

令和 2 年 9 月 9 日現在

機関番号：87102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10574

研究課題名(和文) 乳癌における癌幹細胞性、免疫チェックポイント機構関連分子発現の意義と新規治療戦略

研究課題名(英文) Impact of the cancer stemness and immune checkpoint system in breast cancer

研究代表者

徳永 えり子 (Tokunaga, Eriko)

独立行政法人国立病院機構(九州がんセンター臨床研究センター)・その他部局等・乳腺科部長

研究者番号：50325453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：癌幹細胞マーカーCD44v9高発現のトリプルネガティブ乳癌(TNBC)では予後不良であった。HER2陽性乳癌では、腫瘍浸潤リンパ球が多い症例では術前化学療法の効果が高く、PD-L1発現陽性症例では効果が低かった。ホルモン受容体陽性HER2陰性乳癌においては末梢血液中の好中球/リンパ球比高値群で化学療法感受性が高かった。閉経前TNBC,HER2陽性乳癌においては血清vitamin D低値群で術前化学療法の治療効果が低く、有意に予後不良であった。以上より、癌幹細胞性、免疫チェックポイント機構関連分子発現、腫瘍免疫能と化学療法感受性および予後との関連はサブタイプによって異なることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性乳癌の治療成績向上には、悪性度の高い乳癌の分子機序を解明し、新規治療法展開へと結びつけることが重要である。本研究では、多数の臨床検体を用いた研究により、癌幹細胞性、免疫チェックポイント機構関連分子発現、腫瘍免疫能と化学療法感受性および予後との関連は、乳癌のサブタイプによって異なることが示された。今回の研究結果は、今後、それぞれのサブタイプにおいて、難治性の原因となっている機序を理解した治療法開発を行う上で有用な情報となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：High expression of the cancer stem cell marker CD44v9 was significantly associated with a poor prognosis of triple negative breast cancer (TNBC). In HER2-positive breast cancer, high tumor-infiltrating lymphocytes are associated with high sensitivity to neoadjuvant chemotherapy (NAC), however, PD-L1 expression was associated with low sensitivity to NAC. In hormone receptor positive/HER2 negative breast cancer, high peripheral neutrophil/lymphocyte ratio was associated with high chemosensitivity. The low serum vitamin D was associated with the low efficacy to NAC in premenopausal women with TNBC or HER2-positive breast cancer, and the low serum vitamin D was associated with the poor prognosis after NAC. Thus, the relationships between the cancer stemness, immune checkpoint system, host immunological capacity and the chemosensitivity and the prognosis are different among breast cancer subtypes.

研究分野：一般外科

キーワード：乳癌

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

1. 研究開始当初の背景

乳癌は非常に多様性に富んだ疾患である。遺伝子発現プロファイルにより、luminal A, luminal B, basal-like, HER2-enriched など複数の分子サブタイプに分類され、それぞれ特徴的な臨床経過をたどることが明らかになってきた。臨床現場ではエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PgR)、HER2、Ki67などのバイオマーカーを用いた臨床的サブタイプ分類(ホルモン受容体(HR)陽性/HER陰性、HR陽性/HER陽性、HR陰性/HER2陽性、トリプルネガティブなど)が用いられ、このサブタイプを念頭においた治療方針構築が重要である。HR陽性乳癌にはホルモン療法(内分泌療法)、HER2陽性乳癌には抗HER2療法が行われる。また、乳癌の初期治療においては、再発リスクに応じて化学療法の適応が決められる。様々な薬剤の登場により、術前・術後に行われる治療は大きく変化し、予後は改善してきている。しかし、それぞれのサブタイプにおいて、最善と考えられる標準治療を行っても、治療抵抗性で予後の不良な高悪性度乳癌が存在する。すなわち、HR発現やHER2状況、増殖活性、グレードなど、これまで用いられてきたバイオマーカーのみでは予測することのできない治療抵抗性の分子機序が存在することが推測される。このような治療抵抗性の要因が、各サブタイプ共通のものなのか、あるいはサブタイプ特異的なものがあるのか、明らかにされているものはほとんどない。各サブタイプにおいて、高悪性度及び治療抵抗性の分子機序を明らかにすることは、今後の新たな治療戦略開発のためには非常に重要と考えられる。

近年、がん幹細胞性が従来の抗がん剤による化学療法への抵抗性に関する重要な因子であることが明らかになってきた。接着因子CD44はがん幹細胞表面マーカーの一つである。CD44のスプライシングバリエーションアイソフォーム(CD44v)、特にCD44v9の発現は、さまざまながんにおいて、転移の促進や治療抵抗性との関連が報告されてきた。乳癌においては、トリプルネガティブ乳癌の一部にがん幹細胞性をもつタイプの存在が報告されているが、その他のサブタイプにおいてはがん幹細胞性の存在や治療抵抗性との関連など不明な点が多い。また、乳癌組織におけるCD44v9の発現状況やその生物学的意義、サブタイプとの関連、治療効果や予後との関連については十分には解明されていない。

一方、がん免疫チェックポイント機構や宿主免疫能と治療効果や予後との関連についてもさまざまな悪性腫瘍で報告され、その臨床的意義が注目されるようになってきた。しかし、乳癌におけるがん免疫チェックポイント機構や宿主免疫能の生物学的・臨床的意義について十分には解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、高悪性度乳癌の分子機序を解明する上で、特に従来の抗腫瘍薬に対する抵抗性の原因と考えられているがん幹細胞性と乳癌における臨床的意義の解明が不十分である、がん免疫チェックポイント機構や宿主免疫能に注目し、当科において治療が行われた多数の症例において詳細に解析し、今後の新規治療へ展開へと結びつけることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 対象

・標準的レジメンによる術前化学療法を行ったStage I-IIIの原発性乳癌中で、ER、PgR、HER2発現が判明し、術前化学療法前の針生検標本、および、術前化学療法後の手術による乳癌組織が得られる症例

・術前薬物療法を行わずに手術を施行したStage I-IIIの原発性乳癌症例

(2) 方法

・がん幹細胞性マーカーCD44v9やEMT(上皮間葉系移行)関連分子(vimentinなど)、免疫チェックポイント機構関連分子であるPD-L1の発現などを免疫組織化学(immunohistochemistry; IHC)にて解析した。

・H&E染色検体にて腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocyte; TILs)を評価した。

・宿主免疫能の指標として、治療開始前の末梢血液中の好中球/リンパ球比(NLR)を算出した。

・治療開始前の血清ビタミンDをELISA法により測定した。

4. 研究成果

術前化学療法を行なったトリプルネガティブ乳癌における解析

術前化学療法を行なったトリプルネガティブ乳癌においてがん幹細胞性マーカーであるCD44v9やBRCA1、vimentinなどの発現を免疫組織化学(immunohistochemistry; IHC)にて解析し、臨床病理学的因子、治療効果、予後との関連を解析した。その結果、治療開始前のCD44v9発現と術前化学療法の組織学的治療効果との直接の関連は認められなかった。しかし、治療開始前にCD44v9高発現を認めた症例では、術前化学療法後の残存腫瘍のグレードが高くなっており、予後不良であることがわかった。さらに、DNA修復に重要な役割を担うBRCA1の発現低下群では術前化学療法の組織学的治療効果がやや低い傾向が認められ、遠隔転移を来しやすく、予後不良であることが明らかになった。

術前化学療法を行なったHER2陽性乳癌における解析

術前化学療法を行なった HER2 陽性乳癌において、腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocyte; TILs)と免疫チェックポイント機構関連分子である PD-L1 の発現を IHC にて解析し、臨床病理学的因子、治療効果、予後との関連を解析した。その結果、術前化学療法開始前に TILs が多く認められた症例では病理学的完全奏効 (pathological complete response; pCR) が有意に多いことがわかった。また、高度の TILs を認める場合でも、PD-L1 発現陽性の腫瘍では、PD-L1 発現陰性症例に比較して pCR 率が低いことがわかった。これらのことから HER2 乳癌において前化学療法の治療効果に腫瘍免疫が関与している可能性が示された。

末梢血液中の好中球/リンパ球比(NLR)と術前化学療法との関連

治療開始前の末梢血液中の好中球/リンパ球比(NLR)と術前化学療法の効果との関連を解析した。通常、NLR の高値の症例では予後不良であるとされるが、特にホルモン受容体陽性 HER2 陰性サブタイプにおいて顕著である。しかし、術前化学療法を行なった症例においては、ホルモン受容体陽性 HER2 陰性サブタイプにおいて、NLR 高値群で化学療法感受性が高いことが示された。以上より、腫瘍免疫能、宿主側の炎症状態と化学療法感受性および予後との関連はサブタイプによって異なることが示された。

血清 vitamin D と術前化学療法の効果及び予後との関連

近年 vitamin D による T リンパ球浸潤やがん幹細胞制御が注目されている。標準的レジメンによる術前化学療法を行った Stage I-III の原発性乳癌症例を対象に、治療開始前の血清 vitamin D 値と術前化学療法の効果及び予後との関連を解析した。症例全体では血清 vitamin D 値と術前化学療法の効果に相関は認められなかったが、閉経前のトリプルネガティブ乳癌、HER2 陽性の高悪性度の乳癌においては vitamin D 低値群で治療効果が不良であった。また、vitamin D 低値群では有意に予後不良であった。

術前薬物療法なしに手術を施行したトリプルネガティブ乳癌症例における CD44v9 発現の意義 幹細胞マーカー CD44v9 発現と、術前薬物療法なしに手術を施行したトリプルネガティブ乳癌の臨床病理学的因子及び予後との関連を解析した。

stage I では CD44v9 発現と予後に有意な相関は認められなかったが、Stage II 以上では CD44v9 高発現群は有意に予後不良であった。さらに、CD44v9 高発現群では再発後生存期間も有意に不良であった。Stage II 以上の TNBC の術後及び再発後には化学療法が行われることが多く、CD44v9 高発現症例では種々の化学療法抵抗性により予後不良となることが示唆された。

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。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Koi Y, Koga C, Akiyoshi S, Masuda T, Ijichi H, Nakamura Y, Ishida M, Ohno S, Tokunaga E.	4. 巻 38
2. 論文標題 Impact of Visceral Metastasis on Efficacy of Fulvestrant in Patients with Hormone Receptor-positive Recurrent Breast Cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 1579 ~ 1584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12387	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tokunaga E, Fujita A, Takizawa K, Baba K, Akiyoshi S, Nakamura Y, Ijichi H, Masuda T, Koga C, Tajiri W, Ohno S, Taguchi K, Ishida M.	4. 巻 26
2. 論文標題 CD44v9 as a poor prognostic factor of triple-negative breast cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Breast Cancer	6. 最初と最後の頁 47 ~ 57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12282-018-0888-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koga Chinami, Akiyoshi Sayuri, Ishida Mayumi, Nakamura Yoshiaki, Ohno Shinji, Tokunaga Eriko	4. 巻 24
2. 論文標題 Chemotherapy-induced amenorrhea and the resumption of menstruation in premenopausal women with hormone receptor-positive early breast cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Breast Cancer	6. 最初と最後の頁 714 ~ 719
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12282-017-0764-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oikawa Masahiro, Igawa Akiko, Taguchi Kenichi, Baba Kimiko, Ishida Mayumi, Akiyoshi Sayuri, Yano Hiroshi, Nagayasu Takeshi, Ohno Shinji, Tokunaga Eriko	4. 巻 24
2. 論文標題 Cytogenetic analysis of metaplastic squamous cell carcinoma of the breast inter- and intratumoral heterogeneity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Breast Cancer	6. 最初と最後の頁 733 ~ 741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12282-017-0768-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita N, Tokunaga E, Yamamoto H, Shimizu C, Taketani K, Inoue Y, Saeki H, Oki E, Maehara Y.	4. 巻 37
2. 論文標題 The Local Recurrence of Breast Cancer with Squamous Metaplasia and Obvious Histological Heterogeneity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 5249 ~ 5254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 徳永えり子、増田隆伸、伊地知秀樹、田尻和歌子、古閑知奈美、田中旬子、中村吉昭、田口健一、石田真弓
2. 発表標題 HER2陰性乳癌における術前化学療法の臨床的意義：術前または術後アンスラサイクリン・タキサン治療例における解析
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石田真弓、増田隆伸、伊地知秀樹、田尻和歌子、古閑知奈美、田中旬子、中村吉昭、徳永えり子
2. 発表標題 乳癌検診が発見契機となった非浸潤性乳管癌 (DCIS) の特徴
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊地知秀樹、田尻和歌子、増田隆伸、古閑知奈美、田中旬子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 腫瘍径が予後に及ぼす影響 ~ T1cN0 症例と小腫瘍径 (3cm 以下) T2N0 症例に差はあるのか? ~
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増田隆伸、伊地知秀樹、田尻和歌子、古閑知奈美、田中匂子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 乳房部分切除術後の温存乳房内再発に及ぼす因子の検討～腫瘍径の観点から～
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田尻和歌子、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田中匂子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 早期乳癌の乳房温存率に及ぼす背景因子の年代別検討
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古閑知奈美、田尻和歌子、増田隆伸、伊地知秀樹、田中匂子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 早期再発したER陽性HER2陽性粘液癌の1例
3. 学会等名 第54回九州内分泌外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田尻和歌子、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田中匂子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 ER陽性HER2陰性乳癌におけるER発現量と臨床病理学的因子、予後との関連
3. 学会等名 第26回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村吉昭、田尻和歌子、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田中匂子、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 乳癌術前化学療法症例における治療開始前血清抗p53抗体価とpCR率との関連
3. 学会等名 第26回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊地知秀樹、田尻和歌子、増田隆伸、古閑知奈美、田中匂子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 原発性乳癌手術症例における術前NLR(neutrophil-to-lymphocyte ratio) の特性と予後予測因子としての有用性
3. 学会等名 第26回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増田隆伸、伊地知秀樹、田尻和歌子、古閑知奈美、田中匂子、中村吉昭、石田真弓、徳永えり子
2. 発表標題 乳癌術前化学療法導入例における肥満の影響の検討
3. 学会等名 第26回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳永えり子
2. 発表標題 プレジジョンメディシン時代の乳癌分子標的治療
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳永えり子、瀧澤克実、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田尻和歌子、田中旬子、中村吉昭、田口健一、岡本正博
2. 発表標題 術前化学療法を施行したHER2陽性乳癌における腫瘍浸潤リンパ球、血清HER2の意義
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hideki Iijichi, Wakako Tajiri, Takanobu Masuda, Chinami Koga, Jyunko Tanaka, Yoshiaki Nakamura, Masahiro Okamoto, Eriko Tokunaga
2. 発表標題 Prognostic significance of preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio in postmenopausal breast cancer patients.
3. 学会等名 第41回サンアントニオ乳癌国際学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳永えり子、秋吉清百合、神代竜一、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田中旬子、中村吉昭、田口健一、石田真弓
2. 発表標題 HER2 陽性乳癌における術後トラスツズマブの意義
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 徳永えり子、秋吉清百合、瀧澤克実、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田中旬子、中村吉昭、田口健一、石田真弓
2. 発表標題 CD44v9, BRCA1 発現：トリプルネガティブ乳癌における術前化学療法の効果及び予後との関連
3. 学会等名 第25回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 秋吉清百合、増田隆伸、伊地知秀樹、田中旬子、中村吉昭、石田 真弓、徳永えり子
2. 発表標題 トリプルネガティブ乳癌に対する術前・術後化学療法の有効性と必要性についての検討
3. 学会等名 第25回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 徳永えり子、田口健一、山下奈真、森田勝、石田真弓
2. 発表標題 術前化学療法を受けたHER2陽性乳癌におけるTIL及びPD-L1出現の意義
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 徳永えり子、増田隆伸、伊地知秀樹、古閑知奈美、田尻和歌子、田中旬子、中村吉昭、石田真弓
2. 発表標題 再発乳癌の予後・治療成績とサブタイプとの関連
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 徳永 えり子
2. 発表標題 BASIC AND TRANSLATIONAL RESEARCHES TO IMPROVE OUTCOME OF ADVANCED TNBC
3. 学会等名 平成28年度国際がん研究シンポジウム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山下 奈真 (Yamashita Nami) (60608967)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	
研究 分担者	田口 健一 (Taguchi Kenichi) (40325527)	独立行政法人国立病院機構（九州がんセンター臨床研究センター）・その他部局等・臨床検査科医長 (87102)	