



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1942号
学位記番号	第1372号
氏名	浅野 有彩
授与年月日	令和5年3月24日
学位論文の題名	Aberrant tryptophan metabolism leads to unfavorable outcomes in lenalidomide - treated myeloma patients (レナリドミド投与骨髄腫患者でのトリプトファン代謝異常の臨床的意義) HematolOncol. 2022 Nov 25. doi: 10.1002/hon.3108. Online ahead of print.
論文審査担当者	主査： 山崎 小百合 副査： 高橋 智, 加藤 洋一

論文内容の要旨

背景・目的：

多発性骨髄腫はモノクローナルな形質細胞の増殖性疾患である。近年高齢化により患者数が増加している。新規治療薬が使用可能になり予後の改善がされているが、未だ治癒困難な疾患である。多発性骨髄腫では骨髄微小環境が腫瘍の生存・薬剤耐性・免疫からの回避に重要であることが知られている。

レナリドミドは多発性骨髄腫治療において重要な薬剤の一つである。腫瘍に直接作用するだけでなく、T細胞やNK細胞などの活性化や制御性T細胞の抑制などの効果が報告されている。

IDOはトリプトファンをキヌレニンに代謝する限速酵素である。IDOの高発現と予後不良との関連がさまざまながんで報告されており、腫瘍免疫回避において重要な役割を果たしていると考えられている。IDOの高発現はキヌレニン・トリプトファン比 (Kyn/Trp) の高値を引き起こし、T細胞の抑制や制御性T細胞の分化を促進する。

今回私たちはレナリドミド治療を受けた再発・難治性多発性骨髄腫患者の治療前患者血清のKyn/Trp比と予後の関連を解析した。また、多発性骨髄腫におけるIDOの発現や、それがレナリドミドの治療効果に与える影響について検討した。

方法：

当院でレナリドミド治療を受けた再発・難治性多発性骨髄腫患者72例の治療前血清キヌレニン・トリプトファンの濃度を測定した。Kyn/Trp比の高い群22例と低い群50例に分けて無増悪生存期間 (PFS) と全生存期間 (OS) の関連の解析を行った。多発性骨髄腫細胞と骨髄間葉系細胞におけるIDOの発現を単独で培養した場合や共培養した場合で評価した。トリプトファン代謝の異常がレナリドミド存在下でT細胞に及ぼす影響を調べるため、Kyn/Trp比の異なる培地を作成した。その培地を用いて健常人のPBMCを刺激し、レナリドミド存在下・非存在かでのサイトカイン産生や活性化・抑制マーカーをFCMで解析した。

結果：

PFSとOSはともにKyn/Trp比の高い群で有意に短かった。(4.9 vs 12.6か月 $p=0.0465$ 、15.5 vs 45.7か月 $p=0.0049$ Wilcoxon test) また多変量解析でも比較のためにボルテゾミブ治療を受けた初発多発性骨髄腫患者において同様の検討を行ったところ、OSではKyn/Trp比の高い群で有意に短かったがPFSでは2群間に差を認めなかった。

つぎに、多発性骨髄腫患者から採取した腫瘍細胞・多発性骨髄腫細胞株とともにRT-PCRでIDOの発現が認められなかった。骨髄間葉系幹細胞株では軽度のIDO発現がみとめられ、一部の多発性骨髄腫細胞株と共培養した際に骨髄間葉系幹細胞株のIDOの発現上昇が認められた。骨髄間葉系幹細胞株 (UBE6T-7、HS5) と多発性骨髄腫細胞株 (XG7) と共培養することによりFCMと免疫染色で骨髄間葉系幹細胞株のIDOの発現上昇が認められたが多発性骨髄腫細胞株ではIDOの発現上昇は認められなかった。

また、Kyn/Trp比の高値はCD8陽性T細胞の $IFN\gamma$ ・ $TNF\alpha$ の産生を抑制した。レナリドミドを加えるとKyn/Trp比の低い培地ではレナリドミドを加えると $IFN\gamma$ ・ $TNF\alpha$ の産生が亢進したが、Kyn/Trp比の高い培地ではレナリドミドによる産生亢進が抑制された。競合するT細胞の抑制・活性化マーカーであるTIGIT・DNAM1についても解析したところ、Kyn/Trp比が高くなるにつれてTIGITは陽性率が上昇し、DNAM1は陽性率が低下した。またレナリドミドは

TIGIT を抑制・DNAM1 を活性化する傾向があったが Kyn/Trp 比による影響に打ち勝つほどの変化ではなかった。

考察・結論：

血清 Kyn/Trp 比の高値は多発性骨髄腫において患者の予後不良と関連していた。レナリドミドは T 細胞のサイトカイン産生を亢進し、DNAM1 を活性化し TIGIT を抑制する傾向にあった。トリプトファン代謝の異常はレナリドミドの治療効果を減弱させ、抗腫瘍免疫を低下させることが示唆された。

血清 Kyn/Trp 比の測定は再発・難治性多発性骨髄腫患者の予後を予測するうえで有用であると考えられる。また、IDO は他の免疫治療を組み合わせることで魅力的な治療標的となる可能性がある。

(注) 和文で 2, 0 0 0 字以内でまとめる

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】多発性骨髄腫（MM）はモノクローナルな形質細胞の増殖性疾患である。高齢化により患者数は増加傾向にある。新規治療薬により予後は改善しているが、未だ難治性である。レナリドミド（Len）はMM治療において重要な薬剤であり、抗腫瘍効果に加え、T細胞やNK細胞の活性化など免疫調節効果も有している。IDOはトリプトファン（Trp）をキヌレニン（Kyn）に代謝する律速酵素で、IDOの高発現はキヌレニン・トリプトファン比（Kyn/Trp）の高値を引き起こし、様々ながんでIDO高発現例は予後不良である事が指摘されている。今回私たちはLen治療を受けた再発難治性MM患者におけるTrp代謝異常の臨床的意義について明らかにすることを目的とした。

【方法】当院でLen治療を受けた再発難治性MM患者72例の治療前血清Trp・Kyn濃度を測定し、Kyn/Trp比の高い群22例と低い群50例に分けて無増悪生存期間（PFS）と全生存期間（OS）を比較した。MM細胞と骨髄間質細胞におけるIDOの発現を単独培養・共培養した場合で評価した。またKyn/Trp比の異なる培地を作成し、その培地を用いて健常人のPBMCを刺激し、Len存在下・非存在下でのCD8陽性T細胞のサイトカイン産生や活性化・抑制マーカーをFCMで解析した。

【結果】PFS・OSともにKyn/Trp比の高い群で有意に短かった。（4.9 vs 12.6か月 p=0.0465、15.5 vs 45.7か月 p=0.0049）ボルテゾミブ治療を受けた初発MM患者の解析で、OSはKyn/Trp比の高い群で有意に短かったがPFSでは2群間に差を認めなかった。MM患者から採取した腫瘍細胞・MM細胞株ともにIDOの発現は認めず、骨髄間質細胞株で軽度のIDO発現を認めた。一部のMM細胞株は、共培養下で骨髄間質細胞株のIDO発現を誘導したが、MM細胞株のIDOの発現は上昇しなかった。Kyn/Trp比の低い培地ではLenを加えるとCD8陽性T細胞のIFN γ ・TNF α 産生が亢進したが、Kyn/Trp比の高い培地ではその変化が小さくなった。競合する抑制・活性化受容体であるTIGIT・DNAM1についての解析では、Kyn/Trp比が高くなるにつれCD8陽性T細胞のTIGIT陽性率が上昇し、DNAM1陽性率が低下した。LenはTIGITを抑制・DNAM1を活性化する傾向があったがKyn/Trp比による影響を覆すものではなかった。

【考察・結論】IDO高発現による血清Kyn/Trp比の高値は、Len療法を受けたMM患者の治療効果と関連していた。LenはT細胞のサイトカイン産生を亢進し、DNAM1を活性化しTIGITを抑制する傾向にあった。Trp代謝の異常は抗腫瘍免疫を低下させ、Lenの治療効果を減弱させることが示された。血清Kyn/Trp比の測定は再発・難治性MM患者の予後を予測するうえで有用である。IDO阻害薬は、免疫調節薬と併用することでMM患者の予後を改善する可能性が示唆された。

【審査内容】第一副査の高橋教授から、①造血細胞系におけるIDO発現、②骨髄間質細胞にIDO発現を誘導するMM細胞の特徴、③Kyn/Trp比の日内変動の有無、など計9項目の質問がなされた。第二副査の加藤教授からは、①プロテアソーム阻害薬の作用機序と他がん種での効果、②MM細胞と骨髄間質細胞の非接着培養でのIDO誘導機序、③レナリドミドの治療反応性を予測しうる分子マーカーの有無、など計6項目にわたり質問がなされた。最後に主査の山崎教授から、①他がん種におけるIDOと予後の関連、②Kyn/Trp比高値で予後不良となる理由、③MM細胞と骨髄間質細胞の共培養でIDO発現を誘導する機序、など計9項目について質問した。これらの質問に対して、申請者からは概ね適切な回答が得られた。本研究は、多発性骨髄腫細胞の免疫調節薬抵抗性の一機序としてIDO発現誘導によるKyn/Trp比高値の重要性を示した。よって、本論文の筆頭著者は博士（医学）の学位を授与するに相応しいと判断した。