

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16509

研究課題名(和文) Wnt5a/ALCAM陽性乳癌に対する複合抗体療法を中心とした新規治療の開発

研究課題名(英文) Novel treatment centered on combined antibody therapy for Wnt5a / ALCAM positive breast cancer

研究代表者

網岡 愛 (Amioka, Ai)

広島大学・病院(医)・医科診療医

研究者番号：90727207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Wnt5a陽性乳癌は陰性乳癌と比べてその予後は悪く、ER(エストロゲン受容体)陽性乳癌に属する。Wnt5aによる予後不良のメカニズムを解析するため、Wnt5aに関連するシグナル伝達経路の検討を行った。その結果、Wnt5a発現によりDrug metabolism - cytochrome P450 (CYP)の代謝発現が亢進した。CYPの代謝基質であり、ER陽性乳癌の標準治療薬でもあるパクリタキセル・タモキシフェンへの薬剤感受性は、Wnt5a発現に伴い低下した。一方、ER陽性乳癌の薬剤抵抗性に最も関与するシグナル伝達経路であるPI3KシグナルとWnt5aとの間には、有意な相関は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで我々のグループは、Wnt5a陽性乳癌は予後が悪く、ER陽性乳癌に属し、悪性度が高いことを明らかとしている。今回、Wnt5a発現が乳癌治療薬に対する感受性に变化をもたらす可能性に着目し、解析したことに意義がある。結果、Wnt5a発現によりCYP代謝の発現が亢進し、その代謝基質のパクリタキセル・タモキシフェンへの薬剤感受性が、Wnt5a発現に伴い低下したことを突き止めた。Wnt5a発現は、それ自体に対する抗体治療が有用である可能性だけでなく、ER陽性乳癌に対する薬剤の耐性のマーカーになる可能性がある。その薬剤耐性解除をターゲットにした新規薬剤開発の可能性も期待される。

研究成果の概要(英文)：Wnt5a positive breast cancer has a worse prognosis than negative breast cancer and belongs to ER (estrogen receptor) positive breast cancer. To analyze the mechanism of Wnt5a-induced poor prognosis, we investigated the signaling pathways associated with Wnt5a. As a result, Wnt5a expression enhanced the drug metabolism-cytochrome P450 (CYP) metabolic pathway. Drug sensitivity to paclitaxel tamoxifen, a metabolic substrate for CYP and a standard treatment for ER-positive breast cancer, decreased with Wnt5a expression. The PI3K signal was most involved in the malignancy of ER-positive breast cancer, but there was no significant correlation between the signal and Wnt5a.

研究分野：乳癌外科

キーワード：Wnt5a ホルモン陽性乳癌 CYP 薬剤感受性 タモキシフェン パクリタキセル パスウェイ解析 PI3K-AKT-mTOR経路

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

(1) Wnt5a は、Wnt シグナル伝達経路の一つである  $\beta$ -カテニン非依存性経路の代表的なリガンドであり、胃癌、前立腺癌、肺癌などで予後、悪性度に関連していることが報告されている。我々は、病理検体を用いた免疫組織化学染色において Wnt5a 陽性乳癌は悪性度が高く、予後が悪いことを明らかにしている。

(2) 乳癌細胞株を用いた DNA マイクロアレイにより新規 Wnt5a 関連因子として ALCAM を同定した。Wnt5a 陽性乳癌では約 70%の症例に ALCAM が共発現しており、本研究では Wnt5a/ALCAM 陽性乳癌に対する複合抗体療法を中心とした新規治療の開発を目的としている。

(3) Wnt5a の属する ER 陽性乳癌の悪性度に関連するシグナルとして、PI3K-AKT-mTOR シグナルが最も頻度が高く、Wnt5a との関連を示唆している報告もある。

## 2. 研究の目的

Wnt5a 陽性乳癌は Wnt5a 陰性乳癌と比べて、その予後 (RFS) が悪い。また Wnt5a 陽性乳癌は、ホルモン療法耐性が問題となる ER 陽性乳癌に属している。Wnt5a による予後不良のメカニズムを解析するため、乳癌治療のキードラックに対する薬剤感受性試験、Wnt5a に関連するシグナル伝達経路の検討を行った。

## 3. 研究の方法

ER 陽性乳癌において Wnt5a 発現と予後との関連を、追跡期間を延長して検証した。Wnt5a 陽性乳癌の再発メカニズムに関連しているシグナルを見つけるため、Wnt5a 強制発現細胞株を樹立し、マイクロアレイのパスウェイ解析を行った。Wnt5a 陽性細胞株と陰性株との比較で、ER 陽性乳癌の標準治療薬であるタモキシフェン、パクリタキセル、エピルピシン (以下 TAM、PTX、EPI) に対し薬剤感受性試験を行った。Wnt5a のタンパク発現量・mRNA 発現量と PI3K-AKT-mTOR 経路の関連を検索した。

## 4. 研究成果

(1) ER 陽性乳癌において Wnt5a 発現と予後との関連を調べたが、Wnt5a 陽性乳癌の予後は有意に悪かった [再発率 Wnt5a 陰性: 98.6% (0.960-1.000)、Wnt5a 陽性 91.9% (0.851-0.987)、 $P=0.047$ ]。再発した 6 症例の受けた薬物治療としては、5 例中 3 例に化学療法が、5 例にホルモン療法が行われており、再発症例はすべて治療抵抗性であった。

(2) パスウェイ解析の結果、Wnt5a 強制発現細胞株では Drug metabolism - cytochrome P450 (以下 CYP) のパスウェイのみが有意に発現亢進していた ( $P=0.0440$ )。

Fig1. Relationship between relapse-free survival and Wnt5a expression in 151 ER-positive breast cancer patients.

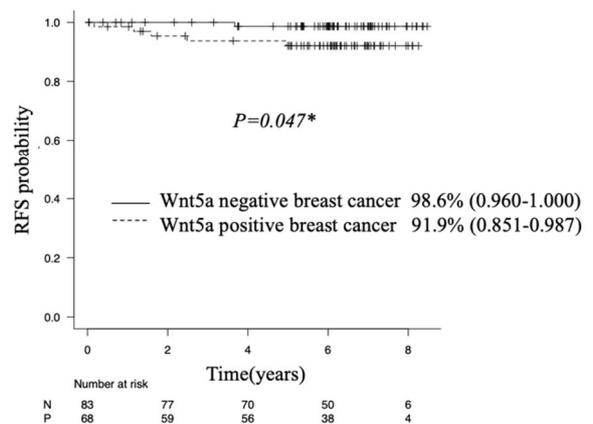


Table 1. Selected categories significantly over-represented in Wnt5a positive breast cancer.

### A. Up-regulated genes

Gene Category	Up-regulated genes		
	Number of genes	%	P-value
<b>KEGG PATHWAY</b> Drug metabolism - cytochrome P450	3	4.2	0.0440
Chemical carcinogenesis	3	4.2	0.0590

(3)薬剤感受性試験では、CYPの代謝基質であるTAM,PTXへの薬剤感受性が、Wnt5a陽性乳癌細胞株の方で有意に低いことが示された。

(4) Wnt5a陽性乳癌が属するER陽性乳癌の、予後不良に関与する最も頻度の高いシグナル経路は、PI3Kシグナルである。さらに、Wnt5a強制発現細胞株で減弱したパスウェイの中に、Jak-STAT-signaling pathwayが含まれていた(Table2B)。我々は、Wnt5a発現と、Jackの下流でもあるPIK3-AKT-mTORシグナルとの間に何らかの関連がある、という仮説を立てて検討した。Western BlotをWnt5a陽性細胞株と陰性細胞株に対して行い、Wnt5aの発現によりリン酸化Aktの発現量が変化するかをWBにて確認したが、その量に変化は見られなかった。

一方、PI3Kシグナルの活性化によりWnt5aの発現が変化するかを検討した。PIK3CAの遺伝子変異は、PIK3-AKT-mTOR経路を活性化させる。そこで、ER陽性乳癌40症例に対してPIK3CAの変異を調べたところ、19例にその変異を認めた(Table4)。次にPIK3CAの変異の有無とWnt5aタンパク発現量・mRNA量との相関を調べたが、有意な差は認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 網岡 愛
2. 発表標題 Wnt5a乳癌とPIK3CA遺伝子変異がもたらす 予後との相関
3. 学会等名 27回 日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	角舎 学行  (Kadoya Takayuki)		
研究協力者	岡田 守人  (Okada Morihito)		