

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16426

研究課題名（和文）血中エクソソーム解析による乳癌骨転移バイオマーカーの開発

研究課題名（英文）Development of a biomarker for bone metastasis of breast cancer by serum exosome analysis

研究代表者

宮原 かな（MIYAHARA, KANA）

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：90532391

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：Luminal 乳癌患者において、術後無再発患者：10例、骨転移単独乳癌患者：11例、骨以外の遠隔転移患者：11例の3群を本試験に登録した。血中エクソソーム内のマイクロRNAを抽出し、次世代シーケンサー（NGS）を用いて、マイクロRNAの発現を網羅的に解析し、群間比較した。全マイクロRNA発現による階層的クラスタリング解析をおこなったところ、同群の検体において類似度が近く群間差が認められた。続いて、各miRNAの発現を群間で比較し、骨転移で有意な発現を示すmiRNAが存在するかどうかを調べたところ、骨単独転移群で有意な発現を示す10種類のマイクロRNAが同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌で最も頻度の高い遠隔転移である骨転移は、疼痛、骨折など様々な骨関連事象を引き起こし、QOLを著しく低下させる。骨転移に伴う、生命予後の増悪およびQOLの低下を解決するためには、早期に骨転移を発見することや予防することが臨床上重要である。そのためには、乳癌骨転移のバイオマーカーを開発することが不可欠であると考え、本研究では乳癌骨転移のバイオマーカーの開発を目指した。本研究のように血液検査で骨転移のリスクまたは早期発見が可能になれば、非常に低侵襲な検査であり、なおかつ、予防もしくは早期治療の介入が可能となり臨床的メリットは極めて大きい。

研究成果の概要（英文）：Three cohorts of patients with luminal breast cancer were enrolled in the study: (1) postoperative recurrence-free patients (10 cases), (2) patients with breast cancer with bone metastasis alone (11 cases), and (3) patients with distant metastasis other than bone (11 cases). MicroRNAs in serum exosomes were extracted, and microRNA expression was comprehensively analyzed using a next-generation sequencer (NGS) and compared between cohorts. Hierarchical clustering analysis of total microRNA expression showed that the samples in the same cohort were similar and there were differences between cohorts. Next, the expression of each miRNA was compared between cohorts to determine whether any miRNAs were significantly expressed in bone metastases, and 10 microRNAs were identified that were significantly expressed in the bone alone metastasis cohort.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 骨転移 エクソソーム バイオマーカー マイクロRNA

1. 研究開始当初の背景

乳癌は、新規治療薬により予後が改善しつつある一方、一度転移再発すると治癒を目指すことは困難である。骨転移は乳癌の遠隔転移部位として最も頻度が高く、乳癌の中でもホルモン陽性乳癌 (Luminal 乳癌) において骨転移を高率に発症し、初期治療から 5 年以上経過した後に再発する、いわゆる晩期再発を来すことも多い。骨転移は疼痛、骨折など様々な骨関連事象を引き起こし、QOL を著しく低下させる。

一方、エクソソームは核酸やタンパクなどを内包した細胞外小胞顆粒であり、受け手となる細胞で機能することで細胞間コミュニケーションとしての役割を担っている。癌細胞において、浸潤、増殖、転移、薬物抵抗性などに、このエクソソームを巧みに利用しているといわれており、近年、がん細胞由来エクソソームががんの早期発見や転移予測、治療効果、治療後の予後管理などのバイオマーカーとなりうる事が期待されている。

2. 研究の目的

乳癌骨転移に伴う、“生命予後の増悪”および“QOL の低下”を解決するためには、早期に骨転移を発見し治療を導入することや予防することが臨床で極めて重要であるが、そのためには、乳癌骨転移のバイオマーカーを開発することが不可欠である。しかしながら現時点でそのようなバイオマーカーは存在しない。

本研究では、乳癌骨転移患者におけるエクソソーム中マイクロ RNA の発現を網羅的に解析することで、乳癌骨転移の新規バイオマーカーの開発を目指した。

3. 研究の方法

東京医科大学病院乳腺科または東京医科大学八王子医療センター乳腺科に通院中の Luminal 乳癌患者に対し、ステップ 1 として、術後無再発患者、骨転移単独乳癌患者の 2 群、ステップ 2 として、術後無再発患者、骨転移単独乳癌患者、骨以外の遠隔転移患者の 3 群を本試験に登録した。

通常臨床で行われている採血の際に本試験用に 7ml 追加で採血を行い、血清を単離し、血清中のエクソソームを超遠心 (210000 × g 32min × 2 回) によるペレットダウン法を用いて回収した。エクソソーム内のマイクロ RNA を抽出し、次世代シーケンサー (NGS) を用いて、マイクロ RNA の発現を群間比較した。登録症例は、採血前 6 か月以内に、全身の転移状態を画像評価し、術後無再発群に関しては、根治的手術が施されてから 5 年以上が経過しており、再発を認めない患者とした。

4. 研究成果

【症例】

ステップ 1 : 2019 年 12 月 23 日 ~ 2020 年 11 月 5 日に、無再発群 11 例、骨単独転移群 14 例の全 25 例が登録された。ステップ 2 : 2020 年 12 月 18 日 ~ 2021 年 12 月 13 日に、無再発群 10 例、骨単独転移群 11 例、骨以外遠隔転移患者 11 例の全 32 例の患者が登録された。

【解析結果】

NGS によるマイクロ RNA の網羅的発現解析をおこなった後、階層的クラスタリング解析により、群間で全マイクロ RNA 発現の類似度に差が認められるかどうかを解析したところ、ステップ 1、2 のいずれの検体においても、同じ群の検体において類似度が近く、群間差が認められた。

続いて、ステップ 2 において各マイクロ RNA の発現を 3 群間で比較し、骨転移で有意な発現 (群間差 2 倍以上かつ $P < 0.05$) を示すマイクロ RNA が存在するかどうかを調べた結果、骨単独転移群で有意な発現を示す 10 種類のマイクロ RNA が同定された。

【今後おこなう予定の研究】

今回、階層的クラスタリング解析により群ごとに類似度が近く、群間差が認められる傾向が得られたが、今後、複数のマイクロ RNA の組み合わせにより、骨転移を予測できる判別式の構築を目指したい。また、NGS と比較し、より簡便かつ安価な検査法であるリアルタイム PCR において、今回同定された 10 種類の骨特異的マーカー候補の再現性が得られるかどうか新規検体を用いて検証する予定である。

【骨転移バイオマーカーの将来性】

現在、骨転移の予防治療として、ビスフォスフォネート製剤の予防投与の意義が検討されている。EBCTCGのメタアナリシス¹⁾では、閉経後女性におけるビスフォスフォネート製剤の予防投与が全再発や骨転移再発、乳がん死亡率を優位に改善させることが示され、いくつかのガイドラインでも推奨されている。しかしながら、ビスフォスフォネート製剤の副作用として顎骨壊死のリスクも高まることから、骨転移ハイリスク症例に対し、選択的に予防治療をおこなう事が有益であると考えられる。ただし、臨床試験によって患者背景や試験結果にばらつきがあり、現時点ではどのような患者に予防投与を行うべきか選択が難しい。

本研究により骨転移マーカーが同定された際には、バイオマーカーにより骨転移ハイリスク群を対象を絞り、選択的に予防治療をおこなう事が出来ると考えている。

【引用文献】

- 1) Lancet. 2015 Oct 3;386(10001):1353-1361.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮原か奈、浅田暁子、吉岡祐亮、落谷孝広、石川孝
2. 発表標題 血中エクソソーム解析による乳癌骨転移バイオマーカーの同定
3. 学会等名 第41回日本分子腫瘍マーカー研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮原か奈、六車雅子、浅田暁子、吉岡祐亮、落谷孝広、石川孝
2. 発表標題 血中エクソソーム解析による乳癌骨転移バイオマーカーの同
3. 学会等名 第30回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------