

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

中川 侑子

専攻分野：産婦人科学

コース：

指導教授：鈴木 直

主論文の題目：

NF- κ B signaling mediates acquired resistance after PARP inhibition

(NF- κ B 経路の亢進による PARP(PolyADP-ribose polymerase)阻害薬に対する耐性メカニズム)

共著者：

Anna S Sedukhina, Naoki Okamoto, Satoi Nagasawa, Nao Suzuki, Tomohiko Ohta, Hiroyoshi Hattori, Marta Roche-Molina, Ana J Narvaez, Anand D Jeyasekharan, Juan A Bernal, Ko Sato

緒言

家族性乳癌卵巣癌の原因遺伝子 BRCA (breast cancer susceptibility gene) に異常を伴う乳癌、卵巣癌は予後不良との関連があり効果的治療法の確立が重要である。新規抗癌剤である PARP 阻害薬は BRCA 遺伝子異常を伴う癌細胞を選択的に死滅させることから、副作用が少ない抗癌剤として報告されている。有効性に関しても、第二相試験まで証明されており、今後の臨床応用に期待される。特に卵巣癌では PARP 阻害薬の持続投与の有効性が証明されているが、他の分子標的治療薬と同様に、持続投与により薬剤耐性を生じることが報告されている。PARP 阻害薬が今後の乳癌、卵巣癌の予後改善に期待されるが故、この耐性獲得の機序に対して多くの研究が行われている。これまで報告されている PARP 阻害薬の耐性獲得機序として、BRCA 遺伝子変異が野生型に戻る、53BP1 遺

伝子異常の併発、efflux pump の機能異常、リボソーム蛋白 S6 の修飾などが報告されているが、未だ網羅的解析による耐性獲得の機序解明は行われておらず、また耐性獲得癌への効果的治療の検討はほとんどされていない。そこで我々は 網羅的スクリーニングを行い、PARP 阻害薬耐性の機序解明及び PARP 阻害薬耐性癌の効果的治療方法の検討を行った。

方法・対象

最初に BRCA1 遺伝子に変異を有する乳癌細胞株と卵巣癌細胞株に PARP 阻害薬を持続投与し、PARP 阻害薬耐性癌細胞を作成した。次に、これまでに報告されている PARP 阻害薬に対する耐性機序が、今回作成した PARP 阻害薬耐性癌細胞に該当するか否かを検討した。いずれの機序も該当しない事を確認した上で、RNA シークエンスによる網羅的解析を用い、卵巣癌由来の PARP 阻害薬耐性癌細胞と PARP 阻害薬高感受性癌細胞（親株）の間でみられる遺伝子発現パターンの違いを検討した。その遺伝子発現パターンの違いをもとに経路検索を行い、PARP 阻害薬耐性癌細胞に特有に亢進している経路を推定した。さらに、実際にその経路が亢進していることを RT-PCR による遺伝子発現量、免疫染色、luciferase assay を用いて確認した。同様の実験を乳癌細胞株を用い検証した。さらに、PARP 阻害薬耐性癌細胞に対する効果的治療の検討を行った。まず、前述した耐性株において亢進している経路の阻害薬を投与し、PARP 阻害薬耐性癌細胞と親株の感受性の違いを比較した。また、この阻害薬は安全性が確立されておらず、臨床応用はされていないため、同経路が亢進しているとされる多発性骨髄腫の効果的治療薬として臨床採用されているプロテアソーム阻害薬である Bortezomib を用いての薬剤感受性試験も行った。

結果

遺伝子発現パターンの違いをもとに経路検索を行うと、PARP 阻害薬耐性癌細胞では NF- κ B 経路の亢進が認められた。NF- κ B は炎症、感染などを契機にリガンド結合依存的に NF- κ B の抑制機構である I κ B を分解させることにより、転写因子である p65 が核内移行し転写活性をおこす。このため NF- κ B 経路の亢進は、RT-PCR による NF- κ B 下流遺伝子の発現量、p65 の局在部位、NF- κ B-responsive luciferase assay で確認することができる。実際に PARP 阻害薬耐性癌で NF- κ B 経路の亢進を認めるかを、スクリーニングを行った卵巣癌細胞株に加えて、乳癌細胞株も用いそれぞれ親株を対照として上記3つの手法で検討した。いずれの細胞株でも全ての検討で PARP 阻害薬耐性癌で NF- κ B 経路の亢進を示唆する結果を得た。さらに p65 に対する siRNA を用い NF- κ B 経路を抑制することにより PARP 阻害薬耐性癌細胞の PARP 阻害薬に対する抵抗性が解除されることも確認した。

また、PARP 阻害薬耐性癌細胞に対する効果的治療法の検討として、NF- κ B 阻害薬を投与した結果、乳癌及び卵巣癌共に耐性癌細胞に対して、親株と比較して高い感受性を示した。また、Bortezomib においても同様に乳癌、卵巣癌共に耐性癌細胞に対して、親株と比較して高い感受性を示した。

考察

以上の検討により PARP 阻害薬耐性癌では癌腫に関わらず NF- κ B 経路の亢進が PARP 阻害薬耐性の本体であることを明らかにした。また、NF- κ B 阻害薬は PARP 阻害薬耐性株に対し、高感受性を示すが、これは NF- κ B 経路が oncogene addiction となっていることを示唆しており、PARP 阻害薬耐性癌の効果的治療薬となりうると思う。

結論

NF- κ B 経路の亢進が PARP 阻害薬に対する抵抗性獲得の機序であり、

NF- κ B 阻害薬や Bortezomib が PARP 阻害薬耐性癌に対し効果的治療薬となりうることを発見した。