

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月23日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791242

研究課題名（和文）乳癌における新たな治療戦略としてのステロイド・アンド・ゼノバイオテック受容体発現

研究課題名（英文）

Roles of steroid and xenobiotic receptor (SXR) on ER-mediated transcription in breast cancer cells

研究代表者

六反田 奈和 (ROKUTANDA NANA)

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：50420097

研究成果の概要（和文）：

乳癌の発生・進展に深く関与する ER は他の核内受容体と相互作用があり、転写活性が修飾される。SXR は TypeII 核内ホルモン受容体に属し、薬物やホルモン代謝に重要な CYP3A4 などの転写を調節する。SXR は主に肝臓や小腸に発現するが、乳癌組織にも発現することが報告されている。乳癌細胞における ER を介する転写における SXR の修飾作用を解析した。エストロゲン応答配列 (ERE) 及び SXR を MCF-7 乳癌細胞に遺伝子導入しレポーターアッセイを行うと、E2 による転写活性は SXR により用量依存性に増強された。この SXR による転写活性の増強の機序を解析した。Mammalian two hybrid assay (MTH), EMSA を用い *in vitro* で SXR が ER と ERE に直接結合しないことを確認した。続いて SXR の転写共役因子と ER の結合への影響を MTH, GST-pull down assay、immunoprecipitation を用いて検討したところ ER と SMRT の結合は SXR の用量依存的に解離した。以上より SXR と SMRT が結合し ER から SMRT が解離することにより ER の転写が増強されると考えられた。また、平成 19 年から 2 年間に当院で手術を施行された乳癌患者のうち組織採取が可能であった 72 例について、SXR の mRNA 発現量を Real time RT-PCR 法にて測定し、理組織学的因子との関連を検討した。その結果 SXR の発現は ER 陽性、PR 陽性、HER2 陰性、リンパ節転移陰性、軽度核異型において有意に高かった。SXR は乳癌細胞に存在し用量依存性に ER の転写活性を増強することより、内分泌反応性の治療効果予測因子になる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The estrogen receptor (ER) is a key regulator of proliferation and differentiation in breast cancer cells. Steroid and xenobiotic receptor (SXR) is highly expressed in the liver and small intestine and regulates the expression of cytochrome P450 monooxygenase 3A4 (CYP3A4) and P-glycoprotein (P-gp) that is encoded by multidrug resistance 1 (MDR1) gene. SXR is also expressed in normal and neoplastic breast tissue. In the present study, the effect of steroid and xenobiotic receptor (SXR) on 17β -estradiol (E_2)-induced

transcription through ER α was studied. SXR augmented ER-mediated transcription in the presence of E₂ in MCF-7 breast cancer-derived cells and CV-1 fibroblast-derived cells. SXR did not directly bind to ER α or ERE *in vitro*, indicating that SXR may affect ER-mediated transcription by altering cofactor binding to ER. Although SXR did not alter the binding between ER α and p300/CBP interacting protein (p/CIP), it decreased the binding of a specific corepressor, silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors (SMRT) to liganded ER α as assessed by mammalian two-hybrid, GST pull down, immunoprecipitation and newly developed Liquid Chemiluminescent DNA Pull Down Assays. These results indicate that SXR augmented ER-mediated transcription by dissociating SMRT from ER α . Thus, the expression of SXR in breast cancer cells may alter the ER signaling, which may play crucial role for growth and differentiation of breast cancer cells. We performed realtime quantitative RT-PCR studies using SXR promoter. The expression of SXR mRNA was increased in those cases ER positive, PgR positive, HER2 negative, without node metastasis, and low grade.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 2,100,000 | 630,000 | 2,730,000 |
| 2010年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 2011年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：癌、核内受容体、外科

1. 研究開始当初の背景

乳癌の発生、進展にはエストロゲン受容体 (estrogen receptor、ER) が重要な役割を果たしている。ER は Type I 核内ホルモン受容体に属し、アゴニスト及び、アンタゴニストが結合し転写が調節される。ER の転写活性の調節にはコアクチベーターやコリプレッサーなどの転写共役因子複合体が関与しており、乳癌細胞に

においても多数のコアクチベーターやコリプレッサーが同定されている。一方、ステロイド・アンド・ゼノバイオテック受容体 (steroid and xenobiotic receptor、SXR) は Type II 核内ホルモン受容体に属し、レチノイン酸 X 受容体 (retinoid X receptor, RXR) と 2 量体を形成し薬物代謝に重要な Cytochrome P-450 3A4 (CYP3A4) のプロモーター領域にある生体

異物応答配列 (SXRE) に結合し作用する。SXR のリガンド結合ポケットは大きく、内因性ステロイドホルモンや外因性薬物が結合しその薬物自体の代謝を促進する。SXR は主に肝臓及び、小腸に発現しているが、近年乳癌細胞にも発現していることが報告された。SXR の発現により、内因性ステロイドホルモンや外因性薬物の作用が乳癌細胞において修飾される可能性がある。我々は近年タモキシフェン (tamoxifene、TAM) により CYP3A4 遺伝子の転写活性が促進され、TAM 耐性に関与する可能性を見出した。また、核内ホルモン受容体を介する転写は他の受容体の修飾を受けることが知られている。

2. 研究の目的

これまでの研究より SXR 存在下では、コリプレッサーである SMRT と SXR が結合し ER から SMRT が解離することにより ER の転写が増強されることが証明された。したがって、SXR の発現そのものがエストロゲン作用増強をきたすと推測された。乳癌症例の手術検体を用いて ER と SXR、SMRT の発現状況を調べ、臨床的特徴および生命予後、薬剤効果との関連を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

当院で手術施行した乳癌症例のうち、群馬大学倫理委員会の承認を受けて文章にて同意が取得でき、乳癌組織採取が可能であった浸潤癌を対象とした。乳癌に対する術前治療を行った症例は除外した。手術検体から直接乳癌組織を採取し、total RNA を抽出した。SXR の mRNA 発現量を Real time RT-PCR 法にて測定し、病理組織学的因子との関連を検討した。

4. 研究成果

SXRの発現は全例で認めたが、SXR発現と年齢との相関は認めなかった。SXR発現と閉経状況、内服薬の有無、合併症の有無、喫煙の有無の間に相関を認めなかった。SXRのmRNA発現は腫瘍径、脈管浸潤との間に相関を認めなかったが、リンパ節転移陰性、軽度核異型の症例において、有意に高かった。ER、PR、HER2 とSXRのmRNA発現の発現との関連を検討すると、ER陽性、PR陽性、HER2 陰性において有意にSXRのmRNA発現が高かった。SXRは外因性の薬剤等の影響を受ける可能性があるが、外因性の薬剤、喫煙等については、乳癌組織中のSXRの発現量は影響されなかった。SXRの乳癌細胞における検討では、過去の報告では、SXRとERのmRNAレベルでの発現は負の相関があるという結果であったが、我々の検討では、ER陽性群においてSXRのmRNAレベルが有意に高かった。SXR発現が用量依存性にERの転写活性を増強することはすでに報告したが、SXR発現が高いと、内分泌療法に感受性が高い乳癌であることが予測される。今回、腫瘍径が比較的大きいものを材料として用いた。そのため、リンパ節転移陽性例も多く、比較的進行した症例が多いと考えられる。SXR発現は腫瘍径そのものとは相関を認めず、核異型度に負の相関を認め、SXR発現は乳癌の進行度より、性格を反映していると考えられる。また、ER陽性、PR陽性、HER2陰性の乳癌にSXR発現が高いことから、いわゆるluminalAタイプにSXRが多く発現していると考えられる。以上より、SXR発現は乳癌における予後良好因子のひとつになる可能性も示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

1. 六反田奈和、堀口 淳、岩崎俊晴、鯉淵幸生、高他大輔、長岡りん、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、竹吉 泉、鯉淵典之 : 乳癌における steroid and xenobiotic receptor (SXR) の発現とERの相互作用について、査読無、乳癌基礎研究、2011 20 : 7-10
2. 六反田奈和、鯉淵幸生、堀口 淳 : 補助化学療法後の卵巣機能の変化と閉経状況、査読有、乳癌の臨床 2010 25(1):23-29
3. Nana Rokutanda, Jun Horiguchi, Yukio Koibuchi, Rin Nagaoka, Ayako Sato, Hiroki Odawara, Hideaki Tokiniwa, Yuichi Iino, Junko Hirato, Izumi Takeyoshi : Isolated retromammary lymph node metastasis of breast cancer without axillary lymph node involvement : A case report with false negative sentinel lymph node biopsy、査読有、Breast cancer 2009 16:162-165

[学会発表] (計19件)

1. Nana Rokutanda, Jun Horiguchi, Mami Kikuchi, Daisuke Takata, Rin Nagaoka, Ayako Sato, Hiroki Odawara, Hideaki Tokiniwa, Katsunori Tozuka, Izumi Takeyoshi : Comparison of HER-2 and Hormone Receptor Expression in Primary Breast Cancers and Metastases 8th European Breast Cancer Conference 2012年3月22日Vienn Austria
2. Nana Rokutanda, Jun Horiguchi, Mami

Kikuchi, Daisuke Takata, Rin Nagaoka, Ayako Sato, Hiroki Odawara, Hideaki Tokiniwa, Katsunori Tozuka, Izumi Takeyoshi Comparative analysis of hormone receptor status and HER-2 expression between primary and recurrent breast cancer. Global Breast Cancer Conference with the 8th Biennial Meeting of the Asian Breast Cancer Society, 2011年10月7日、韓国

3. 六反田奈和、堀口 淳、菊地麻美、高他大輔、長岡りん、佐藤亜矢子、時庭英彰、戸塚勝理、高井良樹、小山徹也、竹吉泉 : 乳癌再発症例における、原発巣と転移再発巣のホルモン感受性およびHER2 発現状況の比較検討、第19回日本乳癌学会学術総会、2011年9月3日、仙台
4. 六反田奈和、堀口 淳、菊地麻美、高他大輔、長岡りん、佐藤亜矢子、時庭英彰、戸塚勝理、小山徹也、竹吉泉 : 1腺のみ巨大に腫大した続発性副甲状腺機能亢進症の1手術例、第23回日本内分泌外科学会総会、2011年7月8日、東京
5. 六反田奈和、堀口 淳、菊地麻美、高他大輔、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、小山徹也、竹吉泉、早期乳癌における術前腋窩リンパ節の評価の検討、第111回日本外科学会定期学術集会、2011年5月25日、紙上発表
6. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生*、菊地麻美、高他大輔、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、竹吉 泉、異時両側乳癌の発見契機と画像所見～対側乳癌早期発見のための方法の検討～、第72回日本臨床外科学会総会、2010年11月21日、横浜

7. 六反田奈和, 堀口 淳, 鯉淵幸生*, 菊地麻美, 高他大輔, 長岡りん, 佐藤亜矢子, 小田原宏樹, 時庭英彰, 戸塚勝理, 小山徹也, 竹吉 泉, マンモグラフィで広範なdistortionを呈したcomplex sclerosing lesionを伴う乳癌症例の検討、第20回日本乳癌検診学会総会、2010年11月19日、福岡
8. 六反田 奈和, 堀口 淳, 鯉淵 幸生*, 菊地 麻美, 高他 大輔, 長岡 りん, 佐藤 亜矢子, 小田原 宏樹, 時庭 英彰, 戸塚 勝理, 加藤 隆二, 竹吉 泉, 基礎疾患を有する患者の悪性腫瘍スクリーニングFDG-PETで発見された甲状腺癌の検討、第43回甲状腺外科学会総会 2010年10月14日、倉敷
9. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、加藤隆二、竹吉 泉、乳癌におけるsteroid and xenobiotic receptor (SXR)の発現とERとの相互作用について、第20回乳癌基礎研究会2010年7月17日、宮崎
10. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、菊地麻美、高他大輔、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、加藤隆二、飯野佑一、竹吉 泉、非浸潤性乳管癌に対する乳房温存術の治療成績、第18回日本乳癌学会学術総会、2010年6月24日、札幌
11. 六反田奈和、堀口淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、加藤隆二、小山徹也、竹吉泉、Cushing症候群を呈した副腎Black adenomaの1例、第22回日本内分泌外科学会総会、2010年6月 12日、大阪
12. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、黒住 献、飯野佑一、竹吉泉、閉経前乳癌の化学療法後の内分泌環境の変化と内分泌療法の選択について、第110回日本外科学会定期学術集会、2010年4月8日、名古屋
13. Nana Rokutanda, Jun Horiguchi, Yukio Koibuchi, Mami Kikuchi, Rin Nagaoka, Ayako Sato, Hiroki Odawara, Hideaki Tokiniwa, Yuichi Iino , Izumi Takeyoshi , Chemotherapy-induced amenorrhea and adjuvant endocrine therapy for premenopausal women with early breast cancer、 7th European Breast Cancer Conference、2010年3月25日、Barcelona, Spain
14. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、黒住 献、飯野佑一、竹吉 泉、乳癌術後患者の乳癌検診方法について、異時両側乳癌症例における検討、第19回日本乳癌検診学会総会、2009年11月5日、札幌
15. 六反田奈和、堀口淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、小山徹也、平戸純子、宮永 朋実、飯野佑一、竹吉泉、甲状腺epithelioid angiosarcomaの一例、第42回甲状腺外科学会総会、2009年10月15日、大阪
16. Nana Rokutanda, Jun Horiguchi, Yukio Koibuchi, Mami Kikuchi , Rin Nagaoka , Ayako Sato , Hiroki Odawara, Hideaki Tokiniwa , Katunori Totuka , Yuichi Iino, and Izumi Takeyoshi、Predicting axillary lymphnode involvement in breast cancer patients by ultrasonography and computed tomography、Global Breast Cancer

Conference、2009年10月8日、韓国

17. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、樋口 徹、内田紗弥香、飯野佑一、竹吉 泉、化学療法による卵巣機能の変化と閉経状況の判定およびその後の内分泌療法について、第17回日本乳癌学会学術総会、2009年7月3日、東京
18. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、菊地麻美、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、戸塚勝理、飯野佑一、平戸純子、小山徹也、竹吉 泉、Cushing症候群を呈したmyelolipomatous metaplasiaを伴った副腎Black adenomaの1例、第21回日本内分泌外科学会総会、2009年5月29日、岡山
19. 六反田奈和、堀口 淳、鯉淵幸生、長岡りん、佐藤亜矢子、小田原宏樹、時庭英彰、樋口 徹、菊地麻美、飯野佑一、竹吉 泉、非浸潤性乳管癌(DCIS)に対する乳房温存術(BCS)による局所コントロールの検討、第109回日本外科学会定期学術集会、2009年4月2日、福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

六反田 奈和 (ROKUTANDA NANA)

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：50420097

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：