

## 学内グラント 報告書

平成25年度 学内グラント終了時報告書

**多発性骨髄腫における血栓形成機序の解明と  
NF- $\kappa$ B 阻害による治療法の確立**

研究代表者 渡部 玲子 (総合医療センター 血液内科)

## 緒言

多発性骨髄腫患者は、血栓症の合併が多いがそのメカニズムには、未だに明らかではない。近年サリドマイドおよびその誘導体であるレナリドミドが臨床応用され、優れた治療成績が示されているが、これらの薬剤は血栓症が高頻度に合併することが問題である。一方、プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブに関しては、臨床的に血栓症合併はきわめて稀である。近年、多発性骨髄腫と微小環境に関する検討が進み、新薬の開発が進められているが、この微小環境の主な構成成分である血管内皮細胞は血栓形成にも重要な役割をはたすことが知られている。本研究は、これら新規治療薬の有害事象出現プロファイルの差異により、骨髄腫治療における血管内皮細胞を介する血栓形成予防の可能性とその分子機構について検討することを目的とする。

筆者らはこれまでに、骨髄腫患者における、血液凝固異常のメカニズムに関連して、日常臨床の中で患者の血液凝固線溶マーカーを測定してきた。しかし、通常測定可能なこれらのマーカーによって、患者の血栓形成などの病態を推し量ることができないことが明らかになっている。そのため、多発性骨髄腫患者の骨髄微小環境変化についてはまず、*in vitro*の系において、血栓形成に関与するマーカーとなりうる因子が存在するかを明らかにし、さらにその後それらが末梢血検査など簡便な方法により測定可能な因子となり得るかを検討することを着想した。骨髄腫患者に対しては、NF- $\kappa$ B阻害剤、免疫調節剤などの新たな薬剤の開発により今後、治癒の可能性が望まれ、抗腫瘍効果の検討は進んでいる。しかしながら一方、多発性骨髄腫の治療時に問題となる血栓症発症については、様々に検討されているが、いまだにその発症メカニズムが明らかではない。血栓止血に関連した因子として、PSGL-1は骨髄腫細胞での発現がみられ、P-セレクトリンを介し、血管内皮細胞との相互作用により骨髄微小環境の変化を生じ、骨髄腫細胞のホーミングや増殖との関連が注目されている。しかし、血管内皮細胞の本来有する強力な抗血栓作用に鑑みると、血栓症の制御、

あるいはその発症にも関与している可能性も存在する。しかし血栓症との関連も想定されるものの、詳細が不明である。

本研究は、臨床的な観察事項に基づき、サリドマイド、レナリドミドの使用時には血栓症の発症が多いが、ボルテゾミブ使用時には認められないという有害事象プロファイルの差異により、ボルテゾミブによる血管内皮細胞に対するNF- $\kappa$ B阻害が血栓発症を予防するという仮説を立てた点に学術的特色を有する。同時に、これまでに明らかにされていないNF- $\kappa$ B阻害剤の血栓形成に及ぼす影響を明らかにする点に学術的特色を有し、申請者の豊富な臨床的経験をもとに研究を構築するという独創的な研究である。一方、本研究によりNF- $\kappa$ B阻害剤による血栓形成抑制機構が明らかになれば、多発性骨髄腫治療においてしばしば問題となる血栓形成の予防が可能となり臨床的にも意義の大きな研究と考えられる。

## 研究の内容

**新規治療薬添加による多発性骨髄腫の細胞株におけるTF、  
血管内皮細胞におけるP-セレクトリン発現量の検討**

培養細胞：多発性骨髄腫由来培養株細胞株 (U-266)、正常ヒトさい帯血静脈血管内皮細胞 (C-0031: GIBCO社) を20% FBS添加RPMI培地 (GIBCO社) を用いて培養した。培地にBortezomibおよびLenalidomideを添加し、U-266におけるTF、C-0031におけるP-セレクトリン発現量の変化をそれぞれ検討した。

Western blot法により細胞中のP-セレクトリン蛋白発現量を測定した。

RT-PCRにより培養細胞よりmRNAを抽出し、RT-PCRを用いたP-セレクトリンおよびTFのmRNAの定量測定を行った。

## 結果

U-266におけるTFに関して、Bortezomib、Lenalidomide添加による有意な変化は認められなかった。またRT-PCR法によるmRNA定量に関してもBortezomib、Lenalidomide添加前後の差は認められなかった。またC-0031における

P-セレクチン発現量も Bortezomib, Lenalidomide 添加後に有意な変化が観察されなかった。

## 考 察

今回、我々は、新規治療薬添加による骨髄腫細胞株 U-266 における TF の発現の変化、および、血管内皮細胞 C-0031 における P-セレクチンの変化を検討した。我々の開発した *in vitro* 条件下で、これらの増加は明らかではなく、NF- $\kappa$  阻害薬による血栓予防のメカニズムには、他の因子が関与する可能性が示唆された。複雑な血液凝固線溶系の中で、血栓止血制御機構の中心と考えられている TF、P-セレクチンのみではなく、von Willebrand 因子、Thrombomodulin、Plasminogen activator inhibitor-1 などに他の因子関しても検討することで、骨髄腫の治療における、血栓性合併症とその予防効果について新たな知見が得られることが期待される。また、今後より *in vivo* に近い条件として腫瘍細胞、血管内皮細胞の共培養などあらたな実験系の検討も必要と考えている。これまでに

学内グラントで得られた研究成果については、学会発表、雑誌の投稿にむけて準備している段階である。

## 参考文献

- 1) Rosovsky R, Hong F, Tocco D, et al. Endothelial stress products and coagulation markers in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide plus dexamethasone: an observational study. *Br J Haematol* 2013;160(3):351-8.
- 2) van den Berg YW, Osanto S, Reitsma PH, et al. The relationship between tissue factor and cancer progression: insights from bench to bedside. *Blood* 2012;119(4):924-32.
- 3) Ay C, Simanek R, Vormittag R, et al. High plasma levels of soluble P-selection are predictive of venous thromboembolism in cancer patients: results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Blood* 2008;112(7):2703-8.