に発症した場合の予後は不良である。

がんを含めた様々な病気で、細胞外基質 (extracellular matrix : ECM)を分解するMatrix metalloproteinases (MMPs)が関与していることが知られている。MMPの内在性の抑制因子であるTissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs)は、MMPを抑制することで組織破壊を防いでいる一方でECMの分解を過剰に抑制することで線維化を引き起こす。TIMPには1から4の型が存在し、TIMP1はMMP抑制以外に様々な機能を持つタンパク質である。さらにTIMP1は細胞内シグナル伝達を介した細胞増殖やアポトーシスなどに関与していることも知られている。しかし、MMにおけるTIMP1の役割や分泌源は十分に解明されていない。そこで我々はMMにおけるTIMP1の役割を、特に線維芽細胞との相互作用に着目して検討を行った。

【結果】

患者の骨髄上清中TIMP1濃度及び骨髄形質細胞中TIMP1 mRNA発現量を測定したところ、MGUS患者と比較してMM患者で有意に高値を示した。さらに同一患者におけるMGUSからMMへの進展時およびくすり型MM (SMM)からMMへの進展時に、骨髄上清中TIMP1濃度が上昇することが分かった。反対に症候期から寛解期に移行するとTIMP1濃度は低下することが分かった。MMの病期分類であるISS Stageが上昇するに従って、骨髄上清中TIMP1濃度も上昇する結果も得られた。また、骨髄上清中TIMP1濃度及び骨髄形質細胞中TIMP1 mRNA発現量は正の相関を示し、TIMP1濃度と患者骨髄中の形質細胞の割合も正の相関を示した。TIMP1 mRNA発現量は、同一患者における骨髄内形質細胞中よりも髄外形質細胞腫を形成した部位で高発現をしていた。さらにTIMP1 mRNA発現量は、MMの予後不良因子であるt(4;14)を持つ患者で有意に高い

ことも分かった。生存期間の比較を行ったところ骨髄上清中のTIMP1濃度が高い群での無増悪生存期間は有意差には至らなかったが、全生存期間及び増悪後生存期間は有意に短縮していた。これらすべての結果から、MM患者の腫瘍細胞からも放出されているTIMP1は疾患の進行と予後に影響を与えている可能性が示唆された。

しかしながら、Recombinant TIMP1やTIMP1を中和するために使用した抗TIMP1抗体はMM細胞株の増殖には影響しないという結果が得られた。そこでTIMP1がMM細胞に直接的な影響を及ぼしているのではなく、骨髄微小環境、特に線維芽細胞に影響を与えている可能性を考え三次元培養を用いた浸潤能を測定した。線維芽細胞にRecombinant TIMP1を添加すると浸潤能が増加し、反対に抗TIMP1抗体を添加すると浸潤能が低下する結果が得られた。さらにTIMP1濃度の高い患者の骨髄上清を線維芽細胞に添加し培養した際には、患者骨髄血漿中のTIMP1を中和抗体で中和すると浸潤能が低下することが分かった。また、MM細胞株単体での検討では浸潤能がないが、線維芽細胞と共培養をすることで線維芽細胞とともに移動する結果も得られた。

線維芽細胞の3次元培養でTIMP1に関連したフェノタイプの変化が現れたため、CAFに関連する遺伝子のmRNA発現量の検討を行ったところ、有意差には至らないものの全体的に上昇する結果が得られた。他にどのような遺伝子に変化があるのかを次世代シーケンサーを用いて網羅的に探索した結果、細胞の移動やケモカインに関連した遺伝子に変化していることが分かった。TIMP1によって変化した遺伝子発現が相互に作用することでフェノタイプに変化を示していることが考えられる。

以上の結果より、TIMP1が骨髄微小環境、特に線維芽細胞に影響を与えMMの進展に影響を与えていることが考えられる。

【結論】

今回の検討からMM細胞や間質細胞から産生されているTIMP1は、線維芽細胞に作用してMMの進展やEMM形成に関与している可能性が考えられ、それらを通じて予後に影響を与えていることが示唆された。このことから抗TIMP1抗体などTIMP1を標的にした治療の可能性を示している。