

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	大場 崇 旦
論文審査担当者	主 査 山田充彦 副 査 大森 栄 ・ 小泉知展
論文題目	ABCB1 and ABCC11 confer resistance to eribulin in breast cancer cell lines (ABCB1, ABCC11 は乳癌細胞のエリブリン耐性に関与する)
(論文の内容の要旨)	
<p>【背景と目的】 エリブリンは再発乳癌の key drug の 1 つであるが、その耐性機構の知見は乏しい。エリブリン耐性機構を解明するために、我々はエリブリン耐性乳癌細胞株を作成し、耐性に関与する遺伝子の同定を試みてきたが、ABC トランスポーターの ABCB1 と ABCC11 が候補遺伝子として同定された。ABC トランスポーターは薬剤排泄に働き、抗癌剤耐性に関与していることが知られており、今回、ABCB1 と ABCC11 が乳癌細胞のエリブリン耐性に関与しているか否かについて、エリブリン耐性乳癌細胞株を作成し、検討した。</p> <p>【方法】 エストロゲン受容体(ER)陽性/上皮細胞増殖因子受容体 2 型(HER2)陰性乳癌細胞株 MCF7、ZR75-1、ER 陽性/HER2 陽性細胞株 BT474、ER 陰性/HER2 陽性細胞株 SKBR3、ER 陰性/HER2 陰性細胞株 MDA-MB-231、Hs578T、MDA-MB-157 の 7 つの乳癌細胞株でエリブリン耐性株(MCF7/E、BT474/E、ZR75-1/E、SKBR3/E、MDA-MB-231/E、Hs578T/E、MDA-MB-157/E)を樹立し、これらの細胞の ABCB1、ABCC11 発現を RT-PCR およびウエスタンブロットにて解析し、さらに siRNA で発現を抑制した際のエリブリン感受性回復の有無、および HEK293T 細胞に強制発現させた際のエリブリン感受性の変化、さらに乳癌に対する key drug 3 剤(エピルビシン、パクリタキセル、フルオロウラシル)に対する感受性変化の有無を WST assay にて解析した。</p> <p>【結果】 マイクロアレイ解析で MCF7/E では親株と比べ、ABCB1 と ABCC11 の mRNA 発現が 56.1 倍、17.9 倍上昇していた。そこで、樹立した 7 つのエリブリン耐性乳癌細胞株で、RT-PCR でこれらの mRNA 発現を解析したところ、その程度は異なるものの 7 細胞株全てで ABCB1 と ABCC11 発現の上昇を認めた。ウエスタンブロット法でのタンパク発現解析でも、7 つのエリブリン耐性株全てで ABCB1、ABCC11 の発現増加を認めた。MCF7/E、BT474/E、MDA-MB-231/E で siRNA により ABCB1、ABCC11 発現をそれぞれ抑制すると、エリブリン感受性の部分的な回復が認められた。また、HEK293T 細胞にプラスミドベクターを用いて ABCB1、ABCC11 をそれぞれ強制発現させるとエリブリン耐性が誘導された。これらの結果から、ABCB1 と ABCC11 がエリブリン耐性に関与していると考えられた。HEK293T 細胞に ABCB1、ABCC11 をそれぞれ強制発現させると、エピルビシン、パクリタキセル、フルオロウラシルに対する感受性も低下していたが、MCF7/E と MDA-MB-231/E においてもこれらの薬剤に対する交差耐性が認められた。これらの細胞で、ABCB1 を抑制するとエピルビシン、パクリタキセルの、ABCC11 の抑制によりフルオロウラシルの感受性が回復したことから、エピルビシン、パクリタキセルとの交差耐性には ABCB1 が、フルオロウラシルとの交差耐性には ABCC11 が関与していると考えられた。</p> <p>【考察】 ABCB1 と ABCC11 は乳癌の subtype によらずエリブリン耐性に関与しており、ABCB1 や ABCC11 がエリブリンの効果予測に有用な指標となり、これらを抑制することで、エリブリンの感受性を増強できる可能性が示唆される。</p>	