

令和 4 年 4 月 25 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09081

研究課題名(和文) HMG-CoAレダクターゼ制御によるトリプルネガティブ乳癌新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel therapy for triple negative breast cancer by regulation of HMG-CoA reductase

研究代表者

麻賀 創太 (ASAGA, SOTA)

杏林大学・医学部・講師

研究者番号：00327529

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)：HMG-CoAレダクターゼ(HMGCR)に対する特異的抗体を用いた免疫染色法により、乳癌組織におけるHMGCR発現レベルとその症例の予後との関連について検討した。その結果、HMGCRはすべての症例において弱～強発現がみられたが、発現強度と予後との間に有意な関係は見いだせなかった。次に我々は共培養系を用いて実験で、活性化マクロファージと共培養したTNBC細胞株(MDA-MB468)において薬剤耐性の獲得がみられることを明らかとした。また、このTNBC細胞株におけるHMGCRの発現レベルは、非活性化マクロファージと共培養した細胞株と比較して有意に高く、HMGCRの薬剤耐性への関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は予後不良かつ難治性とされる、ホルモン感受性陰性かつHER2陰性のいわゆる「トリプルネガティブ」乳癌(TNBC)に対する新規治療開発を目指した研究である。本研究ではTNBCの組織においてHMGCRの発現が認められることを明らかにし、加えて、TNBC細胞株における薬剤耐性にHMGCRが関与する可能性について指摘した。本研究の成果は、今後のTNBCに対する新規治療開発の重要な一歩であり、将来的に多くのTNBC患者の予後改善につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the association between HMG-CoA reductase (HMGCR) expression levels in breast cancer tissue and the prognosis of the case by immunohistostaining with specific antibodies to HMGCR. As a result, weak to strong expression of HMGCR was observed in all cases, but no significant relationship was found between the expression intensity and the prognosis. Next, we clarified that drug resistance was acquired in the triple negative breast cancer (TNBC) cell line (MDA-MB468) co-cultured with activated macrophages in experiments using a co-culture system. In addition, the expression level of HMGCR in this TNBC cell line co-cultured with activated macrophages was significantly higher than that in the cell line co-cultured with non-activated macrophages, suggesting that HMGCR is involved in drug resistance.

研究分野：乳腺腫瘍学

キーワード：乳癌 トリプルネガティブ HMG-CoA レダクターゼ 薬剤耐性 新規治療開発

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### < 研究の学術的背景 >

近年、手術可能な乳癌はその集学的治療によって5年全生存率は約90%である。しかし、手術不能(進行再発)乳癌の治療は依然として困難である。乳癌は estrogen receptor (ER)、progesterone receptor (PR)、human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)、Ki67、および multi-gene assay に基づいて分類されるサブタイプ別に薬物療法(化学療法、内分泌療法、抗HER2療法)が行われている。ER、PR、HER2がいずれも陰性の乳癌は、トリプルネガティブ乳癌(TNBC)と総称される。TNBCのうち遺伝性乳癌の責任遺伝子であるBRCA1、BRCA2の変異によって発生するものについては、近年開発されたPARP阻害剤が良好な治療成績をあげているが、その他のTNBCについては、未だ有効な治療法が開発されておらず、乳癌治療における大きな課題である。

MicroRNA(miR)は non-coding RNA family を形成する small RNA であり、標的 messenger RNA (mRNA) の一部の配列を認識して遺伝子抑制を引き起こす。乳癌関連の miR について多くの報告がある。例えば、乳癌患者の血清中の exosome 解析から、miR-21 は過剰発現が見られること、発現と進行度との関与が示唆されている<sup>1)</sup>。我々はこの miR に注目し、当施設での乳癌切除標本凍結検体を用いて、miR の網羅的解析を実施した。この結果、TNBC において高発現する、あるいは発現が低下する miR を同定し、Database を活用してこれらの miR の変化から推定される関連遺伝子として HMG-CoA レダクターゼ (HMGCR) を同定した。このことから、HMGCR を介した TNBC 新規治療法の開発に関する研究の着想を得た。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は以下の3つの問いを明らかにすることである。

- 1) HMGCR が乳癌の予後に関与するか？
- 2) HMGCR が乳癌の薬剤耐性に関与するか？
- 3) HMGCR を調節することが乳癌治療に寄与するか？

### 3. 研究の方法

それぞれの研究目的を達成するために行った研究方法を記載する。

- 1) HMGCR が乳癌の予後に関与するか？

自施設でアーカイブされた乳癌切除標本に対して、市販の HMGCR 特異的抗体を用いた免疫組織化学法を用いて、HMGCR の発現の有無を確認した。発現レベルは、日常診療で行われている HER2 に対する免疫染色と同様、染色強度と染色率を基に 0, 1+, 2+ 3+ の 4 段階で評価した。その染色強度と、個々の症例の予後(無再発生存期間)との関連について、統計学的手法を用いて解析した。

- 2) HMGCR が乳癌の薬剤耐性に関与するか？

HMGCR 陽性 TNBC 細胞株(MDA-MB231 および MDA-MB468)を用い、siRNA にて HMGCR をノックダウンした細胞株の作成を行う。オリジナルの細胞株ならびにノックダウン細胞株を、それぞれ通常の培養液とパクリタキセルを添加した培養液で培養し、両者の増殖曲線の相違を比較検討する、という計画であった。しかし、siRNA によるノックダウン細胞株の作成がうまくゆかなかったため、計画を変更した。我々は、過去の実験で活性化マクロファージと乳癌細胞株を共培養すると薬剤耐性を獲得することを示していた。そこで、本研究においても活性化マクロファージと TNBC 細胞株(MDA-MB468)を共培養し、多剤耐性 TNBC 細胞株を作成した。この多剤耐性 MDA-MB468 と非活性化マクロファージと共培養した MDA-MB468 を用いて、HMGCR の薬剤耐性への関与について検討を行うことにした。

- 3) HMGCR を調節することが乳癌治療に寄与するか？

本研究期間内に目的 3) の実験までを行うことはできなかった。

### 4. 研究成果

以下の目的別に研究結果を記載する。

- 1) HMGCR が乳癌の予後に関与するか？

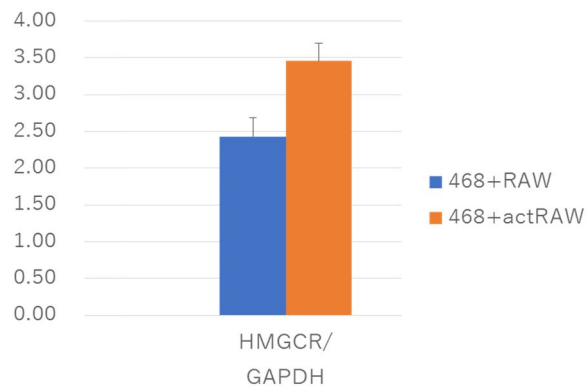
アーカイブされた乳癌組織における HMGCR の発現は、染色率と染色強度を基にした 4 段階評価(0, 1+, 2+, 3+)においてすべて 1+ から 3+ に該当し、発現 0 の症例は認めなかった。発現レベルと予後(無再発生存期間)との関係については、統計学的に有意な関連性は見いだせなかった。

- 2) HMGCR が乳癌の薬剤耐性に関与するか？

共培養系を用いた実験で、活性化マクロファージと共培養して作成した多剤耐性 TNBC 細胞株

(MDA-MB468)における HMGR の発現は、非活性化マクロファージと共培養した MDA-MB468 よりも有意に高く(図 1)、HMGR の薬剤耐性への関与が示唆された。

図 1



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------