

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861041

研究課題名(和文) 乳癌における3 β -HSD Type1発現の臨床的意義の解析研究課題名(英文) Human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in human breast cancer: clinical significance and prognostic associations

研究代表者

花村 徹 (HANAMURA, Toru)

信州大学・医学部附属病院・特任研究員

研究者番号：00532053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌におけるHSD3B1発現の臨床的意義に関しては未だ十分に解析されておらず、今回の解析を行った。未治療の乳癌161検体を用いHSD3B1発現を免疫染色法にて評価、各種臨床病理学的因および予後との関連につき解析した。HSD3B1高発現群は低発現群と比較し、有意に若年傾向、腫瘍浸潤径が小さい、非浸潤癌が多い、リンパ管侵襲陰性例が多いなどの特徴を認めた。予後の解析ではHSD3B1高発現群は低発現群と比較して有意に良好で、多変量解析においてもHSD3B1発現は独立した予後因子であった。HSD3B1が乳癌における予後因子であることが初めて見いだされたのは大変興味深い。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the clinical significance of 3 β -HSD type 1 in human breast cancer. Using immunohistochemistry (IHC), we evaluated 3 β -HSD type 1 expression in 161 human breast cancers. 3 β -HSD type 1 expression was inversely correlated with invasive tumor size, presence of invasive region, and lymphatic involvement. 3 β -HSD type 1 expression was significantly associated with decreased risk of recurrence or improved prognosis by both univariate and multivariate analyses. Our findings indicate that this enzyme is a prognostic factor in hormone-dependent breast cancer.

研究分野：癌の分子生物学

キーワード：乳癌 エストロゲン アンドロゲン ステロイド代謝 内分泌療法

1. 研究開始当初の背景

ホルモン依存性乳癌において Estrogen はその増殖を促進し、Androgen は腫瘍抑制的に働くことから、乳癌の増殖、進展は腫瘍局所におけるこれら活性型性ステロイドのバランスによって制御されていると考えられる。Estrogen は閉経前において卵巣で産生される他、循環血液中に豊富に存在する副腎由来の前駆体ステロイドから複雑な Steroid 代謝によって末梢組織においても合成され、その割合は閉経前で 75%、閉経後で 100%と報告されている。腫瘍局所での Estrogen 合成経路を標的とした Aromatase 阻害剤が標準治療となった今、その耐性メカニズムの理解、新規の治療ストラテジーの構築のため、このような腫瘍局所でのステロイド代謝の役割について理解することは近年ますます重要となってきた。

ステロイド代謝酵素である 3-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (3-HSD type 1; HSD3B1) は Estrogen 前駆体である Androstenedione および Testosterone の産生に關与する他、活性型 Androgen である Dihydrotestosterone を不活性型 Androgen である 5-androstane-3 β ,17 β -diol (3 β -diol) へ変換する。3 β -diol は Estrogenic androgen と呼ばれ、Estrogen 存在下で AR アゴニストとして腫瘍抑制的に働く一方で、Estrogen 非存在下では ER アゴニストとして腫瘍促進的に働くことが報告されている。以上より 3-HSD type 1 は腫瘍局所での Estrogen と Androgen のバランスを修飾する因子と考えられる。我々はこれまでに Aromatase 阻害剤 (AI) 耐性モデル細胞株において HSD3B1 発現が亢進すること、3-HSD type 1 によるステロイド代謝が ER 活性化に寄与する可能性を報告し、3-HSD type 1 によるステロイド代謝経路を AI 耐性メカニズムの候補の一つとして着目すると同時に乳癌において重要な機能を担うものと推測している。これまでに乳癌における 3-HSD type 1 発現の臨床的意義に関しては十分に解析されていないことから、今回の解析を行った。

2. 研究の目的

本研究では 3-HSD Type1 発現の乳癌における臨床病理学的意義、予後因子としての意義について解析、検証する。

3. 研究の方法

2004年1月から2005年12月の期間に当科で手術を行った、Stage を除く、前治療歴のないすべての乳癌症例 161 例を対象とし、

免疫染色法を用いて乳癌細胞質における 3-HSD type 1 蛋白の発現の有無を評価した。染色の評価は二名の病理医および一名の乳癌外科医により行い、癌組織全体の 50%以上に染色がみられる場合を陽性、それ以外はすべて陰性と定義した。

3-HSD type 1 発現と各種臨床病理学的因子 (年齢、閉経前後、組織型、腫瘍浸潤径、脈管侵襲の有無、リンパ節転移の有無、組織学的悪性度、ER 発現、PgR 発現、HER2 過剰発現の有無) との相関につき後方視的に解析した。同様に、予後 (無再発生存率、疾患特異的生存率) との相関につき後方視的に解析した。量的データの比較には Student-T 検定、質的データの比較には Mann-Whitney 検定もしくは二乗検定、予後の比較には Log-rank 検定および Cox 比例ハザード回帰モデルを用い単・多変量解析を行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

抗体の特異性の確認および乳癌組織における染色性

今回用いた 3-HSD type 1 抗体および染色プロトコルでは陽性コントロール標本 (胎盤組織) で強い染色が認められ、Isotype control 抗体を用いた場合、陽性コントロール標本に非特異的染色は認められなかった。MCF-7 由来 HSD3B1 過剰発現モデル細胞株およびそのコントロール細胞株の比較では、HSD3B1 過剰発現モデル細胞において、より強い染色が認められた。

解析に用いた症例の内訳

今回の解析に用いた症例の各種臨床病理学的因子の内訳に大きな偏りは認めず、一般的な乳癌症例の集団と同等と考えられる。全例 161 例中において 3-HSD Type 1 は 119 例 (73.9%) で陽性、42 例 (26.1%) で陰性と判定された。

乳癌サブタイプ別の 3-HSD type 1 発現

ER 陽性群において 3-HSD Type 1 陽性例が有意に多い一方、HER2 過剰発現の有無では 3-HSD Type 1 発現の有無に有意差を認めなかった。Subtype 別での 3-HSD Type 1 陽性例の頻度は、Luminal I type および Luminal HER2 Type、HER 2 type、TNBC の順に高かった。

ER 陽性乳癌 (n=130) における 3-HSD Type 1 発現と各種臨床病理学的因子の関連

ER 陽性乳癌 130 例に限った解析で、3-HSD Type 1 陽性群は陰性群と比較し有意に腫瘍浸潤径が小さい、非浸潤癌が多い、リンパ管侵襲陰性例多い、リンパ節転移陰性例が多いなどの特徴を認めた。

ER 陽性乳癌(n=130)における 3 β -HSD Type 1 発現と予後との関連

ER 陽性乳癌 130 例に限った解析で、Log-rank 検定を用いた単変量解析では 3 β -HSD Type 1 陽性群は陰性群と比較し無再発生存率、疾患特異的生存率のいずれにおいても有意に良好であった。Cox 比例ハザードモデルを用いた単・多変量解析では 3 β -HSD Type 1 発現は無再発生存率、疾患特異的生存率のいずれにおいても独立した予後因子として抽出された。

Estrogen や Androgen を含む活性型性ステロイドはホルモン感受性乳癌の増殖進展に重要な役割を果たす。これらの活性型性ステロイドは女性における卵巣や男性における精巣などの内分泌臓器で産生され血中に放出される一方で、末梢組織においても産生されることからその血中濃度は必ずしも標的臓器内のホルモン活性と同一とは限らない。このような標的臓器そのものにおけるホルモン合成の概念は Intracrine system と呼ばれている。Aromatase は乳癌局所における Estrogen 合成の律速酵素であることから、Aromatase 阻害剤がすでに乳癌に対する標準的治療として確立している。この他、血中に豊富に存在するステロイド硫酸抱合体からの Estrogen 産生に参与する Steroid sulfatase (STS) は乳癌において予後不良因子であり、ホルモン感受性乳癌における治療標的としての開発が進行中である。また、活性型 Androgen である Dihydrotestosterone (DHT) 産生の律速酵素である 5 α -reductase は乳癌において予後良好因子と報告されている。このように乳癌における Intracrine system の理解が進むにつれ、治療ターゲットの開発、薬剤耐性メカニズムの理解、生物学的マーカーの開発に対して数多くの示唆を与えている。

3 β -HSD type 1 はすべて種類の活性型性ステロイドの合性に必須であり、かつ活性型 Androgen の不活化にも関与することから、乳癌組織内における性ホルモンのバランスを調整する因子の一つと考えられる。3 β -HSD type 1 発現の乳癌における意義については十分に解析されておらず、この点に関して本研究により一定の見解が得られたと考えられる。すなわち、ER 陽性乳癌において 3 β -HSD Type 1 発現は腫瘍浸潤径が小さい、非浸潤癌、リンパ管侵襲陰性、リンパ節転移陰などの良好な予後と関連する臨床病理学的因子と正相関すること、無再発生存率、疾患特異的生存率のいずれにおいても独立した予後良好因子であることなどが見いだされた。さらに、多変量解析において 3 β -HSD Type 1 発現陰性である場合、無再発生存率、疾患特異的生存率に関する相対危険度はそれぞれ 3.36 および 12.23 であり、このことは腫瘍浸潤径、リンパ節転移、病理組織学的悪性度、PgR 発現、HER2 発現などの既存の予後因子と

比較して少なくとも同等かそれ以上の有効性があることを示している。

当初我々は、3 β -HSD type 1 によるステロイド代謝経路を AI 耐性メカニズムの候補の一つとして着目したにもかかわらず、今回の解析では AI 単独による術後補助療法がおこなわれた症例 (n=44) に限った解析でも 3 β -HSD type 1 発現群はかえって予後良好であった。この結果も含め、3 β -HSD type 1 は少なくとも未治療の乳癌においては腫瘍抑制的に働いていることが示唆される。

上述の如く 3 β -HSD type 1 により産生される 3 β -diol は周囲のステロイド環境によって Estrogen 様にも Androgen 様にもふるまうことから、3 β -HSD type 1 自体の機能も未治療の乳癌とその周囲のステロイド環境が大きく異なる AI 耐性乳癌とを同列に比較することはできないと考えられ、AI 耐性メカニズムと 3 β -HSD type 1 の関連の理解のためにはさらなる解析が必要である

前述のように、3 β -HSD Type 1 は 3 β -diol の産生に参与し、3 β -diol は Estrogen 存在下で AR アゴニストとして働く。このことから Androgen Receptor 発現と 3 β -HSD Type 1 発現の関連についても大変興味深く、今後さらに解析を進めてゆきたい。

今回の解析において ER 陰性乳癌の症例数が少なかったことから ER 陰性乳癌における 3 β -HSD Type 1 発現の意義については十分に解析には至っていない。したがって限られた症例数での解析結果であり、統計学的な有意差は認めないが、ER 陰性乳癌においても 3 β -HSD Type 1 発現は腫瘍浸潤径が小さい、非浸潤癌、リンパ管侵襲陰性、リンパ節転移陰などの良好な予後と関連する臨床病理学的因子と正相関する傾向が認められている。このことから、3 β -HSD Type 1 の機能は ER 非依存性である可能性も示唆され、今後さらに症例を重ね検討する余地があると思われる。

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)
Human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in human breast cancer: clinical significance and prognostic associations. Hanamura T, Ito T, Kanai T, Maeno K, Shimojo Y, Uehara T, Suzuki T, Hayashi SI, Ito KI. *Cancer Med*. 2016 May 3. doi: 10.1002/cam4.708. [Epub ahead of print] (査読あり)

[学会発表](計 1 件)
乳癌におけるアンドロゲン代謝酵素、3

-HSD Type1 発現の臨床病理学的意義及び予後
因子としての意義
第 23 回日本乳癌学会学術総会（2015 年 7 月
2-4 日、東京都）
花村徹, 小野真由, 大場崇, 家里明日美, 福島
優子, 伊藤勅子, 金井敏晴, 前野一真, 上原剛,
林慎一, 伊藤研一

6. 研究組織

(1) 研究代表者

花村 徹 (HANAMURA, Toru)
信州大学・医学部附属病院・特任研究員
研究者番号：00532053

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：