

令和元年6月18日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10067

研究課題名(和文) 間質応答を利用した乳癌治療の効率化

研究課題名(英文) Optimization of breast cancer treatment by using stromal reaction

研究代表者

上野 貴之 (UENO, TAKAYUKI)

公益財団法人がん研究会・有明病院 乳腺外科・部長

研究者番号：40452362

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：乳がんのホルモン療法(女性ホルモンの減少を誘導)により、がん細胞に自食作用であるオートファジーが誘導されるが、細胞死の一つとされているアポトーシスは減少すること、一方で、抗がん剤を加える化学内分泌療法(ホルモン療法+経口抗がん剤)では、オートファジーが増加するのみならず、アポトーシスも増加させること、さらに腫瘍間質のオートファジーを認めた場合には、内分泌療法の反応性は低下するが、化学内分泌療法では影響を受けないことを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質のオートファジーは内分泌療法の治療反応性に影響するが、化学内分泌療法の治療反応性には影響しないことにより、間質の状態を評価することにより、より効果的な治療選択が可能となると考えられる。また、治療における間質の変化をモニタリングすることにより、化学療法や分子標的治療を追加するなどの新たな治療戦略に結びつくと考えられる。とくに、術前内分泌療法後の間質の状態を評価することにより、その後の予後や追加治療の必要性が判断できる可能性があり、乳がんの予後改善につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We found that endocrine therapy by an aromatase inhibitor (reduction in estrogen) induced autophagy but reduced apoptosis, a form of cell death. On the other hand, a chemoendocrine therapy containing endocrine therapy and oral chemotherapy (cyclophosphamide) induced not only autophagy but also apoptosis. Furthermore, tumors with stromal autophagy showed poorer response to endocrine therapy than tumors without stromal autophagy, which was not observed in chemoendocrine therapy.

研究分野：腫瘍外科学

キーワード：オートファジー アポトーシス 内分泌療法 化学内分泌療法 間質応答 エネルギー代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳癌の治療は局所療法としての手術・放射線治療に、全身療法として化学療法・内分泌療法・分子標的治療を組み合わせで行われるが、基本的にはエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PgR)、HER2 発現による分類に基づいて決定されており、多様な乳癌の性質を十分に反映したストラテジーは確立していない。さらにその治療戦略は、乳癌細胞における蛋白発現や遺伝子増幅のみに基づいて決定されており、間質等の乳癌組織を構成するその他の細胞に関する評価は利用されていない。しかし、間質の状態により予後や治療反応性が異なることが報告されるようになり、乳癌組織における間質の理解に対する重要性は増している。

2. 研究の目的

抗癌治療により癌細胞のみでなく間質細胞にもオートファジーなどの変化が誘導されることが理解されるようになった。そこで、治療による間質反応や変化を解析し、間質の状態や変化がどのように癌細胞の生存や増殖、さらには治療反応性に関与するかを検討することにより、治療で誘導される間質の変化(間質応答)の予後や治療抵抗性に対する影響を明らかにし、間質応答を考慮したより効率的な治療戦略を構築することを目的に本研究を企画した。

3. 研究の方法

術前化学内分泌療法と術前内分泌療法前後の乳癌組織を用いて、間質細胞におけるエネルギー代謝の変化、とくにオートファジーやアポトーシス、糖代謝、脂質代謝の変化について解析する。また臨床試験の追跡調査を行い、間質のオートファジーやエネルギー代謝の変化による予後への影響や、再発巣の治療反応性や治療抵抗性に対する影響について検討する。さらに両面培養可能な collagen スポンジを用いた共培養システムを用い、間質細胞のオートファジーによる、癌細胞の治療反応性に対する影響を検討するとともに、癌細胞・間質細胞のエネルギー代謝と治療反応性の関係について解析する。

4. 研究成果

アロマターゼ阻害剤による内分泌療法により、がん細胞にオートファジーが誘導され、さらに治療前に間質のオートファジーが誘導されている症例では、がん細胞の増殖が高度であり、臨床的にも病理学的にも内分泌療法に対する治療反応性が低いことにつき報告した(11)。一方で、アロマターゼ阻害剤はがん細胞のアポトーシスを減少させることを報告した(11)。内分泌療法の治療効果を増強させるために行った化学内分泌療法(アロマターゼ阻害剤+経口シクロホスファミド)の臨床試験検体を用いた検討で、化学内分泌療法ではオートファジーが増加するのみならず、内分泌療法では減少するアポトーシスも増加させることを確認し、これが治療効果増強に関与している可能性が考えられた(3)。実際に、オートファジーの増加やアポトーシスの誘導は、治療効果のあった症例にのみ認められ、治療効果を示さない症例では認められなかった(3)。さらに、間質細胞のオートファジーは、化学内分泌療法の治療効果へは影響を示さず、これも治療効果増強に関与している可能性が示唆された。また、化学内分泌療法はメトロノミック療法として、腫瘍に対する直接作用のみでなく、血管間質に対する作用もあると考えられるため、循環血液中血管内皮細胞(CEC: circulating endothelial cell)の計測を行い、治療効果との関連につき解析を行った。その結果、治療効果の認められない症例ではCECが増加するが、腫瘍が縮小した症例ではCECの増加は認めず、血管新生の誘導を抑制している可能性が示された(6, 9)。

また、エストロゲン枯渇状態に対する細胞レベルでの反応性を検討し、さらにそのメカニズムを明らかにするため、両面培養可能な collagen スポンジを用いた培養系を確立した(12)。この培養系を用い、乳がん細胞と線維芽細胞の共培養下で、エストロゲン枯渇条件と mTOR 阻害剤の存在下で、がん細胞の反応性が異なることを確認した。エストロゲン枯渇ではがん細胞にアポトーシスは誘導されなかったが、mTOR を加えることにより、アポトーシスとともにオートファジーが誘導されることを確認した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12件)

1. Ueno T, Saji S, Masuda N, Iwata H, Kuroi K, Sato N, Takei H, Yamamoto Y, Ohno S, Yamashita H, Hisamatsu K, Aogi K, Sasano H, Toi M. Changes in Recurrence Score by neoadjuvant endocrine therapy of breast cancer and their prognostic implication. *ESMO Open*. 2019 Feb 27;4(1):e000476. doi: 10.1136/esmoopen-2018-000476. eCollection 2019. 査読有
2. Rothé F, Silva MJ, Venet D, Campbell C, Bradbury I, Rouas G, de Azambuja E, Maetens M, Fumagalli D, Rodrik-Outmezguine V, Di Cosimo S, Rosa DD, Chia SK, Wardley AM, Ueno T, Janni W, Huober J, Baselga J, Piccart M, Loi S, Sotiriou C, Dawson SJ, Ignatiadis M. Circulating tumor DNA in HER2 amplified breast cancer: a translational research substudy of the NeoALTTO phase 3 trial. *Clin Cancer Res*. 2019 Mar 12. pii:

- clincanres.2521.2018. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2521. [Epub ahead of print] 査読有
3. Ueno T, Masuda N, Kamigaki S, Morimoto T, Saji S, Imoto S, Sasano H, Toi M. Differential Involvement of Autophagy and Apoptosis in Response to Chemoendocrine and Endocrine Therapy in Breast Cancer: JBCRG-07TR. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 24;20(4). pii: E984. doi: 10.3390/ijms20040984. 査読有
 4. Ueno T, Saji S, Chiba T, Kamma H, Isaka H, Itoh H, Imi K, Miyamoto K, Tada M, Sasano H, Toi M, Imoto S. Progesterone receptor expression in proliferating cancer cells of hormone receptor-positive breast cancer. *Tumour Biol*. 2018 Nov;40(10):1010428318811025. doi: 10.1177/1010428318811025. 査読有
 5. Sato N, Masuda N, Morimoto T, Ueno T, Kanbayashi C, Kaneko K, Yasojima H, Saji S, Sasano H, Morita S, Ohno S, Toi M. Neoadjuvant endocrine therapy with exemestane followed by response-guided combination therapy with low-dose cyclophosphamide in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer: A multicenter, open-label, phase II study. *Cancer Med*. 2018 Jun 14. doi: 10.1002/cam4.1600. 査読有
 6. Ueno T, Masuda N, Kamigaki S, Morimoto T, Akiyama F, Kurosumi M, Tsuda H, Mikami Y, Tanaka S, Morita S, Toi M. A multicenter phase II trial of neoadjuvant letrozole plus low-dose cyclophosphamide in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer (JBCRG-07): therapeutic efficacy and clinical implications of circulating endothelial cells. *Cancer Med*. 2018 Jun;7(6):2442-2451. doi: 10.1002/cam4.1516. Epub 2018 May 7. 査読有
 7. Ueno T, Saji S, Masuda N, Kuroi K, Sato N, Takei H, Yamamoto Y, Ohno S, Yamashita H, Hisamatsu K, Aogi K, Iwata H, Yamanaka T, Sasano H, Toi M. Impact of clinical response to neoadjuvant endocrine therapy on patient outcome: a follow-up study of JFMC34-0601 multicentre prospective neoadjuvant endocrine trial. *ESMO Open*. 2018 Feb 14;3(2):e000314. doi: 10.1136/esmoopen-2017-000314. eCollection 2018. 査読有
 8. Ishiguro H, Saji S, Nomura S, Tanaka S, Ueno T, Onoue M, Iwata H, Yamanaka T, Sasaki Y, Toi M. A phase I/II pharmacokinetics/pharmacodynamics study of irinotecan combined with S-1 for recurrent/metastatic breast cancer in patients with selected UGT1A1 genotypes (the JBCRG-M01 study). *Cancer Med*. 2017 Dec;6(12):2909-2917. doi: 10.1002/cam4.1258. Epub 2017 Nov 13. 査読有
 9. Sunao Tanaka, Takayuki Ueno*, Hiroshi Ishiguro, Satoshi Morita & Masakazu Toi The lack of increases in circulating endothelial progenitor cell as a negative predictor for pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *NPJ Precis Oncol*. 2017 Apr 17;1(1):6. doi: 10.1038/s41698-017-0006-1. eCollection 2017. *corresponding author 査読有
 10. Shi W, Jiang T, Nuciforo P, Hatzis C, Holmes E, Harbeck N, Sotiriou C, Peña L, Loi S, Rosa DD, Chia S, Wardley A, Ueno T, Rossari J, Eidmann H, Armour A, Piccart-Gebhart M, Rimm DL, Baselga J, Pusztai L. Pathway level alterations rather than mutations in single genes predict response to HER2 targeted therapies in the neo-ALTT0 trial. *Ann Oncol*. 2017 Jan 1;28(1):128-135. doi: 10.1093/annonc/mdw434. 査読有
 11. Ueno T, Saji S, Sugimoto M, Masuda N, Kuroi K, Sato N, Takei H, Yamamoto Y, Ohno S, Yamashita H, Hisamatsu K, Aogi K, Iwata H, Imoto S, Sasano H, Toi M. Clinical significance of the expression of autophagy-associated marker, beclin 1, in breast cancer patients who received neoadjuvant endocrine therapy. *BMC Cancer*. 2016 Mar 16;16(1):230. doi: 10.1186/s12885-016-2270-9. 査読有
 12. Ueno T, Utsumi J, Toi M, Shimizu K. Characteristic gene expression profiles of human fibroblasts and breast cancer cells in a newly developed bilateral coculture system. *Biomed Res Int*. 2015;2015:960840. doi: 10.1155/2015/960840. Epub 2015 Jun 11. 査読有

〔学会発表〕(計 10件)

上野貴之: Neoadjuvant hormone therapyによる治療最適化; 第26回日本乳癌学会学術総会, 2018年

Takayuki Ueno: Update on the clinical utility of 21-gene assay recurrence score (Oncotype DX); Organisation for Oncology and Translational Research 13th Annual Conference, 2017年

Norikazu Masuda, Nobuaki Sato, Takashi Morimoto, Takayuki Ueno, et al: Tailored neoadjuvant endocrine therapy and chemo-endocrine therapy for postmenopausal patients with estrogen receptor-positive human epidermal growth factor receptor 2-negative primary breast cancer; 2017 San Antonio Breast Cancer Symposium, 2017年

上野貴之: 単一細胞レベルでのバイオマーカー探索; 第24回日本乳癌学会学術総会, 2016年
Takayuki Ueno, Hirotsugu Isaka, Hiroki Itoh et al: Analysis of in situ expression of hormone receptors and proliferation marker at a single cell level in breast cancer tissues; AACR Annual Meeting 2016, 2016年

Takayuki Ueno, Hirotsugu Isaka, Hiroki Itoh et al: Analysis of in situ expression of hormone receptors and proliferation marker at a single cell level in breast cancer tissues; The 4th International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology, 2016年

Takayuki Ueno: Circulating tumor cells: their clinical application and therapeutic potential; The 14th Asian Breast Disease Association Meeting & Symposium, 2016年

上野貴之, 伊東大樹, 伊美建太郎等: ER陽性乳癌組織におけるER発現とKi67発現の腫瘍内 heterogeneity の解析; 第23回日本乳癌学会学術総会, 2015年

Takayuki Ueno, Hirotsugu Isaka, Hiroki Itoh et al: Analysis of in situ expression of hormone receptors and proliferation marker at a single cell level in breast cancer tissues; 3rd International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology, 2015年

上野貴之: pCR再考; 第23回日本乳癌学会学術総会, 2015年

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 櫻井知恵

ローマ字氏名: SAKURAI, chie

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。