

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15225

研究課題名(和文) 網羅的遺伝子解析から抽出した遺伝子産物を指標とする乳癌細分類の試み

研究課題名(英文) Classification attempt of breast cancer by gene analysis system

研究代表者

井戸 美来 (Ido, Mirai)

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号：70740968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌の発生に関与が示唆されている、FAM64Aタンパクの臨床病理学的特徴を検討した。手術検体の免疫染色において、FAM64A陽性例はそのタンパクを核内に発現し、トリプルネガティブ(ホルモン陰性、HER2陰性)、高組織学的grade、高Ki67indexと相関した。FAM64A陽性乳癌の細胞株はこれをノックダウンすることで細胞死を起こすこと、DNAの安定化や薬剤耐性にかかわるタンパクと結合することなどを見出した。乳癌の治療標的となりうる可能性があり、乳癌の細分化や治療方針決定の分子マーカーとしての応用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

FAM64Aは特にトリプルネガティブ乳癌(TNBC)の一群において、その細胞増殖に必修な核蛋白であった。さらにSMARCA5-BAZ1B複合体の先行研究を踏まえ、FAM64A陽性TNBCは陰性TNBCとは異なるDNA複製機序や抗がん剤耐性を示す可能性が示唆された。以上からFAM64Aは治療標的となり得ること、乳癌の細分化や治療方針決定の分子マーカーになる可能性が示めされ、乳癌の特に予後不良のTNBCに対する新たな情報の手がかりとなることが期待された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the clinicopathological characteristics of FAM64A protein, which has been implicated in the development of breast cancer. In immunostaining of surgical specimens, FAM64A-positive cases expressed the protein in the nucleus and correlated with triple negative (hormone negative, HER2 negative), high histological grade, and high Ki67 index. FAM64A was found to cause cell death in FAM64A-positive breast cancer cell lines by knockdown analyses, and to bind to proteins involved in DNA stabilization and drug resistance. It is a potential therapeutic target for breast cancer and is expected to be applied as a molecular marker for breast cancer segmentation and treatment decision making.

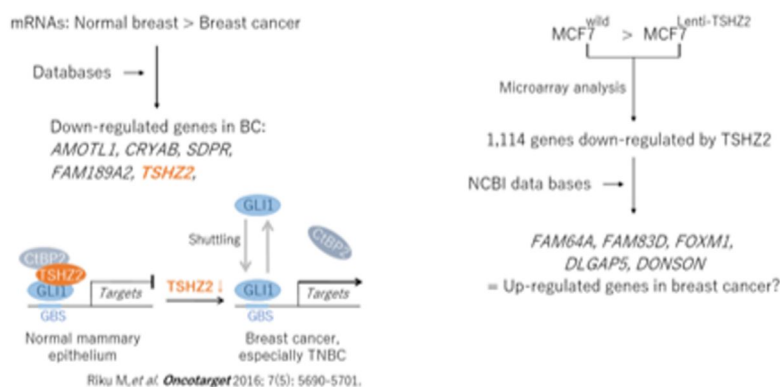
研究分野：乳腺・内分泌外科

キーワード：トリプルネガティブ乳癌 FAM64A 網羅的遺伝子解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

TNBC には化学療法に対する反応性が良く、ある程度良好な生命予後が期待できる症例が存在する一方で、化学療法に反応せず術後早期に死亡する症例も存在する。それ故 TNBC の予後予測マーカーの探索と、TNBC 細分化に応じた病態解析や分子標的探索が喫緊の課題となっている。網羅的遺伝子解析データセットの比較と、種々の分子生物学的解析より、転写抑制遺伝子である TSHZ2 が乳癌で発現低下することが報告された。FAM64A は microarray 解析から同定され、public database と比較して TNBC で発現亢進していると予測された TSHZ2 の標的遺伝子の一つである。



2. 研究の目的

FAM64A タンパクの細胞内での役割を解析し、FAM64A 陽性乳癌の臨床的特徴を解析することにより乳癌の細分類に利用可能なマーカー、新規分子標的薬を提示すること。また、他の TSHZ2 標的遺伝子についても同様の研究を行い、TSHZ2 が関与するクロマチン構造制御あるいは遺伝子発現制御の観点から乳癌発生・進展の分子機序・key signaling を解明することを目的とする。分子生物学的情報と臨床的情報をリンクさせ実態に則した乳癌研究を行い、基礎医学・臨床医学の架け橋となる研究を目指す。

3. 研究の方法

(1)臨床病理学的解析： 2016年1月から2018年8月までに当院で手術された浸潤性乳管癌手術検体197例に対して免疫染色を行い、FAM64A 発現と臨床データ(Ki-67 index、リンパ節転移、腫瘍径、ステージ等)との相関を解析した。

(2)分子細胞学的解析： ヒト乳癌細胞株を用いた分子生物学的実験により FAM64A の機能を解析した。

ヒト乳癌細胞株での蛋白発現および細胞内局在を解析した。

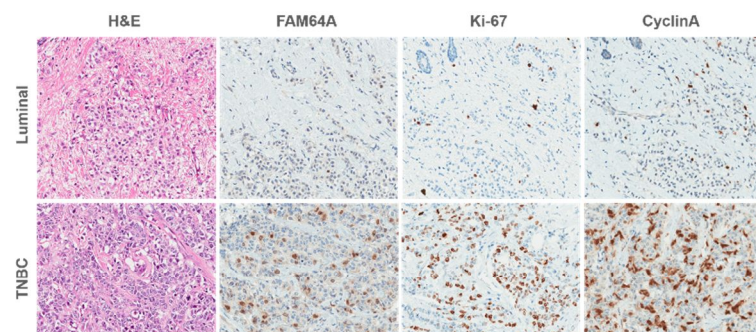
FAM64A 特異的 siRNA 処理を行い、細胞増殖への影響を解析した。

Halo-tag 標識 FAM64A を強制発現させた HEK293T 細胞核抽出物からの免疫沈降物を LC/MS 解析を行い、FAM64A 結合蛋白を同定した。

4. 研究成果

(1) 臨床病理学的解析

FAM64A 陽性例は、TNBC に多く、また高組織グレード、高 Ki-67 index と関連した

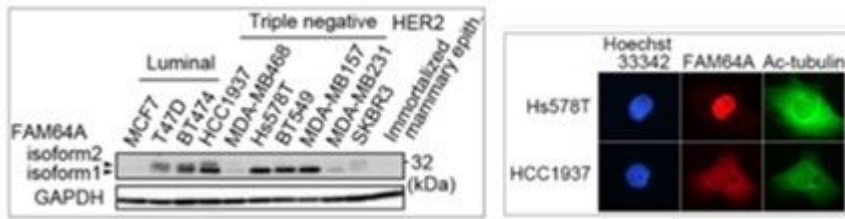


乳癌手術材料サブタイプ	症例数	FAM64A 陽性症例数
Luminal	140	10 (7.14%)
LuminalHER2	19	2 (10.5%)
HER2	8	1 (12.5%)
TNBC	30	14 (46.7%)
合計	197	27 (13.7%)

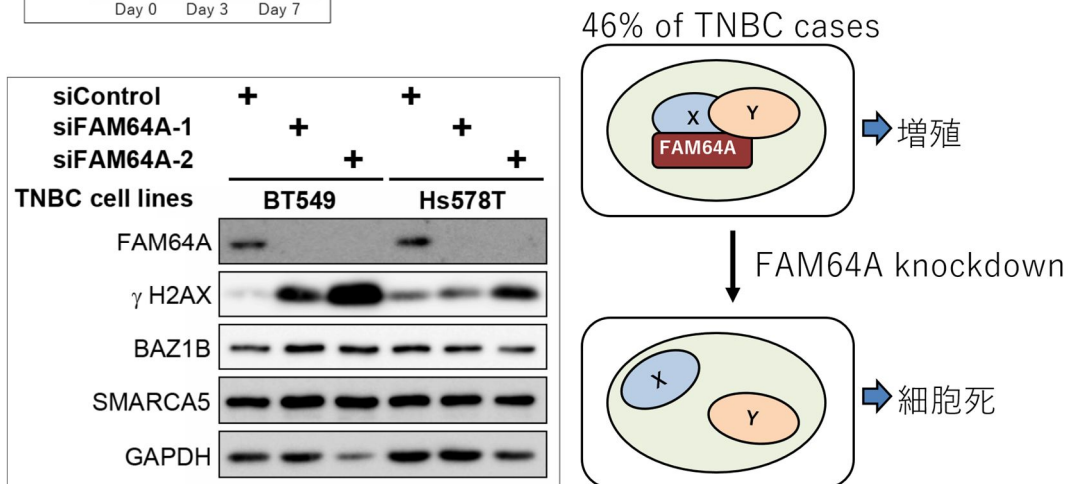
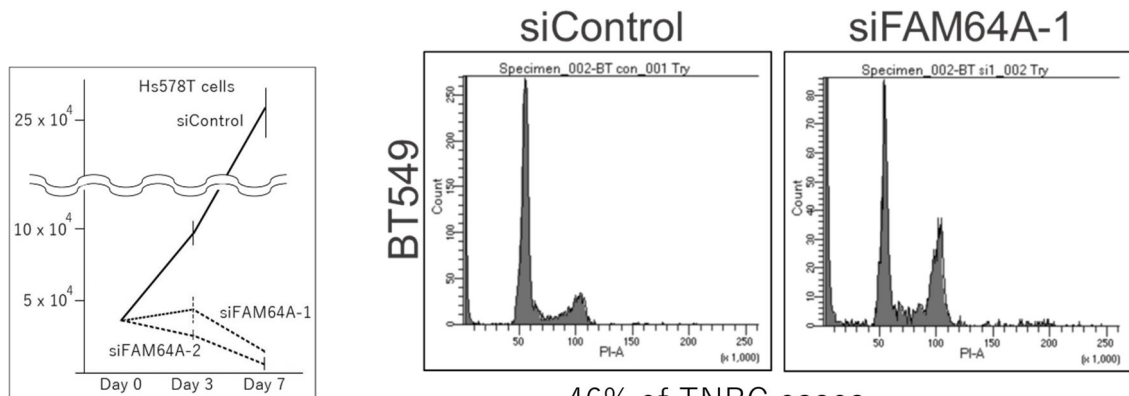
	年齢	grade	Ki-67index	腫瘍径	リンパ節転移
陰性	59.4 ±12.4	2.04 ±0.68	26.0 ±19.3	20.0 ±12.9	8/27
陽性	58.3 ±15.9	2.74 ±0.53	55.2 ±28.5	25.7 ±11.5	57/173
P値	0.71	<0.01	<0.01	0.03	

TN (NAC4症例を除く)での検討				
	grade	Ki-67index	腫瘍径	リンパ節転移
陰性 (n=20)	2.65 ±0.49	50.8 ±25.1	21.8 ±15.8	6/20
陽性 (n=11)	3.00 ±16.8	74.5 ±9.78	27.4 ±9.78	1/11
P値	0.03	0.009	0.3	

ヒト乳癌細胞株でのタンパク発現および細胞内局在
T N B C 細胞株で F A M64 A isoform1 を核に発現

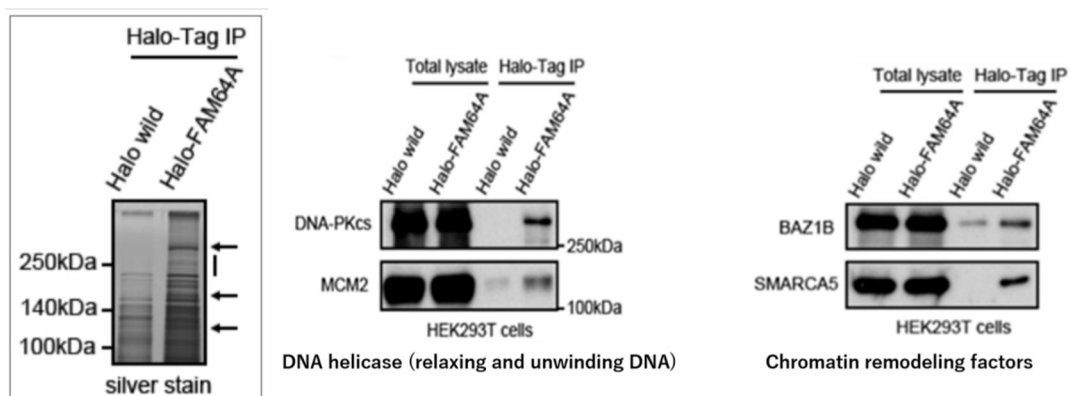


FAM64A 特異的 siRNA 処理による細胞増殖への影響
FAM64A siRNA により、G2/M 期での停止と細胞死を起こした
FAM64A siRNA により、DNA 損傷応答マーカー-gH2AX が増加した



FAM64A 結合蛋白の同定

LC/MS 解析および免疫沈降実験により、FAM64A 結合蛋白としてクロマチン制御 WICH 複合体(SMARCA5・BAZ1B) や DNA-PKcs、MCM2 が同定された。



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 井戸 美来
2. 発表標題 網羅的遺伝子解析から抽出した遺伝子産物FAM64Aの乳癌における臨床病理的解析
3. 学会等名 日本乳癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井戸美来
2. 発表標題 網羅的遺伝子解析から着目した遺伝子産物FAM64Aの乳癌における臨床病理的解析
3. 学会等名 日本乳癌学会
4. 発表年 2019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
---------	---------