

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17578

研究課題名(和文) グルコシルセラミド分子機構の乳癌免疫微小環境における役割と臨床的意義

研究課題名(英文) Clinical significance of glucosylceramide in the immune microenvironment of breast cancer

研究代表者

諸 和樹 (Moro, Kazuki)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：10745566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脂質メディエーターであるセラミドは細胞死へ、S1Pは細胞生存へ作用し、細胞運命はセラミドとS1Pのバランスで決定される。グルコシルセラミドはセラミド前駆物質であり、抗腫瘍効果を有することが知られている。乳癌モデルマウスにおいて、グルコシルセラミドの経口投与により腫瘍増大の抑制を認めた。その背景として、腫瘍組織内のCeramideとS1Pの割合の変化を認め、がん生存を導くS1Pが、細胞死を導くCeramideへ変化していることが示唆された。本研究では、グルコシルセラミド経口投与には腫瘍増殖を抑制させる効果を有する可能性があることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌治療の進歩にもかかわらず乳癌死亡数は年々増加し続けており、腫瘍免疫の重要性が高まっている。腫瘍免疫微小環境の調節因子として脂質でありながらタンパク質と同じように情報伝達物質として作用する「脂質メディエーター分子」が注目されている。本研究ではグルコシルセラミド経口投与により、腫瘍組織内における脂質メディエーターのバランスを変化させ、腫瘍増殖を抑制することが示された。本研究によりグルコシルセラミド経口投与には腫瘍増殖を抑制させる効果を有する可能性があることが示された。

研究成果の概要(英文)：Ceramide and sphingosine-1-phosphate (S1P) are important regulatory molecules that maintain a dynamic balance called the sphingolipid rheostat and play opposing roles in cell survival and death. Glucosylceramide is known to have anticancer activity. The purpose of this study was to reveal the anticancer activity of glucosylceramide, identifying a potential new therapeutic agent in breast cancer.

Results: The tumor size of mice treated with glucosylceramide was significantly smaller than that of mice in the control group. The ceramide-to-S1P concentration ratio in tumors was significantly higher in mice treated with glucosylceramide than in control-treated mice.

Conclusions: Breast tumors could enhance their survival by increasing S1P conversion from ceramide, whereas oral administration of glucosylceramide suppressed tumor growth by increasing ceramide conversion from S1P. Oral administration of glucosylceramide is a promising basis for a new therapeutic approach.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 グルコシルセラミド セラミド スフィンゴシン1リン酸 リピドミクス解析 RNAシーケンス
マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳癌治療の進歩にもかかわらず乳癌死亡数は年々増加し続けており、腫瘍免疫の重要性が高まっている。腫瘍免疫微小環境の調節因子として脂質でありながら、情報伝達物質として作用する「脂質メディエーター分子」が注目されている。セラミド (Ceramide) スフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) は脂質メディエーター分子であり、Ceramide は細胞アポトーシス作用を有し、S1P は細胞生存に関与し、Ceramide と S1P のバランスが癌進展に関与していることが明らかにされた。Ceramide の代謝産物であるグルコシルセラミド (Glucosylceramide、以下 Glu-Cer) は、細胞損傷を受けると C 型レクチン受容体 (Mincle) を介してマクロファージを活性化させ、T 細胞を含む獲得免疫応答を強く賦活化することが明らかにされた。われわれは以前、ヒト乳癌組織において、腫瘍部の Glu-Cer 濃度が正常乳腺部よりも高いこと、背景には Ceramide から Glu-Cer へ合成を誘導する酵素遺伝子発現が腫瘍部で有意に高いことを明らかにした (Moro K et al. *Oncotarget* 2018)。「腫瘍免疫微小環境において Glu-Cer が癌進展の抑制に深く関わっている」と仮説を立て、本研究を立案した。

2. 研究の目的

腫瘍免疫微小環境における Glu-Cer の役割を解明し、臨床的意義を明らかにして治療応用のための研究基盤を築くこと

3. 研究の方法

A: 乳癌モデルマウスを用いた研究

C57BL/6Njcl マウスにマウストリプルネガティブ乳癌細胞 (E0771 細胞) を乳腺に移植し、マウス乳癌モデルを作製した。マウス乳癌モデルを Glu-Cer 30mg/kg を連日内服投与する群 (Glu-Cer 群) と非投与群 (Control 群) に分けた。乳房腫瘍径を測定し、投与 10 日目に組織と血清を採取した。尚、本研究は「新潟大学動物実験倫理委員会」に承認されている (承認番号 SA00997)。

【A-1】Glu-Cer 群と Control 群における腫瘍体積を比較した。腫瘍体積には $\pi/6 \times \text{縦} \times \text{横} \times \text{高さ}$ の計算式を用いた。

【A-2】腫瘍組織と対側正常乳腺組織、血清のリピドミクス解析を行い、Glu-Cer 群と Control 群の脂質メディエーター濃度を比較した。

【A-3】腫瘍組織のマウス RNA シークエンス解析を行い、Glu-Cer 群と Control 群の Mincle の RNA 相対値(Fragments Per Kilobase of exon per Million mapped reads; FPKM)を比較した。

B：乳癌患者の血漿サンプルを用いた研究

2016年3月から2017年10月の間に新潟大学医歯学総合病院で乳房切除を施行した172名を、術前化学療法施行群(NAC群、n=29)と未施行群(Control群、n=143)に分け、手術前の血漿中の脂質メディエーター濃度を測定した。尚、本研究は「新潟大学倫理委員会」にて承認されている(承認番号2017-0207)。

【B-1】NAC群とControl群における脂質メディエーター濃度を比較した。

【B-2】NAC群における脂質メディエーター濃度と臨床データとの関連を検討した。臨床データとして臨床病期分類、ホルモン受容体発現、HER2発現、Ki-67 labelling index、核グレード分類、RECIST version 1.1に基づく組織学的治療効果判定、好中球・リンパ球比(NLR)を用いた。

4. 研究成果

【A-1】: 腫瘍体積の検討

Glu-Cer 群の腫瘍体積は(day 1) 33 mm³、(day 3) 96 mm³、(day 6) 345 mm³、(day 9) 690 mm³であった。Control 群の腫瘍体積は(day 1) 32 mm³、(day 3) 208 mm³、(day 6) 836 mm³、(day 9) 2061 mm³であり、day 9のGlu-Cer 群の腫瘍体積はControl 群よりも有意に小さかった(P=0.006)。

【A-2】: リピドミクス解析の検討

Glu-Cer 群はControl 群よりも有意に腫瘍内のGlu-Cer 濃度が高く(P=0.026)、S1P 濃度が低かった(P=0.001)。Ceramide/S1P 比はGlu-Cer 群が有意に高かった(P=0.034)。血清中のGlu-Cer 濃度、Ceramide 濃度、S1P 濃度、Ceramide/S1P 比も有意差を認めなかった。

【A-3】: RNA シークエンス解析の検討

Clec4e (Mincle の RNA) の FPKM 比較はGlu-Cer 群がControl 群よりも高い傾向を示した。

【B-1】: 術前化学療法による脂質メディエーターの検討

NAC 群では Contort 群よりも Glu-Cer 濃度、Ceramide 濃度、S1P 濃度が有意に高かった (P<0.001)。Ceramide/S1P 比に有意差を認めなかった。

【B-2】: NAC 群における臨床データとグルコシルセラミド濃度との関連

術前臨床病期 III 期の群が術前臨床病期 II 期の群よりも有意に Glu-Cer 濃度が高かった (P=0.044)。ホルモン受容体発現、HER2 発現、Ki-67 labelling index、核グレード分類、RECIST version 1.1 に基づく組織学的治療効果判定、好中球・NLR では有意差を認めなかった。

【成果のまとめ】

Glu-Cer を経口投与することにより腫瘍増大が抑制され、腫瘍組織内の Ceramide と S1P のバランスが変化していることが明らかになった。また Glu-Cer 投与により腫瘍組織内の Mincle の RNA 発現が増加する傾向にあることが明らかになった。Glu-Cer 経口投与には腫瘍増殖を抑制させる効果を有する可能性があることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 諸 和樹、永橋昌幸、内田 遥、小幡泰生、遠藤麻巳子、土田純子、利川千絵、五十嵐麻由子、小山 諭、若井俊文
2. 発表標題 乳癌患者における血清グルコシルセラミドの臨床的意義
3. 学会等名 第29回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 諸 和樹、利川千絵、安部 舜、内田 遥、成瀬香菜、小幡泰生、大路麻巳子、土田純子、宗岡悠介、廣瀬雄己、三浦宏平、田島陽介、中野麻恵、市川 寛、島田能史、永橋昌幸、坂田 純、小山 諭、若井俊文
2. 発表標題 乳癌モデルマウスにおいてグルコシルセラミド経口投与は腫瘍進展を抑制した
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------