

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09080

研究課題名(和文)プロトンポンプを標的とした乳癌の新規分子標的治療薬の開発とタキサン耐性の克服

研究課題名(英文)Discovering novel mechanisms of taxane resistance in human breast cancer

研究代表者

遠藤 友美 (Yumi, Endo)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師

研究者番号：20566228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：タキサンを使用した症例119例における解析で、ATP6V1A mRNA高発現の乳癌症例は、DFSとOSが有意に予後不良であった。そのうち102例では免疫化学染色による蛋白発現の解析が可能であり、ATP6V1A蛋白発現が高発現の症例ではDFSが予後不良な傾向にあったが有意差は認めなかった。また、乳がん細胞株T47Dを用いて、ATP6V1Aノックダウンの影響を検討した。T47DにATP6V1AのsiRNA試薬を導入し、容量依存性にATP6V1A発現が低下することを確認した。また、ATP6V1Aが低発現の細胞株ほど増殖能が低下した。しかし、有意な差ではなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究で、ATP6V1Aが乳癌のキードラッグの一つである、タキサンの耐性に関与する可能性を見出した。ATP6V1Aは生体内においてプロトンポンプとして働くV-ATPase (vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase) のサブユニットAをコードする。今回、乳癌組織における検討で、ATP6V1Aが高発現であると、予後不良であることを見出した。また、乳癌細胞株T-47Dでは、ATP6V1Aをノックダウンすると、増殖能が低下する傾向を認めた。V-ATPaseの発現亢進は乳癌以外の癌でも多く観察され、タキサン系薬剤も多くの癌種で使用される薬剤であることから、癌治療にとって意義のあるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In an analysis of 119 taxane-treated cases, Kaplan Meier analyses showed that higher ATP6V1A mRNA expression levels were significantly associated with poorer DFS ( $P < 0.0001$ ) and OS ( $P = 0.002$ ). In 102 of these cases, protein expression could be analyzed by immunohistochemical staining, and DFS ( $P=0.08$ ) tended to be worse prognosis in cases with high ATP6V1A protein expression, but there was no significant difference. The effect of ATP6V1A knockdown was also examined using the breast cancer cell line T47D. siRNA reagents for ATP6V1A were introduced into T47D and ATP6V1A expression was reduced in a volume-dependent manner. The cell lines with lower expression of ATP6V1A showed lower proliferative capacity. However, the difference was not significant.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 薬物抵抗性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

V-ATPase は真核生物のほとんどの膜系に存在するプロトンポンプであり、小胞を酸性化することで、シグナル伝達物質の濃縮や、抗原の提示、分泌蛋白質のプロセッシングなど細胞の生存に重要な役割を果たしている。最近の研究において、V-ATPase は癌細胞の細胞膜にも多く発現し、増殖や転移に関与し、薬物療法抵抗性にも深くかかわっていることが報告された。一方、私たちはこれまでの研究で、V-ATPase を構成するサブユニットの一つである、ATP6V1A (ATPase H<sup>+</sup> transporting V1 subunit A) が、乳癌のキードラッグのひとつである、タキサン耐性に関与する可能性を見出した。

### 2. 研究の目的

ATP6V1A 発現と乳癌の増殖や転移との関係を検討する。薬物療法耐性への影響を探索する。また、この ATP6V1A を治療標的とし、乳がんの浸潤・転移抑制を目指した新規治療薬の開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

名古屋市立大学病院にて手術を施行した 443 例の凍結乳癌組織から Total RNA を抽出し、ATP6V1A mRNA 発現と予後について検討した。また、そのうち 119 例は周術期薬物療法としてタキサン系抗がん剤を使用した症例であった。タキサン系抗がん剤を使用した症例の ATP6V1A mRNA 発現、蛋白発現と予後について検討した。また複数の乳癌細胞株において ATP6V1A 発現を測定した。そのうち、ATP6V1A が高発現であった乳癌細胞株、T-47D を使用して ATP6V1A をノックダウンし、乳癌細胞株の増殖能について検討した。

### 4. 研究成果

43 例における Kaplan-Meier 解析では、ATP6V1A 高発現の乳がん症例は、Disease-free survival (DFS) ( $P = 0.004$ ) が不良であったが、Overall survival ( $P = 0.54$ ) では有意な差は認めなかった (Figure 1)。また、Cox 比例ハザードモデルを使用した多変量解析において、ATP6V1A 発現は、リンパ節転移の個数、エストロゲン受容体の発現状況とともに、DFS における有意な予後因子であった (HR 2.336, 95%CI 1.40-3.76,  $P = 0.017$ ) (Figure 2)。また、タキサンを使用した症例 119 例における解析で、ATP6V1A mRNA 高発現の乳癌症例は、DFS ( $P < 0.0001$ ) と OS ( $P = 0.002$ ) が有意に予後不良であった (Figure 3)。そのうち 102 例では免疫化学染色による蛋白発現の解析が可能であり、ATP6V1A 蛋白発現が高発現の症例では DFS ( $P = 0.08$ ) が予後不良な傾向にあったが有意差は認めなかった (Figure 4)。

また、乳がん細胞株 T47D に ATP6V1A の siRNA 試薬を導入し、容量依存性に ATP6V1A 発現が低下することを確認した。また、ATP6V1A が低発現の細胞株ほど増殖能が低下した。しかし、有意な差ではなかった (Figure 5)。

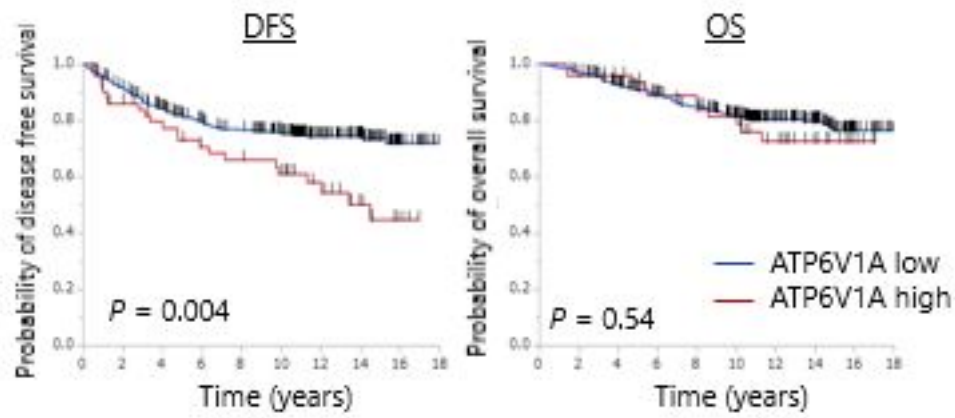


Figure 1

Univariate and multivariate analysis of factors predicting disease free survival

	Univariate	Multivariate		
	P	RR	95% CI	P
Tumor size (cm)	0.01*	1.19	0.78-1.88	0.44
lymph nodes (Positive/Negative)	<0.0001*	5.28	3.42-8.42	<0.0001*
Tumor grade	0.03*	1.19	0.93-1.53	0.17
ER (Positive/Negative)	0.01*	0.49	0.25-0.90	0.02*
PgR (Positive/Negative)	0.02*	0.84	0.49-1.53	0.56
HER2 (Positive/Negative)	0.32			
<b>ATP6V1A (High/Low)</b>	<b>0.01*</b>	<b>2.34</b>	<b>1.40-3.75</b>	<b>0.002*</b>

CI, confidence interval. \*P<0.05.

Figure 2

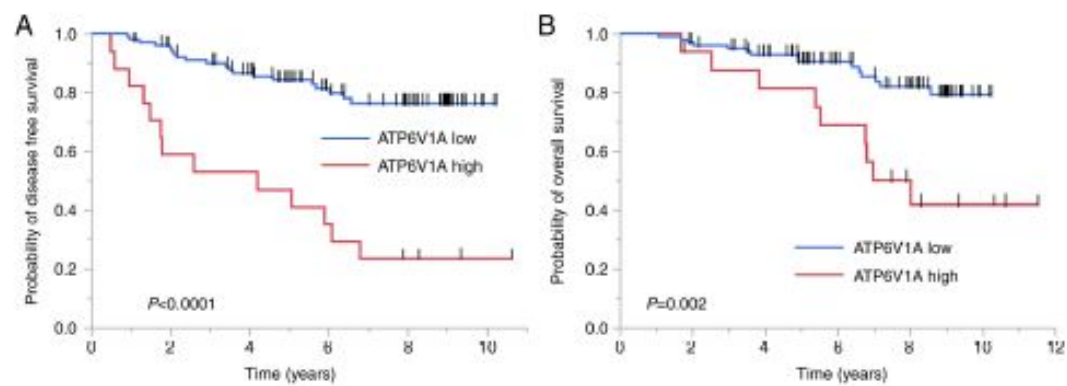


Figure 3

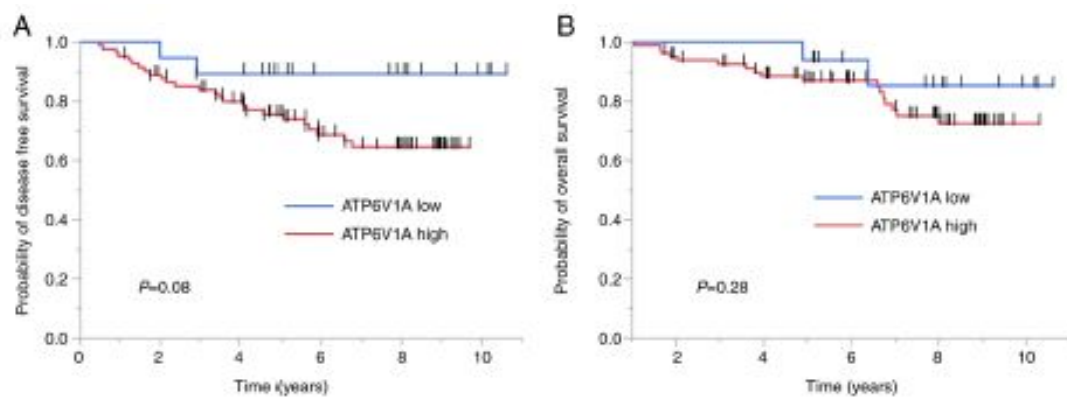


Figure 4

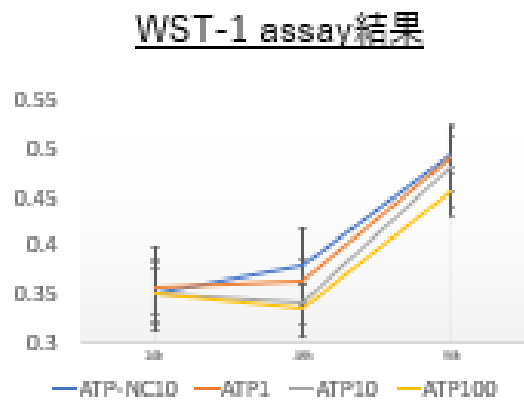
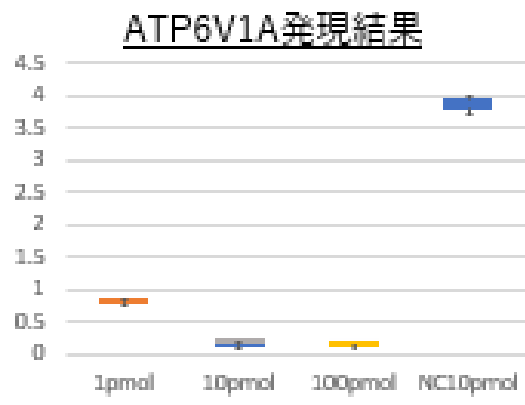


Figure 5

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yumi Wanifuchi-Endo, Naoto Kondo, Yu Dong, Takashi Fujita, Tomoko Asano, Tomoka Hisada, Yasuaki Uemoto, Sayaka Nishikawa, Yusuke Katagiri, Akiko Kato, Mitsuo Terada, Hiroshi Sugiura, Katsuhiko Okuda, Hiroyuki Kato, Satoru Takahashi, Tatsuya Toyama	4. 巻 23(2): 60.
2. 論文標題 Discovering novel mechanisms of taxane resistance in human breast cancer by whole-exome sequencing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2021.13178	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔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 鰐淵-遠藤 友美 近藤 直人 藤田 崇史、浅野 倫子、久田 知可、上本 康明、西川 さや香、片桐 悠介、加藤 明子、寺田 満雄、山中 菜摘、遠山 竜也
2. 発表標題 V-ATPaseのサブユニットであるATP6V1Aは乳癌の予後因子である
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 遠藤(鰐淵)友美、高橋 智、近藤直人、波戸ゆかり、久田知可、西本真弓、西川さや香、遠山竜也
2. 発表標題 ゲノム解析を用いた乳癌におけるタキサン抵抗性機序の解明
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会学術総会
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
研究分担者	遠山 竜也  (Toyama Tatsuya)  (30315882)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授    (23903)	
研究分担者	近藤 直人  (Kondo Naoto)  (90529166)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師    (23903)	

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