

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月24日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590305

研究課題名（和文）非浸潤性乳癌における性ホルモン作用の解明：内分泌療法の更なる向上をめざして

研究課題名（英文）Analysis of sex hormone actions in noninvasive breast carcinoma

研究代表者

鈴木 貴（SUZUKI TAKASHI）

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10261629

研究成果の概要（和文）：

浸潤性乳癌（IDC）の前段階である非浸潤性乳癌（DCIS）の特性を理解するため、DCIS のエストロゲン作用を検討した。その結果、(1) DCIS のエストロゲン作用は IDC とは異なり、c-MYB、RbAp46、survivin などの働きが重要であること、(2) アロマターゼ阻害剤投与後の DCIS 組織ではエストロゲン濃度が著明に低下しており、92%のエストロゲン応答遺伝子の発現量、細胞増殖能が減少すること等を明らかにした。以上よりアロマターゼは DCIS のエストロゲン合成に必須であり、その阻害が有効な治療法であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We aimed to characterize the estrogen functions in noninvasive breast carcinomas (DCIS), precursor lesion of the invasive carcinomas (IDC). Results of our present study have demonstrated that (1) estrogen functions in DCIS were different from those in IDC, and C-MYB, RbAp46 and survivin played important roles in DCIS, and (2) intratumoral estrogen concentration in DCIS was markedly decreased following aromatase inhibitor letrozole treatment, and the expression of a great majority of estrogen-induced genes and proliferative activity were markedly decreased following the treatment. These results suggest that estrogen is mainly produced by aromatase in DCIS, and aromatase inhibitors may potentially inhibit estrogen actions in these patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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、エストロゲン、アロマターゼ

1. 研究開始当初の背景

早期の乳癌に相当する非浸潤性乳癌は近年著しく増加しており、乳癌全体の20%程度を占めるに至っている。非浸潤性乳癌は進行期の乳癌（浸潤性乳癌）の前段階であるため、この段階の乳癌の特性を理解し適切に治療することは、乳癌を克服する上できわめて重要である。大部分の非浸潤性乳癌は浸潤性乳癌同様にホルモン受容体が陽性であり、非浸潤性乳癌においても性ホルモンが重要な役割を担っていると推察される。しかし乳癌における性ホルモン作用に関する研究は浸潤性乳癌において今まで主になされてきており、非浸潤性乳癌における性ホルモン作用や内分泌療法との臨床的効果については不明の点が多い。

2. 研究の目的

そこで本研究では、非浸潤性乳癌のエストロゲン作用を詳細に検討し、非浸潤性乳癌における内分泌療法に新たな視点を与えることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 検索対象。外科手術で得られた非浸潤性乳癌組織（53例）、浸潤性乳癌組織（27例）、アロマターゼ阻害剤を術前に投与された非浸潤性乳癌組織（10例）。

(2) 性ホルモン濃度測定。Liquid chromatography / electrospray tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)。

(3) 性ホルモン合成酵素発現解析。Real-time PCR、immunoblotting、免疫組織化学。

(4) 網羅的マイクロアレイ。アジレント社の Whole Human Genome Oligo Microarray。

4. 研究成果

(1) 非浸潤性乳癌組織におけるエストロゲン受容（ER）及びエストロゲン応答遺伝子の解析。非浸潤性乳癌20例及び浸潤性乳癌成分と乳管内癌成分をともに含む浸潤性乳癌20例を用いて免疫染色を行ったところ、エストロゲン受容体（ER）の発現頻度は3群とも大きな違いはみられなかったが、細胞増殖能のマーカーであるKi67は非浸潤性乳癌が最も低かった。更にER陽性例（3群とも4例づつ）に対してマイクロアレイを施行した結果、非浸潤性乳癌は他群とは大きく異なるエスト

ロゲン応答遺伝子の発現パターンを示した。

(2) 非浸潤性乳癌におけるエストロゲン応答遺伝子の発現意義の解析。

実験（1）のマイクロアレイ解析の結果、非浸潤性乳癌で特に高発現がみられた3つのエストロゲン応答遺伝子（c-MYB, RbAp46, survivin）に関し、そのタンパク発現を非浸潤性乳癌53例及び浸潤性乳癌27例を用いて免疫組織化学的に検討した。その結果、いずれも非浸潤性乳癌組織において有意に高発現しており、c-MYBは非浸潤性乳癌症例においてKi67と逆相関を示した。survivinは高齢者の非浸潤性乳癌組織で高発現していた。

(3) 非浸潤性乳癌におけるエストロゲン応答遺伝子の発現と内分泌療法に対する意義。「閉経後ホルモン感受性乳癌に対するレトロゾール術前内分泌療法の検討」と題するUMIN CTR 臨床試験(UMIN 000003101)を実施し、術前アロマターゼ阻害剤療法が行われた10例の閉経後ER陽性非浸潤性乳癌が登録された。アロマターゼ阻害剤投与後の非浸潤性乳癌組織では腫瘍内エストロゲン濃度が対照群の0.3%ときわめて低値を示し、マイクロアレイ解析では、92%のエストロゲン応答遺伝子が治療開始前の発現レベルより1/2以下に減少していた。超音波による腫瘍径の計測では、アロマターゼ阻害剤投与期間が長かった群で有意な減少が観察され、MRI画像では治療による特異的な変化がみられた。免疫組織学的解析では、プロゲステロン受容体やKi-67が有意に減少し、その変化は治療期間によらず速やかに観察された。

以上の実験結果より、(1)非浸潤性乳癌のエストロゲン作用は浸潤性乳癌と異なっており、c-MYBの細胞増殖抑制作用、RbAp46によるエストロゲン作用の修飾、survivinの抗アポトーシス作用などが重要であること、(2)非浸潤性乳癌では主にアロマターゼによってエストロゲンが合成されており、非浸潤性乳癌患者にアロマターゼ阻害剤を投与すると腫瘍内エストロゲン作用はすみやかかつ強力に阻害され、臨床病理的効果が観察されること、等が初めて示された。これは非浸潤性乳癌におけるエストロゲン作用の分子機序や臨床的重要性を示す新知見であり、その阻害が非浸潤性乳癌においても治療上重要な選択肢となり

うる可能性が示唆された。

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 6 件)

1. Ebata A, Suzuki T, Takagi K, Miki Y, Onodera Y, Nakamura Y, Fujishima F, Ishida K, Watanabe M, Tamaki K, Ishida T, Ohuchi N, Sasano H. Oestrogen-induced genes in ductal carcinoma in situ: their comparison with invasive ductal carcinoma. *Endocr Relat Cancer* (査読有) 2012; 19 (4): 485-96. doi: 10.1530/ERC-11-0345.
2. Shibahara Y, Miki Y, Onodera Y, Hata S, Chan MS, Yiu CC, Loo TY, Nakamura Y, Akahira J, Ishida T, Abe K, Hirakawa H, Chow LW, Suzuki T, Ouchi N, Sasano H. Aromatase inhibitor treatment of breast cancer cells increases the expression of let-7f, a microRNA targeting CYP19A1. *J Pathol* (査読有) 2012; 227 (3): 357-66. doi: 10.1002/path.4019. Epub 2012 Apr 30.
3. Suzuki S, Takagi K, Miki Y, Onodera Y, Akahira J, Ebata A, Ishida T, Watanabe M, Sasano H, Suzuki T. Nucleobindin 2 in human breast carcinoma as a potent prognostic factor. *Cancer Sci* (査読有) 2012; 103 (1): 136-43. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02119.x. Epub 2011 Nov 17.
4. Oka K, Suzuki T, Onodera Y, Miki Y, Takagi K, Nagasaki S, Akahira J, Ishida T, Watanabe M, Hirakawa H, Ohuchi N, Sasano H. Nudix-type motif 2 in human breast carcinoma: a potent prognostic factor associated with cell proliferation. *Int J Cancer* (査読有) 2011; 128 (8): 1770-82. doi: 10.1002/ijc.25505.
5. Oyama M, Nagashima T, Suzuki T, Kozuka-Hata H, Yumoto N, Shiraishi Y, Ikeda K, Kuroki Y, Gotoh N, Ishida T, Inoue S, Kitano H, Okada-Hatakeyama M. Integrated quantitative analysis of the phosphoproteome and transcriptome in tamoxifen-resistant breast cancer. *J Biol Chem* (査読有) 2011; 286 (1): 818-29. doi: 10.1074/jbc.M110.156877. Epub 2010 Nov 2.
6. Sasaki Y, Miki Y, Hirakawa H, Onodera Y, Takagi K, Akahira J, Honma S, Ishida T, Watanabe M, Sasano H, Suzuki T. Immunolocalization of estrogen-producing and metabolizing enzymes in benign breast disease: comparison with normal breast and breast carcinoma. *Cancer Sci* (査読有) 2010; 101 (10): 2286-92. doi: 10.1111/j.1349-7006.2010.01673.x. Epub 2010 Aug 2.

[学会発表] (計 3 件)

1. Sasaki Y, Onodera Y, Miki Y, 以下 2 名略, Suzuki T. Expression of estrogen-related enzymes in benign breast disease comparison with normal breast and breast carcinoma. 第 69 回日本癌学会総会、2010 年 9 月 22 日-24 日、大阪
2. Takagi K, Miki Y, Onodera Y, 以下 4 名略, Suzuki T. KLF5 in human breast

cancer. 第70回日本癌学会総会、2011年10月3日-5日、名古屋

3. Takagi K, Miki Y, Onodera Y, 以下3名略, Suzuki T. Expression of the zinc finger protein (PLZF) in human breast carcinoma. 第71回日本癌学会総会、2012年9月19日-21日、札幌

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 貴 (SUZUKI TAKASHI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：10261629

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

石田 孝宣 (ISHIDA TAKANORI)
東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：00292318