

Title	新規治療薬時代における治療抵抗性造血器腫瘍克服へのチャレンジ
Sub Title	A challenge to overcome IMiDs resistance in hematological malignancies.
Author	市川, 大樹(Ichikawa, Daiju)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>多発性骨髄腫は形質細胞ががん化した難治性造血器腫瘍で、近年、レナリドミドなどの免疫調節薬(IMiDs)の登場により予後の改善が認められている。しかしこれらのIMiDsでも抵抗性を示す多発性骨髄腫症例が存在しており新規薬剤の開発が急務である。本研究ではIMiDs抵抗性を示す分子機序を解明することとした。レナリドミドはCRBNというE3ユビキチンリガーゼに結合することにより新たにIKZF1/3, CK1alphaといった基質が分解され、細胞増殖抑制やアポトーシスを誘導されることが報告されている。しかし、我々はそれらの基質が分解されても細胞死を誘導しない細胞株を見出している。レナリドミド感受性株及び非感受性株についてDNA microarrayを用いて遺伝子発現量の差異についてGene Set Enrichment Analysis(GSEA), クラスタリング解析を行った。GSEAよりレナリドミド処理のみでエンリッチされたものはP53 PATHWAY群のみであった。一方クラスタリング解析においては、レナリドミド感受性株で刺激依存的に減少するものとして50 spots, 刺激依存的に上昇するものとして132 spots得られた。さらにregular PCR及びWB法でも同様の遺伝子及びタンパク質発現変動が認められたものとしてBNIP3, DCAF4L2, STAP2が得られた。BNIP3, STAP2は細胞死に、DCAF4L2はユビキチン化に関連することが報告されており、ノックダウンすることでレナリドミドの感受性に影響するのかをレトロウイルスを用いて検討した。しかしながらノックダウンしてもレナリドミドで誘導される細胞死が回復されなかった。今後は、まだタンパク質発現の検討を行っていない遺伝子及びGSEA解析で得られたP53 PATHWAY群についても解析を行っていく必要がある。これらを明らかにすることでIMiDs抵抗性難治性多発性骨髄腫に対する新しい治療法の開発につながることを期待できる。</p> <p>Multiple myeloma (MM) is a hematological tumor that is characterized by malignant plasma cells. Recently, prognoses of the MM patients have been significantly improved due to treatment with immunomodulatory drugs (IMiDs) including lenalidomide. However the prognosis of MM patients with cytogenetic abnormalities remains poor. In this study, we focused on the mechanism of IMiDs resistance in MM. Lenalidomide binds to E3 ubiquitin ligase CRBN, resulting in degradation of IKZF1/3 and CK1a, followed by cell death and/or suppression of proliferation. We identified the lenalidomide-resistant cell line, even if those substrates were degraded in lenalidomide stimulation. We examined gene profiles in lenalidomide-sensitive and -resistant cell lines with or without lenalidomide using DNA microarray following GSEA and cluster analyses. In GSEA, P53 PATHWAY gene group is enriched in lenalidomide- treated sensitive MM cells as compared to resistant cell line. In cluster analyses, 50 spots were down-regulated and 132 spots were up-regulated under lenalidomide-treated sensitive MM cells. In those genes, BNIP3, DCAF4L2, and STAP2 proteins are concordantly increased. We next attempted knockdown of BNIP3, DCAF4L2, and STAP2 in lenalidomide-sensitive cells using retroviral delivery of shRNA against human those genes. However those genes knockdown did not rescue lenalidomide-induced cell. We need to reveal that P53 PATHWAY gene group and another up- or down-regulated genes in cluster analyses regulated the sensitivity of MM cells to IMiDs in the future. The results will allow us to develop more effective drugs and therapy for IMiDs-resistant MM.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170181

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	助教	補助額	300 (A) 千円
	氏名	市川 大樹	氏名 (英語)	Daiju Ichikawa		
研究課題 (日本語)						
新規治療薬時代における治療抵抗性造血器腫瘍克服へのチャレンジ						
研究課題 (英訳)						
A challenge to overcome IMiDs resistance in hematological malignances.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>多発性骨髄腫は形質細胞ががん化した難治性造血器腫瘍で、近年、レナリドミドなどの免疫調節薬(IMiDs)の登場により予後の改善が認められている。しかしこれらの IMiDs でも抵抗性を示す多発性骨髄腫症例が存在しており新規薬剤の開発が急務である。本研究では IMiDs 抵抗性を示す分子機序を解明することとした。レナリドミドは CRBN という E3 ユビキチンリガーゼに結合することにより新たに IKZF1/3, CK1alpha といった基質が分解され、細胞増殖抑制やアポトーシスを誘導されることが報告されている。しかし、我々はそれらの基質が分解されても細胞死を誘導しない細胞株を見出している。レナリドミド感受性株及び非感受性株について DNA microarray を用いて遺伝子発現量の差異について Gene Set Enrichment Analysis (GSEA), クラスターリング解析を行った。GSEA よりレナリドミド処理のみでエンリッチされたものは P53 PATHWAY 群のみであった。一方クラスターリング解析においては、レナリドミド感受性株で刺激依存的に減少するものとして 50 spots、刺激依存的に上昇するものとして 132 spots 得られた。さらに regular PCR 及び WB 法でも同様の遺伝子及びタンパク質発現変動が認められたものとして BNIP3, DCAF4L2, STAP2 が得られた。BNIP3, STAP2 は細胞死に、DCAF4L2 はユビキチン化に関連することが報告されており、ノックダウンすることでレナリドミドの感受性に影響するのかをレトロウイルスを用いて検討した。しかしながらノックダウンしてもレナリドミドで誘導される細胞死が回復されなかった。今後は、まだタンパク質発現の検討を行っていない遺伝子及び GSEA 解析で得られた P53 PATHWAY 群についても解析を行っていく必要がある。これらを明らかにすることで IMiDs 抵抗性難治性多発性骨髄腫に対する新しい治療法の開発につながることを期待できる。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Multiple myeloma (MM) is a hematological tumor that is characterized by malignant plasma cells. Recently, prognoses of the MM patients have been significantly improved due to treatment with immunomodulatory drugs (IMiDs) including lenalidomide. However the prognosis of MM patients with cytogenetic abnormalities remains poor. In this study, we focused on the mechanism of IMiDs resistance in MM. Lenalidomide binds to E3 ubiquitin ligase CRBN, resulting in degradation of IKZF1/3 and CK1a, followed by cell death and/or suppression of proliferation. We identified the lenalidomide-resistant cell line, even if those substrates were degraded in lenalidomide stimulation. We examined gene profiles in lenalidomide-sensitive and -resistant cell lines with or without lenalidomide using DNA microarray following GSEA and cluster analyses. In GSEA, P53 PATHWAY gene group is enriched in lenalidomide-treated sensitive MM cells as compared to resistant cell line. In cluster analyses, 50 spots were down-regulated and 132 spots were up-regulated under lenalidomide-treated sensitive MM cells. In those genes, BNIP3, DCAF4L2, and STAP2 proteins are concordantly increased. We next attempted knockdown of BNIP3, DCAF4L2, and STAP2 in lenalidomide-sensitive cells using retroviral delivery of shRNA against human those genes. However those genes knockdown did not rescue lenalidomide-induced cell. We need to reveal that P53 PATHWAY gene group and another up- or down-regulated genes in cluster analyses regulated the sensitivity of MM cells to IMiDs in the future. The results will allow us to develop more effective drugs and therapy for IMiDs-resistant MM.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			