

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870539

研究課題名(和文)術前ホルモン療法の効果予測を目的とした包括的治療反応性予測ツールの開発

研究課題名(英文)Generation of a comprehensive predictor for neoadjuvant endocrine therapy responsiveness in breast cancer

研究代表者

指宿 睦子(Yamamoto-Ibusuki, Mutsuko)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：30448526

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：ホルモン受容体陽性乳癌のバイオロジーを多面的に解析しホルモン療法への反応性の評価指標を検討した。おもにDNA copy numberによるIntrinsic Luminal subtype分類、膜型チロシンキナーゼレセプター群と細胞内伝達経路を検討している。11か所(高コピー数群：FGFR1, MYC, RSF1, CYB5B, IGF1R, SUPT4H1 低コピー数群：PMF1, POLR3E, RNF45, ZNF217, AURKA)のパターンにより術前ホルモン療法効果不良群を分けうる可能性を示し($p=0.034$)、pAktが治療不応性と有意に相関していることを示した($p=0.005$)。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the responsiveness for endocrine therapy of breast cancer, we speculated that there are some systemic variables in intrinsic breast cancer subtype in ER positive breast tumor and growth factor signaling pathway activation. We indicated a specific pattern of DNA copy number of tumor consisted with 11 locus was correlated with poor responsiveness to neoadjuvant endocrine therapy($p=0.034$). And more, among PI3K-signalung pathway, phospho-Akt either showed significant correlation with poor responsiveness by IHC investigation ($p=0.005$).

研究分野：腫瘍診断学、外科学一般

キーワード：治療効果予測因子

1. 研究開始当初の背景

ホルモン受容体陽性乳癌は乳癌の約70%を占めており、術前ホルモン療法により乳房温存を可能にするに足る腫瘍縮小効果があることが種々の臨床試験によって示されつつある。一方、術前化学療法は術後と同等の生存率を示し乳房温存の可能性を高めるという確固たるエビデンスに基づき標準治療として確立されているが、副作用の強い薬剤が多い。副作用の非常に少ないホルモン療法が術前治療として安全に施行可能であれば患者のQOLは向上することが確かである¹⁾。術前化学療法によって得られる腫瘍細胞の完全消失(病理学的完全奏効:pCR)は予後良好を示す因子として有用性が示されているが、術前ホルモン療法を行った患者におけるpCR率(3%程度)は術前化学療法(6%程度)よりも非常に低い。もともと殺細胞的でなく静細胞的に抗腫瘍効果を示すホルモン療法においては化学療法の判定基準と同様の評価が適当でないと考えられ、ホルモン療法に対する治療反応性を具現化する別の指標を検討することが望ましい。それを施行前あるいは治療開始後早期に反応性の良好な患者を選び出す、もしくは不応の患者を除外するようなツールとして確立できれば非常に有用であると考えられる。

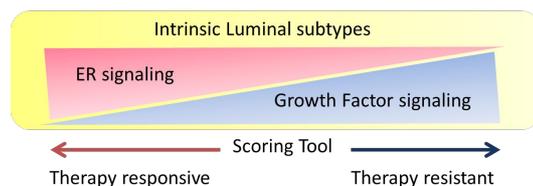
現在のところ、最も重要な術前ホルモン療法の効果予測因子は唯一、エストロゲンレセプター(ER)のみである。プロゲステロンレセプター(PgR)はERの転写産物であり術前ホルモン療法により70%~80%の症例で発現が低下するが、PgRの変化は奏効とは無関係である。Ki67は治療後の予後予測因子としては大きな意味合いを持つが、効果予測因子としての意義は乏しい。Intrinsic subtype(ER陽性乳癌-Luminalサブタイプ-A/Bの2群に大別される)も奏効率の予測因子ではなく、その他の確立された遺伝子プロファイリングツール(Mammaprint[®], OncotypeDX[®])の術前ホルモン療法に対する効果予測および予後予測に関する意義についてもまだ明らかになっていな

い。cDNAマイクロアレイを用いたmRNAの網羅的遺伝子発現によるpreclinicalな効果予測解析に関していくつかの報告が見られるが、mRNA発現レベルのみによる効果予測は確固たる指標を見出せていない。たとえば不応群におけるSPAG7, NDEL1, RPL23Aなどのリボソーム関連遺伝子の発現変化、TGFβ関連遺伝子(ANXA2, CLU, FOSL2, PLOD2)やHER2関連遺伝子(CLU, GBE1, CYP4B1, PFKFB3)の高発現、エストロゲン関連遺伝子(KAA0101, SERPINA3, IRS1, TFF3, TFF1)と細胞増殖関連遺伝子(CDC2, CKS2, CCNB1, TYMS, PCNA)の普遍的発現などが挙げられているが、転写産物のみでの解析では十分な予測能が得られていないのが現状である。

2. 研究の目的

ホルモン受容体陽性乳癌のバイオロジーを多面的に解析しホルモン療法への反応性の評価指標が必要であると考え、大きく3つの要素を考慮した予測ツールが構築可能であるかどうか検討することとした。(図1)。

図1. Biology多面的解析



3. 研究の方法

*Intrinsic Luminal subtype:

腫瘍細胞のおおむねのキャラクターを規定しうるゲノムの変化は薬剤に対するintrinsicな反応性の規定因子になると考えられる。従来mRNAの網羅的発現解析によりA/Bの2群に大別されてきたホルモン受容体陽性のLuminalサブタイプは、遺伝子増幅の情報と包括的に解析することにより更に7つに細分され治療反応性の差異と関与する可能性が報告されている²⁾。これらは主に染色体上のlocusの遺伝子増幅に平行な転写があるかどうかによって規定される(主に8p,8q,16p,16q,17q,20q,11q)。

*Growth factor signaling:

乳癌のホルモン療法抵抗性獲得のメカニズムには、エストロゲンレセプターと増殖因子群とのシグナル伝達のクロストークが関与しており、どのパスウェイがドミナントに働いているかは膜型レセプターの発現状況や膜型 ER による非古典的転写経路の関与、個体の環境によっても可変的であり、治療反応性にも大きく関与すると考えられる。近年の全ゲノム配列解析の報告でも術前ホルモン療法応答例と不応例間における膜型チロシンキナーゼレセプター群と細胞内伝達経路(P53/Rb, MAPK, PI3K/Akt/mTOR パスウェイ)の変化が大きく関与していることが示唆されており³⁾、すでに再発転移乳癌を対象とした臨床試験では mTOR 阻害剤とホルモン療法併用の有用性が示されている。

*Classical ER signaling:

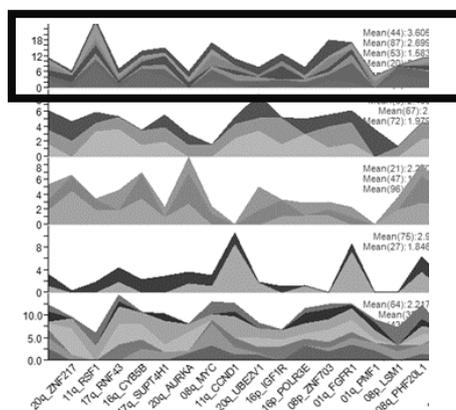
ER の古典的転写経路の活動性を規定する因子としてエストロゲンレセプターの転写共役因子の発現やリン酸化などが挙げられる⁴⁾。以上を熊本大学付属病院でこれまでに術前ホルモン療法を施行した 30 例につきホルマリ免疫染色を用いたシグナル伝達経路解析(リン酸化蛋白を含む)を行う。臨床効果や病理学的効果を endpoint として統計解析をおこなった。

4. 研究成果

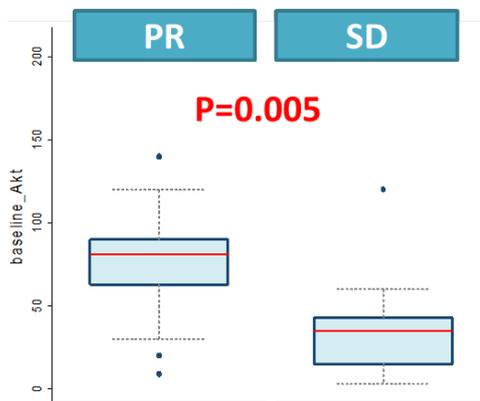
1p(DOCK7, JAK1, FOXO3), 1q(PMF1, HCN3, TMEM183A, KLHL12), 8p12(INTS9, PP2R2A, CDC25), 8q24(AC0841239, MYC, PHF20L1, ST3GAL1), 11q21/23(CCND1, EMSY, PAK1, C11orf67, ALGB, AQP11), 16p(IGF1R, TTC23), 16q(CYB5B, SNTB2), 17q23(PERLD1, STARD2, GRB7, ERBB2), 20q(UBE2V1, RTEL1)

これらの Locus のすべての Copy number を検索し、うち 11 か所(高コピー数群: 1q: FGFR1, 8q: MYC, 11q: RSF1, 16q: CYB5B, 16p: IGF1R, 17q: SUPT4H1

低コピー数群: 1q: PMF1, 16p: POLR3E, 17q: RNF45, 20q: ZNF217, 20q: AURKA) のパターンにより術前ホルモン療法効果不良群(長径 30% 以下の縮小をみなかった群)を分けうる可能性を示した(p=0.034)。



つぎに PI3K-signaling 系の因子である PTEN, pAkt, p4EBP-1, pS6 および MAPK 系の因子である pMAPK の発現状況を免疫染色法で検討した。各因子の染色率を H-score で評価し、因子間および治療効果とのを検討した。Spearman の順位相関分析による因子間の関連性についての検討では、pAkt と PTEN との間には弱い正の相関関係(=0.35)があり、pMAPK(=-0.49)と ki-67 labeling index(=-0.40)とは負の相関関係を認めた。P4EBP-1 と pS6 (=0.45)と ER (=0.47)の間には正の相関関係を認めた。術前内分泌療法の臨床効果は 13 例で PR、17 例が SD であり、PD はなかった。この臨床効果と臨床病理学的因子との比較では治療効果と関連のある因子はなかったが、Growth factor signaling の因子との比較では、PR 例の pAkt は SD 例に比較し、有意に高く(median H-score PR 83 vs. SD 35, p=0.005) 一方、PR 例の pMAPK は SD 例に比し、低い傾向にあった(median H-score PR 30 vs. SD 45, p=0.086)。



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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

山本豊、末田愛子、指宿睦子ら 第 12 回日本臨床腫瘍学会総会 術前内分泌療法例における PI3K signaling 系の発現とその臨床的意義について 福岡国際会議場 2014 年 7 月 17 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 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

指宿睦子 (Yamamoto-Ibusuki Mutsuko)
 熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：30448526

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：