

## 大学院口腔科学教育部研究奨励賞研究成果報告書

口腔科学教育部口腔科学専攻 博士課程 4年

口腔顎顔面矯正学分野 清水宗

研究課題名 TAK1-CIP2A 経路の過剰な活性化は骨髄腫細胞の増殖・生存をもたらす

### 1. 研究目的と成果内容

#### 【研究目的】

形質細胞の悪性腫瘍である多発性骨髄腫は、とりわけ骨に親和性を持ち、腫瘍の増殖のみならず、破骨細胞の活性化、骨芽細胞の分化抑制により、広範な骨破壊病変を引き起こす。本疾患は依然治癒がもたらされておらず、その大きな要因の一つとして、腫瘍細胞内での情報伝達系の過剰な活性化が考えられる。

我々は骨髄腫細胞において、TGF- $\beta$ -activated kinase-1 (TAK1) の発現だけでなく、そのリン酸化も恒常的に活性化していること、TAK1 の活性化により腫瘍細胞の生存・増殖や薬剤耐性を獲得していることを見出した。

PP2A はセリン・スレオニン特異的フォスファターゼの一つであり TAK1 を含む多くのタンパク質の脱リン酸化に関与している。PP2A の活性は、その発現ではなく、I2PP2A、CIP2A、PME-1 などの内因性 PP2A 阻害因子の発現により調整されており、我々は CIP2A のみが骨髄腫特異的に高発現することを見出した。

そこで今回、骨髄腫細胞における CIP2A の TAK1 恒常的活性化機構における役割とその発現制御について検討を行った。

#### 【研究成果】

- 1) PP2A は、解析したすべての骨髄腫細胞株で発現していた。骨髄腫細胞に PP2A 阻害剤であるオカダ酸で処理すると、PP2A 活性をさらに低下させ、TAK1 のリン酸化レベルを増強させた。一方で、PP2A アゴニストである SMAP は PP2A 活性を回復させ、TAK1 のリン酸化レベルを抑制し、骨髄腫細胞の細胞死を誘導した。
- 2) PP2A 活性は、正常の末梢血単核細胞と比較して骨髄腫細胞で有意に抑制されていた。また、内因性 PP2A 阻害因子のうち、CIP2A のみ腫瘍細胞特異的に高発現していた。
- 3) 骨髄腫細胞に TAK1 阻害剤 LLZ1640-2 (LLZ) 処理および siRNA による TAK1 ノックダウンにより、PP2A 阻害因子のうち、CIP2A のみタンパク質および mRNA レベルで発現抑

制された。また、LLZによる TAK1 阻害は、骨髄腫細胞の PP2A 活性を回復させた。

4) CIP2AshRNA の導入により骨髄腫細胞のアポトーシスが誘導され、TAK1 のリン酸化とタンパク質レベルを減少させ、抗アポトーシス因子の発現を抑制した。

5) 骨髄腫細胞に LLZ を処理すると、p65、ERK、および STAT3 のリン酸化を抑制し、CIP2A の発現を抑制した。さらに、NF- $\kappa$ B 阻害剤 BAY11-7082 による処理、STAT3 遺伝子のノックダウン、ERK 阻害剤 U0126 処理により、骨髄腫細胞の CIP2A の発現を抑制した。

6) 骨髄腫細胞に IL-6、TNF- $\alpha$  の添加や骨髄間質細胞との共培養により、骨髄腫細胞の CIP2A の発現はさらに誘導されたが、TAK1 阻害によりこれらの発現誘導は抑制された。

## 2. 自己評価

この研究では、骨髄腫細胞では CIP2A の異常な発現により、PP2A を不活性化し TAK1 のリン酸化が恒常的に亢進していること、また、TAK1 阻害は、CIP2A の発現誘導を抑制し、PP2A 活性を回復させる事により、骨髄腫細胞の増殖・生存シグナル伝達経路の脱リン酸化を誘導したことから、TAK1-CIP2A-PP2A 経路が重要な治療標的となるという見出し骨髄腫治療に大きく貢献したと考えられる。

今年度は、第 46 回日本骨髄腫学会学術集会にてプレナリーセッション、第 83 回日本血液学会学術集会では優秀ポスター賞をそれぞれ受賞した。また、研究結果を英文雑誌へ報告するなど、本研究はおおむね順調に進んでいると思われる。今後は、腫瘍細胞での TAK1-CIP2A-PP2A 経路の制御が骨髄微小環境細胞に及ぼす影響、または破骨細胞などの環境細胞における CIP2A の発現および役割について検討を行い、腫瘍進展だけでなく、骨病変形成にも重要なターゲットである事を解明していく予定である。

## 3. 学会発表

①Critical role of TAK1-mediated upregulation of the endogenous PP2A inhibitor CIP2A in myeloma cell growth and survival、第 46 回日本骨髄腫学会学術集会、福島、2021 年 5 月 29・30 日、清水宗、寺町順平、原田武志、天真寛文、小田明日香、日浅雅博、大浦雅博、曾我部公子、遠藤逸朗、松本俊夫、田中栄二、安倍正博、ポスター

②The critical roles of the TAK1-CIP2A axis in MM cell growth and survival and osteoclastogenesis、第 83 回日本血液学会学術集会、オンライン開催、2021 年 9 月 23 日～9 月 25 日、清水宗、寺町順平、原田武志、天真寛文、小田明日香、日浅雅博、遠藤逸朗、松本俊夫、田中栄二、安倍正博、口頭発表

③骨髄腫細胞の生存・増殖と破骨細胞形成における TAK1-CIP2A 経路の重要な役割、第 39 回日本骨代謝学会学術集会、オンライン開催、2021 年 10 月 8～10 日、清水宗、寺町

順平、原田武志、天真寛文、小田明日香、日浅雅博、遠藤逸朗、松本俊夫、田中栄二、  
安倍正博、口頭発表

#### 4. 論文

Aberrant upregulation of the endogenous PP2A inhibitor CIP2A is vital for myeloma cell growth and survival. International Journal of Myeloma, in press.

So Shimizu, Jumpei Teramachi, Takeshi Harada, Masahiro Hiasa, Hirofumi Tenshin, Asuka Oda, Aiko Seki, Yusuke Inoue, Kotaro Tanimoto, Yoshiki Higa, Masahiro Oura, Kimiko Sogabe, Tomoyo Hara, Ryohei Sumitani, Tomoko Maruhashi, Hiroki Yamagami, Yoshihiko Sawa, Itsuro Endo, Koichi Tsuneyama, Toshio Matsumoto, Eiji Tanaka and Masahiro Abe