

令和元年5月23日

平成30年度独立行政法人日本学術振興会
藤田記念医学研究振興基金研究助成事業研究概要報告書

独立行政法人日本学術振興会理事長殿

研究者所属・職 九州大学大学院 消化器総合外科 助教
氏 名 山下 奈真

本助成事業による研究について、次のとおり報告します。

1. 研究課題名
トリプルネガティブ乳癌における heterogeneity の分子機序解明と新規治療への展開 (英文名) Elucidating the mechanism of heterogeneity in triple-negative breast cancer and clinical development in new cancer therapies.
2. 研究実施期間
平成30年4月1日～平成31年3月31日
3. 助成金額
1000千円
4. 研究の目的
エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)、HER2 いずれも陰性のトリプルネガティブ乳癌(TNBC)は従来より生物学的悪性度が高いこと、早期再発、予後不良という特徴があり、その治療選択肢も化学療法のみと狭いことから、治療に難渋する例が多い。一方、多くのTNBCはホルモン受容体陽性乳癌よりも化学療法への感受性が高い事も知られ、triple negative paradox と表現される。これはTNBCがBRCA1異常やがん幹細胞性(cancer stemness)、上皮間葉系移行(epithelial mesenchymal transition; EMT)と関連が深いbasal-like型、claudin-low型などを含む非常に多様性に富んだ集団であることを示唆し、中でも化学療法感受性が低い subgroup を把握し、特異的な分子標的の同定、新しい化学療法のレジメンの模索が重要な課題である。 実際の臨床の現場においても、急速な病状進行を呈する非常に予後不良なTNBCだけでなく、術後補助化学療法なしでも再発せず、長期予後良好なTNBCも多く経験する。従ってTNBCの多様性についてその分子機序を解明し、予後不良・良好の鑑別に役立つ因子を同定し予後不良な群に関しては、今後の治療に結びつく標的分子を解明することは常に重要である。またBRCA1遺伝子変異乳癌の多くはTNBCであり、若年発症である事が特徴である。BRCA1機能不全を呈する患者はDNA傷害性の薬剤(PARP阻害剤、白金製剤など)に高感受性を示すと考えられるため、BRCA1機能不全の臨床像を正確に捉えることは極めて重要である。本研究の最大の特徴は当科における豊富な切除標本検体を用いてより臨床的な視点から遺伝子・蛋白・エピゲノムに注目した解析を行い、EMTマーカー発現状況の評価、TNBCのバイオマーカーの同定、治療法への応用を検証することにある。

5. 研究概要報告

(1) E-cadherin、vimentin が共発現している乳癌は予後不良である

乳癌臨床検体において vimentin の蛋白発現を免疫組織化学染色にて評価したところ、TNBC において vimentin 発現が見られる症例は有意に予後不良であった。更に多変量解析の結果、TNBC において vimentin 発現は独立した予後不良因子であることを報告した(Yamashita N et al, J Cancer Res Clin Oncol. 2013)。対象とした乳癌臨床検体において E-cadherin/vimentin 発現パターンを免疫組織化学染色にて評価し、予後の解析を行ったところ、E-cadherin 高発現かつ vimentin 陽性の症例群が最も予後不良であった。この結果は乳癌の浸潤転移が EMT のみでは説明できないことを示唆する。従来 E-cadherin は癌進展に抑制的に働く因子としてとらえられてきたが、近年 E-cadherin が癌進展において促進因子として働くという知見も散見され、炎症性乳癌モデルにおける脈管内の腫瘍栓では E-cadherin が過剰発現することにより、腫瘍栓を構成する細胞がコンパクトに接着し、腫瘍栓が血管内皮との接着を避け遊走性・化学療法抵抗性を増すと考えられている(FJ. Rodriguez et al, Biochimica et Biophysica Acta 2012)。E-cadherin、vimentin の評価を行った症例の中で、リンパ節転移・遠隔転移巣のパラフィン切片を用いて E-cadherin、vimentin の蛋白局在を共焦点顕微鏡を用いて評価したところ、同一腫瘍細胞内に E-cadherin、vimentin が共発現している例が散見された。またこの共発現パターンを取る細胞はリンパ節転移巣に多く認められた。以上より上皮系・間葉系マーカーを共発現している細胞が高い転移能を持つ可能性が示唆され、本結果を論文報告した。

(2) BRCA 機能不全と染色体不安定性

遺伝性乳がんの原因遺伝子である BRCA1,2 は DNA 二重鎖切断の相同組み換え修復能に深くかかわっており、BRCA 機能喪失により DNA 修復経路に異常をきたし、その結果 DNA 傷害性の薬剤 (PARP 阻害剤、白金製剤など) に高感受性を示すと考えられる。また散発性乳癌において BRCA 遺伝子の変異は稀であり、BRCA 機能喪失のメカニズムについては未だ不明な点が多い。我々はこれまで BRCA1 遺伝子座の LOH は予後不良因子であることを報告してきた(S Okada, et al. Ann Surg Oncol. 2011)。BRCA1 遺伝子座の LOH や BRCA1 プロモーター領域のメチル化等のエピジェネティックな修飾は BRCA1 機能喪失に深く関連すると考えられている(BaylinSB, et al. Adv Cancer Res 1998, Jones PA, et al. Nat Genet 1999)。当科にて手術を施行した術前治療歴のない原発性浸潤性乳癌(小葉癌を除外)のうち 69 例の TNBC および 161 例の non-TNBC を対象とした。BRCA1 プロモーターメチル化解析を COBRA 法にて解析し、11 例に認められた。メチル化症例は全例 TNBC であった。メチル化症例は BRCA1 mRNA、蛋白発現共に有意に低い事を報告した(Yamashita N et al, Clin Breast Cancer. 2015)。また BRCA1 LOH、ゲノム不安定性、予後との関連を解析し論文報告予定である。

(3) TNBC のリンパ球浸潤と免疫チェックポイント機構

癌周囲の間質における stromal tumor infiltrating lymphocytes (s-TILs) は TNBC や HER2 陽性乳癌における予後因子・治療効果予測因子であることが報告されている(Denkert C. et al, J Clin Oncol 2010, Loi S. et al, Ann Oncol 2014)。一方、癌形成過程で腫瘍細胞は免疫抵抗性・抑制能を獲得する。中でも programmed cell death-1 (PD-1)/programmed cell death ligand-1 (PD-L1) 経路は T 細胞の機能を抑制する重要なチェックポイント因子である。抗 PD-1/PD-L1 抗体による抗免疫チェックポイント阻害の臨床効果が各癌腫にて注目されており、特に乳癌では TNBC での効果が期待される(NandaR et al, J Clin Oncol. 2016)。2014 年 International TILs Working Group の基準を用いて、術前化学療法前生検標本の HE 染色で評価する(R. Salgado et al., Ann Oncol. 2015)。s-TILs と治療効果、予後との関連を解析し論文・学会報告予定である。

6. 研究成果の発表について

独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業の英文称：
「JSPS Fujita Memorial Fund for Medical Research」

研究者所属・職 九州大学大学院 消化器・総合外科 助教
氏 名 山下奈真

○論文発表 発表者名、テーマ名、発表誌名・巻号、発刊年月を記入してください。
また、別刷り2部を必ず添付してください。

1. **Yamashita N, Tokunaga E, Iimori M, Inoue Y, Tanaka K, Kitao H, Saeki H, Oki E, Maehara Y.:** ○Epithelial Paradox: Clinical Significance of Coexpression of E-cadherin and Vimentin With Regard to Invasion and Metastasis of Breast Cancer. Clin Breast Cancer. 2018 Oct; 18(5):e1003-9. PMID: 29526677. doi: 10.1159/000479231

○口頭発表 発表者名、テーマ名、会合名、発表年月日を記入してください。

1. 第118回日本外科学会定期学術集会

乳癌における Prognostic Nutritional Index (PNI)と Controlling Nutritional Status(CONUT)の臨床的意義についての比較検討

一般演題(口演)

山下奈真、井上有香、佐伯浩司、沖英次、徳永えり子、前原喜彦
(2018年4月5~7日、東京)

2. 第26回日本乳癌学会学術総会

乳癌における術前末梢血リンパ球数・単球数比の臨床的意義についての検討
厳選口演

山下奈真、徳永えり子、井上有香、茂地智子、佐伯浩司、沖英次、前原喜彦
(2018年5月16~18日、京都)

3. 第55回日本癌治療学会学術総会

Axillary-lymph-node sampling versus axillary-lymph-node dissection in sentinel-node-positive patients with early breast cancer.

Poster

Nami Yamashita, Yuichi Hisamatsu, Eiki Sano, Tomoko Shigechi, Eriko Tokunaga, Hiroshi Saeki, Eiji Oki, Yoshihiko Maehara

(2018年10月18~20日、横浜)

4. **Nami Yamashita, Yuichi Hisamatsu, Tomoko Shigechi, Eriko Tokunaga, Hiroshi Saeki, Eiji Oki, Masaki Mori.** The immune microenvironment of ductal carcinoma in situ of the breast. San Antonio Breast Cancer Symposium 2018 (December 4-8, 2018, San Antonio).

○著 書 著者名、出版社名、刊行年月日、共著または単著の別を明記してください

注：

- (1) 研究成果を学会誌等で発表する場合には、独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業による助成を受けた旨を必ず明記して下さい。
また、その別刷り2部を「研究概要報告書」と共に必ず提出して下さい。
- (2) 本基金の助成に係る代表的な論文、口頭発表及び著書にはタイトルの前に○を付けて下さい。