

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591896

研究課題名(和文) ホルモン受容体陽性乳癌におけるホルモン感受性の分子機序の解明と個別化治療への応用

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of hormone sensitivity of hormone receptor-positive breast cancer and their application for individual treatment

研究代表者

徳永 えり子 (Tokunaga, Eriko)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50325453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：ホルモン受容体(HR)+/HER2 乳癌に対してホルモン感受性の分子機序を解明することを目的としてこの研究を行い、以下のことを明らかにした。

1) GATA-3、FOXA1、AR発現がHR陽性乳癌の良好な予後と関連すること、特にFOXA1は術後内分泌療法の効果予測因子としての意義が大きい。2) 術前ホルモン療法によりFOXA1の発現が低下し、FOXA1はホルモン療法感受性にも影響を及ぼす可能性がある。3) HR陽性Akt活性化症例では全生存期間、再発後生存期間が短く、Akt経路の活性化はホルモン抵抗性に関連している。

研究成果の概要(英文)：To explore the molecular mechanisms of hormone sensitivity is important to improve the prognosis of hormone receptor (HR)+/HER2- breast cancer.

1) The expression of GATA-3, FOXA1 and AR was associated with good prognosis. FOXA1 is considered to be a good predictive marker of adjuvant endocrine therapy. 2) FOXA1 expression is reduced by neoadjuvant endocrine therapy, especially in tumors with low PEPI scores, suggesting FOXA1 is related to hormone sensitivity. 3) The prognosis of HR+ breast cancer with activated Akt had shorter overall survival. Akt activation is related to endocrine resistance. The better understanding of the molecular mechanisms of hormone sensitivity is necessary to improve the efficacy of endocrine therapy for breast cancer.

研究分野：臨床医学

科研費の分科・細目：外科一般

キーワード：乳癌 ホルモン受容体 ホルモン療法

## 1. 研究開始当初の背景

乳癌は日本人女性において最も罹患率の高い悪性腫瘍であり、罹患数、死亡者数とも増加し続けており、死亡率低下のためには早期発見、早期治療が重要である。一方、乳癌は他の悪性腫瘍と比較して治療後の生存率は高く、乳癌サバイバーとして長い人生を歩む可能性が高い。従って抗腫瘍効果の高い治療とともに、患者の生活の質を保った治療を提供することも求められる。そのためには個々の症例に必要な最小限の最適な治療を選択することが重要である。

乳癌は多様性に富んだ疾患であり、網羅的遺伝子発現プロファイルにより Luminal A, Luminal B, HER2, Basal-like の少なくとも 4 つのサブタイプに分類されることが知られている。これらのサブタイプにより生物学的特徴や予後、治療標的や治療感受性も大きく異なることから、このサブタイプを念頭に置いた治療法選択が必要である。

ホルモン療法はホルモン受容体(HR)陽性乳癌に対して重要な治療法である。HR 陽性乳癌の中には、ホルモン療法のみで良好な予後を得られる症例もあれば、十分な化学療法を必要と考えられる症例もある。HR 陽性乳癌に対する化学療法の必要性を的確に判断するかということは重要な課題であり、そのために、HR 陽性乳癌におけるホルモン感受性に関与する分子機序を解明し、ホルモン感受性予測に有用なバイオマーカーを同定することが望まれる。

HR 陽性乳癌の予後を予測し、化学療法の必要性を判断する手段として Multi-gene assay などが導入されている。非常に有用な手法であるが、ホルモン感受性を評価するものではないこと、高コスト、保険未承認、再現性などの問題があり、日常臨床の現場で用いるには制限がある。近年、ER 陽性乳癌の ER 機能を規定する因子として、転写因子である FOXA1,GATA3 と ER のネットワークが報告され、luminal サブタイプにおけるホルモン感受性を規定する重要な因子として注目されている。また、アンドロゲン受容体 (AR)発現が HR 陽性乳癌の予後因子になることが報告され、ホルモン感受性規定因子としての可能性が報告されている。さらに従来から PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化はホルモン抵抗性に関与するとされてきたが、その活性化の要因によって予後や治療感受性が異なることが明らかになりつつある。これらの

因子を総合的に解析し、ホルモン感受性規定因子を解明することは非常に重要と考える。

## 2. 研究の目的

### 1) GATA-3/FOXA1/ER ネットワークとホルモン感受性との関連

HR 陽性乳癌は現在主に ER、PR、HER2 の状況、増殖活性の指標である Ki67 発現により luminal A と luminal B に大別されている。しかし、これらの因子のみではホルモン感受性や予後を予測することは不十分である。近年、ER 陽性乳癌の ER 機能を規定する因子として、転写因子である FOXA1,GATA-3,ER のネットワークが報告され、ホルモン感受性に関連する重要な因子として注目されている (Badve, et al. *J Clin Pathol*, 2009)。日本人乳癌組織で、FOXA1,GATA-3 発現を免疫組織化学染色 (immunohistochemistry; IHC) にて解析し、臨床病理学的因子や予後との関連を解析し、ホルモン感受性との関連を明らかにする。

### 2) アンドロゲン受容体 (AR) 発現とホルモン感受性との関連

近年、AR が ER 陽性乳癌の予後因子であることが報告されている。AR と ER が共発現し、ER 活性を抑制することが一つのメカニズムと考えられている (Peters AA, et al, *Cancer Res*, 2009)。一方、基礎的研究により FOXA1 が ER や AR シグナルの中心的機能を有することが示唆されている (Lupien M, *Endocr Relat Cancer*, 2009)。乳癌組織において AR の発現を IHC にて解析し、臨床病理学的因子やホルモン感受性との関連を明らかにするとともに、FOXA1 発現との関連を解析する。

1) 乳癌におけるホルモン抵抗性に関連する PI3K/Akt/mTOR シグナル関連経路の解析  
従来 PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化がホルモン抵抗性との関連することが示され、我々も報告してきた (Tokunaga E, et al, *Eur J Cancer*, 2006, *Int J Cancer*, 2006, *Breast Cancer*, 2006, *Breast Cancer Res Treat*, 2007)。この経路に対する分子標的治療薬とホルモン療法との併用について多くの臨床試験が行われている Akt 活性化の詳細な機序を乳癌組織を用いて分子生物学的手法、免疫組織化学などにて解析し、ホルモン抵抗性との関連を明らかにする。

以上の結果からホルモン感受性規定因子を明らかにし、ホルモン感受性と化学療法の必要性を的確に評価する有用なバイオマーカーを同定する。

### 3. 研究の方法

#### 1)GATA-3/FOXA1/ER ネットワーク

GATA-3、FOXA1 の発現を IHC にて解析し、臨床病理学的因子やホルモン感受性との関連を解明する。

#### 2)AR 発現とホルモン感受性

AR 発現を IHC にて解析し、臨床病理学的因子やホルモン感受性、FOXA1 発現との関連を解明する。

#### 3)PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化とホルモン耐性

PI3K の遺伝子変異や増幅、Akt の活性化の状況を解析し、臨床病理学的因子やホルモン感受性(耐性)との関連を解明する。

### 4. 研究成果

#### 1) GATA-3, FOXA1 発現とホルモン感受性

手術で採取された原発性乳癌組織において GATA-3、FOXA1 の発現を IHC にて解析し、臨床病理学的因子やホルモン感受性との関連を解析した。GATA-3、FOXA1 の発現は ER 陽性、PR 陽性、低グレード、低 Ki67 値と有意に相関していた。GATA-3、FOXA1 高発現群は、特に HR 陽性例において有意に予後良好であり、FOXA1 は独立した予後良好因子であった。また、HR 陽性で FOXA1 高発現群では術後ホルモン療法単独群、化学療法追加群に予後の差は認められなかった。

次に、FOXA1、GATA3 発現とホルモン感受性との関連を調べるために、術前ホルモン療法を施行された症例を集積し、治療開始前、手術施行時の標本をそろえ、IHC により発現解析を行った。術前ホルモン療法により、GATA-3 発現に変化はないものの、FOXA1 では有意な発現低下が認められた。FOXA1 発現低下は術前ホルモン療法後の予後因子として考えられている PEPI score の低いもので顕著であった。術前ホルモン療法により認められたこの現象を、MCF-7 や T47D などの ER 陽性乳癌細胞株を用いて確認した。

以上より、FOXA1 は HR 陽性乳癌の予後のみでなく、ホルモン療法感受性にも影響を及ぼす重要な因子であることが示唆された。

#### 2)Androgen receptor (AR) 発現とホルモン感受性の関連

乳癌組織において AR 発現を免疫組織化学にて解析した。AR 高発現群は ER 陽性、PR

陽性と有意に相関し、核グレードや Ki67 値と逆相関を示した。サブタイプ間の比較では HR + /HER2 一群で AR 陽性率は最も高かった。AR 発現は ER 陰性群では年齢による差は認められなかったが、ER 陽性群では 51 歳以上の群で有意に高かった。AR 高発現群は低発現群と比較して、全症例及び ER 陽性群において有意に予後良好であった。また、AR 発現と予後との関連は 50 歳以下では認められず、51 歳以上の群にのみ認められた。すなわち AR は閉経後 HR 陽性乳癌における予後因子となりうることを示唆された。

#### 3)PI3K/Akt 経路の活性化はホルモン抵抗性との関連:

原発性乳癌において PIK3CA 変異、HER2 陽性、PTEN の欠失と Akt の活性化が関連していること、HR 陽性乳癌においては Akt 活性化症例で全生存期間、再発後生存期間が短いことを明らかになった。HR 陽性乳癌では通常ホルモン療法が非常に重要であり、ホルモン療法の奏効期間が全生存期間に関与することから、Akt 経路の活性化がホルモン抵抗性に関連している可能性が示された。

### 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 12 件)

- 1 Tokunaga E, Okada S, Yamashita N, Akiyoshi S, Kitao H, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. High incidence and frequency of LOH are associated with aggressive features of high-grade HER2 and triple negative breast cancers. *Breast Cancer*, 19:161-9, 2012
- 2 Hisamatsu Y, Tokunaga E, Yamashita N, Akiyoshi S, Okada S, Nakashima Y, Aishima S, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. Impact of FOXA1 expression on the prognosis of patients with hormone receptor-positive breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 19: 1145-52, 2012
- 3 Okada S, Tokunaga E, Kitao H, Akiyoshi S, Yamashita N, Saeki H, Oki E, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. Loss of Heterozygosity at BRCA1 locus is significantly associated with aggressiveness and poor prognosis in breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 19:1499-507, 2012
- 4 Yamashita N, Tokunaga E, Kitao H, Hisamatsu Y, Taketani K, Akiyoshi S, Okada S, Aishima S, Morita M, Maehara Y. Vimentin as a poor prognostic factor for triple-negative breast cancer. *J Cancer Res*

- Clin Oncol*, 139:739-46, 2013
- 5 Yotsumoto F, Tokunaga E, Oki E, Maehara Y, Yamada H, Nakajima K, Nam SO, Miyata K, Koyanagi M, Doi K, Shirasawa S, Kuroki M, Miyamoto S. Molecular hierarchy of heparin-binding EGF-like growth factor-regulated angiogenesis in triple-negative breast cancer. *Mol Cancer Res*, 11: 506-17, 2013
  - 6 Tokunaga E, Hisamatsu Y, Taketani K, Yamashita N, Akiyoshi S, Okada S, Tanaka K, Saeki H, Oki E, Aishima S, Oda Y, Morita M, Maehara Y. Differential impact of the expression of the androgen receptor by age in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Med*, 2:763-773, 2013
  - 7 徳永えり子、久松雄一、前原喜彦 Luminal タイプ乳癌における FOXA1 発現 日本臨床 乳癌 70:438-442, 2013
  - 8 Tokunaga E, Nakashima Y, Yamashita N, Hisamatsu Y, Okada S, Akiyoshi S, Aishima S, Kitao H, Morita M, Maehara Y. Overexpression of metadherin/MTDH is associated with an aggressive phenotype and a poor prognosis in invasive breast cancer. *Breast Cancer*, 21:341-9, 2014
  - 9 Kataoka A, Tokunaga E, Masuda N, Shien T, Kawabata K, Miyashita M. Clinicopathological features of young patients (<35 years of age) with breast cancer in a Japanese Breast Cancer Society supported study. *Breast Cancer*, in press
  - 10 Taketani K, Tokunaga E, Yamashita N, Tanaka K, Akiyoshi S, Okada S, Ando K, Kimura Y, Saeki H, Oki E, Morita M, Kusumoto T, Maehara Y. The early discontinuation of adjuvant hormone therapy is associated with a poor prognosis in Japanese breast cancer. *Surg Today*, in press.
  - 11 Tanaka K, Tokunaga E, Yamashita N, Taketani K, Akiyoshi S, Morita M, Maehara Y. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist plus aromatase inhibitor as second-line endocrine therapy in premenopausal women with hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *Surg Today*, in press.
  - 12 Hisamatsu Y, Tokunaga E, Yamashita N, Akiyoshi S, Okada S, Nakashima Y, Taketani K, Aishima S, Oda Y, Morita M, Maehara Y. Impact of GATA-3 and FOXA1 expression in patients with hormone receptor-positive/HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer*, in press
- 〔学会発表〕(計 13 件)
1. Tokunaga E, Hisamatsu Y, Okada S, Yamashita N, Akiyoshi S, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. FOXA1 and GATA-3: New biomarkers for ER-positive breast cancer. 第111回日本外科学会学術集会(誌上发表)
  2. Hisamatsu Y, Tokunaga E, Akiyoshi S, Okada S, Yamashita N, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. The expression of GATA-3 and FOXA1 in breast cancer: the biomarkers of hormonal sensitivity in luminal type tumors. 2011 ASCO Annual Meeting. 平成23年6月3-7日, Chicago, USA
  3. Tokunaga E, Hisamatsu Y, Akiyoshi S, Okada S, Yamashita N, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. The expression of GATA-3 and FOXA1 in breast cancer: the biomarkers of hormonal sensitivity in luminal type tumors. 第9回日本臨床腫瘍学会学術集会(平成23年7月21-23日、横浜)
  4. 徳永えり子、久松雄一、秋吉清百合、山下奈真、岡田敏子、森田勝、掛地吉弘、前原喜彦. Luminalタイプ乳癌に対する治療戦略:FOX A1, GATA-3発現の意義. 第19回日本乳癌学会(平成23年9月2-4日、仙台)
  5. 久松 雄一、徳永えり子、秋吉清百合、岡田 敏子、山下 奈真、森田 勝、掛地 吉弘、前原 喜彦. 乳癌におけるAR発現とホルモン感受性の検討. 第19回日本乳癌学会学術総会 平成23年9月2-4日 仙台
  6. Tokunaga E, Okada S, Akiyoshi S, Yamashita N, Ando N, Saeki H, Oki E, Ohga T, Kitao H, Kakeji Y, Maehara Y. Different impact of the loss of heterozygosity at *BRCA1* and *BRCA2* loci on clinicopathological features of breast cancer. 第70回 日本癌学会学術集会(2011年10月3-5日、名古屋)
  7. 徳永えり子、久松雄一、秋吉清百合、山下奈真、安藤幸滋、佐伯浩司、沖英次、大賀丈史、掛地吉弘、前原喜彦. ER陽性乳癌における androgen receptor 発現の意義. 第49回日本癌治療学会総会(2011年10月27-29日、名古屋)

8. 久松雄一、徳永えり子、秋吉清百合、岡田敏子、山下奈真、佐伯浩司、沖英次、掛地吉弘、前原喜彦．乳癌における転写因子GATA-3およびFOXA1の発現はホルモン受容体陽性乳癌のホルモン感受性予測因子となりうる．第49回日本癌治療学会総会(2011年10月27-29日、名古屋)
9. 徳永えり子、山下奈真、武谷憲二、田中仁寛、秋吉清百合、岡田敏子、安藤幸滋、木村和恵、佐伯浩司、沖英次、森田勝、楠本哲也、前原喜彦．乳癌におけるPI3K/Akt pathwayの活性化の生物学的意義とその分子機序．第113回日本外科学会学術集会(平成25年4月11-13日、福岡)
10. 徳永えり子、山下奈真、武谷憲二、田中仁寛、木村和恵、森田勝、前原喜彦．乳癌におけるPI3K/Akt pathwayの活性化の分子機序と生物学的意義．第21回日本乳癌学会学術集会(平成25年6月27-29日、浜松)
11. Tokunaga E, Yamashita N, Taketani K, Ando K, Saeki H, Oki E, Kitao H, Morita M, Maehara Y. Subtype specific chromosomal aberrations in breast cancer. 第72回日本癌学会学術集会(2013年10月3-5日、横浜)
12. 徳永えり子、山下 奈真、武谷 憲二、田中仁寛、安藤幸滋、佐伯浩司、沖 英次、森田勝、前原喜彦．乳癌におけるサブタイプと染色体異常の関連．第51回日本癌治療学会総会(2013年10月24-26日、京都)
13. Tokunaga E, Yamashita N, Tanaka K, Saeki H, Oki E, Kitao H, Morita M, Maehara Y. Subtype specific chromosomal aberrations in breast cancer. San Antonio Breast Cancer Symposium 2013 (2013年12月10-14日、サンアントニオ)

〔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：  
 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

徳永 えり子 (TOKUNAGA ERIKO)  
 九州大学・医学研究院・准教授  
 研究者番号：50325453

(2) 研究分担者

北尾 洋之 (KITAO HIROYUKI)  
 九州大学・医学研究院・准教授  
 研究者番号：30368617

秋吉 清百合 (AKIYOSHI SAYURI)  
 九州がんセンター臨床研究センター・  
 その他部局等・その他  
 研究者番号：50567360

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：