

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861051

研究課題名(和文) 乳癌におけるタキサン耐性機序のゲノムワイド解析と耐性克服への応用

研究課題名(英文) Exome sequencing of human breast cancer tissues resistant to taxanes.

## 研究代表者

遠藤 友美 (Endo, Yumi)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20566228

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)：本研究では、複数のタキサン抵抗性乳癌を対象に全エクソンシーケンス解析を行うことにより、共通する体細胞変異を見出し、その機能解析を通して、タキサン抵抗性メカニズムの解明とその克服を目指した。タキサン治療に抵抗性と考えられる6症例の凍結乳癌組織からと、そのうち3症例の血液からもDNAを抽出し、この計9検体を対象に全エクソンシーケンスを行った。それらの結果から、タキサン抵抗性へ関与が強いと思われる変異に絞り込んだ。次に、前述の変異が存在する遺伝子発現を当院で治療を行った患者122人の乳癌組織において測定、予後との相関を検討した。変異の存在する遺伝子のうちいくつかは、乳癌の予後との相関を認めた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to investigate the mechanisms of taxane resistance using whole exon sequencing and expression analyses in human breast cancer tissues. First we chose six breast cancer patients whose tumors responded well to anthracycline treatment but suffered disease progression on taxane treatment. Next, we examined whole exon sequencing on these samples. As a result, we found some somatic mutations which were considered to be candidate genes involved in the resistance to taxanes. Then, we performed mRNA expression analyses of these candidate genes in 122 breast cancers treated with taxanes. We correlated mRNA expression levels of these genes with clinicopathological factors and prognosis.

We identified 9 mutations common to all 6 patients analyzed in this study, and a further 16 mutations shared by 5 of them. Kaplan-Meier analyses showed that high level mRNA expression of 3 of these 25 genes was significantly associated with poorer disease-free survival.

研究分野：乳腺外科

キーワード：乳腺外科学

1. 研究開始当初の背景

乳癌治療において、アンスラサイクリン系およびタキサン系抗癌剤がキードラッグとして使用されてきたが、近年、タキサン系抗癌剤に無効な症例の存在が大きな臨床的課題となっている。世界中でタキサン耐性に関する研究が精力的に行われてきたが、その耐性機序はいまだ明らかになっていない。

また、近年、次世代シーケンサーの登場により、膨大かつ正確なゲノム情報が短時間に得られるようになり、これらのデータを元にして、特定の体細胞変異が、分子標的治療への効果や抵抗性に関与することが報告された。

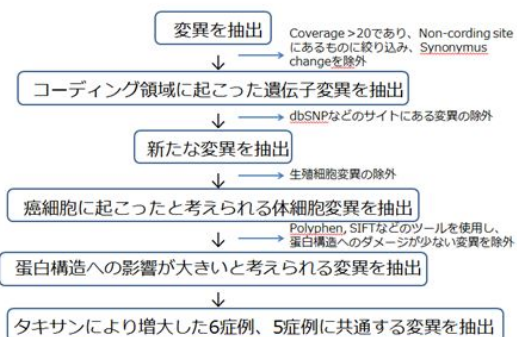
2. 研究の目的

本研究では、多数のタキサン耐性乳癌を対象に全エクソンシーケンス解析を行うことにより、共通する体細胞変異を見出し、その機能解析を通して、タキサン耐性メカニズムの解明とその克服を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) アンスラサイクリン系抗癌剤が著効下にも関わらず、タキサン系抗癌剤治療で増悪してしまった症例 6 例の乳癌組織から DNA を抽出
- (2) 上記のうち 3 例の乳癌患者血清からの DNA 抽出
- (3) 乳癌組織 6 例と、そのうち 3 例の血清 DNA の全エクソンシーケンスの施行
- (4) 全エクソンシーケンスのデータ解析  
下記 - の方法にて、シーケンスデータから、体細胞変異を絞りこんだ  
生殖細胞変異の除外  
新規タキサン耐性体細胞変異の抽出  
癌の生存、増殖、薬剤耐性に関与する体細胞変異の抽出

**変異の抽出**



(5) タキサン耐性に関与する体細胞変異の

選出。上記抽出された体細胞変異のなかから、6 例、5 例に共通する変異を選出し、タキサン耐性に関与する可能性の高い変異を選出する。全例に共通するものがない場合は、一例ずつ共通症例を減らし、検索範囲を広げていき、目的となる体細胞変異を選出する。

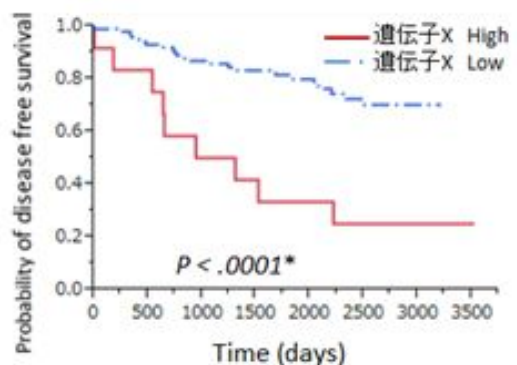
- (6) タキサン使用症例からの Total RNA の抽出。全エクソンシーケンスを行った症例を含む、タキサン使用症例、約 100 例の凍結乳癌組織から Total RNA を抽出する。
- (7) 新規タキサン耐性体細胞変異遺伝子の治療効果、予後との関連の検討。抽出した Total RNA を用いて、新規タキサン耐性体細胞変異遺伝子のメッセンジャーRNA 発現、蛋白発現を測定する。これらメッセンジャーRNA、蛋白の発現とタキサンに対する効果や予後との関連を確認し、バイオマーカーとしての応用の可能性について検討を行う。

4. 研究成果

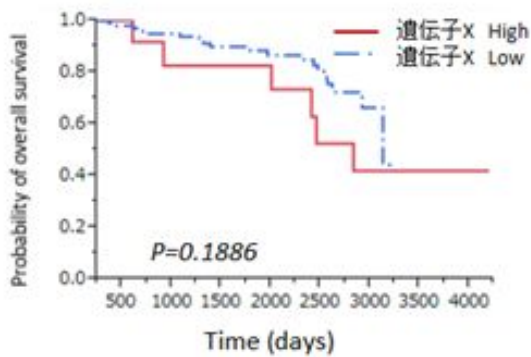
タキサン抵抗性症例において 6 例に共通する変異を 9 箇所、5 例に共通する変異を 16 箇所見出した。

変異の存在する遺伝子 X、Y の mRNA 発現が高値の症例では、有意に disease free survival (DFS) が不良であったが、overall survival (OS) では有意差を認めなかった。

**遺伝子 X**

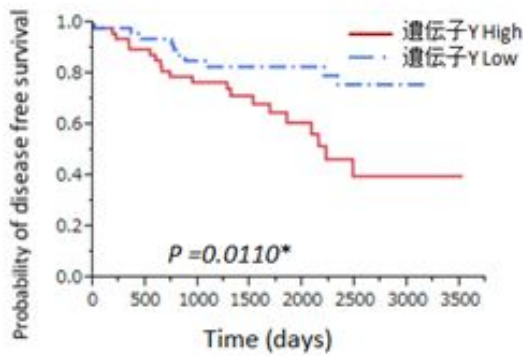


Disease free survival

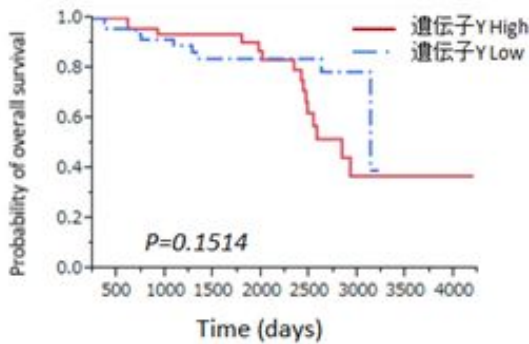


Overall survival

**遺伝子Y**



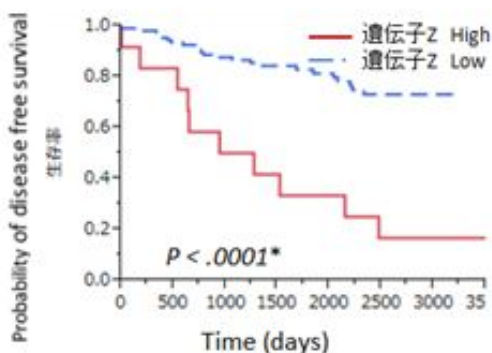
Disease free survival



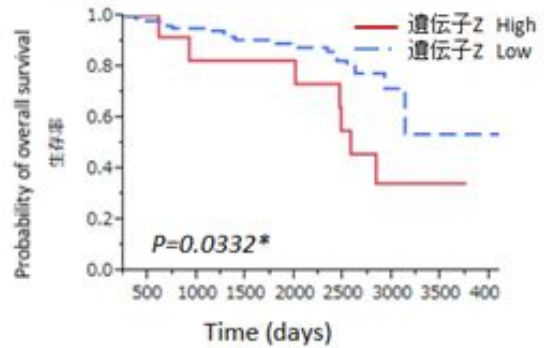
Overall survival

遺伝子 Z の mRNA 発現が高値の症例では、有意に DFS、OS が不良であった。

**遺伝子Z**



Disease free survival



Overall survival

遺伝子 X、Y、Z と、エストロゲンレセプター、プロゲステロンレセプター、HER2、腫瘍径、リンパ節転移の個数、Nuclear grade との相関について検討を行ったが、これら遺伝子の mRNA 発現と、臨床病理学的因子との間に相関は認めなかった。

次世代シーケンサーを用いて体細胞変異を網羅的に検索することで、タキサン抵抗性に関与する遺伝子を抽出する試みを行った。今後これら遺伝子の機能についてさらなる検討を行う予定である。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 遠藤友美、高橋智、吉本信保、波戸ゆかり、西本真弓、董宇、遠山竜也

次世代シーケンスを用いたタキサン系薬剤抵抗性に関わる遺伝子の探索

第 23 回日本乳癌学会学術総会

7 月 2 日-4 日 東京国際フォーラム (東京都・千代田区)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

遠藤 友美 (Endo Yumi)

研究者番号：20566228

研究機関名：名古屋市立大学

部局名：医学研究科

職名：助教