

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K21237

研究課題名(和文) 乳癌ホルモン療法の効果予測を目的としたツールの開発

研究課題名(英文) Predictive tool for endocrine response of breast cancer

研究代表者

指宿 睦子(Yamamoto-Ibusuki, Mutsuko)

熊本大学・医学部附属病院・寄附講座教員

研究者番号：30448526

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：ホルモン療法前の組織より、DNAの抽出を行い、遺伝子増幅パターンのチェックを行った。Ki67の減少とは軽度の逆相関関係が認められたが、有意差までには至らなかった。

治療前後90例で全血RNA解析。test setとして10症例を抽出し、腫瘍径、リンパ節転移状況、治療前後Ki67、ER発現強度を鑑み高risk症例5例、低risk症例5例と群別し、microRNAアレイに供した。miR503-5p、miR127-3p、miR135b-5p、miR126-3p、let7e-3pの上昇、miR647の低下をピックアップした。

研究成果の概要(英文)：DNA copy number aberration algorithm of pre-treatment tumor DNA showed little relationship to Ki67 decrease between pre- and post treatment.

Whole blood RNA were analyzed by 90 cases. Test set (N=10) revealed microRNAs, which were correlated with PEPI score, such as miR503-5p, miR127-3p, miR135b-5p, miR126-3p, let7e-3, and miR647. These microRNAs had been reported as factor of cancer initiation and progression.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 ホルモン療法 効果予測

1. 研究開始当初の背景

乳癌のうち**ホルモン受容体陽性を示す患者の割合は約70%**と多く、術後ホルモン療法は予後改善に繋がる標準治療として確立されている。先回(若手B課題番号:25870539)、術前ホルモン療法を6か月施行した患者群で、DNAレベル、転写レベル、およびシグナル伝達経路にて腫瘍縮小効果予測因子検索を行った中間結果では、とくに**DNAの増幅パターンによって腫瘍縮小効果を予測できる可能性**が得られた。

一方、術前内分泌療法後の予後予測因子として、Dowsettらは**術前内分泌療法開始後2週のKi-67値が予後因子**であることを示している。また、Ellisらは術前レトロゾール療法3か月後の手術検体での浸潤腫瘍径、リンパ節転移の有無、Ki-67値、ER発現量を基に予後予測スコアを作成している(PEPI)¹⁾。その他の腫瘍組織の遺伝子発現プロファイリングツール(PAM50, Mammaprint, OncotypeDX®を含む)の術前ホルモン療法に対する予後予測は未だ研究段階であり明らかになっていない。

現在、自施設で**ホルモン受容体陽性の原発性乳癌に対して2週間から8週間といった短期間の術前内分泌療法を行い、治療前後の腫瘍組織検体のKi67値の変化や短期ホルモン療法後のKi67値と予後の関係を前向きに検討する臨床試験(術前短期ホルモン療法)**: 図を行っており、現在約40名あまりの登録がある。つまり診断から手術までの待ち時間を利用してホルモン療法を行うことにより、短期間の治療による腫瘍修飾の状況が把握できる。

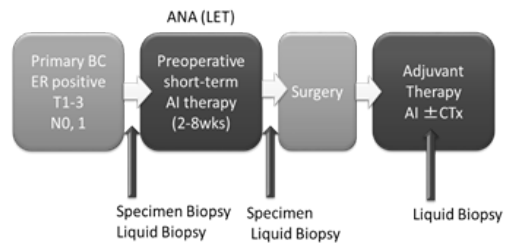
2. 研究の目的

この臨床試験では、治療前および手術施行時の癌組織検体採取および血漿・血清、および全血RNA(PAXgene®)採取がスケジュールされている。究極的には**採血検査のみで効果や予後の予測ができれば非侵襲的であり有用**であると考えており、中でも、全血RNAはRNAを安定化する溶液の入った専用の採血管(血液必要量2.5ml)にて採血され、その後の検体管理も非常に簡便なため、臨床検査としても非常に好ましい可能性がある。また、薬

物治療の効果発現には腫瘍細胞の反応性のみならず宿主の反応性も重要とされているため、**全血RNAの反映する血球群の産生するRNAやmiRNAが宿主の反応性を見ることのできる要素として有用**であると考えた。全血RNAの発現プロファイルに関する報告は未だ少ないが、miRNAプロファイルによる乳癌のスクリーニング(MYCNの発現調節に関与するmiR-202, miR-718)の報告²⁾やmRNAプロファイルによるホルモン療法抵抗性前立腺癌の予後予測(9-gene signature:CD71+赤芽球、B細胞、T細胞由来のHMBS, TMCC2, SNCA, SLC4A1, STOM, GABARAPL2, RIOK3, TERF2IP, TFDP1)に関する興味深い報告³⁾も出てきている。

この臨床試験に付随する形で、腫瘍細胞のKi67発現や術前ホルモン療法による腫瘍体積の変化率など他の詳細なパラメータとの比較を行いつつ、**より簡便で安定した術前ホルモン療法の効果および予後予測ツールを創出**する足がかりとなると考えられる。

図 1.



3. 研究の方法

*DNA増幅パターンの検索

先回(若手B課題番号:25870539)の結果から、治療前の検体において、左下図赤枠内によって規定される増幅パターンが、腫瘍縮小効果の低い群(長径30%以下の縮小をみなかった群)を分けうる可能性を示している(p=0.034)。

これらの11か所のlocusに絞って治療前、治療後におけるパターン変化の検索を行い、ホルモン療法によるゲノム変化と、腫瘍細胞のKi67発現や術前ホルモン療法による腫瘍体積の変化率など他の詳細なパラメータとの比較を行うい、短期ホルモン療法におけるDNAパターンの意義を明らかにする。

*全血 RNA に関する網羅的な解析

miRNA に関して

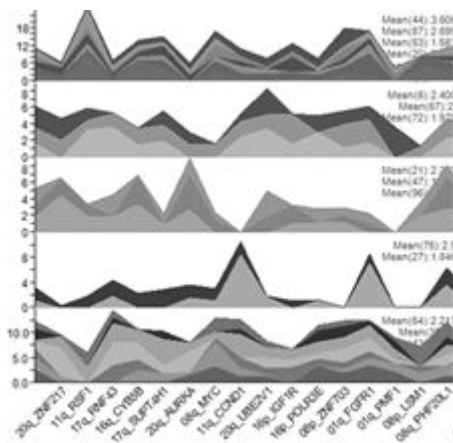
これまでに、他研究費にて 10 症例 (PEPI スコア 高値: 予測予後不良 5 例、低値: 予測予後良好 5 例) に対し、全血中の miRNA アレイプロファイルを行った。右図はがん抑制 miRNA として知られる Let7

ファミリーの発現をみている。予測予後不良群ではベースラインの発現レベル低値を認め、予測予後良好群がホルモン療法後に全体の発現が上昇した(post)のに比較して変化に乏しい傾向があることがわかっている。現在複合的な解析を施行中であるが、治療への反応性と全血中の RNA の発現には何らかの関連があることが示唆される。解析結果から抽出された miRNA の発現を、登録された全症例で検索する。

4. 研究成果

術前ホルモン療法を施行された閉経後乳癌患者 100 例を蓄積した。

ホルモン療法前の組織より、DNA の抽出を行い、遺伝子増幅パターンのチェックを行った。Ki67 の減少とは軽度の逆相関関係が認められたが、有意差までには至らなかった。



閉経後乳癌患者 96 名を登録した。治療薬はアナストロゾール 90 症例、レトロゾール 6 症例であり、治療前後の血液採取が可能であった症例は 90 例であった。まず 49 症例 98 検体より total RNA を採取した。総計 1000ng の十分な RNA 収量を得た症例は 88 検体 (89.8%) であった。test set として 10 症例を抽出し、

PEPI スコアに習い腫瘍径、リンパ節転移状況、治療前後 Ki67、ER 発現強度を鑑み高 risk 症例 5 例、低 risk 症例 5 例と群別し、治療前後の全血 RNA を microRNA アレイに供した。治療後に発現変化の大きかった miRNA と各 risk との相関を解析し、miR503-5p、miR127-3p、miR135b-5p、miR126-3p、let7e-3p の上昇、miR647 の低下をピックアップした。各 miR は PI3K 経路への関連、乳腺腺房細胞でのプロゲステロンレセプター発現への関与、アポトーシス誘導や発癌リスクへの関与などの報告があった。2017 年 5 月 31 日現在、validation study を行っている最中である。

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 1 件)

指宿睦子ら 第 25 回日本乳癌学会学術総会
内分泌療法効果予測と全血 miRNA 福岡国際会議場 2017 年 7 月 13 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

指宿睦子 (Yamamoto-Ibusuki Mutsuko)
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：30448526

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：