



Title	Altered estrogen receptor signaling pathway in BRCA2-deficient estrogen receptor-positive/HER2-negative breast cancer
Author(s)	川崎, 香
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101824
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	川崎 香
論文題名 Title	Altered estrogen receptor signaling pathway in BRCA2-deficient estrogen receptor-positive/HER2-negative breast cancer (BRCA2欠損エストロゲン受容体陽性HER2陰性乳癌におけるエストロゲン受容体経路の変化)
論文内容の要旨	
〔目的(Objective)〕	
<p><i>BRCA2</i>変異乳癌は散発性乳癌と比較して、エストロゲン受容体(ER)陽性の割合はほぼ同じであるが、悪性度が高いluminal B typeが多く、再発のリスクも高いと報告されている。しかし、<i>BRCA2</i>の変異がER経路にどのような影響を及ぼすのかは未だに不明である。本研究では<i>BRCA2</i>の変異とER経路の関係を明らかにする事を目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>2018年10月から2021年5月までに大阪大学医学部附属病院で<i>BRCA1/2</i>遺伝子の変異の有無を検査した乳癌症例の中で、ER陽性HER2陰性で浸潤部腫瘍径が1cmを超える67症例を対象とし、原発巣のFFPE標本を用いてSer167リン酸化ER、AKT及びSer473リン酸化AKT、RB1の免疫染色を施行して<i>BRCA2</i>変異の有無で染色強度を比較した。</p> <p>ER陽性HER2陰性乳癌細胞から、CRISPR-Cas9を使用して<i>BRCA2</i>遺伝子ターゲティングを行い、<i>BRCA2</i>タンパク発現の消失した<i>BRCA2</i>欠失株を得ることにした。親株と<i>BRCA2</i>欠失株のそれぞれにlow passage株（培養期間2ヵ月未満）とhigh passage株（培養期間8ヵ月以上）の細胞株を準備した。それらの細胞を用いてER経路に関わるタンパクの発現をwestern blotで調べ、PARP阻害剤や4-hydroxytamoxifenの薬剤感受性試験を行った。また作成した細胞株からDNAを抽出してWGSを行い、親株とノックアウト細胞株の比較を行った。</p> <p>免疫染色の対象とした患者背景は閉経状況・腫瘍径・リンパ節転移・遠隔転移・ホルモンレセプターの発現状況・グレード・組織型・Ki67の項目いずれにおいても<i>BRCA2</i>変異の有無で有意差は認めなかった。染色強度を0,1,2,3の4段階にスコア化して比較(0,1 vs. 2,3)したところ、AKTに関しては2群間で有意差は認めなかつたが、リン酸化ER・リン酸化AKT・RB1の発現はそれぞれP = 0.002、0.018、0.037といずれも<i>BRCA2</i>変異症例で有意に低値であった。</p> <p>細胞実験ではMCF7から2種類の<i>BRCA2</i>欠失株を作成した。親株と2種類の<i>BRCA2</i>欠失株それぞれのlow passage株とhigh passage株(計6種類)の細胞におけるタンパク発現を調べると、ERとAKTの発現は親株と<i>BRCA2</i>欠失株で差がないのに対し、<i>BRCA2</i>欠失株ではSer167リン酸化ERとSer473リン酸化AKTのタンパク発現が低下していた。また、high passageの<i>BRCA2</i>欠失株ではRB1タンパクの発現も低下していた。いずれの結果も臨床検体の免疫染色の結果と一致していた。</p> <p>Poly-ADP-ribose polymerase阻害剤であるolaparibを用いた薬剤感受性試験では、<i>BRCA2</i>欠失株でolaparibの感受性が亢進しており、機能面でも<i>BRCA2</i>の欠失が裏付けられた。また、4-hydroxytamoxifenの感受性試験では親株と<i>BRCA2</i>欠失株の感受性に明らかな差は認めなかつた。</p> <p><i>BRCA2</i>ノックアウトの確認目的にWGSを行ったところ、親株には認めず<i>BRCA2</i>欠失株にのみ認める変異がイントロン領域に同定された。<i>BRCA2</i>タンパク発現の消失や機能的欠失が明らかであることから、イントロン領域に変異が生じて<i>BRCA2</i>遺伝子のエクソンのスプライシング異常等が生じた可能性があるのではないかと推測している。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>ER陽性乳癌における<i>BRCA2</i>の欠失は、ER Ser167とAKT Ser473の脱リン酸化およびRB1の発現低下を招く事が示唆された。過去の複数の研究で、<i>BRCA2</i>の変異が内分泌療法感受性には大きな影響を与えない可能性が報告されており、我々の細胞実験の結果とも一致する。しかし、AKT Ser473の脱リン酸化はAKT阻害剤の感受性を低下させるため、<i>BRCA2</i>の変異はER陽性HER2陰性乳癌におけるAKT阻害剤の感受性を低下させる可能性が考えられた。また、<i>RB1</i>遺伝子の変異がCDK4/6阻害剤の効果を減弱させることが明らかになっており、<i>BRCA2</i>変異乳癌はCDK4/6阻害剤の感受性が低下している可能性も考えられる。これらの薬剤は現在の乳癌治療において、内分泌療法と併用される重要な薬剤である。このようにER経路に様々な変化を与える<i>BRCA2</i>の変異は、ER陽性乳癌の治療薬に対する感受性に影響を及ぼす可能性がある事が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 川崎 香		
論文審査担当者	主 査	(職) 大阪大学教授 氏 名 <i>島津研三</i>
	副 査	大阪大学教授 <i>江口 英利</i>
	副 査	大阪大学教授 <i>日比野 浩</i>

論文審査の結果の要旨

エストロゲン受容体(ER)陽性/HER2陰性乳癌のうち、生殖細胞系列*BRCA2*変異キャリアに発生するものは散発性と比較してより悪性度が高いが、*BRCA2*の変異がER経路に及ぼす影響は解明されていない。本研究では、臨床と基礎の両面から、*BRCA2*変異乳癌におけるER経路の変化を検討した。*BRCA2*変異の有無が既知のER陽性/HER2陰性乳癌の手術検体で免疫染色を行うと、*BRCA2*野生型乳癌と比較して、*BRCA2*変異乳癌ではER Ser167とAKT Ser473のリン酸化レベル及びRB1の発現レベルが有意に低下していた($P = 0.002, 0.018, 0.037$)。CRISPR-Cas9を用いて作成した*BRCA2*欠損ER陽性/HER2陰性MCF7細胞株でも、臨床検体と同じ結果を得た。細胞株の薬剤感受性試験では、*BRCA2*欠損によりオラパリブの感受性が亢進する一方、タモキシフェン感受性は影響を受けなかった。本研究は、*BRCA2*変異ER陽性/HER2陰性乳癌のER経路の変化を初めて明らかにしたものであり、今後の治療戦略への足掛かりとなることが期待される事から、学位に値するものと認める。