

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18906

研究課題名（和文）遺伝性乳がん卵巣がん症候群に対する一次予防薬の開発

研究課題名（英文）The development of a drug for the primary prevention of hereditary breast and ovarian cancer

研究代表者

小野 寿子（Ono, Hisako）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・特任助教

研究者番号：50827326

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）：1次予防の最もよい対象である遺伝性乳癌卵巣癌症候群の予防薬として、p53の下流にあるp21の発現低下に着目し、p21の発現を上昇させるもの物質の中にこそ、発がん予防につながる薬物や低分子化合物が潜んでいるのではないかと考えた。962種の薬剤をスクリーニング対象とし、WST assayにてがん細胞の増殖抑制効果が50%以上ある薬剤を選定した。そのうち、添付文書上、人体や妊孕性に明らかな問題のある薬剤を除いて、23種の薬剤において定量PCR法にてコントロールよりp21の発現を2倍以上上昇させる薬剤を選定した。その中からBRCA1/2の発現を低下させない2薬剤を本研究の候補薬として見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は化学予防という観点から遺伝性乳癌卵巣癌症候群症候群にアプローチした研究であった。特定のがんに罹患しやすい生まれながらの体質に対し、現時点での効果的な予防法は正常な乳房や卵巣などを切除するという侵襲的な方法しかない。身体的・心理的ダメージから、それに代わる安全な予防薬を見出すことが課題となっており、本研究で見出した候補薬よりさらなる安全な薬剤を見出す研究を継続することが必要である。

研究成果の概要（英文）：As a preventive drug for hereditary breast and ovarian cancer syndrome, which is one of the best target for primary prevention, we focused on the decreased expression of p21 downstream of p53. We considered that there might be drugs or small molecules that increase p21 expression and could lead to cancer prevention.

A total of 962 drugs were screened, and those that inhibited more than 50% cancer cell growth by WST-8 assay were selected. Excluding drugs with clear issues regarding human use or fertility according to drug information, 23 drugs that increased p21 expression by more than twofold at mRNA level in PCR were identified. Among these, two drugs that did not induce BRCA1/2 expression were selected as candidate drugs for this study.

研究分野：分子標的癌予防

キーワード：遺伝性乳がん卵巣がん症候群 化学予防 p21 BRCA p53

1. 研究開始当初の背景

日本において乳がんの罹患率の上昇は深刻な問題である。現在、日本人女性の10人に1人が乳がん罹患する、そのような日本の現状を改善するには一次予防が急務である。まず一次予防すべき対象者は、生まれつきがんになりやすい体質、つまり家系による遺伝性要因を持っている方である。遺伝性乳がんのうち最も高頻度なのがん抑制遺伝子BRCA1/2バリエーションが原因となる遺伝性乳がん卵巣癌がん症候群である。我々はBRCA1がp21のプロモーター活性のレベルでの調節上昇に寄与しているという報告 (Oncogene, 1999;18:263-268) から「p21の発現低下」に着目し、p21の発現を上昇させるもの物質の中にこそ、遺伝性乳がん卵巣癌がん症候群の方の発がん予防につながる薬物や低分子化合物が潜んでいるのではないかと考えた。また近年遺伝性乳がん卵巣癌がん症候群にてBRCA1に変異がある方が癌を発症する際にBRCA1と同じ17番染色体上に位置するp53遺伝子も欠失することが多いことも報告 (Communications Biology 2020;3:578) されており、直接ターゲットにすることが難しいp53の下流にあるp21に着目することは意義があると考えられた。

2. 研究の目的

新たな薬剤を開発するには大変な労力を伴うため、すでに存在する安全性の高い薬剤の中にp21の発現を上昇させ、遺伝性乳がん卵巣癌がん症候群に対する予防薬となるものがあるかどうか探索する目的で本研究を開始した。また薬剤の併用療法によって各薬剤の濃度を下げることにより副作用を軽減しながら、効果を高める薬剤の組み合わせがないかも検討することとした。

3. 研究の方法

本研究では今後の予防介入の発展を期待するとdrug repositioningが可能であることからFDAで承認された薬剤でのスクリーニングを予定した。人体や妊孕性に問題のない薬剤を検討し、WST assayにてがん細胞の増殖抑制効果を認める薬剤を選定した。そのうち、複数の濃度検討からmRNAレベルでのp21の発現量を検討する濃度を決定し、引き続き、定量PCR法にてコントロールよりp21の発現を十分に上昇させる薬剤のうち、BRCAnessを誘導しない薬剤を本研究の候補薬としてあげ、In Cell Analyzerを用いて微細な毒性を高感度かつ定量的に検証し、さらにはがん増殖抑制メカニズムについて探索する予定とした。

4. 研究成果

化学予防として使用可能な薬剤、その費用など検討し、FDAで承認された薬剤キットを購入した。また当研究室のライブラリー薬剤も加えて、最終的に962種の薬剤をスクリーニング対象とし、p53変異のある乳癌細胞株MDA-MB-231を用いてスクリーニングを行った。まずWST assayにてがん細胞の増殖抑制効果が50%以上ある薬剤を選定した。そのうち、添付文書上、人体や妊孕性に明らかな問題のある薬剤を除いて、複数の濃度検討からmRNAレベルでのp21の発現量を検討する濃度を定めた。次に定量PCR法にてコントロ

ールよりp21の発現を十分に上昇させる薬剤15個を選定し（図1）、さらにmRNAレベルでBRCA1/2の発現上昇を誘導しない薬剤を本研究の候補薬を検討した。その結果、2つの抗がん剤が候補薬となった（図2）。

当初の予定では、In Cell Analyzer を用いて微細な毒性を高感度かつ定量的に検証する予定であったが、候補薬がいずれもがんの治療薬としての有効性は確立され、適正濃度や副作用についても知られているため、予防薬としてがん未発症者に対してこれらの抗がん剤を使用するのは現実的ではないと考えられた。

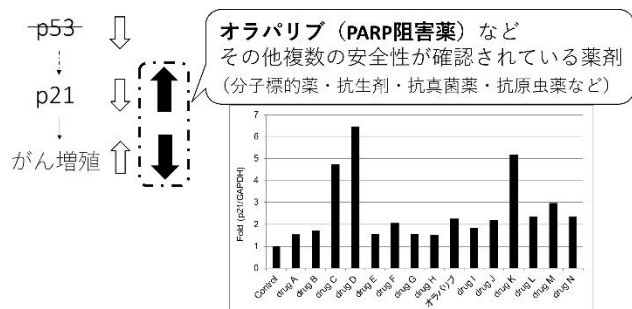


図1: スクリーニング実験にて申請者が見出したp21の発現を上昇させるFDA承認薬

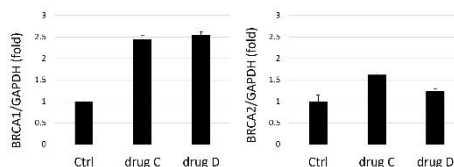


図2: p21発現を上昇させる薬剤のうち、候補薬は2つ

続いて、2次、3次予防薬として確立している PARP 阻害剤である olaparib もスクリーニングにおいて p21 を上げる薬剤であることが見出されたことから、p21 の発現を増強し、olaparib と併用効果のある薬剤を検討した結果、分子標的薬、降圧薬（Ca blocker）、抗菌薬 2 つの 4 つがあげられた。併用効果における p21 の上乘せがあるかという観点から分子標的薬 X がもっとも有効な併用薬の候補と考え、他の乳癌セルラインにおける併用効果を検討した。その結果、p21 の上乘せ効果を認めるものの併用効果の phenotype として G2/M 期 arrest、apoptosis とセルラインによって異なることが判明し、さらに分子の動きについて検討を進めた。分子標的薬 X はすでに他の分子標的薬との併用療法が臨床応用されている薬剤だが、本研究にて BRCAness を誘導することも明らかとなっており、PARP 阻害薬の抵抗性解除にもつながると考えており、olaparib との併用療法として臨床応用の可能性がある。現在、本研究結果に関して論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小野 寿子
2. 発表標題 先制医療の普及における遺伝性腫瘍の体制整備について
3. 学会等名 第92回日本衛生学会学術総会 シンポジウム 若手研究者の会 企画1（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小野 寿子
2. 発表標題 RAF/MEK経路を標的とした薬剤の開発
3. 学会等名 第19回日本臨床腫瘍学会学術集会 シンポジウム21 RAS/RAF pathway-altered cancers（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小野 寿子、松井 智也、田口 哲也
2. 発表標題 Investigation for the enhancement of PARP inhibitor sensitivity through chemical biology approaches
3. 学会等名 第29回乳癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野 寿子、西田 真衣子
2. 発表標題 HBOCに関する遺伝カウンセリング受診後の検討
3. 学会等名 第27回日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西田 真衣子、小野 寿子
2. 発表標題 潜在性乳癌を契機に診断した遺伝性乳癌卵巣癌症候群の一例
3. 学会等名 第27回日本遺伝性腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野寿子 堀中真野 酒井敏行
2. 発表標題 BRCAness誘導分子の探索
3. 学会等名 日本人類遺伝学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小野寿子 西田真衣子 松本沙耶 田口哲也
2. 発表標題 がんゲノム医療における乳腺専門医の役割
3. 学会等名 日本乳癌学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都府立医科大学 創薬センター
<http://fkpu-m-pubmed.com/>

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
---------	---------