

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590359

研究課題名(和文) 乳癌におけるエストロゲン・レセプターβの治療効果予測因子としての重要性の検討

研究課題名(英文) Predictive value of estrogen receptor-beta for adjuvant therapy in breast cancer patients.

研究代表者

秋山 太 (AKIYAMA FUTOSHI)

公益財団法人がん研究会・がん研究所病理部・臨床病理担当部長

研究者番号：50222550

研究成果の概要(和文)：術後 tamoxifen 単独補助療法後乳癌患者 (TAM + 群) において認められた、estrogen receptor-β (ER-β) の wild type, ER-β1 陽性例の予後の良さが、tamoxifen の効果を示しているのか、乳癌自然史を示しているのかを明らかにするため、無補助療法群 (TAM - 群) について解析した。TAM - 群では ER-β1 発現状況による予後の差は認められず、上記の結果は tamoxifen の影響によることが判明した。

研究成果の概要(英文)：We have previously shown that estrogen receptor-β (ER-β) status is a predictor of clinical outcome in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen monotherapy. We studied on patients with no adjuvant therapy, and revealed that ER-β status was not a predictor of clinical outcome in these patients. This result suggests that difference of clinical outcome observed in patients with tamoxifen therapy reflects the effect of tamoxifen.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：乳癌、予後、エストロゲン・レセプターβ、エストロゲン・レセプターα、プロゲステロン・レセプター、HER2、術後無補助療法、tamoxifen 治療

### 1. 研究開始当初の背景

現在、乳癌治療の現場では、ER-αおよびPgRの免疫組織化学的検索が、治療法決定や予後予測の上で golden standard となっている。一方、1996年にER-βが発見されて以来、乳癌におけるER-βの臨床病理学的意義について、世界中で種々の検討がなされてきたが、ER-αと共発現しそのカウンターパートとして機能するという以外は明確なコンセンサスは得られていなかった。その理由とし

ては手法の多様性(mRNAレベルか蛋白レベルか、種々の抗ER-β抗体の存在)、ER-βにおける多くのisotypeの存在、研究対象の問題(規模、人種、閉経状況、治療法、経過観察期間)等があげられていた。また、ER-αと共発現される傾向が高いことが、ER-β独自の検索価値を不明確にしていた。これらの点を解決し、しかも、臨床の現場で現在保険適応となっている、ER-αやPgRの免疫組織化学的評価法のような、現実的で実効性のある検索

意義が ER-βにあるのかどうかを調べるために、我々は術後 tamoxifen 単独補助療法後長期予後の明らかとなった500例規模の乳癌症例について、商品化された信頼度の高い抗 ER-β抗体 4 種を用いた検索を行った。1980年代の症例のため、ER-α、PgR についても免疫組織化学を施行し評価をし直した。その結果、いずれの抗体を用いても ER-β陽性癌は予後良好で、中でも、wild type, ER-β1 の予後予測因子としての重要性が際立っていた(図1)。しかしこれまでの研究は tamoxifen 単独補助療法後の症例のみを対象としたため、ER-β陽性乳癌の予後の良さが、tamoxifen の影響を示しているのか、癌本来の予後の良さを示しているのかわからなかった。ER-βが予後予測因子のみならず、治療効果予測因子としても重要であるか否かを明らかにすることは、日本人乳癌の治療を最適化する上で重要である。

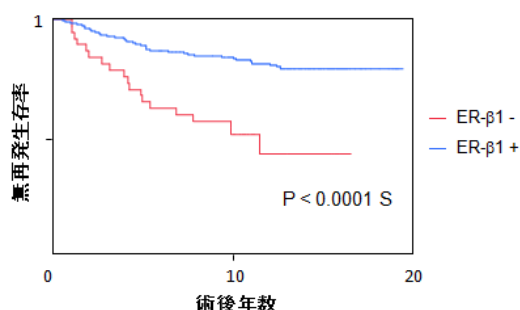


図1. 術後 tamoxifen 単独補助療法後乳癌患者における ER-β1 発現状況による予後比較

## 2. 研究の目的

本研究では、術後補助療法なしで長期を経た乳癌症例群 (TAM- 群) について ER-β発現の免疫組織化学的検索を行い、先に示した tamoxifen 単独補助療法後の症例群 (TAM+ 群) についての結果 (図1) と比較することにより、ER-βが tamoxifen 治療効果予測因子であるのか否かを明らかにする。

## 3. 研究の方法

本研究は臨床的実用性を重視したものであるため、どこの病理検査室でも可能な免疫組織化学を駆使する。より信頼性の高い、再現性のある結果を得るために、多数症例について複数の商品化された抗 ER-β抗体を用いる。これまでの結果では、抗 ER-β1 抗体が最も予後予測因子として重要なデータを示したが、治療効果予測因子をあらためて評価するには、他の抗体も調べる必要がある。これまでの研究から、染色の安定性が確認できた抗 ER-β抗体 3 種を用いる。長期予後の明らかとなった症例についての研究のため、現在

routine 化されている ER-α、PgR、HER2 の免疫組織化学的データがないため、これらについても調べ、再評価する。

上記 TAM+ 群と同期間 (1982-92 年) に癌研附属病院で乳癌手術を施行された症例につき、カルテチェックを厳密に行い、術後完全無補助療法 (TAM-) 群約 700 例を抽出した。手術材料病理永久標本より代表切片を選び、ER-α、ER-β、PgR、HER2 等、計 9 種の抗体を用いた免疫組織化学的検討を行った。

ER-β発現状況による無再発生存率、全生存率の比較を行った。また、今回、retrospective study であるため、種々の selection bias (特に ER-α および PgR 発現状況) は避けられないため、多変量解析が必須である。腫瘍径 (T)、リンパ節転移状況 (LN)、核異型度 (NG)、ER-α、PgR、HER2 発現状況等、確立された予後予測因子を含めた多変量解析を行い、ER-βの独立した予後予測性を検討した。また、ER-β陰性群、陽性群々々につき TAM の効果を明らかにするため、TAM を変量として加えた解析も行った。

以下、ER-βとしては ER-β1 の発現状況に、予後としては再発状況に主眼を置き成果を示す。

## 4. 研究成果

TAM- 群では、ER-β1 発現状況による予後の差が見られなかった (図2)。TAM+ 群での、ER-β1 陽性癌は陰性癌に比し有意に予後良好との結果 (図1) は、自然経過によるものでなく、tamoxifen の影響を示すものであることが示唆された。

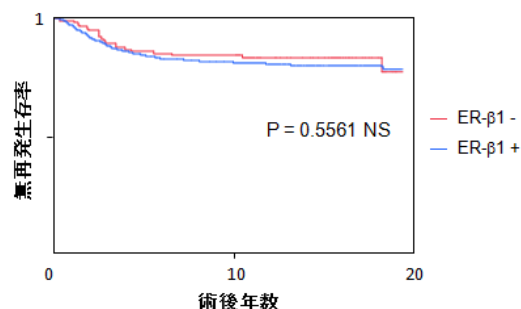


図2. 術後無補助療法後乳癌患者における ER-β1 発現状況による予後比較

ER-β1 陽性癌・陰性癌、各々について、tamoxifen 治療の有無による予後を比較したところ、tamoxifen の影響は、ER-β1 陽性癌にはみられず、ER-β1 陰性癌にのみ認められた。特に、ER-β1、ER-α、PgR とも陰性の群で、tamoxifen の有無による予後の差が顕著だった。

また、TAM+ 群、TAM- 群、ER-β1 陽性群、ER-β1 陰性群および症例全体についての多変量解析の結果、独立した予後予測因子として残ったものを表 1 にまとめた。

表 1. 各群における独立予後予測因子 (○印)

因子	全体	TAM		ER-β1	
		+	-	+	-
T		○		○	
LN	○	○	○	○	○
NG	○		○	○	
HER2					
ER-α					
PgR		○			
ER-β1		○		—	—
TAM		—	—		○

多変量解析によっても、ER-β1 は TAM - 群の独立した予後予測因子ではなかった。一方、ER-β1 陰性群においては、tamoxifen 治療が独立した予後因子として残った。

乳癌研究における必須項目である、ER-α, PgR についての結果も付随して得られている。かつては陽性判定のカットオフ値 10%が一般的だったが、近年、欧米を中心に 1%あるいは any positive cells が主流となっている。しかし免疫染色のカットオフ値についての科学的根拠は十分とはいえなかったため、本研究で種々のカットオフ値を設定し、tamoxifen 治療の有無による予後の比較をした。多変量解析の結果、カットオフ値 1%あるいは any positive cells で、tamoxifen の短期効果予測が可能であることが分かった。副作用の少ない内分泌療法をより多くの患者に施行するという観点からも、これらのカットオフ値は妥当なものであると考えられる。

以上、無補助療法群についての解析により、乳癌術後患者の自然経過が明らかとなった。このデータは、あらゆる補助療法の有効性を検討する際の基準として重要であり、今後の活用が望まれる。Tamoxifen が ER-β1 陽性癌ではなく、陰性癌にのみ影響するとの結果、特に、ER-β1, ER-α, PgR とともに陰性の群で差が顕著であるとの結果は予想外であった。既知の tamoxifen 受容体がない状態で、いかにして tamoxifen が乳癌の生物学的動態、あるいは患者の予後に影響を及ぼすのかについては全く不明であり、今後の検討が必要である。ER-α, PgR については日常診療業務の検索項目でありながら、そのカットオフ値は国内でも議論があったが、本研究により、近年の欧米で広く用いられているカットオフ値が科学的に妥当であることが明らかとなった。

## 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 4 件)

1. Honma N, Takubo K, Sawabe M, Arai T, Akiyama F, Sakamoto G, Utsumi T, Yoshimura N, Harada N: **Alternative use of multiple exons 1 of aromatase gene in cancerous and normal breast tissues from women over the age of 80 years.** Breast Cancer Res 2009, 11(4):R48.
2. Celis JE, Cabezon T, Moreira JM, Gromov P, Gromova I, Timmermans-Wielenga V, Iwase T, Akiyama F, Honma N, Rank F: **Molecular characterization of apocrine carcinoma of the breast: Validation of an apocrine protein signature in a well-defined cohort.** Mol Oncol 2009.
3. Honma N, Saji S, Kurabayashi R, Aida J, Arai T, Horii R, Akiyama F, Iwase T, Harada N, Younes M et al: **Oestrogen receptor-beta1 but not oestrogen receptor-beta2 is of prognostic value in apocrine carcinoma of the breast.** APMIS 2008, 116(10):923-930.
4. Honma N, Horii R, Iwase T, Saji S, Younes M, Takubo K, Matsuura M, Ito Y, Akiyama F, Sakamoto G: **Clinical importance of estrogen receptor-beta evaluation in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen therapy.** J Clin Oncol 2008, 26(22):3727-3734.

### 〔学会発表〕 (計 10 件)

1. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 伊藤良則, 秋山太: **Clinical importance of Ki-67 evaluation in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen therapy.** 第69回日本癌学会総会: 2010. 9. 22-24 大阪
2. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 伊藤良則, 秋山太: **術後tamoxifen単独補助療法後乳癌症例におけるandrogen receptor発現の臨床病理学的意義についての検討.** 第11回ホルモンと癌研究会: 2010. 7. 30-31 2010; 名古屋
3. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 新井富生, 伊藤良則, 秋山太: **乳癌における androgen receptor 発現の臨床病理学的意義.** 第18回日本乳癌学会学術総会: 2010. 6. 24-25 札幌

4. 本間尚子, 堀井理絵, 倉林理恵, 新井富生, 沢辺元司, 田久保海誉, 秋山太: **乳癌におけるbc1-2の臨床病理学的意義についての検討**. 第98回日本病理学会誌: 2009. 5. 1-3京都
5. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 新井富生, 松浦正明, 伊藤良則, 秋山太: **乳癌におけるbc1-2の臨床病理学的意義についての検討**. 第17回日本乳癌学会総会: 2009. 7. 3-4 東京.
6. 本間尚子, 堀井理絵, 倉林理恵, 新井富生, 田久保海誉, 秋山太: **術後tamoxifen単独補助療法後乳癌におけるestrogen receptor-β 検索の臨床的重要性**. In: 第97回日本病理学会総会: 2008. 5. 15-17 金沢.
7. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 田久保海誉, 内海俊明, 原田信広, 松浦正明, 伊藤良則, 秋山太: **術後tamoxifen単独補助療法後乳癌におけるestrogen receptor-beta検索の臨床的重要性**. In: 第9回ホルモンと癌研究会: 2008. 6. 20-21 岐阜
8. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 田久保海誉, 松浦正明, 伊藤良則, 秋山太: **術後tamoxifen単独補助療法後乳癌におけるestrogen receptor-beta検索の臨床的重要性**. In: 第8回関東ホルモンと癌研究会: 2008. 1. 19 東京
9. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 田久保海誉, 松浦正明, 伊藤良則, 秋山太: **Clinical importance of estrogen receptor-β evaluation in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen therapy**. In: 第67回日本癌学会総会: 2008. 10. 28-30 名古屋
10. 本間尚子, 堀井理絵, 岩瀬拓士, 佐治重衡, 倉林理恵, 新井富生, 田久保海誉, 松浦正明, 伊藤良則, 秋山太: **術後tamoxifen単独補助療法後乳癌におけるestrogen receptor-β 検索の臨床的重要性**. 第16回日本乳癌学会総会: 2008. 9. 26-27 大阪

〔図書〕(計2件)

1. 本間尚子: **C. 乳腺疾患の概要と鑑別診断 I 上皮性腫瘍 1. 癌および境界病変 (8) アポクリン癌**. 黒住昌史編: 癌治療指針のための病理診断プラクティス「乳腺」東京: 中山書店; 印刷中.

2. 本間尚子:**第2部 組織型と診断の実際 I. 上皮性腫瘍 B. 悪性 2. 浸潤癌 b. 特殊型 (7) アポクリン癌**. 黒住昌史, 森谷卓也編: 腫瘍病理鑑別診断アトラス「乳癌」p. 98-101. 東京: 文光堂; 2010.

〔その他〕

1. 乳癌診療ガイドライン 2011 年版の病理診断、ホルモン受容体の項に、[雑誌論文]の4に記した論文が引用された。
2. [雑誌論文]の4に記した論文の紹介記事”Estrogen receptor-beta status influences breast cancer prognosis”が、Reuters Health Informationとして、2008年8月27日付で配信された。

6. 研究組織

(1)研究代表者

秋山 太 (公益財団法人がん研究会・がん研究所病理部・臨床病理担当部長)  
研究者番号: 50222550

(2)研究分担者

本間 尚子 (財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団・東京都老人総合研究所・研究員)  
研究者番号: 70321875

(3)連携研究者

堀井 理絵 (公益財団法人がん研究会・がん研究所病理部・研究員)  
研究者番号: 20446272

石川 雄一 (公益財団法人がん研究会・がん研究所病理部・部長)  
研究者番号: 80222975