

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 24 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461939

研究課題名(和文) グルココルチコイド受容体がアロマターゼ発現に与える影響

研究課題名(英文) Effects of glucocorticoid receptor on aromatase expression

研究代表者

堀口 淳 (Horiguchi, Jun)

群馬大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70272242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：アロマターゼの発現がRORによりコントロールされていることを発見し、アロマターゼ遺伝子上にROR応答領域を同定した。さらにアロマターゼ遺伝子の活性化に起因すると考えられるエストロゲン感受性乳癌細胞株の増殖能活性化も確認した。乳癌組織ではRORおよびGRにアロマターゼ発現と正の相関関係があった。ER陽性乳癌細胞株およびER陽性臨床検体ではpromoter Aが有意に高かった。ER陽性乳癌の原発巣においてSTSと特にOATP 3A1との相関が高かった。

研究成果の概要(英文)：It was discovered that the expression of aromatase is controlled by ROR, and the ROR response area was identified on the aromatase gene. Further, it was confirmed that proliferative activity of estrogen-sensitive breast cancer cell lines was activated by the aromatase gene. There was a positive correlation between ROR or GR and aromatase expression in breast cancer tissue. Promoter A was significantly higher in ER-positive breast cancer cell lines and ER-positive clinical specimens. The correlation between STS and OATP 3A1 was particularly high in the primary tumor of ER-positive breast cancer.

研究分野：外科学一般

キーワード：アロマターゼ ROR ER

1. 研究開始当初の背景

アロマターゼはアンドロゲンをエストロゲンに変換することから、乳癌の分化・進展に大きく関与する重要な酵素であり、近年では乳癌の重要な治療標的となっている。閉経後乳癌では卵巣機能が低下しているため、アロマターゼによる副腎由来のアンドロゲンからエストロゲンへの変換が内分泌感受性腫瘍の重要な増殖メカニズムとなっている。一方で、多くの核内ホルモン受容体は乳癌で発現していることは分かっているが、乳癌において増殖的に働くのか抑制的に働くのか詳細は解明されていない。

2. 研究の目的

- (1) アロマターゼ遺伝子および発現の制御の解析
- (2) ヒト乳癌組織におけるグルココルチコイド受容体 (GR) 発現とアロマターゼ発現の検討
- (3) ヒト乳癌組織における GR 発現とアロマターゼ発現との関連性の解析および予後因子としての可能性の検討

3. 研究の方法

- (1) 乳癌組織を用いた Retinoic acid Receptor-related orphan receptor (ROR) α 、GR およびアロマターゼの mRNA 発現解析
- (2) エストロゲン受容体 (ER) α 陽性乳癌細胞株 ; MCF-7、T-47D、ZR-75-1 を用いて real-time PCR 法により ER α 遺伝子のプロモーター利用状況を解析
- (3) 乳癌臨床検体における ER α 遺伝子のプロモーター利用状況が予後因子または効果予測因子になりうるかどうかを検討
- (4) ER 陽性乳癌における Steroid sulfatase (STS) と 6 種類の Organ Anion Transporter Peptides (OATP) サブタイプの mRNA 発現を測定

4. 研究成果

アロマターゼの発現が ROR α によりコント

ロールされていることを発見し、アロマターゼ遺伝子上に ROR 応答領域を同定した。さらにアロマターゼ遺伝子の活性化に起因すると考えられるエストロゲン感受性乳癌細胞株の増殖能活性化も確認した。乳癌組織を用いた ROR α 、GR およびアロマターゼの mRNA 発現解析結果によると ROR α および GR にはアロマターゼ発現との間に正の相関関係を確認できた。また、ER α 陽性乳癌株 MCF-7、T-47D、ZR-75-1 では 3 株ともにプロモーター A からの転写産物が最も多く、次いでプロモーター C、D の順に多かった。ER α 陽性乳癌患者 43 例の臨床検体においてもほぼ乳癌細胞株と同様のプロモーター領域からの転写産物が多く認められた。臨床病理学的因子別の解析においてもプロモーター利用に差は認められなかった。転写産物の重回帰分析の結果ではプロモーター A だけが ER α に対し有意な独立変数であった。さらに乳癌細胞株におけるプロモーター領域の CpG アイランドの DNA メチル化状態を検討したところ、細胞株ごとに異なっていた。メチル化単独での転写制御の可能性は低いと考えられた。また、ER 陽性乳癌の原発巣において、STS および OATP のうち 1A2、1B1、1B3、3A1、4A1、5A1 の 6 つのサブタイプの mRNA 発現では、STS と複数の OATP mRNA 発現は有意に相関したが、特に 3A1 との相関が高かった。核グレード 3 群で 3A1 が有意に低く、5A1 発現は低い傾向にあった。リンパ節転移陽性群で 3A1 発現が有意に低く、5A1 発現が低い傾向にあった。

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 15 件)

1. Kurozumi S, Yamaguchi Y, Kurosumi M, Ohira M, Matsumoto H, Horiguchi J. Recent trends in microRNA research into breast cancer with particular focus on the associations between

- microRNAs and intrinsic subtypes. *J Hum Genet* 62(1):15-24,2017. (査読有)
2. Kurozumi S, Yamaguchi Y, Hayashi S, Hiyoshi H, Suda T, Gohno T, Matsumoto H, Takei H, Horiguchi J, Takeyoshi I, Oyama T, Kurosumi M. Prognostic value of the ubiquitin ligase carboxyl terminus of the Hsc70-interacting protein in postmenopausal breast cancer. *Cancer Med* 5(8):1873-82,2016. (査読有)
 3. Kurozumi S, Padilla M, Kurosumi M, Matsumoto H, Inoue K, Horiguchi J, Takeyoshi I, Oyama T, Ranger-Moore J, Allred DC, Dennis E, Nitta H. HER2 intratumoral heterogeneity analyses by concurrent HER2 gene and protein assessment for the prognosis of HER2 negative invasive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 158(1):99-111, 2016. (査読有)
 4. Higuchi T, Endo M, Hanamura T, Gohno T, Niwa T, Yamaguchi Y, Horiguchi J, Hayashi S. Contribution of Estrone Sulfate to Cell Proliferation in Aromatase Inhibitor (AI)-Resistant, Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. *PLoS One* 2016;11(5):e0155844. doi: 10.1371/journal.pone.0155844. eCollection 2016. (査読有)
 5. Tanaka K, Shimizu K, Kakegawa S, Ohtaki Y, Nagashima T, Kaira K, Horiguchi J, Oyama T, Takeyoshi I. Prognostic significance of aromatase and estrogen receptor beta expression in EGFR wild-type lung adenocarcinoma. *Am J Transl Res* 2016;8(1):81-97. eCollection 2016. (査読有)
 6. Tsuboi M, Yamane A, Horiguchi J, Yokobori T, Kawabata-Iwakawa R, Yoshiyama S, Rokudai S, Odawara H, Tokiniwa H, Oyama T, Takeyoshi I, Nishiyama M. APOBEC3B high expression status is associated with aggressive phenotype in Japanese breast cancers. *Breast Cancer* 23(5):780-8, 2016. (査読有)
 7. 堀口 淳 : 乳癌術前化学療法における CTC 検査の意義 . *細胞* 48(5)17-20,2016. (査読なし)
 8. Kurozumi S, Inoue K, Takei H, Matsumoto H, Kurosumi M, Horiguchi J, Takeyoshi I, Oyama T. ER, PgR, Ki67, p27(Kip1), and histological grade as predictors of pathological complete response in patients with HER2-positive breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy using taxanes followed by fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide concomitant with trastuzumab. *BMC Cancer* 15:622, 2015. (査読有)
 9. Hasegawa Y, Tanino H, Horiguchi J, Miura D, Ishikawa T, Hayashi M, Takao S, Kim SJ, Yamagami K, Miyashita M, Konishi M, Shigeoka Y, Suzuki M, Taguchi T, Kubota T, Akazawa K, Kohno N; JONIE Study Group. Randomized Controlled Trial of Zoledronic Acid plus Chemotherapy versus Chemotherapy Alone as Neoadjuvant Treatment of HER2-Negative Primary Breast Cancer (JONIE Study). *PLoS One* 2015;10(12):e0143643. doi: 10.1371/journal.pone.0143643. eCollection 2015. (査読有)
 10. Kurozumi S, Inoue K, Takei H, Matsumoto H, Kurosumi M, Horiguchi

- J, Takeyoshi I, Oyama T. ER, PgR, Ki67, p27(Kip1), and histological grade as predictors of pathological complete response in patients with HER2-positive breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy using taxanes followed by fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide concomitant with trastuzumab. *BMC Cancer*. 15:622, 2015 doi: 10.1186/s12885-015-1641-y. (査読有)
11. Higuchi T, Gohno T, Nagatomo T, Tokiniwa H, Niwa T, Horiguchi J, Oyama T, Takeyoshi I, Hayashi S. Variation in use of estrogen receptor- α gene promoters in breast cancer compared by quantification of promoter-specific messenger RNA. *Clin Breast Cancer* 14(4):249-57, 2014. (査読有)
 12. Nakajima H, Ishikawa Y, Furuya M, Sano T, Ohno Y, Horiguchi J, Oyama T. Protein expression, gene amplification, and mutational analysis of EGFR in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer* 21:66-74, 2014. (査読有)
 13. Higuchi T, Gohno T, Nagatomo T, Tokiniwa H, Niwa T, Horiguchi J, Oyama T, Takeyoshi I, Hayashi SI. Variation in Use of Estrogen Receptor- α Gene Promoters in Breast Cancer Compared by Quantification of Promoter-Specific Messenger RNA. *Clin Breast Cancer* 14(4):249-257, 2014. (査読有)
 14. 吉田 崇、木村盛彦、後藤與四成、堀口 淳、竹吉 泉 . 乳癌術後に高カルシウム血症を契機に発見された悪性リンパ腫の1例. *Kitakanto Med J* 64:159-163, 2014. (査読有)
 15. 内田 紗弥香、堀口 淳、高他 大輔、他 .ER 陽性原発性乳癌における Organic Anion Transporter Peptides (OATP) と臨床病理学的因子との関連性について. *乳癌基礎研究* 23:39-42, 2014. (査読有)
- 〔学会発表〕(計4件)
1. Horiguchi J, Takata D, Rokutanda N, Nagaoka R, Sato A, Tokiniwa H, Higuchi T, Uchida S, Tsuboi M, Kikuchi M, Takeyoshi I . Circulating tumor cells before neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. 14th St. Gallen International Breast Cancer Conference, 18-21 March 2015, Vienna
 2. 堀口 淳、高他大輔、六反田奈和、長岡りん、佐藤亜矢子、時庭英彰、内田紗弥香、荻野美里、樋口 徹、菊地麻美、竹尾 健、狩野貴之、竹吉 泉. 乳癌脳転移のサブタイプ別の治療法と予後 , 第 22 回日本乳癌学会学術総会 , 2014 年 7 月 10 日 ~ 12 日 , 大阪
 3. 堀口 淳、高他大輔、六反田奈和、長岡りん、佐藤亜矢子、時庭英彰、内田紗弥香、荻野美里、菊地麻美、竹吉 泉. 根治手術可能原発性乳癌における circulating tumor cells の意義と術前化学療法による変化. 日本外科学会, 2014 年 4 月 3 日 ~ 4 月 5 日 , 京都
 4. Horiguchi J, Takata D, Rokutanda N, Nagaoka R, Sato A, Tokiniwa H, Uchida S, Ogino M, Kikuchi M, Iino Y, Takeyoshi I. Circulating tumor cells in patients with operable breast cancer who received neoadjuvant chemotherapy. EBCC, 19-21 March 2014, Glasgow
- 〔図書〕(計1件)
1. 黒住 献、堀口 淳、松本広志、黒住昌史 : 乳がんにおける TILs

(tumor-infiltrating lymphocytes) の意義、乳がんの診断・治療 2016, メビオ
33(8), pp53-60, 2016

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀口 淳 (Horiguchi Jun)
群馬大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号 : 70272242

(2) 研究分担者

時庭 英彰 (Tokiniwa Hideaki)
群馬大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 50455979
樋口 徹 (Higuchi Toru)
群馬大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 00526832