

平成 22年 4月 20日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20890014

研究課題名（和文） 日本人女性肺腺癌に対するアロマターゼ阻害薬選択の可能性

研究課題名（英文） The expectation of aromatase inhibitor as a strategy for treatment of Japanese female pulmonary adenocarcinoma

研究代表者

阿部 佳子 (ABE KEIKO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80455782

研究成果の概要（和文）：肺の非小細胞癌ではエストロゲン産生酵素であるアロマターゼとエストロゲン受容体のひとつである **estrogen receptor  $\beta$  (ER $\beta$ )** が同時に発現していることが判明した。日本人女性の肺癌に多い組織型である腺癌には、癌の分化が高く、非浸潤性の増殖を示す **bronchio-alveolar carcinoma (BAC)** と浸潤性の腺癌がある。浸潤癌はより高い悪性度を示す腫瘍であるが、アロマターゼと **ER $\beta$**  の同時発現が高率に見られ、さらに **ER $\beta$**  の発現が癌の増殖能を調整している可能性があることが分かった。

研究成果の概要（英文）：Highly concordant coexpression of estrogen receptor beta and aromatase, one of the estrogen-producing enzyme, was observed among non-small cell carcinoma of the lung. Pulmonary adenocarcinoma, which is the most frequently observed among Japanese female lung cancer patients, is divided into two categories, such as bronchio-alveolar carcinoma (BAC) and non-BAC. BAC is defined as non-invasive adenocarcinoma by WHO criteria, otherwise non-BAC is invasive carcinoma and has more malignant potential. The co-expression of both aromatase and ER beta was more frequently observed among non-BAC of the lung. Furthermore, the proportion of ER beta in non-BAC of the lung was correlated with the proliferative activity of cancer cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：病理学一般

科研費の分科・細目：若手研究（スタートアップ）

キーワード：肺癌、女性、アロマターゼ、ホルモン受容体

## 1. 研究開始当初の背景

肺癌は、全世界的に、男女ともに発症率が増加しており死亡率の高い癌のひとつである。

化学療法が第一選択とされる小細胞癌に対して、非小細胞癌は **EGFR(Epithelial growth factor receptor)** 遺伝子変異に対する

分子標的療法が出現したが、非喫煙者に見られる肺腺癌のうち K-ras 遺伝子変異があるものでは、この治療に抵抗性を示すことが知られている。このため、EGFR 遺伝子変異以外を標的とした新たな肺非小細胞癌の治療法の開発が望まれる。

日本人女性においては、非喫煙者に発症する腺癌の増加がめだつ。また、厚生労働省研究班により、日本では月経期間の長い女性が短い女性に比して肺癌の発症率が高いという疫学調査の発表があり、女性ホルモンが肺癌の発症に関与する可能性が示唆されている。また、アロマターゼ阻害剤が肺非小細胞癌の増殖を抑制したとの研究報告も見られ (Weinberg OK et al, Cancer Res 2005)、日本人女性肺腺癌に対する新たな治療の選択肢として、アロマターゼ阻害薬を加えられる可能性が考えられる。肺の非小細胞癌におけるアロマターゼの発現と予後の関係や、非小細胞癌細胞に対するエストロゲンの作用を見る *in vitro* の報告が見られ、アロマターゼ阻害薬の非小細胞肺癌に対する治療の可能性が高まる一方で、疫学的な背景などからこの治療法の対象と予測される日本人女性肺癌にターゲットをのぼった、エストロゲンとアロマターゼの肺癌における関わりは明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

日本人女性肺腺癌におけるエストロゲン受容体とアロマターゼの発現を明らかにし、臨床病理学的に、アロマターゼ阻害薬の治療対象となる群を明らかにする。

## 3. 研究の方法

- (1) 非小細胞癌 105 症例 (日本人男女ともに含む) について、エストロゲン受容体 (ER $\alpha$  および ER $\beta$ )、プロゲステロン受容体、アロマターゼの発現を免疫組織化学染色により検討する。
- (2) (1) の結果を臨床病理学的因子 (男女別、組織型別、増殖能など) と比較し、女性肺腺癌において特殊性が見られるか検討する。
- (3) 日本人女性肺腺癌 75 症例についてエストロゲン受容体とアロマターゼの発現について免疫組織化学染色により検討する。
- (4) (3) の結果を臨床病理学的因子と比較して、非浸潤癌である BAC (bronchio-alveolar carcinoma) と浸潤癌である non-BAC との間で、エストロゲン受容体とアロマターゼの発現に違いが見られるか検討する。
- (5) アロマターゼ発現が見られる肺腺癌において、エストロゲン値が上昇しているか検討する。
- (6) 上記の結果から示唆された、肺腺癌に対するエストロゲン、アロマターゼの影響について癌細胞株を用いて、*in vitro* 実験で検証

する。

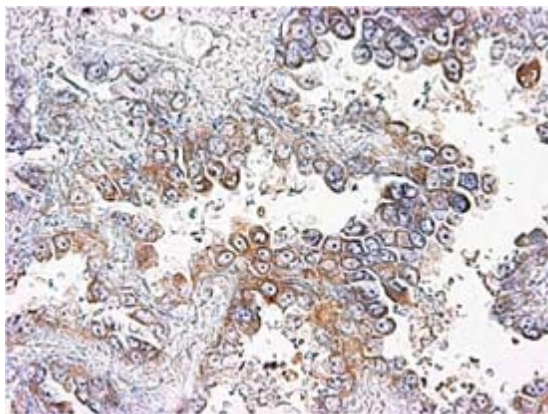
## 4. 研究成果

(1) 肺非小細胞癌では、高率にアロマターゼが発現している (84.8%)。ホルモン受容体としては、ER $\beta$  が高率に発現する (71.4%) 一方で、ER $\alpha$ 、PR の発現率は低い (105 例の非小細胞癌のうち、1 例および 14 例において、陽性となった)。



Fig1-5 は代表的な肺非小細胞癌に対する免疫組織化学染色の結果である。Fig1 の腺癌はアロマターゼ強陽性 (Fig1B)、ER $\beta$  強陽性 (Fig1C)。Fig2 の腺癌はアロマターゼ弱陽性 (Fig2B)、ER $\beta$  弱陽性 (Fig2C)。Fig3 の腺癌はアロマターゼ陽性 (Fig3B)、ER $\beta$  陰性 (Fig3C)。Fig4 の扁平上皮癌はアロマターゼ陰性 (Fig4B)、ER $\beta$  陰性 (Fig4C)。Fig5 の腺癌はアロマターゼ陰性 (Fig5B)、ER $\beta$  陰性 (Fig5C)。105 症例の日本人肺非小細胞癌のうち、70 症例がアロマターゼと ER $\beta$  の両方が陽性であり、Fig1 または Fig2 の染色を示した。

(2) 肺非小細胞癌では、アロマターゼと ER $\beta$  の同時発現が見られる。上記で免疫染色に用いた 105 症例の肺非小細胞癌のうち、10 症例について、ER $\beta$  とアロマターゼにに対する、2 重染色を免疫組織化学により行った結果が下図である。



図において、細胞質に褐色に染色される箇所が、肺腺癌細胞におけるアロマターゼ陽性所見である。また、癌細胞の青く染色された核は、ERβ陽性所見である。両者が同時に染色された癌細胞は両者が同時に発現していることを示す。肺非小細胞癌細胞において、局所で産生されるエストロゲンとエストロゲン受容体が効率よく機能する可能性が示唆される結果である。

エストロゲンとアロマターゼがともに発現した肺非小細胞癌について、ERβの陽性率をAllred scoreを用いて評価し、ERβのhigh score群、low score群にわけて臨床病理学的事項との関係を検討した結果を表に示す。

		Allred TS of ER beta		p value
		0 to 4 (n=38)	5 to 7 (n=51)	
Sex	Male	20	30	
	Female	10	21	0.18
Age (yo)*		69 (62-78)	68 (61-80)	0.363
Histology	Adenocarcinoma	26	42	
	Squamous cell carcinoma	10	8	
	Adenosquamous cell carcinoma	2	1	
	Large cell carcinoma	0	0	0.29
pT	pT1	12	30	
	pT2	18	18	
	pT3	4	2	
	pT4	4	1	<b>0.037</b>
pN	pN0	22	38	
	pN1	6	5	
	pN2	10	8	0.25
	pM	36	50	
Diameter (mm)*		2	1	0.573
		34 (15-90)	26 (8-75)	<b>0.019</b>
Ki-67 LI (%)*		21.05 (0-39)	13.6 (0-50.9)	0.265

Statistical analysis was conducted by Fisher's exact test, Wilcoxon rank sum test and Pearson  $\chi^2$  test, respectively. P values under 0.05 were considered significant and are indicated with boldface.

\*Data were continuous variable and the median with minimum-maximum values were presented.

(Human Pathology 2010; 41: 190-98)

ERβのhigh score群は、low score群に比して、腫瘍径が小さいということが分かった。

その他、アロマターゼ陽性、ERβ陽性それぞれについて臨床病理学的因子との関係を検討した結果は以下のごとくであった。

(3) 肺非小細胞癌において、アロマターゼの発現と臨床病理学的因子に相関は見られない。

(4) 非小細胞癌において、ERβの発現はリンパ節転移と負の相関を示した。

(5) 日本人女性肺腺癌では、BACのほうがnon-BACに比してアロマターゼが発現している症例が多いが、アロマターゼとERβが同時発現する率はnon-BACで高かった。

(6) 日本人女性肺腺癌のうち non-BAC では、ERβの発現率とKi-67 labeling indexにより示される増殖能との間に正の相関関係が見られた。

(7) 腺癌細胞株（アロマターゼ陽性/ERβ陽性）で、エストロゲン依存性の増殖能が見られた。

(8) 肺癌細胞株（アロマターゼ陽性/ERβ陽性）2種類において、浸潤能とエストロゲン依存性増殖能との間に関連について実験中である。

(9) アロマターゼ陽性および陰性肺腺癌におけるエストロゲン値の測定を行ったが、症例数が少なく、有意な違いは得られなかった。

(1) (2) (7)の結果より、肺非小細胞癌自身が発現したアロマターゼによりエストロゲンを供給し、ERβを介した癌の増殖が考えられるが、ERβの陽性scoreの高い肺非小細胞癌の腫瘍径が小さいということは、増殖し大型化した病変では、癌の増殖や浸潤についてエストロゲンの関与が減少している可能性を示唆している。その一方で、(6) (7)の結果より、日本人女性の肺腺癌のうち、non-BACが抗エストロゲン治療の対象となる可能性が示唆された。さらに、治療対象群のプロファイルを特定すべく、検討を続けている。

## 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1件)

① K Abe, Y Miki, K Ono, et al. Highly concordant coexpression of aromatase and estrogen receptor beta in non-small cell lung cancer. Human Pathology 2010; 41: 190-198. (査読有)

〔学会発表〕(計3件)

① K Abe, Y Miki, K Ono, N Kikuchi, T Takahashi, H Sasano. Estrogen receptors and aromatase in Japanese female patients with pulmonary adenocarcinoma: a comparison between BAC and non-BAC. 22<sup>nd</sup> European Congress of Pathology 2009 Sep. 6, Florence, Italy.

② 菊池直彦、阿部佳子、三木康宏、小野克彦、鈴木聡、高橋徹、笹野公伸 女性肺腺癌組織におけるステロイド受容体およびアロマターゼ発現の免疫組織化学的検討 第18回日

本内分泌東北地方会 2009年4月4日仙台

③K Abe, Y Miki, K Ono, H Sasano. High concordant expression of aromatase and estrogen receptor beta in non-small lung cancer. XXVII International Congress of International Academy of Pathology 2008 Oct. 16, Athens, Greece.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

阿部 佳子 (ABE KEIKO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80455782