

研究報告書
令和2年度：A課題

2022年 4月 7日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 国立がん研究センター研究所

住 所 東京都中央区築地 5-1-1

研究者氏名 中山 淳

(研究課題)

非古典的 NF κ B 経路が制御するトリプルネガティブ乳がん悪性化機構の解明

令和3年 1月 19日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しました
のでご報告いたします。

【研究目的】

トリプルネガティブ乳がんは未だに有効な治療標的分子が見つかっていないことが問題として挙げられる。私達は、トリプルネガティブ乳がんである MDA-MB-231 細胞をモデルとして、世界初の同所性移植手法による乳がん肺高転移株 (MDA-MB-231-LM05 細胞) を樹立した (Nakayama et al., *Int J Oncol.*, 2017)。同所性移植手法とは、乳がん細胞を免疫不全マウスの乳腺組織に移植し、原発巣形成から転移に至るまでの全過程を模倣する系である。この 231-LM05 細胞は、先行研究で樹立されてきた高転移株とは異なり、血中移植ではほとんど転移能を示さないが、同所性移植したときにのみ顕著な造腫瘍能および高転移能を示すというユニークな性質を獲得している。この 231-LM05 細胞における造腫瘍能・転移能を制御する遺伝子を探索した結果、非古典的 NF κ B 経路を制御する NIK (Nf κ B-Inducing Kinase) が責任遺伝子であることを同定した (林祐介, 第 79 回日本癌学会学術総会, 2020)。本研究の目的は、キナーゼである NIK がトリプルネガティブ乳がんの新たな治療標的となり、がんの悪性化および転移を抑制することができるか評価する。

【研究方法】

【1】キナーゼ阻害剤を用いた NIK 治療標的としての有用性評価

NIK の活性化を阻害する少分子化合物（阻害剤）はここ数年で開発が進み、市販されるようになった。NIK SMI1(HY-112433, MedChemExpress)の有用性を *in vitro*（ソフトアガーアッセイ）および *in vivo*（免疫不全マウスへの移植・投与）において評価を行う。

【2】臨床検体における NIK 陽性乳がんの意義検討

乳がん臨床検体の組織アレイを利用し、NIK の組織免疫染色を行う。検体のサブタイプ、予後、悪性度（核の異形成率など）を指標とし、NIK の発現量と悪性度の評価を行う。また NIK の発現が新たな予後診断マーカーとなりうるか検討する。

【研究成果】

まず、shRNA を用いた NIK 遺伝子ノックダウン細胞を用いたソフトアガーアッセイを行った結果、顕著に 231-LM05 細胞のコロニー形成能が抑制されることが明らかになった。次に、NIK 阻害剤を用いたソフトアガーアッセイの検討より、NIK SMI1 は 231-LM05 細胞のコロニー形成を抑制できなかった。この結果から、本阻害剤を用いた腫瘍抑制実験は困難であると判断した。NIK のキナーゼ活性阻害剤は開発途上であり、今後さらなる新規阻害剤の開発が期待される。

次に、乳がん臨床検体組織アレイを用いた、NIK の免疫染色を行った。その結果、正常組織に比べ、腫瘍組織(乳がん)における NIK 陽性面積の割合が増大していた。しかし、病期間における染色割合に、差異は見られないことから、NIK は予後診断ではなく、腫瘍診断マーカーとして可能性を有していると考えられる。

これらの結果を総括し、現在論文投稿中である。また本成果はプレプリントサーバー *bioRxiv* に投稿済みである。

【本助成金関連の査読付き論文】

該当なし

【本助成金関連のプレプリント】

【1】 Yusuke Hayashi, Jun Nakayama, Mizuki Yamamoto, Masashi Maekawa, Shinya Watanabe, Shigeki Higashiyama, Jun-ichiro Inoue, Yusuke Yamamoto, Kentaro Semba. Aberrant accumulation of NIK promotes tumorigenicity by dysregulating post-translational modifications in breast cancer, *bioRxiv* 2021.08.27.457878; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.08.27.457878>

【本助成金関連の代表的学会発表】

【1】 林祐介, 中山淳, 山本瑞生, 井上純一郎, 山本雄介, 仙波憲太郎, 同所性乳がん高転移株における NIK の機能解析, 日本癌学会総会抄録集 80th, 2021