

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 24 日現在

機関番号：	14301
研究種目：	挑戦的萌芽研究
研究期間：	2011 ～ 2012
課題番号：	23659624
研究課題名（和文）	ER β 陽性トリプルネガティブ乳癌に対するホルモン療法の探索研究
研究課題名（英文）	Endocrine therapy for Estrogen receptor β -positive Triple-negative breast cancer
研究代表者	
	佐治 重衡 (SAJI SHIGEHIRA)
	京都大学・医学（系）研究科（研究院）・准教授
	研究者番号： 80446567

研究成果の概要（和文）：Estrogen Receptor (ER) α 陰性、Progesterone Receptor (PR)陰性、Her2陰性乳癌はTriple-negative乳癌(TNBC)といわれ、予後不良の癌として知られている。第2のER、ER β 陽性TNBCに対するホルモン療法の可能性を検証した。ER β 陰性TNBCにタモキシフェン療法を実施した場合は逆に予後不良になる可能性、またER β のリガンドであるアンドロゲン代謝物の血中濃度とARの発現が、本治療法の実現のために重要であることが示された。

研究成果の概要（英文）：Estrogen Receptor (ER) α -negative, Progesterone Receptor (PR)-negative and Her2-negative breast cancer has been known as Triple-negative breast cancer (TNBC), and has poor prognosis. Subset of TNBC express second ER named ER β , and we reported that these patients might have benefit from tamoxifen treatment. Here we showed that ER β -negative TNBC might have unfavorable effect from tamoxifen, and androgen receptor expression and serum concentration of androgen metabolite seemed to have important role in the ER β -positive TNBC. Further studies including these factors would be warranted for the future clinical trial of this strategy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード： エストロゲン受容体、乳がん、ホルモン療法、タモキシフェン

1. 研究開始当初の背景

Estrogen Receptor (ER) α 陰性、Progesterone Receptor (PR)陰性、Her2陰性乳癌は一般にTriple-negative乳癌(TNBC)といわれ、既存の分子標的治療薬の対象とならない予後不良の癌として知られている。これまでの我々の基礎・臨床研究から、TN乳癌の約60%は第2のERであるER β 発現が陽性であり、我々の研究グループおよびスウェーデンの別グループの独立した後ろ向き研究から、ER β 陽性のTNBCに術後補助療法としてタモキシフェンが投与された場合に、その予

後が改善する可能性が示されている (Honma N, J Clin Oncol 2008, Gruvberger-Saal SK, Clin Can Res 2007)。これまでTNBCでのタモキシフェン療法の治療効果は確認されていないため、ER β がその標的因子として作用している可能性がある。本研究では免疫組織染色検査でER β 陽性を確認したTNBC患者に対し、短期間のタモキシフェン内服療法臨床試験を実施し、治療前から治療後のバイオマーカー変化をもとにこの仮説を検証することを旨とする研究として立案された。

2. 研究の目的

Estrogen Receptor β 陽性の Triple-negative 乳癌に対するホルモン療法の実施可能性を検証するために、前臨床研究、背景研究を行う。これにより、最終的には探索的臨床試験の実施を目標とする。

3. 研究の方法

(1) 開始時予定された研究の方法：診断時の針生検にて ER 陰性 PR 陰性 Her2 陰性と診断された閉経後原発乳癌患者に対して本研究の同意説明を実施し、同意が得られた場合に針生検標本の ER β 免疫染色を実施する。陽性の場合には、手術待機期間を利用してタモキシフェン 20mg/日を手術前日まで少なくとも7日間内服する。

針生検標本と手術時標本の Ki-67index および p27, Cyclin D1 などのホルモン反応性マーカーを免疫染色で評価し低下率や変化を評価する。登録は計 16 例を予定する。

(2) 追加・修正された研究方法：ER β 発現と自然予後との関係を検証するため、タモキシフェン補助療法が全く実施されていない原発乳癌患者群における、ER β 発現と予後との関係を免疫組織学的染色により検証する。また ER β と同じリガンドを共有する Androgen receptor (AR) の発現と ER β との相関、予後との関係を検証する。

閉経後乳癌患者において ER β を介したタモキシフェンの薬剤効果に影響を与えると考えられる、血液中 estradiol, estrone, 各種アンドロゲン濃度を高感度な LC-MS/MS 法を用いて測定する。

4. 研究成果

(1) ER β 陽性 TNBC 患者に対する探索的薬剤介入臨床試験の実施にあたり、プロトコール作成と臨床試験実施施設医師、関係各科との事前協議を行った。通常は投与の適応外とされる患者対象群への薬剤介入を伴う臨床試験であり、被験者に不利益がないことを可能な限り証明する必要があるとの指摘があった。このため、追加検証するべき点として TNBC において ER β の発現評価が擬陽性であった場合（すなわち本来は陰性である腫瘍を検査誤差により陽性と評価してしまった場合）でも、タモキシフェンを投与することで患者に不利益をもたらす可能性が低いことを確認するために、新たな患者群で後ろ向き研究を実施した。タモキシフェン投与の有無による予後への影響を検証するために、すでに報告済みのタモキシフェン投与群における ER β 発現の意義に加えて、タモキシフェンを補助療法として使用していない患者 666 例に関して、ER β 発現の意義を検証した。この

なかの ER α 陰性、PR 陰性患者群を対象に ER β の発現とタモキシフェン療法の影響を検討したところ、ER β 陰性でタモキシフェンを投与した患者群が、タモキシフェン未投与群に比較し生存期間の解析において予後不良となる可能性が示された（論文未発表）。これは本来 ER β 陰性である症例を陽性と誤判定した場合、タモキシフェン投与が患者に明確な不利益をもたらす可能性を示唆しており、患者サンプルにおける ER β 発現評価法の quality control が重要であることを示した。

(2) また、介入タモキシフェン治療による不利益の可能性を最小化するために臨床試験実施前に、本研究の作用仮説となる rationale を前臨床研究段階で明確にすることが急務となった。

この一つとして、ER β を標的としたタモキシフェンの治療効果に影響をあたえる因子として、ER β に結合親和性の高いアンドロゲン代謝物の血液中濃度の評価を実施した。治療前の閉経後乳がん 60 例の血清サンプルを使用し、LC MS/MS 法により測定した。閉経後乳癌患者における血清中 3 β -Adiol 濃度は平均 3.49 pg/ml (95%CI: 2.69-4.53) であり、E2 とほぼ同濃度の存在が確認された (Table 1. Saji S, ESMO 2012 報告)。

(3) さらに、アンドロゲンの標的である AR と ER β の発現相関を患者標本で確認したところ、これらは有意に共発現していることが確認された (Table 2. Honma N, Breast Cancer 2012)。

Table 1

閉経後乳癌患者における微量ステロイド濃度測定結果 mean (95%CI), n=60

E1	12.86 pg/mL (11.30-14.63)
E2	2.29 pg/mL (1.85-2.83)
E1S	198.87 pg/mL (159.87-247.37)
DHEA	1.42 ng/mL (1.20-1.68)
Androstenedione	0.31 ng/mL (0.27-0.35)
3 β -Adiol	3.49 pg/ml (2.69-4.53)

Table 2

免疫組織学染色による ER β 発現と AR 発現の相関

ER- β status	AR+(%)	AR-(%)
- (27)	6 (22)	21 (78)
+ (376)	206 (55)	170 (45)
P-value	0.0011	

以上のように2年間の本研究から、ER β 陽性 TNBC 患者に対して、タモキシフェンによる治療介入研究を実施するにあたり、以下の3点が重要であることが確認された。①ヒト乳癌針生検サンプルにおいて ER β 発現を正確に安定的に免疫組織学評価できる体制の確立 (CLIA 準抛ラボでの検査実施)、②患者血液

中のアンドロゲン代謝物を治療前後で測定し、その影響を臨床効果・バイオマーカー変化と比較する (ER β がタモキシフェンの結合標的とした場合に、競合相手となるため)、③ER β 陽性 AR 陽性 TNBC と ER β 陽性 AR 陰性 TNBC のどちらがより適切な治療対象となるかを検討する必要性。

今後、これら3点を確立しつつ、本研究の最終目的である、臨床試験の実施を目指したい。

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)光藤悠子、佐治重衡、乳がんの治療 薬物療法 ホルモン療法の治療戦略、からだの科学-乳癌のすべて、査読無、277 巻、2013 年、67-71

(2)Honma N, Horii R, Iwase T, Saji S, Younes M, Ito Y, Akiyama F. Clinical importance of androgen receptor in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen monotherapy. Breast Cancer. 査読有、Feb 4, 2012 [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s12282-013-0455-5

(3)Suzuki R, Saji S, Toi M. Impact of body mass index on breast cancer in accordance with the life-stage of women. Front Oncol. 査読有、2、2012、123 DOI: 10.3389/fonc.2012.00123

(4)Saji S, Sato F, Ueno NT. Fuel and electricity, ER and HER2: a hybrid-car model of breast cancer(Correspondence). Nat Rev Clin Oncol. 査読無、9(7)、2012、426 DOI: 10.1038/nrclinonc.2012.9-cl.

(5)Takada M, Saji S, Masuda N, Kuroi K, Sato N, Takei H, Yamamoto Y, Ohno S, Yamashita H, Hisamatsu K, Aogi K, Iwata H, Ueno T, Sasano H, Toi M. Relationship between body mass index and preoperative treatment response to aromatase inhibitor exemestane in postmenopausal patients with primary breast cancer. The Breast. 査読有、21、2012、40-45

(6)Honma N, Saji S, Hirose M, Horiguchi S-I, Kuroi K, Hayashi S-I, Utsumi T, Harada N. Sex Steroid Hormones in Pairs of Tumor and Serum from Breast Cancer Patients and Pathobiological Role of Androstene-3 β ,

17 β -diol. Cancer Science. 査読有、102(10)、2011、1848-1854

[学会発表] (計 8 件)

(1)Saji S. Factors Affecting Aromatase Inhibitors Responsiveness. Korean Surgical International Symposium (KOSIS)2012、2012年12月1日、COEX(韓国)

(2) Saji S, Takada M, Honma N, Masuda N, Yamamoto Y, Kuroi K, Yamashita H, Ohno S, Ueno T, Toi M. Serum concentration of Estrone (E1), not Estradiol (E2), is the independent predictive factor of response to neo-adjuvant exemestane treatment in postmenopausal breast cancer patients: JFMC 34-0601 TR, The 37th European Society of Medical Oncology 2012 Congress、2012年10月1日、Austria Center Vienna(オーストリア)

(3) 佐治重衡、佐藤史顕、進行・再発乳がんをめぐる新しい治療戦略、第 71 回日本癌学会学術総会 (シンポジウム)、2012年9月20日、札幌(北海道)

(4) 本間尚子、堀井理絵、岩瀬拓士、新井富生、佐治重衡、伊藤良則、秋山太、乳癌における estrogen receptor-beta の tamoxifen 効果予測性についての検討、第 71 回日本癌学会学術総会、2012年9月19日、札幌(北海道)

(5) 佐治重衡、佐藤史顕、内分泌療法の進歩と今後の役割、第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会、2012年7月27日、大阪国際会議場(大阪府)

(6) 佐治重衡、ホルモン療法が効かないとは? 耐性克服へのアプローチ、第 49 回日本癌治療学会学術集会、2011年10月27日、名古屋国際会議場(愛知県)

(7)Saji S, Sato F. Explore the factors predicting response of endocrine therapy for breast cancer, The Capital International Cancer Conference (CICC) 2011、2011年9月23日、China National Convention Center(中国)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐治 重衡 (SAJI SHIGEHIRA)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号: 80446567

(2)連携研究者

本間 尚子 (HONMA NAOKO)

東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号 : 70321875