

令和元年9月11日現在

機関番号：83901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15603

研究課題名(和文) TREX2複合体機能不全の誘導は抗がん剤感受性亢進の標的になるのか

研究課題名(英文) Is induction of TREX2 complex dysfunction a target for anticancer drug hypersensitivity?

研究代表者

権藤 なおみ (GONDO, Naomi)

愛知県がんセンター(研究所)・腫瘍免疫応答研究分野・研究員

研究者番号：30743356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：これまでTREX2複合体の構成成分であるDSS1の発現低下がDNAの不安定性を誘導し、薬物感受性を亢進させることを報告してきた。本研究ではTREX2複合体としてその構成分子であるDSS1/PCID2のタンパク質の発現が同様に薬物感受性・乳癌の予後に影響を与えるかを解析した。乳癌細胞株によるin vitro解析と乳癌コホート解析による複合的アプローチにより、DSS1/PCID2のタンパク質の発現レベルが、薬剤感受性に関与し、さらに乳癌の予後に影響を与えることを明らかにした。乳癌細胞株による解析で、それらの機能を低下させることで薬剤感受性を上昇させ新たな抗がん剤治療の標的になることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌治療において、癌の薬剤抵抗性は重要課題の一つである。今回我々は、乳癌細胞株、コホート研究の解析により薬物感受性に影響を与えるタンパク質DSS1/PCID2(TREX2複合体の構成タンパク)を同定した。乳癌細胞株レベルでこれらのタンパク質の増減により、薬剤感受性が大きく変化することを明らかにした。治療抵抗性をもつ乳癌において、これらのタンパク質を新規のターゲットとする薬剤の開発の基盤になると研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been previously reported that decreased expression of DSS1, a component of the TREX2 complex, induces DNA instability and affects drug sensitivity. In this study, we analyzed whether the expression of DSS1/PCID2 protein as the TREX2 complex similarly affects drug sensitivity and prognosis of breast cancer. The combined approach by in vitro analysis using breast cancer cell lines and breast cancer cohort analysis revealed that the expression of DSS1/PCID2 protein is involved in drug sensitivity and also affects the prognosis of breast cancer. These data suggested that the TREX2 component might be a new target to augment chemosensitivity.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 薬剤抵抗性 DSS1 TREX2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

出芽酵母 TREX2 複合体は mRNA 核外輸送において中心的役割を果たし、転写に共役した DNA 傷害にも関与する。出芽酵母では TREX2 複合体の構成分子のいずれを欠損させても高度に mRNA が核内に蓄積し、それに伴い DNA の過剰な組換えが誘導されることが証明されている。これによりゲノム不安定性が生じると考えられるが、哺乳動物で同様な機構が働いているのかは不明である。申請者らは、これまでヒト乳癌細胞株において TREX2 複合体構成分子の一つ DSS1 の発現低下が酵母同様 DNA の不安定性を誘導し、薬物感受性を亢進させることを報告してきた。

2. 研究の目的

ヒト乳癌細胞株において TREX2 複合体構成分子の一つである DSS1 の発現低下により DNA 傷害が誘導され、化学療法との組み合わせでその感受性が亢進することを明らかにしてきたが、本研究では「DSS1 siRNA と化学療法の組み合わせによる相乗的な細胞死誘導は、どのような機構で起こるのか」という問題に対し、乳癌細胞株による *in vitro* 解析と乳癌コホート解析により複合的にアプローチする。

3. 研究の方法

DSS1 は BRCA2 安定化因子として同定され、DSS1 の発現を低下させると BRCA2 のタンパク分解が起こり BRCA2 の発現が激減する。BRCA2 は相同組換えに必須の分子として知られ、DSS1 発現低下が BRCA2 発現低下を介して化学療法感受性を亢進させる可能性が考えられる。このことを検証するために、siDSS1 処理と siBRCA2 処理を種々の乳癌細胞株で行い化学療法感受性の亢進が見られるか比較した。

一方、DSS1 は TREX2 複合体を構成する分子の一つでもあり、PCID2 と結合している。siDSS1 処理細胞も siPCID2 処理細胞もコメットアッセイにより DNA 傷害が誘導されることから、TREX2 複合体構成分子の機能不全は化学療法感受性を亢進させる可能性がある。MCF7 細胞を用いて PCID2 ノックダウンとレトロウイルスによる安定発現株作製を行い、DSS1 の実験と同様に、PCID2 ノックダウン細胞における薬剤感受性試験も行った。また、TREX2 複合多分子の他のタンパクにおいても同様の実験を行い、TREX2 機能が薬剤感受性を与える影響を検索した。

また、乳癌コホート解析も行い TREX2 複合体分子が臨床学的に予後に与える影響の検討も行った。

4. 研究成果

DSS1 過剰発現乳癌細胞株とノックダウン乳癌細胞株に対して、乳癌術後治療で標準的に使用される薬剤であるドキソルピシンとパクリタキセルの薬剤感受性を検討した。DSS1 過剰発現細胞株はコントロール細胞株に比べて薬剤抵抗性を示し、DSS1 ノックダウン細胞株 (MCF7、T47D、MDA-MB-231) はコントロール細胞株よりも感受性が増加した。

次に、DSS1 は癌遺伝子 BRCA2 の発現を安定化することが知られているので、この感受性の増加が BRCA2 依存的かどうかを検討した。BRCA2 ノックダウン細胞では薬剤感受性の増加を認めず、DSS1 ノックダウン後の薬剤感受性の上昇には BRCA2 は関与しないことが示唆された。DSS1 ノックダウン細胞株および BRCA2 ノックダウン細胞株に対して comet assay 法を施行すると、DSS1

ノックダウン細胞株においてのみ DNA 傷害が誘導されており、これが薬剤感受性の差を生み出していると考えられた。

さらに、TREX2 複合体のもう一つのサブユニットである PCID2 と薬剤感受性との関連を検討した。この結果、PCID2 の発現レベルが薬剤感受性に DSS1 と同様の影響を与えることが明らかとなった。TREX2 複合体の機能すなわち mRNA の核外輸送とゲノム安定性への影響が薬剤感受性に影響を与えると考えた。出芽酵母では TREX2 によるゲノムの不安定性は、R ループにより誘導されるというモデルが提唱されている。そこで、R ループを誘導することが知られている THOC1 をノックダウンし化学療法へ感受性が亢進するかを検討した。しかし、THOC1 発現低下により化学療法感受性亢進は認めなかった。哺乳動物レベルで TREX2 の機能不全がゲノム不安定性をどのように誘導するかは今後の課題であるが、TREX2 複合体の機能を抑制することで乳癌の薬剤感受性を増加させるという、新たな治療ターゲットの基盤となる研究成果であったと考える。

また、今回は TREX2 複合体としてその構成分子である DSS1/PCID2 の発現が乳癌の予後に影響を与えるかの解析も行った。KMplotter と呼ばれるデータベースを用いた予備的な解析結果では、*DSS1/PCID2* 高発現群において無再発生存期間が悪い傾向にあった。名古屋市立大学のデータセットを用い同様の検討を行ったが、KMplotter と同様の結果が得られ、TREX2 複合体の薬剤感受性が乳癌再発の予後にも影響を与える可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

① Forced reduction of DSS1, a member of TREX2 complex, highly sensitizes chemotherapy to breast cancer cells in a BRCA2-independent manner.

AACR Annual Meeting 2017 (国際学会)

Kazuhiko Kuwahara, Naomi Gondo, Andri Rezano, Zhenhuan Zhang, Yukari Hato, Kiyotaka Kuzushima, Hiroji Iwata, Tatsuya Toyama and Eisaku Kondo

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:桑原 一彦
ローマ字氏名: (KUWAHARA,Kazuhio)
所属研究機関名:新潟大学
部局名:医歯学系
職名:講師
研究者番号(8桁):10263469

研究分担者氏名:葛島 清隆
ローマ字氏名: (KUZUSHIMA,Kiyotaka)
所属研究機関名:愛知県がんセンター(研究所)
部局名:腫瘍免疫応答研究分野
職名:分野長
研究者番号(8桁):30311442

研究分担者氏名:岩田 広治
ローマ字氏名: (IWATA,Hiroji)
所属研究機関名:愛知県がんセンター(研究所)
部局名:がん予防研究分野
職名:研究員
研究者番号(8桁):90295600

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。