

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591900

研究課題名(和文) 乳癌治療における間質反応とエネルギー代謝に関する研究

研究課題名(英文) Study on stromal reaction and energy metabolism during breast cancer treatment

研究代表者

上野 貴之 (UENO, TAKAYUKI)

杏林大学・医学部・講師

研究者番号：40452362

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌治療は、手術、化学療法、分子標的療法、内分泌療法、放射線療法を組み合わせで行われる。個別の治療選択のため、治療効果に関連するマーカーの開発が急務である。術前療法前後の乳癌組織を用いて、細胞死の態様、エネルギー代謝に関するマーカーの検討を行った。まず内分泌療法が、癌細胞のみでなく間質細胞にもオートファジーを誘導することを示した。さらに間質のオートファジーが、内分泌療法抵抗性に関与すること、一方で内分泌療法に経口化学療法を追加すると、間質のオートファジーに関係無く治療反応性を示すことを示した。以上より、間質のオートファジー状態により、選択する治療法を変えるという個別化の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Chemotherapy, endocrine therapy, molecular target therapy, radiation therapy and surgery have been employed for breast cancer treatment. For personalized application, biomarker development is essential. Since stromal cells have been implicated in treatment response, we examined the association between cancer therapy and stromal reaction by analyzing expressions of autophagy-associated markers and apoptosis-associated markers in pre- and post-treatment samples. Expressions of the autophagy-associated markers significantly increased in not only cancer cells but also stromal cells. Stromal autophagy was associated with poor clinical and pathological responses to endocrine therapy. However, stromal autophagy was not associated with responsiveness to chemo-endocrine therapy. Our data indicate that stromal autophagy may be an indicator to select either endocrine therapy or chemo-endocrine therapy for breast cancer patients.

研究分野：乳癌

キーワード：乳癌 細胞死 エネルギー代謝 間質 科学内分泌療法

1. 研究開始当初の背景

乳癌の治療は、手術の他に化学療法、分子標的療法、内分泌療法、放射線療法などを組み合わせて集学的に行われる。全身療法としては、HER2 陽性乳癌では抗 HER2 療法と化学療法の組み合わせが、ホルモン受容体陽性乳癌では内分泌療法に、必要に応じて化学療法を組み合わせ治療が行われる。また、経口抗癌剤とホルモン療法の併用（化学内分泌療法）も効果が期待されている。HER2・ホルモン受容体が共に陰性のトリプルネガティブ乳癌では化学療法が中心となる。転移再発乳癌においては、抗血管新生阻害薬として抗 VEGF 抗体が使用可能となり、さらに治療戦略における複雑性が増した。

複雑化した乳癌治療において、薬剤の適切な組み合わせ・効率的な使用法を決定することは、次第に困難となってきた。今日、有効な薬剤を効率的に組み合わせる治療戦略の開発は、患者の生命予後の改善、患者の生活の質の改善、さらには医療経済的にも重要な課題となっている。

化学療法や内分泌療法などの抗癌治療による細胞死はアポトーシスにより誘導されるとの報告が多いが、実際の癌組織の中での細胞死の態様については不明な点が多い。癌治療によるストレス下において、オートファジーなど、エネルギー代謝が治療抵抗性や感受性に関与していることが示唆されているが、生体内での態様に関しては不明な点が多い。

2. 研究の目的

抗癌治療薬の作用機序や耐性獲得機序として間質のエネルギー代謝との関係が示唆されている。特にオートファジーを含めた細胞内エネルギー調節や間質反応・間質のエネルギー代謝が重要であると考えられ、抗癌治療、特に化学内分泌療法や抗 HER2 療法施行時の乳癌組織における細胞内エネルギー調節を調べることにより、化学内分泌療法、抗 HER2 療法の作用メカニズムを明らかにし、さらに耐性獲得機構を解明すること、また治療効果や耐性予測のマーカーを探索することを目的として本研究を企画した。

3. 研究の方法

術前内分泌療法、化学内分泌療法と術前抗 HER2 療法 (+ 化学療法) 前後の乳癌組織を用いて、細胞死の態様、細胞増殖能の変化、癌細胞・間質のエネルギー代謝の変化、間質における免疫細胞・内皮細胞の変化に対する治療の影響を調べると共に、幹細胞とその微小環境における化学内分泌療法や抗 HER2 療法 (+ 化学療法) の影響に関する評価を行う。各因子と治療効果（臨床的效果の他、細胞死の

態様や増殖能に対する効果）や予後との相関を検討し、治療反応性や治療抵抗性に関する分子やマーカーの解析を行う。

4. 研究成果

乳癌における術前療法の効果改善を目的に、治療反応性、治療抵抗性に関するマーカーの確立をめざし、術前療法前後の乳がん組織を用いて、細胞死の態様、細胞増殖能の変化、がん細胞・間質のエネルギー代謝の変化について検討した。術前療法として、術前内分泌療法、術前化学内分泌療法を対象としたが、特にデータの信頼性を高めるため、それぞれ臨床試験の検体を用いて解析を行った。

術前内分泌療法前後の検体（71 症例）による検討で、アロマトラーゼ阻害剤による内分泌療法が、癌細胞にオートファジーを誘導し、一方でアポトーシスを低下させることを示した（図 1）。このアポトーシスの低下は従来の報告を裏付ける形となった。さらに、内分泌療法は癌細胞のみでなく、間質細胞にもオートファジーを惹起することを示した（図 2）。

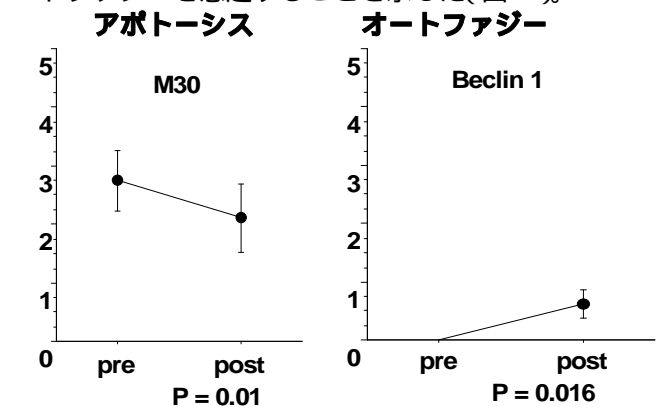


図 1. 術前ホルモン療法前後の癌細胞におけるアポトーシスマーカー (M30) とオートファジーマーカー (Beclin 1) の変化

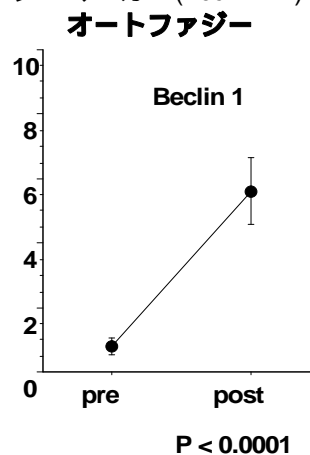


図 2. 術前ホルモン療法前後の間質細胞におけるオートファジーマーカー (Beclin 1) の変化

また治療開始前の組織において、間質のオートファジー関連蛋白の発現を見ると(図3)、発現のみられる症例では治療効果が低く、それは病理学的効果でも同様だった。さらに、オートファジー関連蛋白の発現がみられる組織では、がん細胞の増殖能が高まっていることを示した(図4)。これらの結果は、2013年度アメリカ臨床腫瘍学会(ASCO)にて発表した。

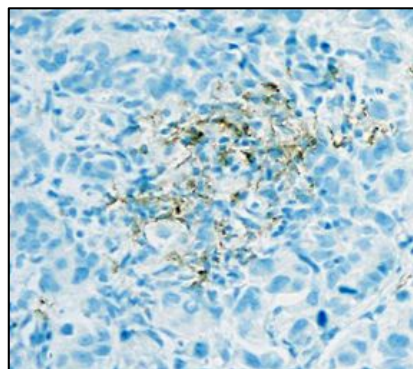


図3 間質におけるオートファジー関連蛋白(Beclin 1)の発現

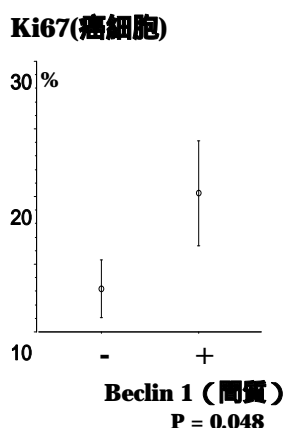


図4 間質におけるオートファジー関連蛋白(Beclin 1)の発現と癌細胞の増殖能

また、術前化学内分泌療法の検討として、術前エキセメスタン+シクロfosファミドの併用療法を用いた臨床試験の39例において治療前後の乳癌組織を用い、オートファジーマーカーであるbeclin 1, LC III、アポトーシス関連マーカーであるTUNEL, M30の染色を行い、癌細胞、間質細胞において、治療前後の変化、治療効果との関連につき検討した。その結果、オートファジーマーカーはともに治療により増加を示し、アポトーシスマーカーのM30も同様に治療後に増加した。しかしTUNELは治療前後で変化がみられなかった。ホルモン療法ではオートファジーマーカーは同様に増加を示したが、M30は治療前後で減少しており、アポトーシス誘導機構においてホルモン療法と化学内分泌療法、とくにシクロフ

オsfファミドの追加投与は異なる反応性を示すことが示唆された。

また、ホルモン療法では間質のオートファジー (beclin1発現)により治療抵抗性が誘導されることが示唆されたが、化学内分泌療法では、間質のオートファジーは治療反応性と関連が認められなかった。この結果は、間質のオートファジーによるホルモン療法抵抗性がシクロfosファミドの追加投与により克服できる可能性を示唆していると考えられた。よって、間質のオートファジー状態により、選択する治療法を変えるという個別化の可能性が示唆された。以上より、間質のエネルギー代謝による癌細胞の治療反応性に関しては、ホルモン療法と化学内分泌療法では異なることが示された。

これらの間質応答と乳癌治療反応性について基礎的に検討するため、コラーゲンスポンジを用いた両面共培養システムを構築し、報告した。今後は、こうしたシステムを用いて、間質による治療反応性に対する影響を分子生物学的に解析し、より繊細な個別化医療の可能性を検討する。

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)

Ueno T, Utsumi J, Toi M, Shimizu K. Characteristic gene expression profiles of human fibroblasts and breast cancer cells in a newly developed bilateral co-culture system. *BioMed Research International*, in press 査読有

Ueno T, Masuda N, Yamanaka T, Saji S, Kuroi K, Sato N, Takei H, Yamamoto Y, Ohno S, Yamashita H, Hisamatsu K, Aogi K, Iwata H, Sasano H, Toi M. Evaluating the 21-gene assay Recurrence Score® as a predictor of clinical response to 24 weeks of neoadjuvant exemestane in estrogen receptor-positive breast cancer. *Int J Clin Oncol*. 2014;19(4):607-13 doi: 10.1007/s10147-013-0614-x. 査読有

上野貴之 細胞増殖と細胞死の評価
Pharma Medica 2014; 32: 19-23

[学会発表](計 2件)

Ueno T, Masuda N, Saji S; Toi M. Relationship of tumor and stromal autophagy and endocrine

responsiveness in breast cancer tissues.
American Society of Clinical Oncology
2013.06.01 Chicago

上野 貴之 Preoperative systemic
therapy for HER2 positive breast
cancer 第12回日本臨床腫瘍学会学術集
会 2014.07.18 福岡

〔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：
出願年月日：
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

上野 貴之 (UENO Takayuki)
杏林大学・医学部・乳腺外科学・講師
研究者番号：40452362

(2) 研究分担者

杉江 知治 (SUGIE Tomoharu)
京都大学・医学研究科・乳腺外科学・准教授
研究者番号：70335264

(3) 連携研究者

増田 慎三 (MASUDA Norikazu)
独立行政法人国立病院機構大阪医療セン
ター・乳腺外科学
研究者番号：50443536