

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：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791454

研究課題名(和文)肺腺癌におけるアロマターゼの発現とその意義についての検討

研究課題名(英文)Significance of aromatase expression in lung adenocarcinoma

研究代表者

田中 和美(Tanaka, Kazumi)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30526843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：癌の発生・進展にはさまざまなシグナル伝達経路の関与が知られているが、肺腺癌におけるエストロゲン経路の関与は未だ明らかではない。我々は本研究において、特にEGFR野生型群の肺腺癌では、腫瘍内アロマターゼにより産生されたエストロゲンがエストロゲン受容体ER α を介してエストロゲン経路を活性化させることで、腫瘍の発育・進展に関与している可能性が高く、アロマターゼとER α は予後マーカーとして利用できることを明らかにした。

また、アロマターゼ阻害剤は乳がん治療に広く用いられているが、今回の結果は肺腺癌へのアロマターゼ阻害剤の有効性を裏付ける結果となる可能性があり、非常に有益であったと考える。

研究成果の概要(英文)：There are various tumor signaling pathway. However, the role of estrogen signaling pathway are not well understood in lung adenocarcinoma. In this study, we report that aromatase and ER α expression are independent, unfavorable prognostic factors in EGFR wild-type lung adenocarcinoma. We suggest that tumor progression caused by stimulation of estrogen signaling pathway could be enhanced by localized autocrine or paracrine production of estrogen by aromatase, especially in EGFR wild-type lung adenocarcinoma. Aromatase and ER α can be surrogate markers for therapy selection and prognosis prediction in lung adenocarcinoma. Our findings revealed that EGFR wild-type lung adenocarcinoma patients with high aromatase expression are a suitable subset for aromatase inhibitor (AI) treatment.

研究分野：肺がん

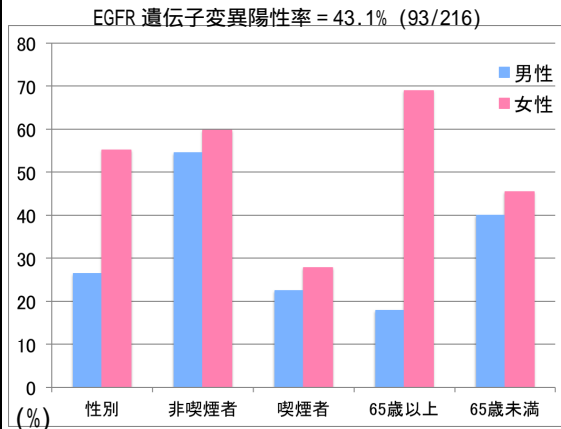
キーワード：エストロゲン経路 アロマターゼ 肺腺癌 EGFR遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

本邦において肺がんは、1993年以降男性におけるがん死原因の第1位であり、2007年には女性においても胃がんを抜き、がん死原因の第1位となった。現在も、なお肺がんの死亡数は男女共に年々増加の一途をたどっており、1950年から1997年の約47年間で、55～74歳での肺がん死亡率は、男性は10.5倍、女性は7.5倍になり、21世紀には年間8万人を超える人たちが肺がんで死亡すると予測される。その対策として、治療法・診断法の向上とともに、がんの発生や進展の病態解明が急務とされている。喫煙は肺癌のリスクファクターとして広く知られているが、近年、非喫煙者の女性における肺腺癌の発症率が増加しており、厚生労働省が行ったJPHC studyにおいても、非喫煙者の閉経女性においては、有月経期間が長い方が肺癌の発生率が高いという結果が得られている。このように、一部の肺癌では、その発生・進展へのエストロゲンを介した発がん経路(エストロゲン経路)の関与が注目されている。また、生体内のエストロゲン合成経路においての酵素であり、アンドロゲンをエストロゲンに変換するアロマターゼが非小細胞肺癌の80%以上に発現していることが近年の研究で明らかになった。

マウスを用いた施設での *in vivo* の実験においても、アロマターゼ阻害剤で非小細胞肺癌の発育を抑制できたという報告があり、ある種の肺癌においてアロマターゼの発現が癌の発生・進展に関与することが予測され、肺癌においてもアロマターゼ阻害剤が臨床応用できる可能性が期待されている。一方、肺腺癌の約40%では上皮成長因子受容体(EGFR)に変異が認められ、変異陽性の肺癌にはチロシンキナーゼ阻害剤であるゲフィチニブ(イレッサ)の奏効率が高いことが知られている。イレッサの有効性を調査する目的でアジア広範で行われた大規模臨床試験(IPASS試験)のsubset解析の結果、EGFR変異陽性率は、アジア人の非喫煙者女性では60%以上と特に高いというデータが示されている。当科における肺腺癌216症例においても、EGFR変異陽性率は非喫煙者女性では59.8%、65歳以上の女性では69.0%、65歳以上の非喫煙者女性では65.3%と非常に高い陽性率を示した<図1>。さらに、EGFR変異とエストロゲン受容体(ER α , ER β)の発現の関連を調べた研究からは、肺腺癌においてEGFR変異とER α の発現とに正の相関があることも報告されている。一方でEGFR変異とアロマターゼの発現の相関性の有無については未だ検討されていない。

<図1> 当科における肺腺癌の臨床背景別EGFR 遺伝子変異陽性率



2. 研究の目的

本研究ではアロマターゼおよびエストロゲン受容体(ER α , ER β)、プロゲステロン受容体(PR)などの性ホルモン受容体に加えHER2の肺腺癌における発現を調べるとともに、肺癌における代表的な遺伝子変異として知られるEGFR, KRAS, BRAF, HER2変異との相関も検討する。これらの蛋白発現と遺伝子変異との関連を明らかにし、さらに *in vitro*, *in vivo* の系を用いた肺腺癌におけるアロマターゼ阻害剤の有用性を検討することで、最終的には肺癌治療における新たな戦略を見出すことを目的に、本研究を計画した。

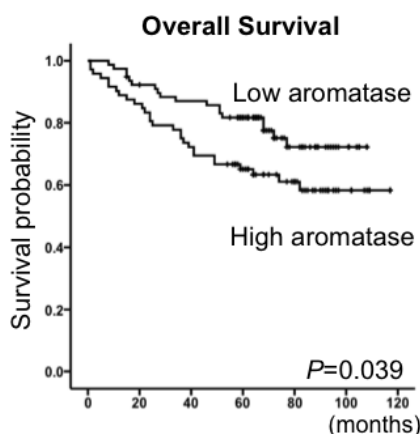
3. 研究の方法

- (1) 肺腺癌組織を用いたアロマターゼ、性ホルモン受容体(ERs, PR)、HER2に対する免疫染色：アロマターゼ、性ホルモン受容体(ERs, PR)、HER2に対する抗体を用いてそれぞれ免疫染色を行い、蛋白レベルでの発現とそれらの相関を調べるとともに、臨床病理学的因子などとの関連も比較検討する。
- (2) 肺腺癌におけるEGFR, KRAS, BRAF, HER2変異解析と、アロマターゼ、性ホルモン受容体(ERs, PR)、HER2の蛋白発現との相関の検討：EGFR, KRAS, BRAF, HER2の遺伝子変異についてdirect sequence法を用いて解析する。これらの結果と、アロマターゼの発現の有無との相関、また性ホルモン受容体およびHER2の発現との相関性の有無について統計学的解析を行う。
- (3) 肺腺癌の予後と、アロマターゼ、性ホルモン受容体および遺伝子変異との関連の解析：肺腺癌症例の予後について調査し、アロマターゼ、性ホルモン受容体および遺伝子変異の有無に関係して予後に差が出るかどうか、統計学的に解析を行う。

4. 研究成果

- (1) 肺腺癌組織を用いたアロマターゼ、性ホルモン受容体 (ERs, PR)、HER2 に対する免疫染色：肺腺癌 186 例に対し、免疫染色を行った。肺腺癌におけるアロマターゼ、ER、ER、PR、HER2 それぞれの陽性率は、86.6%、1.6%、80.1%、2.7%、4.5%であった。アロマターゼ、ER はそれぞれ、肺腺癌の 86.7%、80.3%と高い頻度で発現が認められ、72.4%で共発現が認められたが、統計学的に相関は認めなかった。また、これらの蛋白発現と臨床病理学的因子との間にも統計学的相関は認めなかった。
- (2) 肺腺癌における EGFR, KRAS, BRAF, HER2 変異解析と、アロマターゼ、性ホルモン受容体 (ERs, PR)、HER2 の蛋白発現との相関の検討：肺腺癌における EGFR, KRAS, BRAF, HER2 の遺伝子変異は、それぞれ 43.5%、14.0%、1.1%、1.6%に認められ、それらは排他的であった。アロマターゼ、性ホルモン受容体 (ERs, PR)、HER2 の蛋白発現との間には統計学的に相関は認めなかった。
- (3) 肺腺癌の予後と、アロマターゼ、性ホルモン受容体および遺伝子変異との関連の解析：まず、アロマターゼの発現は、発現強度から -, 1+, 2+, 3+ の 4 段階で評価し、-, 1+ を低発現群、2+, 3+ を高発現群と定義し、完全治癒切除術後 5 年を経過した 150 症例について予後解析を行った。この結果、全生存期間 (OS) において、アロマターゼ高発現群は低発現群に比べ有意に予後不良であった ($p=0.039$) < 図 2 >。次に、EGFR 変異の

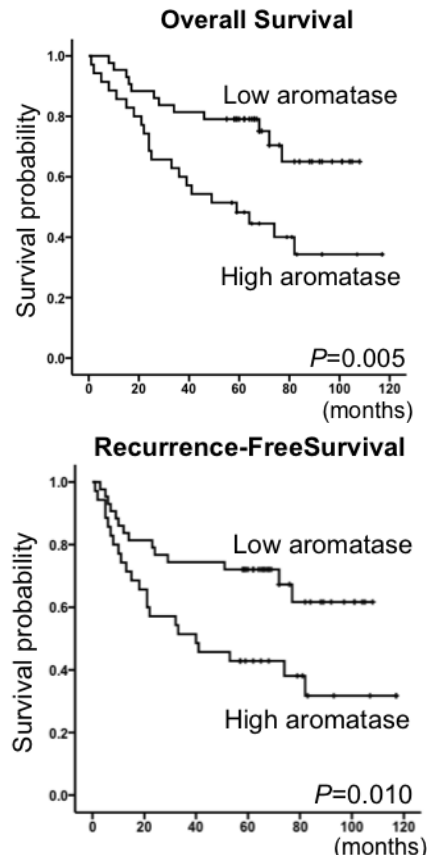
<図2> Survival curves of lung adenocarcinoma according to the immunoreactivity for aromatase



有無別に解析を行なったところ、EGFR 野生型群でアロマターゼ高発現群は OS, 無再発生存期間 (RFS) とともに有意に予後不良であった ($p=0.005, 0.010$) < 図 3 >。EGFR 野生型群では ER 発現も RFS

において有意に予後不良であった ($p=0.031$)。

<図3> Survival curves of lung adenocarcinoma with wild-type EGFR according to the immunoreactivity for aromatase



一方で、EGFR 変異型群においては、いずれも予後に統計学的有意差は認められなかった。更に、EGFR 野生型群で男女別にサブグループ解析を行なうと、アロマターゼ高発現群は女性でのみ有意に予後不良であり ($p=0.007$)、ER 発現は男性でのみ予後不良であった ($p=0.051$)。今回このように男女において違いができたことについては、まず本研究の対象となった女性はほとんどの症例が閉経後の症例であり、閉経により体内のエストロゲンが枯渇状態になったことで、腫瘍細胞のエストロゲン経路が機能するためには腫瘍自体がアロマターゼを発現してエストロゲンを供給する必要があるのではないかと考えられた。これに対して男性では、一生を通じて体内のエストロゲン量はそれほど変化しないため、腫瘍へのエストロゲンの供給も安定しており、このためエストロゲン経路を活性化させるためには、受容体の発現量の方がより重要になるのではないかと考えられた。以上より、特に EGFR 野生型群の肺腺癌では、腫瘍内アロマターゼにより産生されたエストロゲンが、ER を介してエス

トロゲン経路を活性化させることで、腫瘍の発育・進展に関与している可能性が高く、アロマターゼと ER は予後マーカーとして利用できることが示唆された。

また、この結果は、肺腺癌へのアロマターゼ阻害剤の有用性を裏付ける結果となる可能性があり、非常に有益であったと考える。

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)

[学会発表](計 4 件)

田中和美、清水公裕、永島宗晃、大滝容一、尾林 海、堀口 淳、小山徹也、竹吉 泉。肺腺癌におけるアロマターゼの発現の意義。第 55 回日本肺癌学会学術集会 2014. 11. 14 京都

Kazumi Tanaka, Kimihiro Shimizu, Toshiteru Nagashima, Yoichi Ohtaki, Kyoichi Kaira, Jun Horiguchi, Tetsunari Oyama, Izumi Takeyoshi. Significance of the estrogen signaling pathway in EGFR wild-type lung adenocarcinoma. ASCO annual meeting 2014 2014. 5. 31 Chicago

田中和美、清水公裕、堀口 淳、小山徹也、永島宗晃、大滝容一、竹吉 泉。肺腺癌におけるアロマターゼの発現の意義。第 114 回日本外科学会定期学術集会 2014. 4. 3 京都

田中和美、清水公裕、堀口淳、小山徹也、中野哲宏、大滝容一、竹吉泉。肺腺癌におけるアロマターゼの発現。第 112 回日本外科学会定期学術集会 2012. 4. 14 幕張

6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 和美 (TANAKA, Kazumi)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30526843