

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K12186

研究課題名（和文）脂質メディエーターを介した乳がんの新規形成メカニズムの解明

研究課題名（英文）Identification of novel carcinogenic mechanisms for mammary gland induced by lipid-mediators

研究代表者

岡本 誉士典 (Okamoto, Yoshinori)

名城大学・薬学部・准教授

研究者番号：50512323

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：女性の更年期症状を緩和する目的で、ホルモン補充療法が実施されているが、長期的に治療を継続することにより乳がんリスクが上昇するものと考えられている。われわれは、エストロゲンへの長期曝露によって生じる乳がんが、どのようなメカニズムで生成するのかを解析しており、生体内の脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸（LPA）が関与する可能性を示唆する結果を得ている。さらにこの研究では、ゲノム編集技術や実験動物を用いて、LPAがエストロゲン誘発性乳がんの形成に一部関わっていることを示唆する結果を得た。したがって、LPAは将来、乳がんの治療標的となるかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エストロゲンが誘発する乳がんのモデル実験として、ACIラットという特殊な動物に対して女性ホルモンを数か月間にわたって投与し、乳がん形成を評価した。それに加えて、リゾホスファチジン酸が作用する受容体（LPA受容体）を遮断する薬物を併用することによって、乳がんのサイズや数、発がんまでの期間がどのように変化するのかを調べた。その結果、発がんまでの期間に有意な差は認められなかったが、がん数およびサイズは、薬物を併用することによって減少した。したがって、LPA受容体遮断薬は、新たな乳がん予防薬として応用できるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Hormone replacement therapy is being administered to alleviate menopausal symptoms in women, but it is believed that long-term continuation of this treatment increases the risk of breast cancer. We are analyzing the mechanisms by which breast cancer induced by long-term exposure to estrogen develops and have obtained results suggesting the involvement of lysophosphatidic acid (LPA), a lipid mediator in the body. Furthermore, this study used genome editing technology and experimental animals to obtain results indicating that LPA is partially involved in the formation of estrogen-induced breast cancer. Therefore, LPA may potentially become a target for breast cancer treatment in the future.

研究分野：衛生薬学

キーワード：乳がん メタボローム 脂質メディエーター リゾホスファチジン酸 エストロゲン

1. 研究開始当初の背景

エストロゲンは、古くから発がん性があることが知られており、国際がん研究機関 IARC はグループ 1 (ヒトに発がん性がある) に分類している。実際に、生涯のエストロゲン曝露量は乳がんリスクと正に相関することが疫学研究により報告されている。このようにエストロゲンが乳がん発症に関連していることは明らかだが、その詳細なメカニズムについては未だ不明な点が多い。エストロゲンによる主な発がんメカニズムとしては次の 2 つが支持されている (図 1):

シトクローム P450 によるエストロゲンの代謝活性化を介した DNA 損傷作用 (イニシエーション)、エストロゲン受容体 (ER) を介した細胞増殖作用 (プロモーション)。乳がん患者のおよそ 70% は ER 陽性乳がんであり、上記の ER を介した細胞増殖作用を抑制するために ER 拮抗薬が使用されている。しかし、ER 陽性乳がん患者のうち、およそ 30% は ER 拮抗薬に抵抗性を示す場合がある。このことは、ER 陽性乳がんの細胞増殖作用には、ER 依存的のみならず、ER 非依存的なメカニズムも存在していることを示唆している。

われわれは Lipidomics 解析によって、乳がんを発症したラット血清において脂質シグナル分子 LPA の前駆体 LPC が顕著に上昇することを報告している (図 1)。このことは、乳がんの形成には LPA による LPA 受容体 (LPA 受容体) シグナルの活性化が関与することを示唆している。しかしながら、現在までのところ、この LPA シグナル活性化による乳腺発がんメカニズムは仮説の域を脱していない。

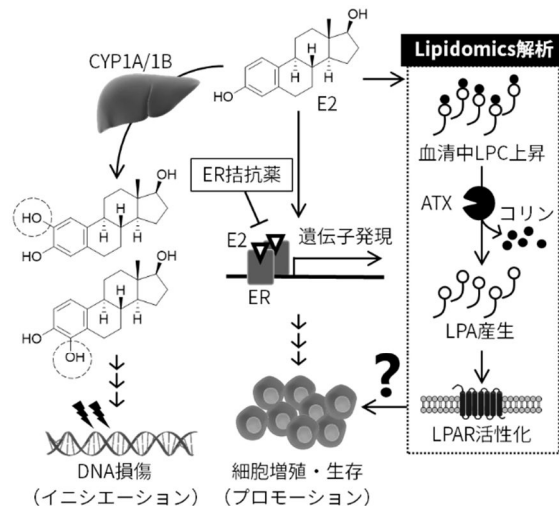


図1. エストロゲンによる従来の発がんメカニズム (左) と Lipidomics 解析によって示唆された新規プロモーションメカニズム (右)。

ATX: オートタキシン, E2: 17β-エストラジオール
ER: エストロゲン受容体, LPA: リゾホスファチジン酸
LPA 受容体, LPC: リゾホスファチジルコリン

2. 研究の目的

本研究では、エストロゲン誘発性乳がんが形成される過程で LPA 受容体シグナルがどのように関与しているのかを明らかとするために、エストロゲン誘発性乳がんに対する LPA 受容体阻害剤の効果を評価した。

3. 研究の方法

本研究は名城大学動物実験委員会の承認を得て実施された。エストロゲン感受性ラットとして、5 週齢雌性 ACI/Seg (August Copenhagen-Irish/Segaloff) ラットを用いた。ラット食餌としては大豆タンパクを含まない AIN-76A 試料 (Research Diet 社) を用い、17β-エストラジオール (E2, 2.5 mg) あるいは Ki16425 (LPA 受容体阻害剤, 5 mg) を混合したコレステロール (Cho) 錠を背部皮下に挿入することによって長期投与を実施した。ACI ラット (20 匹, 5 匹/群) を 4 群 (Cho 群, E2 群, E2+Ki 群, Ki 群) に分けて、乳がんの触診を週 1 回行った。乳がんサイズは、次式から算出した: $Tumor\ volume\ (mm^3) = length\ (mm) \times width^2\ (mm^2) / 2$ 。

全てのデータ解析には、統計ソフトウェア Prism バージョン 10 を用いた。

4. 研究成果

E2 および Ki が体重に及ぼす影響

体重増加に対する E2 および Ki 投与の効果を図 2 に示す。投与 10 週目において、明らかな体重増加の抑制が E2 のみ群および E2+Ki 併用群で認められた。一方、Ki のみ群では、上記のような体重減少は認められなかった。これらの結果は、E2 投与によって引き起こされる生体内の代謝的な変化の結果であると考えられる。

Ki が発がんまでの期間に及ぼす影響

E2 投与による乳腺発がんに対して Ki が及ぼす影響を明らかにするために、ACI ラットに対して週に 1 回乳腺の触診を行い、触知可能な乳がんの形成までに要した期間を測定した (図 3)。E2 単独処理群において、投与開始後およそ 18 週目 (95%CI: 16.8-19.2) に乳がんの形成が認められた。一方、E2+Ki 併用群では、投与開始後およそ 20.6 週目 (95%信頼区間 18.1-23.1 週) に乳がんの形成が認められた。Ki を併用することにより、有意差はない ($p=0.108$) もの、乳腺

発がんを遅らせる効果があることが示唆された。

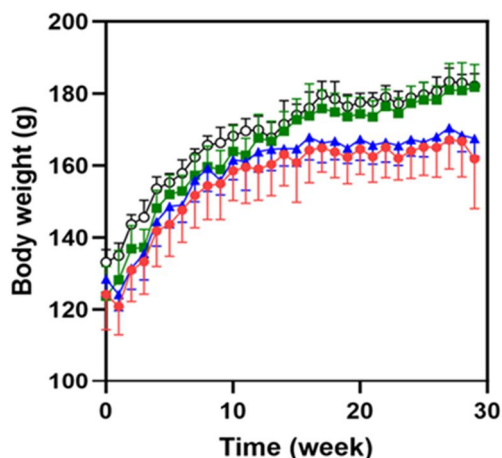
Ki が E2 誘発性乳がんの個数及ぼす影響

E2 投与により形成される乳がんの個数に対して Ki が及ぼす影響を測定した (図 4)。E2 単独および Ki 併用群において、投与期間依存的に乳がんの数が増加した。両群の乳がん数を比較したところ、E2 単独群 (35.2 個, 95%CI : 31.2-39.2) に比べて Ki 併用群 (15.7 個, 95%CI : 11.1-20.3) において有意な乳がん数の減少が認められた。したがって、Ki は乳がんの形成を抑制する効果があることが示唆された。

Ki が乳がんの累積体積に及ぼす影響

E2 投与により形成される乳がんの累積体積に対して Ki が及ぼす影響を測定した (図 5)。E2 単独および Ki 併用群において、投与期間依存的に乳がんの累積体積が増加した。両群の乳がん数を比較したところ、E2 単独群に比べて Ki 併用群において累積体積の減少傾向が認められた。したがって、Ki は乳がんが形成されたのち、がん細胞の増殖を抑制する効果があることが示唆された。

以上の結果から、LPA 受容体は、エストロゲンの長期投与により誘発される乳がんに対して抑制的に働くことが示唆された。また、その作用メカニズムは広範にわたり、発がん抑制のみならず増殖抑制などの作用を示すことが示唆された。これは、脂質メディエーターを介する新しい乳腺発がんメカニズムであり、LPA 受容体を標的とした新たな乳がん治療あるいは発がん予防の標的となることを示唆している。

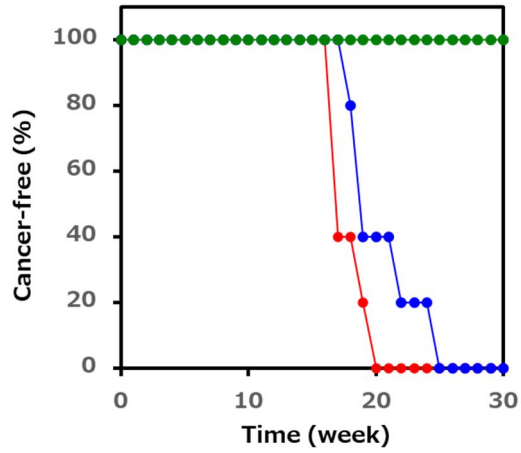


	AUC (95% CI)
Control	4891 (4864–4918)
E2 alone	4521 (4456–4585)*
E2 + Ki	4604 (4563–4644)*
Ki alone	4780 (4736–4823)

* $p < 0.05$ (vs. Control, Ki alone).

図 2. Effect of E2 and/or Ki treatments on body weight gain in female ACI rats.

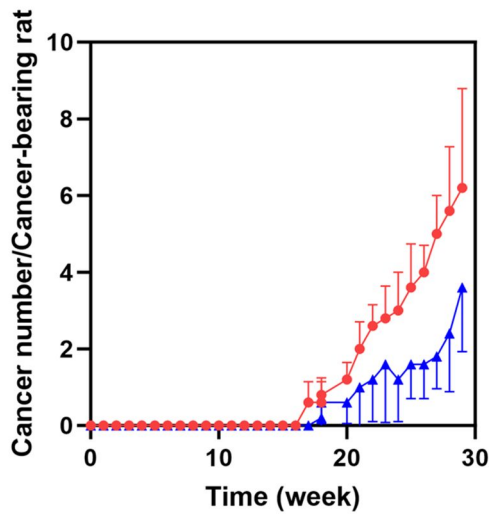
Body weight was determined once a week from the day the pellet be inserted. The difference of body weight gain was expressed as area under curve (AUC).



Cancer-free interval
(95% CI)

E2 alone	18.0 w (16.8–19.2)
E2 + Ki	20.6 w (18.1–23.1)

Figure 3. Effect of E2 and/or Ki treatments on cancer-free interval in female ACI rats.



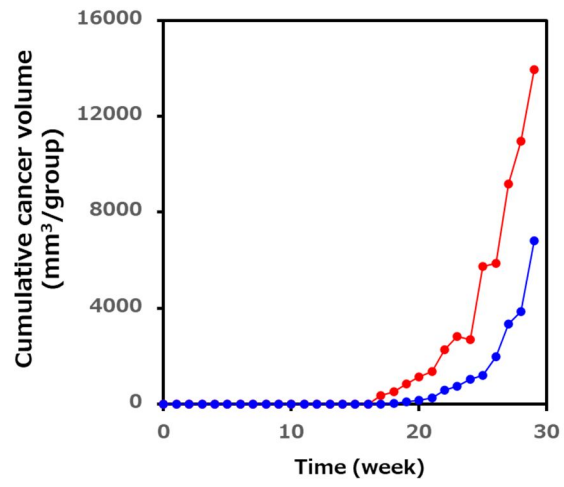
AUC (95% CI)

E2 alone	35.2 (31.2–39.2)
E2 + Ki	15.7 (11.1–20.3)*

* $p < 0.05$ (vs. E2 alone).

Figure 4. Effect of E2 and/or Ki treatments on cancer number in female ACI rats.

The number of cancers was expressed as the number per cancer-bearing rat. Statistical significance was determined using AUC.



☒ 5. Effect of E2 and/or Ki treatments on cumulative cancer volume in female ACI rats.

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okamoto Yoshinori, Jinno Hideto, Itoh Shinji, Shibutani Shinya	4. 巻 22
2. 論文標題 Less Carcinogenic Chlorinated Estrogens Applicable to Hormone Replacement Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7222 ~ 7222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22137222	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 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 山田浩之、岡本誉士典、森 葉子、青木 明、神野透人
2. 発表標題 ゲニステインによるヒト乳がん細胞株MDA-MB-231細胞の増殖抑制と細胞内リポドーム変化
3. 学会等名 フォーラム2021：衛生薬学・環境トキシコロジー（千葉）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshinori Okamoto, Akira Aoki, Yoko Mori, Hideto Jinno
2. 発表標題 Rapid and simultaneous quantification of serum estrogens utilizing a pipette-tip solid-phase extraction method
3. 学会等名 The 21st Asian Conference on Clinical Pharmacy (Nagoya) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本誉士典
2. 発表標題 化学修飾によるエストロゲンの遺伝毒性低減：発がん研究の応用に向けた新しいアプローチ
3. 学会等名 日本環境変異原ゲノム学会第50回記念大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藍澤恵莉, 岡本誉士典, 森 葉子, 青木 明, 神野透人
2. 発表標題 Pipette-tip固相抽出法を用いた簡便・安価な血清中エストロゲン抽出法の開発
3. 学会等名 フォーラム2020: 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡本誉士典, 森 葉子, 青木 明, 神野透人
2. 発表標題 高分解能型質量分析計を用いたエストロゲンの迅速一斉分析法の確立
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡本誉士典
2. 発表標題 エストロゲン誘発性乳腺がんの新規メカニズム解明を目指した血清代謝物の網羅的解析
3. 学会等名 2023年度 内受容感覚研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡本誉士典, 青木 明, 神野透人
2. 発表標題 エストロゲン誘発性の乳がん形成に対するリゾホスファチジン酸受容体阻害剤の効果
3. 学会等名 第69回日本薬学会東海支部総会・大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshinori Okamoto, Akira Aoki, Hideto Jinno
2. 発表標題 Chemo-preventive effect of Ki16425 a lysophosphatidic acid receptor inhibitor on estrogen-induced breast cancer in female ACI rats
3. 学会等名 The 10th International Congress of Asian Society of Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡本誉士典、青木 明、神野透人
2. 発表標題 エストロゲン誘発性乳腺腫瘍に対するLPA受容体阻害剤Ki16425の予防効果
3. 学会等名 日本環境変異原ゲノム学会第52回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡本誉士典
2. 発表標題 DNA損傷に着目した合成エストロゲンの発がんリスク低減に関する基盤研究
3. 学会等名 がん予防学術大会2023金沢 (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 八口ゲン化エストロゲンをを用いたエストロゲン補充療法のためのエストロゲン製剤	発明者 神野透人、岡本誉士典、渋谷真也、伊藤慎二	権利者 名城大学、渋谷真也、伊藤慎二
産業財産権の種類、番号 特許、特開2020-111568	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 八口ゲン化エストロゲンをを用いたエストロゲン補充療法のためのエストロゲン製剤	発明者 渋谷 真也、伊藤 慎二、神野透人、岡本誉士典	権利者 渋谷 真也、伊藤 慎二、学校法人名城大学
産業財産権の種類、番号 特許、7141048	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔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
---------	---------