

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：杉山 瑠菜

専攻分野：未来がん医療プロフェッショナル養成コース

指導教授：津川 浩一郎

主論文の題目：

EX01 Overexpression Induces Homologous Recombination Deficiency and Enhances PARP Inhibitor Sensitivity in ER-Positive Breast Cancer: Modulation by N4BP2L2-Mediated Restoration

(ER 陽性乳癌における EX01 過剰発現による相同組み換え修復欠損と PARP 阻害薬感受性の増強： N4BP2L2 による修復機構の制御)

共著者：Anna S.Sedukhina, Eri Sato, Ayako Yamaura, Kimino Minagawa, Sookhee Pae, Ena Imai, Ankita Chawla, Ziran Xu, Mihika Chakraborty, Satori Gono, Jotaro Yamaoka, Kazuo Yudo, Koichiro Tsugawa, Ko Sato

緒言

乳癌は分子的に多様な疾患であり、遺伝子発現に基づき 5 つのサブタイプに分類される。これらは生物学的特性や治療反応性が異なるため、特性に応じた治療戦略が求められている。エクソヌクレアーゼ 1 (EX01) は DNA 二本鎖切断を修復する相同組み換え修復 (HR) に関与する酵素であり、複数の悪性腫瘍で過剰発現と予後不良の関連が報告されている。HR 機能が損なわれた状態は相同組み換え修復欠損 (HRD) と呼ばれ、PARP 阻害薬に対する感受性が亢進する。しかし、エストロゲン受容体 (ER) 陽性乳癌において EX01 過剰発現が HR に及ぼす影響は不明である。

本研究の目的は、ER 陽性乳癌における EX01 過剰発現が HRD および PARP 阻害薬感受性に与える影響を明らかにし、その調節因子を探索・同定し、機能的役割を解明することである。本研究では、バイオインフォマティクス解析、機能解析実験、および機械学習を統合した包括的アプローチにより検証を行った。

方法・対象

はじめに、The Cancer Genome Atlas (TCGA) ER 陽性乳癌コホートの RNA-seq データおよび HRD スコアを用いて、EX01 発現と HRD の関連をバイオインフォマティクス解析により評価した。EX01 の発現量は Z スコアにより正規化し、Z スコア>0 を高発現と定義して HRD スコアとの相関を解析した。次に、ER 陽性乳癌細胞株 T47D において、ベクター対照 (VC)、EX01 過剰発現細胞を作成し、Advanced Homologous Recombination Assay (ASHRA) により HR 活性を測定した。さらに、各細胞株に対する PARP 阻害薬 Olaparib の感受性をコロニー形成アッセイで評価した。

続いて、TCGA 乳癌データセット (ER 陽性乳癌 700 症例) を対象に、HRD スコア 42 をカットオフとした 2 群比較を行い、DESeq2 および edgeR を用いて差次的遺伝子発現解析を実施し、共通する差異発現遺伝子 1405 個を抽出した。これらの遺伝子を用いて、Random Forest、XG Boost、Support Vector Machine、Hist Gradient Boosting Classifier の 4 種類の機械学習モデルによる HRD 予測解析を行い、EX01 高発現下において HR 機能に影響を与える候補遺伝子を同定した。外部検証として韓国 SMC 乳癌コホートを用い、HRD スコアとの関連性を評価した。最終的に抽出された候補遺伝子に対して機能解析実験を行い、その HR 制御機構を検証した。

結果

TCGA 解析では、ER 陽性乳癌における EX01 発現と HRD スコアとの間に有意な正の相関を認め、EX01 高発現が HRD の一因となる可能性が示唆された。機能解析実験において、親株 T47D 細胞および VC 細胞では HR 活性は正常であったのに対し、EX01 過剰発現細胞では HR 活性が著明に低下し、PARP 阻害薬に対する感受性が有意に上昇した。この結果は、EX01 過剰発現が機能的 HRD を誘導し、治療効果を高めることを示している。

差次的遺伝子発現解析では、DESeq2 および edgeR で共通する 1405 個の遺伝子が同定された。機械学習の結果、N4BP2L2 および OTUD7B が HRD スコア低下に寄与する候補として抽出されたが、外部コホート検証および解釈可能性解析では N4BP2L2 のみが一貫して HRD スコアと逆相関を示した。

機能解析実験において、EX01 と N4BP2L2 の同時過剰発現細胞では EX01 によって抑制された HR が回復し、PARP 阻害薬に対する感受性は低下した。すなわち、N4BP2L2 は EX01 による HR 抑制作用を打ち消す調節因子であることが示された。

考察

これらの結果は、ER 陽性乳癌において EX01 過剰発現が HRD を誘導する新たな機構を示し、従来 HR が保たれていると考えられてきた ER 陽性乳癌にも HRD が生じうることを明らかにした。また、N4BP2L2 はこの HRD を回復させる調節因子として機能し、PARP 阻害薬に対する感受性の制御に関与することが示された。

本研究は、EX01 が ER 陽性乳癌における新たな HRD バイオマーカーとなり得ることを明らかにし、N4BP2L2 の発現状態が PARP 阻害薬治療の反応性に影響を与える重要な調節因子であることを示した。

結論

本研究により、ER 陽性乳癌における EX01 過剰発現は HR を抑制し、PARP 阻害薬に対する感受性を増加させることが明らかになった。また、N4BP2L2 は EX01 によって誘導される HRD を回復させる調節因子であり、PARP 阻害薬耐性に関与する可能性が示唆された。

以上より、EX01 および N4BP2L2 の発現は、ER 陽性乳癌における HRD の診断および個別化治療戦略の構築において、新たな分子指標としての臨床的有用性が期待される。