

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17559

研究課題名（和文）アポトーシス関連分子を標的としたホルモン療法抵抗性乳癌に対する革新的治療法の開発

研究課題名（英文）A research of innovative therapies for hormone treatment-resistance Breast Cancer by targeting apoptosis-related molecules

研究代表者

加藤 明子（Kato, Akiko）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：70847459

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）：本研究は、BAG2 遺伝子発現を抑制することにより、乳がんのホルモン治療への感受性が回復できないかと考え計画した。予備実験では、BAG2 遺伝子高発現の患者は予後不良であり、乳がんにおける独立した予後不良因子であることが示された。さらに、ER 陽性乳がんにおいても、BAG2 遺伝子高発現の患者は予後不良であった。

上記の結果を踏まえて、症例数を増やし観察期間を延長したところ、BAG2 遺伝子発現と予後に有意差を認めず、ER 陽性症例においても同様の結果であった。また、BAG2 遺伝子発現は、カテプシンB 遺伝子発現やカスパーゼ3 遺伝子発現と仮説に一致するような相関関係を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳がん組織における BAG2 遺伝子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。BAG2 遺伝子発現と腫瘍の悪性度においては関連を認めたものの、BAG2 発現が予後を予測することは示されなかった。さらに、カテプシンB およびカスパーゼ3 遺伝子発現と BAG2 遺伝子発現との相関関係について検討したが、いずれも仮説に反する結果であった。以上の結果から、BAG2 遺伝子発現を標的とする治療法を開発するという目的を達することはできなかった。

研究成果の概要（英文）：We investigated the association between BAG2 gene expression and prognosis of breast cancer patients in our hospital. Preliminary experiments showed that patients with high BAG2 gene expression had a poor prognosis and BAG2 gene expression was an independent poor prognostic factor in breast cancer. Furthermore, high BAG2 gene expression also showed a poor prognosis in ER-positive breast cancer patients who were treated with hormone therapy. Based on these results, we investigated this research with the increased number of patients and the prolonged observation period. However, no significant association was found between BAG2 gene expression and prognosis, and the same was shown for ER-positive patients. In addition, BAG2 gene expression did not show correlation with cathepsin B gene expression and caspase 3 gene expression.

研究分野：Breast cancer

キーワード：乳癌 BAG2

1. 研究開始当初の背景

乳がんは日本人女性が最も多く罹患する悪性疾患であり、死亡数も増加の一途をたどっている。乳がんの約 80% においてエストロゲン受容体 (ER) の発現を認め、これらは「ER 陽性乳がん」と呼ばれる。ER 陽性乳がんは、エストロゲンに依存して増殖するため、エストロゲンの増殖を阻害するホルモン療法が有効であることが多い。しかしながら、約 30% の ER 陽性乳がんは、ホルモン療法に抵抗性を示し、予後不良である。このホルモン療法抵抗性を示す ER 陽性乳がんの治療成績向上が喫緊の課題となっている。

BAG2 (Bcl-2-associated athanogene 2) 遺伝子の発現亢進が、乳がんの転移を促進していることが報告された。その作用メカニズムとして以下の二つの作用が考えられている。BAG2 遺伝子の発現が亢進すると、プロ・カテプシン B という遠隔転移を促進する因子の分解が妨げられ、その結果、乳がんの転移を促進する (Yang KM, et al. Cell Reports 2017)。逆に、BAG2 遺伝子の発現が低下すると、プロ・カテプシン B は、その一部が切断されて、カテプシン B というタンパク分解酵素となる。カテプシン B はカスパーゼ 3 を誘導し、ホルモン療法薬のタモキシフェンの作用で、乳がん細胞のアポトーシスを誘導し、「抗腫瘍的」に作用する (Mandlkar S, et al. Cancer Research 2000)。したがって、BAG2 遺伝子発現が亢進すると、カテプシン B を介したカスパーゼ 3 の誘導が低下し、タモキシフェンによる乳がん細胞への抗腫瘍効果が減弱して、ホルモン療法への抵抗性を獲得するのではないかと考えた。

私たちは、当施設の乳がん症例を用いて、BAG2 遺伝子発現と予後との検討を行った。その結果、BAG2 遺伝子高発現の患者は予後不良であり、乳がんにおける独立した予後不良因子であることが示された。さらに、術後ホルモン療法を行った ER 陽性乳がんにおいても、BAG2 遺伝子高発現の患者は予後不良であることを見出した。一方、ER 陰性乳がんでは、BAG2 遺伝子発現と予後に相関は認めなかった。

これら一連の研究成果および仮説を踏まえて、ホルモン療法抵抗性に関与する BAG2 遺伝子発現を抑制することにより、ホルモン療法に対する抵抗性を克服することができれば、乳がんの約 80% を占める ER 陽性乳がんの治療成績を向上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

乳がん全体の約 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、ホルモン療法抵抗性に関与する因子として、BAG2 遺伝子が関与していることを見出した。本研究では、BAG2 遺伝子発現を抑制することにより、乳がんのホルモン療法への感受性が回復できないかと考え、BAG2 遺伝子を標的とする新たな治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象：1992～2008 に当施設にて手術を施行した乳がん 614 例。

(2) TaqMan real-time PCR システムを用いて、BAG2 遺伝子発現を定量的に測定した。

(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) BAG2 遺伝子発現と、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。発現量の cut-off 値は中央値で高発現群と低発現群に分類した。予後との関連は Kaplan-Meier 法にて検討した。

(5) BAG2 遺伝子発現とカテプシン B およびカスパーゼ 3 遺伝子発現との相関関係を Spearman の順位相関係数を用いてそれぞれ検討した。

4. 研究成果

() 全症例 (n=614) を対象とした解析における、BAG2 発現と臨床病理学的因子との関連を Table 1 に示す。BAG2 高発現症例は、グレードが低い症例が多い結果であった。BAG2 遺伝子発現と無再発生存期間 (disease-free survival : DFS) および全生存期間 (overall survival : OS) 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

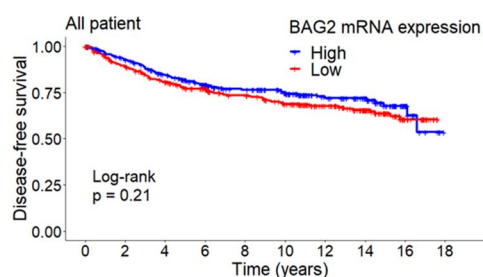


Table 1. BAG2 発現と臨床病理学的因子との関連

	All patients n (%)	BAG2 mRNA expression		P value
		High n(%)	Low n(%)	
Age (median, range)	55 (25-94)	307 (50)	307 (50)	0.4
Menopausal status	614			0.48
Pre	257 (42)	132 (51)	125 (49)	
Post	350 (57)	173 (49)	177 (51)	
Unknown/male	7 (1)	2 (29)	5 (71)	
Tumor size	614			0.004
≤2cm	233 (38)	134 (58)	99 (42)	
>2cm	380 (62)	172 (45)	208 (55)	
Unknown	1 (0.2)	1 (100)	0 (0)	
Nodal status	614			0.64
Negative	336 (55)	164 (49)	172 (51)	
Positive	253 (41)	132 (52)	121 (48)	
Unknown	25 (4)	11 (44)	14 (56)	
Grade	614			<0.0001
1	165 (27)	103 (62)	62 (38)	
2	179 (29)	95 (53)	84 (47)	
3	255 (42)	95 (37)	160 (63)	
Unknown	15 (2)	14 (93)	1 (7)	
Histology	614			0.015
IDC	544 (89)	271 (49)	273 (51)	
ILC	28 (4)	20 (71)	8 (29)	
Others	41 (7)	15 (37)	26 (63)	
Unknown	1 (0.2)	1 (100)	0 (0)	
ER status	614			0.12
Positive	480 (78)	248 (51)	232 (49)	
Negative	133 (22)	58 (44)	75 (56)	
Unknown	1 (0.2)	1 (100)	0 (0)	
PgR status	614			0.02
Positive	428 (70)	227 (53)	201 (47)	
Negative	185 (30)	79 (43)	106 (57)	
Unknown	1 (0.2)	1 (100)	0 (0)	
HER2 status	614			0.28
Positive	83 (14)	35 (42)	48 (58)	
Negative	508 (82)	261 (51)	247 (49)	
Unknown	23 (4)	11 (48)	12 (52)	
Adjuvant therapy	614			0.043
ET alone	250 (40)	128 (51)	122 (49)	
CT alone	94 (15)	37 (39)	57 (61)	
ET+CT	216 (35)	118 (55)	98 (45)	
None	47 (8)	23 (49)	24 (51)	
Unknown	7 (1)	1 (100)	6 (0)	
Endocrine therapy	614			0.014
Yes	466 (76)	246 (53)	220 (47)	
No	140 (23)	60 (43)	80 (57)	
Unknown	8 (1)	1 (12)	7 (88)	

()次に、ER 陽性症例 (n=422) における BAG2 発現と予後との関連について検討した (Figure 3, 4)。しかしながら、BAG2 発現レベルと DFS および OS との間に相関は認めなかった。

()さらに、カテプシン B およびカスパーゼ 3 遺伝子発現と BAG2 遺伝子発現との相関関係について検討した。仮説では、BAG2 遺伝子発現はカテプシン B のそれと逆相関すると考えられたが、Figure 5 に示すとおり、弱い正の相関関係にあった。また、カスパーゼ 3 遺伝子発現も BAG2 発現と正の相関関係にあり、仮説に反する結果であった (Figure 6)。

Figure 5. BAG2 とカテプシン B 遺伝子発現における相関関係

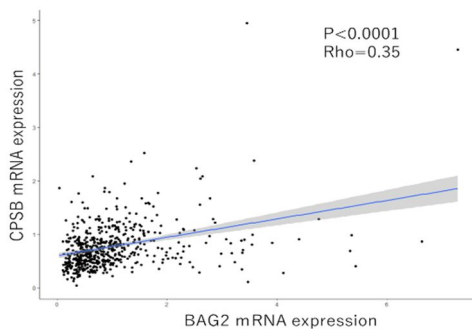
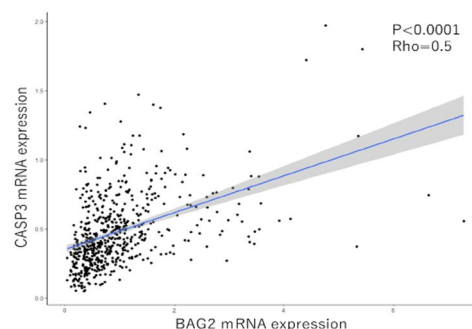


Figure 6. BAG2 とカスパーゼ 3 遺伝子発現における相関関係



()カテプシン B 遺伝子発現およびカスパーゼ 3 遺伝子発現が、予後予測因子となるかを検討するために、Kaplan-Meier 法を用いてそれぞれ追加解析をおこなった。まず、カテプシン B 遺伝子発現について検討した。全症例 (n=568) において DFS・OS とともにその発現量によって予後に差を認めなかった (Figure 7, 8)。また、ER 陽性症例 (n=390) においても同様の結果であった (Figure 9, 10)。

次に、カスパーゼ 3 遺伝子発現について検討した。全症例 (n=611) において DFS・OS とともにその発現量

Figure 2. 全症例における OS

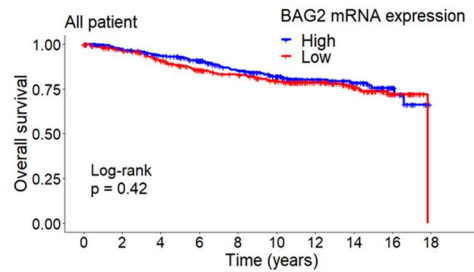


Figure 3. ER 陽性症例における DFS

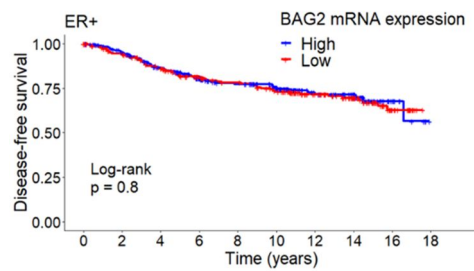


Figure 4. ER 陽性症例における OS

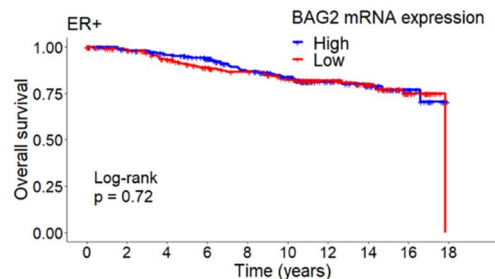


Figure 7. 全症例における DFS

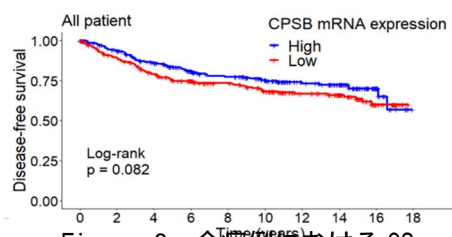


Figure 8. 全症例における OS

によって予後に差を認めなかった (Figure 11, 12)。ER 陽性症例 (n=420) においても同様の結果であった (Figure 13, 14)。

最後に、カテプシン B とカスパーゼ 3 遺伝子発現に相関があるかを検討し、仮説と一致する結果が得られた (Figure 15)。

Figure 9. ER 陽性症例における DFS

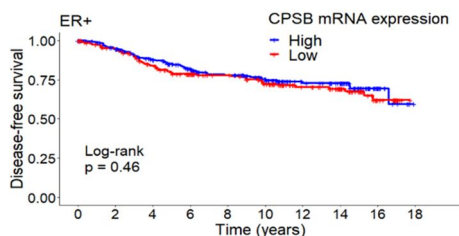


Figure 11. 全症例における DFS

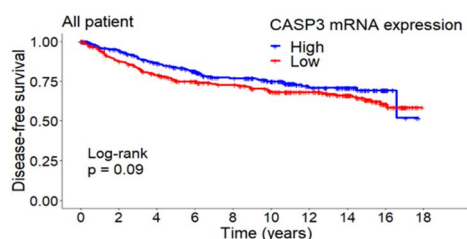


Figure 13. ER 陽性症例における DFS

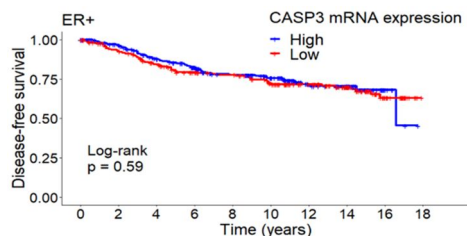
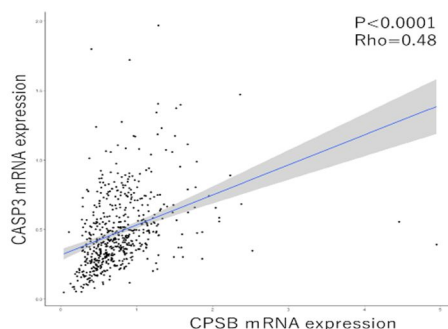


Figure 15. カテプシン B とカスパーゼ 3 遺伝子発現における相関関係



結語：乳がん組織における BAG2 遺伝子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。BAG2 遺伝子発現と腫瘍の悪性度において関連を認めたものの、BAG2 発現が予後を予測することは示されなかった。以上の結果から、BAG2 遺伝子発現を標的する治療法を開発するという目的を達することはできなかった。

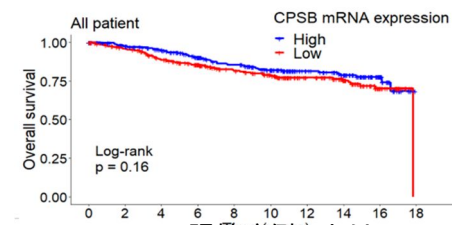


Figure 10. ER 陽性症例における OS

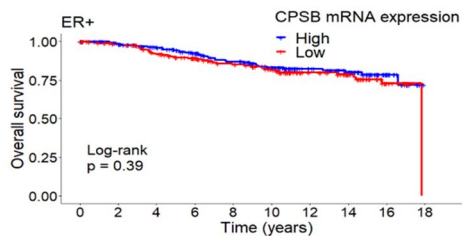


Figure 12. 全症例における OS

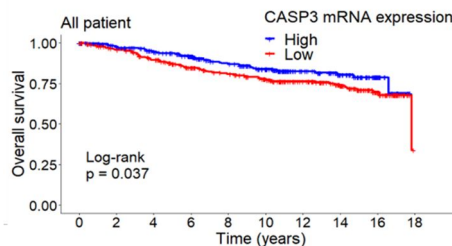
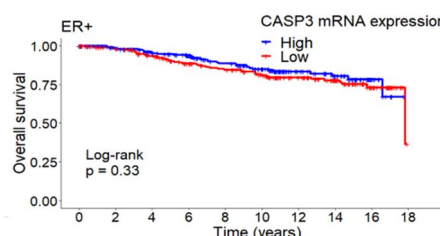


Figure 14. ER 陽性症例における OS



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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

	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	遠山 竜也 (TOYAMA Tatsuya) (30315882)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究協力者	近藤 直人 (KONDO Naoto) (90529166)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究協力者	遠藤 友美 (ENDO Yumi) (20566228)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師 (23903)	

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
---------	---------