

令和元年6月10日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10048

研究課題名(和文) 質量顕微鏡を用いた乳癌組織の脂質解析による治療効果予測因子、予後因子の探索

研究課題名(英文) Research of therapeutic predictors and prognostic factors by lipid analysis of breast cancer using mass microscopy

研究代表者

小倉 廣之(Ogura, Hiroyuki)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：50402285

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：TN乳癌の再発予測因子との脂質の検討では、ホスファチジルコリン(32:1)(m/z 732.5)のシグナルは、非再発群と比較して再発群で有意に高かった。PC(32:1)は、周囲の間質よりも癌上皮領域においてより豊富であり、異常な脂質代謝が発癌と関連していたことを示唆していた。ER/PgR陽性HER2陰性リンパ転移陰性乳癌6例を対象に、網羅的に脂質解析を行い、Oncotype Dxのリスク分類と関連する脂質を検索した。ネガティブイオンモードでm/z 327.24、m/z 345.24、m/z 587.51、ポジティブイオンモードでm/z 848.56は、再発スコアの高い症例で多く分布していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TN乳癌の再発予測因子との検討では、ホスファチジルコリン(32:1)は、周囲の間質よりも癌上皮領域においてより豊富であり、異常な脂質代謝が発癌と関連していたことを示唆していた。また質量顕微鏡解析とOncotype Dxの検査結果から、再発リスクが高い症例の乳癌組織において特徴的に分布する分子を確認した。今回の4つの分子については多段階質量分析による更なる同定が必要である。今回認められた脂質は、ホルモン陽性HER2陰性リンパ節転移陰性乳癌の再発予測因子の候補因子となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Examination of lipid related to recurrent factor of TN breast cancer, the signal for phosphatidylcholine (PC) (32:1) at m/z 732.5 was significantly higher in the recurrence group compared to the non-recurrence group. PC (32:1) was more abundant in the cancer epithelial area than it was in the surrounding stroma, suggesting that abnormal lipid metabolism was associated with malignant transformation. Six breast cancer patients with node-negative disease with ER / PgR positive and HER2 negative by immunostaining are comprehensively analyzed using mass microscope by desorption electrospray ionization method, and risk classification of Oncotype Dx. Lipids measured as m/z 327.24, m/z 345.24, m/z 587.51 in the negative ion mode, and m/z 848.56 in the positive ion mode were widely distributed in cases with high recurrence score compared to cases with low recurrence score.

研究分野：乳癌腫瘍学

キーワード：乳癌 質量顕微鏡 脂質

1. 研究開始当初の背景

癌細胞では脂質の新規合成が盛んで、癌の発生やその後の進展に関連する脂質代謝酵素が報告されている。最近では脂質合成に関与する酵素を阻害することによって癌細胞の増殖を抑制可能とする *in vitro* (Mason P, et al., 2012, PLoS ONE) の実験結果も報告されている。体内における脂質の蓄積と一部の乳癌発生には深い関連があると考えられているが、脂質組成を解析した詳細な研究はほとんど報告されていない。よって癌部の脂質組成を解析する研究は重要な基礎データとなると考えられる。

我々が解析に用いる質量顕微鏡は、標本となる組織切片に細径レーザーを照射しイオン化することで、局在に含まれる分子を検出・可視化する手法であり、これまでに、リン脂質、リソPC、トリグリセリド、糖脂質、セラミドなど、脂肪酸長を分離した精度での解析・可視化に成功してきた。乳癌組織検体を用いた質量顕微鏡法解析も報告しており、乳癌癌部に特徴的な脂質合成が示唆される結果を報告している (Ide Y, et al., 2013, PLoS ONE)。

また日常臨床において乳癌は免疫組織学的結果に基づいた4つのサブタイプ分類して、治療方法や予後が異なることが知られている。同じサブタイプに分類される乳癌は、類似した生物学的特性をもつが、この4つの分類では不十分で、同じサブタイプに属する乳癌でも異なる様相を呈する場合がある。そのため、治療方針決定に直結する乳癌をさらに細分化するための新機軸が探し求められている。

多遺伝子アッセイである Oncotype Dx はホルモン陽性の早期浸潤性乳癌患者を対象として10年間の遠隔再発リスクを三段階に分類可能である。Oncotype Dx のリスク分類と関連する脂質が確認することができれば、新たな治療標的や診断に有用なマーカーとなる可能性がある。

2. 研究の目的

乳癌臨床に貢献できる可能性がある観点からは、以下の4点を目的とする。

資料調整方法の最適化

網羅的な脂質解析により乳癌に蓄積する脂質のプロファイルの探索

サブタイプ分類別に特徴的に検出される脂質の探索

多遺伝子解析結果との相関を認める脂質プロファイルの探索

3. 研究の方法

乳癌臨床検体を乳癌患者より採取し、質量顕微鏡法を用いて脂質解析を行う。研究目的 で挙げた測定条件の最適化～質量顕微鏡法による脂質解析は、先に行ってきた予備的検討に継続した形で行う。質量顕微鏡法で検出される脂質は陽イオン化されたときに検出されやすいもの(ポジティブイオンモードによる検出)と陰イオン化されたほうが検出されやすいもの(ネガティブイオンモードによる検出)とに分けられることが知られている。予備的検出ではポジティブイオンモードによる検出のみであったため、今回はネガティブイオンモードを追加して検討した。

研究目的 サブタイプ別に特徴的にみられる脂質分子種の探索は、主に ER/PgR 陰性・HER2 陰性乳癌(トリプルネガティブ乳癌、以下 TN 乳癌)について検討した。TN 乳癌9例(再発3例、および非再発6人)からそれぞれ得られた乳癌標本のレーザー脱離/イオン化イメージング質量分析を用いて TN 乳癌の再発予測因子との関連を検討した。

研究目的 に関しては、リンパ節転移陰性の乳癌患者のうち、免疫染色で ER/PgR 陽性、HER2 陰性6例を対象とした。質量顕微鏡を用いて網羅的に脂質の検出を行い、Oncotype Dx のリスク分類と関連する脂質を検索した。計測結果より得られたシグナルに対応する脂質化合物の検索には HMDB (<http://www.hmdb.ca/spectra/ms/search>) を用いた。

4. 研究成果

測定条件の至適化～質量顕微鏡法による脂質解析に関しては、マトリックスとして予備的検討で利用した 2,5-Dioxybenzoic Acid (DHB) とは異なる新規マトリックスとして 2, 5-dihydroxyacetophenone (DHAP) を用いて更に高感度での脂質検出を試みて、良好に脂質のスペクトルを検出することができた。またネガティブイオンモードでの脂質解析の至適化を行い、ポジティブイオンモードと併せて網羅的に脂質の解析ができるようになった。

TN 乳癌の再発予測因子との検討では、ホスファチジルコリン (32:1) (m/z 732.5) のシグナルは、非再発群と比較して再発群で有意に高かった ($P=0.024$)。ホスファチジルコリン (32:1) は、周囲の間質よりも癌上皮領域においてより豊富であり、異常な脂質代謝が発癌と関連していたことを示唆していた。

多遺伝子解析結果との相関を認める脂質プロファイルの探索において、OncotypeDx 施行した 6 例の乳癌症例の再発スコアは、59 点、27 点、15 点、13 点、5 点、4 点であり、59 点の症例を高再発リスクとして検討した。再発スコアによって異なるイオン分布を認めた。ネガティブイオンモードで m/z 327.24、 m/z 345.24、 m/z 587.51、ポジティブイオンモードで m/z 848.56 が、再発スコアの低い症例と比較し再発スコアの高い症例で多く分布していた。HMDB を参照すると、4 つのイオンは、DHA、DG(34:4/0:0)、PC(38:4) と推定された。再発リスクの高い症例で多く分布していた分子は乳癌の再発と関連している可能性があり、今回の 4 つの分子については多段階質量分析による更なる同定が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Recurrent triple-negative breast cancer (TNBC) tissues contain a higher amount of phosphatidylcholine (32:1) than non-recurrent TNBC tissues. Hosokawa Y, Masaki N, Takei S, Horikawa M, Matsushita S, Sugiyama E, Ogura H, Shiiya N, Setou M. PLoS One. 2017 Aug 23;12(8):e0183724.

〔学会発表〕(計 1 件)

ホルモン陽性乳癌の質量顕微鏡を用いた予後因子、予後予測因子の探索。細川 優子, 佐藤 智仁, 浅井 はるか, 浅野 祐子, 中村 明子, 小倉 廣之, 椎谷 紀彦. 第 26 回日本乳癌学会, 2018 年、京都

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究分担者: なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 瀬藤 光利

ローマ字氏名: SETOU MITSUTOSHI

研究協力者氏名：細川 優子
ローマ字氏名： HOSOKAWA YUKO

研究協力者氏名：佐藤 智仁
ローマ字氏名： SATO TOHOHITO

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。