

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10061

研究課題名(和文) ホルモン療法低感受性乳癌に対するマイクロRNA-1290ノックダウン療法

研究課題名(英文) Treatment strategy of breast cancer using micro RNA-1290

研究代表者

波戸 ゆかり (Hato, Yukari)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：20721864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、miR-1290の機能を阻害することにより、乳癌のホルモン療法への感受性が回復できないかと考えて計画した。miR-1290標的遺伝子候補であるNAT1蛋白発現高発現と全生存期間の延長に正の相関の傾向を認めた。さらに、術前化学療法を施行した乳癌を対象として、miR-1290標的遺伝子候補であるFOXA1を含む複数の遺伝子に対して、免疫組織学的方法による蛋白発現解析を行ったところ、FOXA1蛋白発現が高い症例が予後良好であった。しかし、miR-1290発現レベルと乳癌の予後には有意な相関は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：We investigated the correlations of miR-1290 and its target genes, NAT1 and FOXA1, with breast cancer prognosis. Positive correlation was observed between high NAT1 protein expression and better overall survival in breast cancer patients. Positive correlation was also observed between FOXA1 mRNA expression and disease-free survival in breast cancer patients who received neoadjuvant chemotherapy. However, no correlation was observed miR-1290 expression and prognosis in breast cancer patients.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌

### 1. 研究開始当初の背景

乳癌は日本人女性が最も多く罹患する悪性疾患であり、死亡数も年々増加傾向にある。全乳癌の約80%においてエストロゲン・レセプター (ER) の発現が認められ、多くの症例においてはホルモン療法が有効である。しかしながら、約30%の症例は、ERが発現しているにもかかわらずホルモン療法の効果が低く予後不良であることが知られている。このホルモン療法低感受性乳癌に対する有効な治療方法としては、現時点では化学療法しかない。しかしながら、化学療法は副作用が強く患者のQOLは著しく低下するため、副作用の少ない新規治療薬の開発が社会的急務となっている。

そこで、本研究では、マイクロRNAに着目し、ホルモン療法への低感受性に関わっている特定のマイクロRNA (miR-1290) を標的とした新規治療薬の開発を目指した。

マイクロRNA (microRNA; miRNA) とは、20-25塩基からなる内因性の一本鎖RNAで、標的遺伝子のmRNAに結合することにより、その標的遺伝子の発現を抑制する。私たちはこれまでに、網羅的マイクロRNA解析の手法により、マイクロRNAのひとつmiR-1290の発現亢進が、ホルモン療法に対する低感受性を規定する因子であることを見出した。

さらに、miR-1290の標的遺伝子として、NAT1、FOXA1など複数の遺伝子を同定し、乳癌手術標本を用いた検討により、miR-1290がその標的遺伝子のmRNA・タンパク発現を抑制することを示した。

次に、miR-1290の標的遺伝子の中のNAT1・FOXA1と予後との関連性について検討した。その結果、ホルモン療法を施行したER陽性乳癌において、NAT1低発現症例で予後不良であり、FOXA1低発現症例でも、予後不良であることがわかった。

以上の結果から、NAT1およびFOXA1低発現症例が予後不良である原因として、従来のホルモン療法では効果が不十分であることが示唆された。

つまり、乳癌組織におけるmiR-1290の発現が亢進することによって、その標的遺伝子の発現が低下し、結果として、ホルモン療法に対する感受性の低下が引き起こされるのではないかと仮説を立てた。

これら一連の研究結果および仮説を踏まえて、ホルモン療法低感受性を規定するmiR-1290をノックダウンすることにより、ホルモン療法に対する感受性を回復させることができれば、ホルモン療法低感受性乳癌の治療成績を向上させることができるのではないかと考え、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

乳癌全体の約80%を占めるER陽性乳癌のなかには、ホルモン療法の効果が低く、予後不良なものが存在し、その治療成績の向上が緊急課題となっている。私たちはこれまでに、

ホルモン療法に対する低感受性を規定する因子として、miR-1290が深く関与していることを見出した。次いで、miR-1290の標的遺伝子であるNAT1とFOXA1が低発現の乳癌は予後不良であることを報告した。これらの研究成果から、本研究では、miR-1290の機能を阻害することにより、乳癌のホルモン療法への感受性が回復できないかと考え、ER陽性乳癌に対するmiR-1290ノックダウン療法の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 対象: 2003~2008に当施設にて手術を施行した乳癌312例。

(2) TaqMan microRNA assay システムを用いて、miR-1290発現を測定した。

(3) ER、プロゲステロン・レセプター (PgR)、HER2発現の評価を免疫組織化学的方法にて施行した。

(4) miR-1290発現と、予後および臨床病理学的因子との関連性について検討した。予後との関連はKaplan-Meier法にて検討した。

### 4. 研究成果

全症例 (n=312) を対象とした解析における、miR-1290発現と臨床病理学的因子との相関をTable 1に示す。miR-1290高発現症例は、ERおよびPgR発現陰性症例がやや多い結果であった。miR-1290発現と無再発生存期間 (DFS: Disease-free survival) および全生存期間 (OS: Overall survival) との間に関連は認めなかった (Figure 1, 2)。

Figure 1. 全症例におけるDFS (cut-off値は中央値)。縦軸: DFS、横軸: 日数。

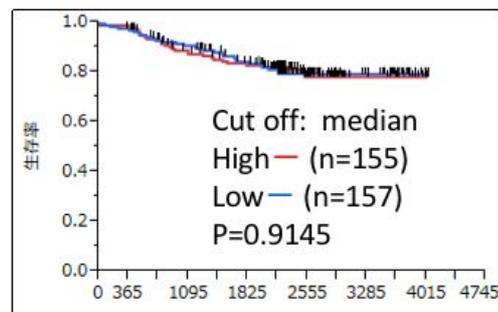


Figure 2. 全症例におけるOS (cut-off値は中央値)。縦軸: OS、横軸: 日数。

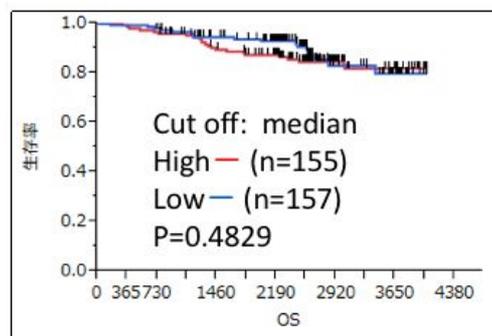


Table 1. miR-1290 発現と臨床病理学的因子との相関。

	All patients n (%)	miR-1290 expression		P-value
		High n (%)	Low n (%)	
Patients	312	155 (50)	157 (50)	
Age (years)				
< 50	113 (36)	61 (39)	52 (33)	
≥ 50	199 (64)	94 (47)	105 (53)	0.252
Tumor size				
≤ 2cm	158 (51)	71 (45)	87 (55)	
> 2cm	154 (49)	84 (54)	70 (45)	0.090
Node status				
Negative	167 (54)	90 (58)	77 (49)	
Positive	125 (40)	56 (36)	69 (44)	
Unknown	21 (7)	9 (6)	12 (8)	0.274
Grade				
1-2	167 (54)	76 (49)	91 (56)	
3	141 (45)	76 (49)	65 (41)	
Unknown	4 (1)	3 (2)	1 (1)	0.203
Histology				
IDC	278 (89)	139 (90)	139 (89)	
ILC	11 (4)	3 (2)	8 (5)	
Others	23 (7)	13 (8)	10 (6)	0.266
ER status				
Positive	254 (81)	119 (77)	135 (86)	
Negative	58 (19)	36 (23)	22 (14)	0.037
PgR status				
Positive	209 (67)	92 (59)	117 (75)	
Negative	103 (33)	63 (41)	40 (25)	0.004
HER2 status				
Positive	42 (13)	27 (17)	15 (10)	
Negative	259 (83)	127 (78)	132 (84)	
Unknown	11 (4)	7 (5)	4 (3)	0.669
Adjuvant therapy				
ET alone	111 (36)	44 (28)	67 (43)	
CT alone	51 (16)	25 (16)	26 (17)	
ET + CT	125 (40)	63 (41)	62 (40)	
None	18 (6)	12 (8)	6 (4)	
Unknown	6 (2)	4 (3)	2 (1)	0.630

ER, estrogen receptor; PgR, progesterone receptor; IDC, invasive ductal carcinoma; ILC, invasive lobular carcinoma; ET, Endocrine therapy; CT, Chemotherapy.

次に、miR-1290 発現を 3 分割（高発現、中等度発現、低発現に分類）して、DFS および OS について検討した（Figure 3, 4）。

Figure 3. 全症例における DFS（発現レベルで 3 等分割）。縦軸：DFS、横軸：日数。

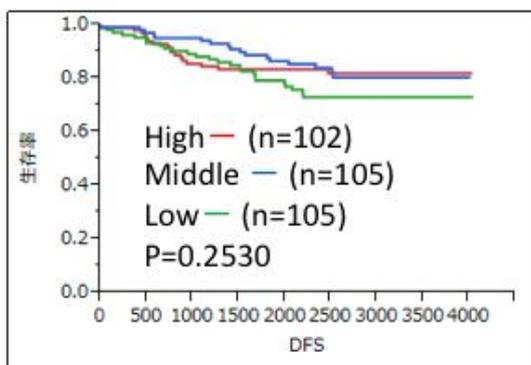
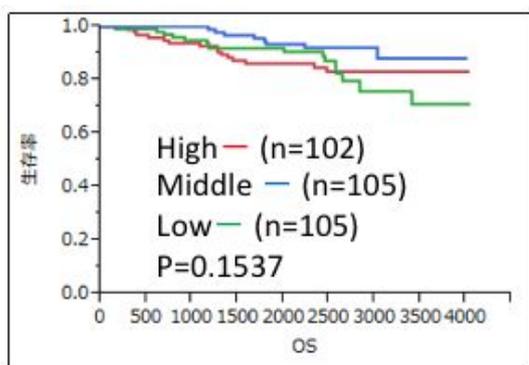


Figure 4. 全症例における OS（発現レベルで 3 等分割）。縦軸：OS、横軸：日数。



しかしながら、miR-1290 発現レベルと DFS および OS との間に相関は認めなかった。

次に、ホルモン受容体（HR）陽性症例（ER 陽性 and/or PgR 陽性）のみにおける miR-1290 発現、DFS および OS について検討した（cut-off 値は中央値）（Figure 5, 6）。

しかし、HR 陽性症例のみの検討でも miR-1290 発現レベルと予後の相関は認められなかった。

Figure 5. HR 陽性症例における DFS（cut-off 値は中央値）。縦軸：DFS、横軸：日数。

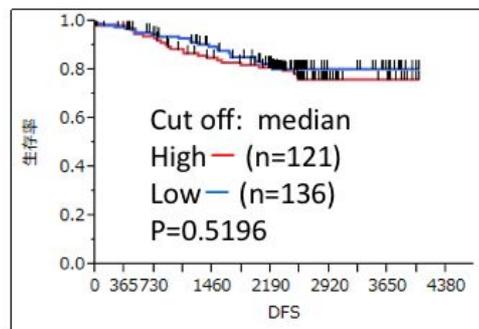
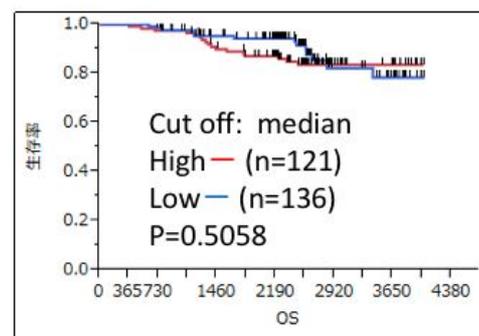
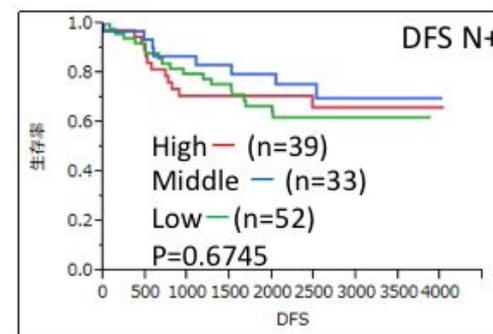


Figure 6. HR 陽性症例における OS（cut-off 値は中央値）。縦軸：OS、横軸：日数。



次に、腋窩リンパ節転移陽性症例のみにおける miR-1290 発現と DFS について検討した（高発現、中等度発現、低発現に分類）が、miR-1290 発現レベルと予後の相関は認められなかった（Figure 7：下図）。縦軸：DFS、横軸：日数。



結語：乳癌組織における miR-1290 発現レベルと予後および臨床病理学的因子との関連性について検討した。miR-1290 発現レベルと腫瘍の ER, PgR 発現の有無には弱い相関を認めものの、予後との相関は認めなかった。

以上の結果から、miR-1290 発現の抑制が予後を改善するという仮説を証明することができなかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/mammal.dir/index.html>

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

波戸 ゆかり (HATO, Yukari)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員  
研究者番号：20721864

(2)研究分担者

遠山 竜也 (TOYAMA, Tatsuya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：30315882

吉本 信保 (YOSHIMOTO, Nobuyasu)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員  
研究者番号：10551244

遠藤 友美 (ENDO, Yumi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：20566228