

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18426

研究課題名(和文) 乳癌におけるKLK3(PSA)の腫瘍マーカーとしての検討および治療標的の探索

研究課題名(英文) Evaluation of KLK3 as a biomarker for breast cancer

研究代表者

中田 飛鳥(Nakata, Asuka)

金沢大学・がん進展制御研究所・助教

研究者番号：70597921

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)：乳癌のサブタイプのうちホルモン受容体陽性のルミナルタイプの患者に対してはホルモン療法が効果的でありHER2陽性タイプは抗HER2療法が生存予後を改善することが知られている。しかしこれらの受容体を発現しないトリプルネガティブタイプ乳癌(TNBC)に対しては、治療法は化学療法のみと限られており、他のサブタイプに比べて悪性度が高く予後不良である。そのため、TNBCの早期診断と治療標的分子の同定が必要とされている。本研究ではおよそ2000名の乳癌患者の遺伝子発現データから294名のTNBC患者を抽出し解析を行った結果、TNBC患者ではKLK3高発現群は予後不良であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Breast cancer is the most common cancer among women. Developments in the treatment of some types of breast cancer have increased the overall survival of patients. Tamoxifen that is an antagonist of the estrogen receptor and trastuzumab that is a monoclonal antibody that acts in the HER2 receptor have improved the survival outcome of luminal and Her2 breast cancer subtypes, respectively. However, triple negative breast cancer (TNBC) is currently the only major breast tumor subtype without effective targeted therapy and, as a consequence, usually presents a poor outcome. Because of poor prognosis and a more aggressive phenotype, there is an urgent clinical need to identify novel therapeutic targets for TNBCs. To identify new therapeutic targets in TNBC, we analyzed gene expression data of a cohort composed of 294 patients diagnosed with TNBC and identified Kallikrein-related-peptidase 3 (KLK3) as a biomarker for TNBC.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：乳がん

## 1. 研究開始当初の背景

乳癌は女性において最も発生頻度の高い癌であり、死亡数は肺癌について2番目に死亡数の多い癌である。乳癌の分類には組織型、グレードに加え、腫瘍組織の免疫染色により、エストロゲン受容体(ER)およびプロゲステロン受容体(PgR)などホルモン受容体の発現量、HER2受容体の発現量および遺伝子増幅Ki67の強度によりサブタイプに分類される。ホルモン受容体(ER and/or PgR)陽性の患者に対しては、アロマターゼ阻害剤やタモキシフェンなどのホルモン療法が効果的である。HER2陽性タイプは予後不良であるが、HER2陽性の患者に対してはトラスツズマブ(ハーセプチン)やペルツズマブ(パージェタ)など抗HER2療法が生存予後を改善することが知られている。しかしながらトリプルネガティブ乳癌(Triple Negative Breast Cancer)はこれらの受容体を発現しないため、治療法は化学療法のみと限られている。トリプルネガティブタイプは全乳癌患者の10~15%と報告されており、他のサブタイプに比べて悪性度が高く予後不良である。そのため、トリプルネガティブ乳癌の早期診断と治療標的分子の同定が着実に予後の改善につながる。

## 2. 研究の目的

Kallikrein-related-peptidase 3 (KLK3)は、Kallikrein-related peptidase (KLK)ファミリーのセリンプロテアーゼの一種であり、がんの病態においても、その機能や発現が注目されている。特にKLK3はProstate specific antigen (PSA)と呼ばれており、前立腺がんの腫瘍マーカーとして臨床ですでに実用化されている。しかしながら、乳癌患者のサブタイプによるKLK3の発現の違いや、特にトリプルネガティブタイプにおけるKLK3の発現と予後の関連に関しては未だ解析されていない。

本研究ではKLK3がトリプルネガティブ

タイプの乳癌に対する予後因子としての有用性について検証する。

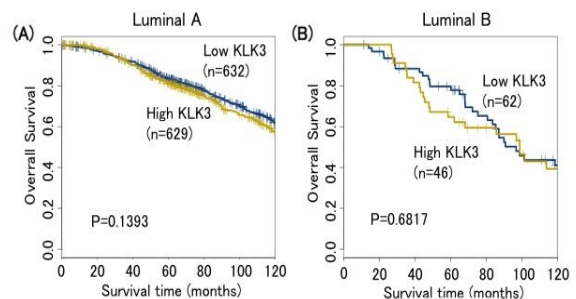
## 3. 研究の方法

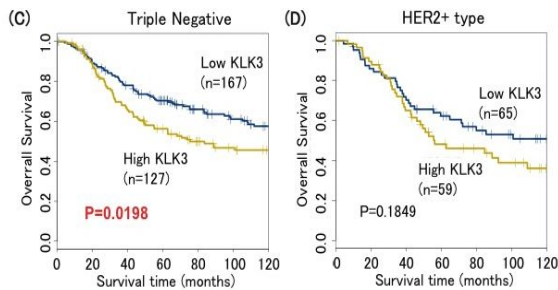
本研究では、Kallikrein-related-peptidase 3 (KLK3)の発現がトリプルネガティブタイプの患者の生存予後を予測可能であるかどうか検証した。およそ2000人の乳癌患者のマイクロアレイデータ(Curtis et al., Nature, 2012)から、294人のトリプルネガティブタイプの患者を抽出し、各患者のKLK3の発現値と生存予後から Kaplan-Meier 曲線を作成した。

さらにKLK3の発現の高い患者群と発現の低い患者群の二群に分け、それぞれの患者群でどのような違いがあるのかを調べた。具体的にはそれぞれの遺伝子発現データを、がん研究において広く用いられているパスウェイ解析である Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)を行った。

## 4. 研究成果

乳がん患者をサブタイプ毎に分類し、それぞれのサブタイプにおいてKLK3を高発現する患者群と低発現の患者群において生存予後との関連を調べた。Kaplan-Meier 曲線を作成し、Wilcoxon 検定を行った結果、Luminal タイプやHER2陽性乳がん患者では、KLK3の発現差による生存予後に有意差は見られなかったが、トリプルネガティブ乳がん患者においてはKLK3高発現群が予後不良であることが明らかになった。





さらに、多変量解析を行った結果、トリプルネガティブ乳がん患者においてのみ、KLK3の発現が生存予後に関与することが明らかになった。

Variables	Hazard ratio (95% CI)	P-value
Age at diagnosis	1.33 (1.12 - 1.58)	0.001
Tumor grade (I/III)	1.58 (0.82 - 3.03)	0.171
Tumor size	1.12 (0.99 - 1.25)	0.067
Presence of nodes	1.37 (1.20 - 1.58)	<0.001
KLK3	1.31 (1.06 - 1.61)	0.011

前立腺がんにおいては血中のKLK3 (PSA)濃度の高い患者に対し、外科的手術や放射線療法、ホルモン療法が行われるが、KLK3 (PSA)のプロテアーゼ活性に着目した治療は実施されていない。トリプルネガティブタイプ乳癌においては、ホルモン受容体陰性であることから、ホルモン療法による治療効果は期待できないことから、新たな治療法が必要とされている。そこで、遺伝子ネットワークを比較することで分子標的の候補を探索した。

KLK3高発現の患者群と低発現の患者群でそれぞれGSEA解析を行った結果、高発現群の患者では、薬物代謝関連遺伝子群、特にグルクロン酸抱合に関連するシグナルが亢進していることが明らかになった。このシグナルが抗がん剤耐性に寄与し、KLK3が高発現している患者群が予後不良であることに関与しているかもしれない。また、インスリン合成に関わるシグナルやFGF受容体シグナルも亢進していた。一方、KLK3低発現の患者群ではHedgehogシグナルなどに関連する遺伝子群の亢進がみられた。これらのシグナル伝達経路のな

かに、KLK3陽性トリプルネガティブ乳がんに対する治療標的分子が存在する可能性を考えており、乳がん細胞株やヒト乳癌臨床検体を移植した個体レベルでの検討を進めている。

## 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 3件)

- 1) Murayama T, Nakaoku T, Enari M, Nishimura T, Tominaga K, Nakata A, Tojo A, Sugano S, Kohno T, Gotoh N. "Oncogenic Fusion Gene CD74-NRG1 Confers Cancer Stem Cell-like Properties in Lung Cancer through a IGF2 Autocrine/Paracrine Circuit." *Cancer Res.* 2016 Feb 15;76(4):974-83 査読有
- 2) Nakata A, Yoshida R, Yamaguchi R, Yamauchi M, Tamada Y, Fujita A, Shimamura T, Imoto S, Higuchi T, Nomura M, Kimura T, Nokihara H, Higashiyama M, Kondoh K, Nishihara H, Tojo A, Yano S, Miyano S, Gotoh N. "Elevated  $\beta$ -catenin pathway as a novel target for patients with resistance to EGF receptor targeting drugs." *Scientific Reports* 2015 Aug 13;5:13076. 査読有
- 3) Nadal E, Truini A, Nakata A, Lin J, Reddy RM, Chang AC, Ramnath N, Gotoh N, Beer DG, Chen G. "A Novel Serum 4-microRNA Signature for Lung Cancer Detection" *Scientific Reports* 2015 Jul 23;5:12464. 査読有

[学会発表](計 6件)

- 1) 中田飛鳥, 西村達徳, 町田雪乃, 後藤典子: 第75回日本癌学会学術総会「肺腺癌におけるカテニンの活性化はEGFR阻害剤耐性に関与する」, 平成28年10月6~8日, 横浜, 口頭発表
- 2) Asuka Nakata "Enhanced  $\beta$ -catenin pathway as a novel target for patients with

resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors” Tenth AACR-JCA Joint Conference on Breakthroughs in Cancer Research: From Biology to Therapeutics, 平成 28 年 2 月 16 日 ~ 2016 年 2 月 20 日,アメリカ

3) 中田飛鳥

「肺腺癌における カテニンの活性化はイレッサ(gefitinib)への耐性に寄与する」, 東京大学医科学研究所平成 27 年度若手シンポジウム, 平成 27 年 12 月 15 日,東京,招待講演

4) 中田飛鳥, 山口類, 島村徹平, 井元清哉, 野村将春, 矢野聖二, 宮野悟, 後藤典子, 「肺腺癌における カテニンの活性化はイレッサ(gefitinib)への耐性に寄与する」第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学大会合同大会, 平成 27 年 12 月 1~4 日,神戸

5) 中田飛鳥, 山口類, 島村徹平, 井元清哉, 野村将春, 矢野聖二, 宮野悟, 後藤典子, “Novel molecular mechanisms of acquired resistance to gefitinib in lung adenocarcinoma”,第 73 回日本癌学会学術総会, 平成 27 年 10 月 8~10 日,名古屋,ポスター発表

6) Asuka Nakata “NOVEL MOLECULAR MECHANISMS OF ACQUIRED RESISTANCE TO GEFITINIB IN LUNG CANCER”, 23rd Congress of the International Union for Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) and 44th Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq), 平成 27 年 8 月 24~28 日,ブラジル

〔図書〕

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

中田 飛鳥 (NAKATA ASUKA)

金沢大学・がん進展制御研究所・助教

研究者番号：70597921

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし