

# 癌細胞および間質細胞から見た乳癌のアンドロゲン環境

高木 清司, 山口 美桜, 鈴木 貴

東北大学大学院医学系研究科病理検査学分野

## はじめに

乳癌は代表的なエストロゲン依存性腫瘍で、多くはエストロゲン依存性に進展する。そのためエストロゲンシグナルを遮断する内分泌療法は優れた治療効果を挙げている。その一方、乳癌細胞にはエストロゲン受容体(ER)と同等、もしくはそれ以上の頻度でアンドロゲン受容体(AR)も発現しており、アンドロゲン依存性腫瘍としての性格を帯びていることも事実である。乳癌におけるアンドロゲンの役割はいまだ十分明らかではなく、ARの発現意義や増殖に対する作用について相反する報告がなされるなど非常に複雑な様相を呈している。

本総説では乳癌におけるアンドロゲン作用を規定する因子(AR, アンドロゲン合成酵素, アンドロゲン応答遺伝子)について概説しつつ、乳癌間質に対するアンドロゲン作用という新たな観点から乳癌におけるアンドロゲンの役割について改めて考えてみたい。

## 1. 性ホルモン作用の現れ方

性ホルモン産生臓器で産生された活性型性ホルモンが血中を介してもしくは血中の不活性型性ホルモンを基質として、標的細胞自身が活性型性ホルモンを産生して作用することによって性ホルモン作用は発揮される。活性型性ホルモンは標的細胞に発現する性ホルモン受容体と結合して受容体の転写因子としての働きをONにし、受容体がホルモン応答配列と呼ばれるDNAのエンハンサー領域に結合して転写共役因子およびRNAポリメラーゼをリクルートして種々の遺伝子(性ホルモン応答遺伝子)の発現を誘導する。

以上より性ホルモン依存性腫瘍の内分泌環境を理解するうえでは、性ホルモン受容体、性ホルモン合成酵素、そして性ホルモン応答遺伝子を考える必要がある。

## 2. 乳癌組織におけるARの発現およびその意義

ARは主に乳癌細胞に発現し、70~90%の症例がAR陽性で見積もられている<sup>1)</sup>。これはERの陽性頻度と同等もしくは上回る頻度である。Ogawaらは227例の本邦の乳癌症例を対象とした解析により、AR陽性乳癌は腫瘍径が小さくリンパ節転移の頻度も低いことなどを報告している<sup>2)</sup>。一方、予後との関連についても複数の研究者が報告しているが、必ずしも意見の一致を見ているわけではない。Petersらは免疫組織化学的手法によりER陽性乳癌においてARが予後良好因子となることを報告しているが<sup>3)</sup>、Soreideらの報告ではARと無病生存期間との間に有意な関連は示されていない<sup>4)</sup>。このような差異はARの発現が必ずしも乳癌組織におけるアンドロゲンの活性を正確に反映し得ないことが一因である。例えば、ARが発現していても活性型アンドロゲンが乳癌局所で合成されていなければアンドロゲン活性は発揮されず、われわれは過去にARの発現のみでは予後との関連が見られず、活性型アンドロゲン合成酵素である5 $\alpha$ -reductase type 1 (5 $\alpha$ Red1)とARの共発現が乳癌の予後良好因子となることを報告している<sup>5)</sup>。また、後述するようにアンドロゲンの活性はエストロゲンによる修飾を受けることも知られており、ERの発現の有無によってもARの発現意義が異なる可能性が指摘されている<sup>6)</sup>。

これに加えて近年われわれは、乳癌間質細胞、とくに乳癌組織に浸潤するマクロファージにおいてARが発現する可能性を見いだしているが、その意義について後に改めて触れたい。

## 3. 乳癌組織におけるアンドロゲンの局所合成およびその制御

現在知られている最も高活性の自然型アンドロゲンはジヒドロテストステロン(DHT)であるが、乳癌患者の血中DHT濃度は健常女性と同程度できわめて低い。その一方、乳癌組織中DHT濃度は血中濃度の3倍と高値であることが報告されている<sup>7)</sup>。このことは乳癌組織においてDHTが局所合成されていることを示す。これ

連絡先：高木清司

東北大学大学院医学系研究科病理検査学分野  
〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1  
TEL/FAX : 022-717-8677  
E-mail : kiyoshi.takagi.b7@tohoku.ac.jp

までの研究により、乳癌局所での DHT 合成は副腎アンドロゲンであるアンドロステンジオン (A4) を前駆体として 2 種類のアンドロゲン合成酵素によってなされることが明らかになっている。2 種類の酵素とは 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 5 (17 $\beta$ HSD5) と先述の 5 $\alpha$ Red1 である。17 $\beta$ HSD5 は A4 をテストステロンに変換する酵素であり、5 $\alpha$ Red1 はテストステロンから DHT への変換を触媒する。

17 $\beta$ HSD5 は多くの乳癌組織で過剰発現していることが報告されているが<sup>8)</sup>、17 $\beta$ HSD5 高発群は低発群と比較して予後不良であるという Vihko らの報告<sup>9)</sup>は興味深い。これは、5 $\alpha$ Red1 が AR と共発現することによって予後良好因子となる<sup>5)</sup>ことと対照的である。17 $\beta$ HSD5 は aldo-keto reductase family 1 member C3 (AKR1C3) とも呼ばれ、テストステロンの合成のみならず、プロスタグランジン F2 $\alpha$  の合成にも寄与する。そして、プロスタグランジン F2 $\alpha$  はその受容体である FP 受容体を過剰発現させた乳癌培養細胞 MCF-7 の増殖を促進させることが知られており<sup>9)</sup>、予後不良因子としての 17 $\beta$ HSD5 はこのような側面を反映しているのかもしれない。

ヒトの 5 $\alpha$ Red としては type 1 から type 3 の 3 種類が知られている。われわれの過去の研究<sup>5, 10)</sup>では 5 $\alpha$ Red1 が 59% の乳癌で発現し、かつ組織中 DHT 濃度と有意に相関していたのに対して 5 $\alpha$ Red2 の陽性頻度が 15% 程度であったことから、DHT 合成に寄与するのは主に 5 $\alpha$ Red1 であると考えられた。5 $\alpha$ Red3 がクローニングされたのはその後であったため<sup>10)</sup>、5 $\alpha$ Red3 の乳癌における DHT 合成への関与は検討できていない。

アンドロゲン合成酵素ではないが、エストロゲン合成酵素であるアロマターゼも DHT 合成の調節因子であることも忘れてはならない。アロマターゼは A4 およびテストステロンをエストロンおよびエストラジオールへ変換する酵素であり、乳癌組織におけるエストロゲンの局所合成において最も重要な酵素かつ治療標的である。アロマターゼと 5 $\alpha$ Red1 は互いに基質を取り合う関係であることから、アロマターゼは DHT 合成の負の調節因子となり得る。われわれは組織中 DHT 濃度とアロマターゼの発現が逆相関し、アロマターゼ陽性乳癌間質細胞によって MCF-7 のアンドロゲン合成が抑制されることを証明したほか<sup>5)</sup>、術前にアロマターゼ阻害剤 (AI) の投与を受けた乳癌組織において DHT 合成が亢進していることを見いだした<sup>11)</sup>。これは AI による治療に伴ってアンドロゲン作用が増大する可能性を示唆するが、その意義については後に詳述する。

#### 4. 乳癌におけるアンドロゲン応答遺伝子

アンドロゲン作用はアンドロゲン応答遺伝子の機能の総和として現れることから、われわれは乳癌におけるアンドロゲン応答遺伝子の探索に取り組んできた。乳癌培養細胞 T-47D を用いてマイクロアレイによって約 600 のアンドロゲン応答遺伝子の候補を見だし、それらの機能や乳癌組織における発現意義の解明を進めてきたが<sup>12)</sup>、これらは非常に多彩な役割をもっているようである。例えば *HSD17B2* はエストロゲン代謝酵素 17 $\beta$ HSD2 をコードする遺伝子で、アンドロゲンによるエストロゲン依存性増殖の抑制に関わる<sup>11)</sup>。一方、*KLF5* は転写因子 Krüppel-like factor 5 をコードするが、この転写因子はさまざまな遺伝子の発現を調節して乳癌の増殖を促進する作用をもっている<sup>13)</sup>。

さて、では培養細胞の実験で見いだしたこれらのアンドロゲン応答遺伝子は、実際の乳癌組織においてアンドロゲンによる制御に依存して発現しているかというところではない。すなわち AR が発現している、もしくはアンドロゲンが十分合成されていても発現が誘導されていないことが多い。これにはエストロゲンによる AR 転写活性の抑制が深く関与している。ルシフェラーゼアッセイを用いて AR 転写活性を評価したところ、AR 転写活性はエストロゲンによって著明に抑制されることが分かった<sup>11)</sup>。これは AR と ER の相互作用などが関連していると思われる。いずれにせよ、乳癌組織においてはエストロゲンによってアンドロゲン作用は抑制されていると考えられる。では、AI によってエストロゲン作用が抑制された状況ではどうだろうか。われわれは、術前に AI の投与を受けた乳癌症例の生検組織と手術検体でアンドロゲン応答遺伝子の発現をマイクロアレイで比較、半数近くのアンドロゲン応答遺伝子が AI によって発現上昇することを突き止めた<sup>14)</sup>。AI はエストロゲン作用の抑制とアンドロゲン作用の増大という 2 つの内分泌環境の変化をもたらすと見えるだろう。

#### 5. アンドロゲン作用と AI 耐性

アンドロゲン作用の増大は AI の治療効果にどのような影響をもたらすだろうか。Fujii らは、エストロゲン非存在下での長期培養によって得られた T-47D 由来 AI 耐性株で AR およびアンドロゲン応答遺伝子 PSA (prostate-specific antigen) の発現が亢進していることを報告している<sup>15)</sup>。興味深いことに、このモデルはエストロゲン依存性増殖能を喪失している代わりにアンドロゲン依存性に

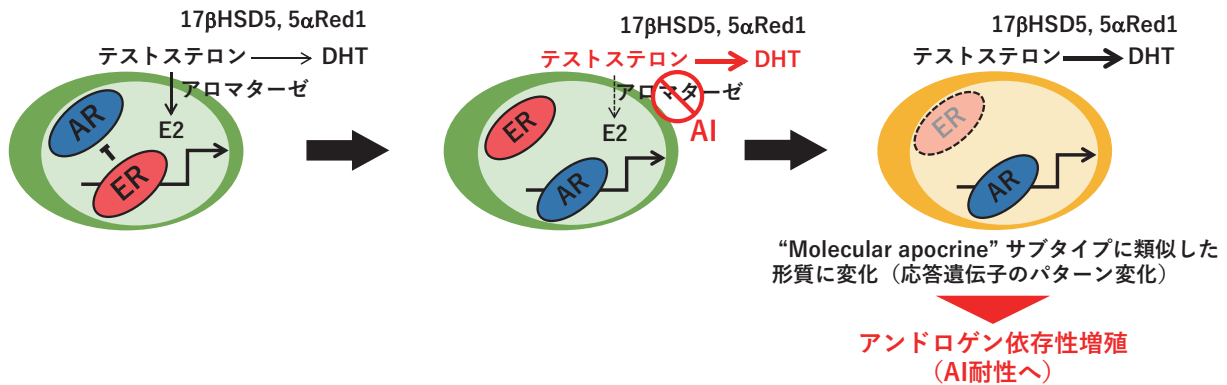


図1 エストロゲンによるAR転写活性の調節  
ARの転写活性はエストロゲン（もしくはER）によって抑制されており、アロマトラーゼ阻害剤（AI）によってエストロゲン作用を抑制することによってアンドロゲン作用が増大する。一方、エストロゲン非存在下でのアンドロゲン作用は質的変化を伴ってAI耐性に関与する（アンドロゲン依存性増殖機構の獲得）。

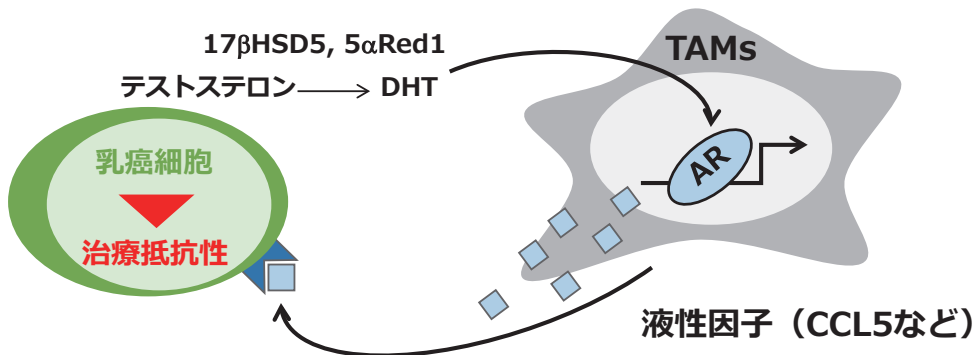


図2 乳癌組織浸潤マクロファージにおけるアンドロゲン作用  
腫瘍浸潤マクロファージ（TAMs）の一部にARが発現し、アンドロゲンによって誘導される液性因子が乳癌の進展を促進する。

増殖する性質を有しており、アンドロゲン応答遺伝子の発現プロファイルは親株と大きく異なっていた。これは、エストロゲン依存性乳癌細胞がAIによるエストロゲンの枯渇に適応するためにエストロゲン依存性の性質を放棄し、代わりにアンドロゲン依存性の性質を獲得したためと考えられ、AI耐性メカニズムの1つと考えられる（図1）。近年の研究によりER陰性乳癌の中にARシグナルが活性化している一群が存在することが知られており<sup>16)</sup>、それらとアンドロゲン依存性を獲得したAI耐性モデルが性ホルモン作用の点で符合するのは大変興味深い。

## 6. 乳癌間質細胞におけるアンドロゲン作用

乳癌局所でアンドロゲンが合成されることはすでに述べたが、乳癌細胞以外にもアンドロゲンの標的細胞が存在する可能性を当研究室の最近の研究成果を交えつつ示したい。乳癌組織にはマクロファージの浸潤が高頻度に見られるが、これらは腫瘍随伴マクロファージ (tumor-associated macrophages; TAMs) と呼ばれ、乳癌細胞

の遊走、転移等を促進することが知られている。乳癌組織を用いてマクロファージマーカー（CD163）とARの二重免疫組織化学を行ったところ、一部のマクロファージがARを発現することが分かり、TAMsがアンドロゲン作用を受けることが示唆された。その意義をさらに探るためにCD163と5αRed1の免疫染色を施行してTAMsの意義をアンドロゲン合成能に応じて層別解析を行ったところ、TAMsと乳癌の悪性度との関連は5αRed1陽性症例にのみ認められた。これはTAMsの腫瘍促進作用の発露にアンドロゲンが重要であることを意味している。その分子メカニズムは現在解析中であり、アンドロゲンによる液性因子の発現調節に注目している（図2）。現在までに、アンドロゲンによってマクロファージにおけるC C motif chemokine 5 (CCL5)の発現が亢進し、乳癌細胞に発現するC-C chemokine receptor type 3 (CCR3)を介して乳癌の進展や治療抵抗性獲得を促進することを見いだしている<sup>17)</sup>。いずれにせよ、間質細胞に目を向けることで乳癌におけるアンドロゲン作用の新たな側面が見えてくるのが期待される。

## 引用文献

1. Suzuki T, Miki Y, Takagi K, Hirakawa H, Moriya T, Ohuchi N, Sasano H (2010) Androgens in human breast carcinoma. *Med Mol Morphol*, 43: 75-81.
2. Ogawa Y, Hai E, Matsumoto K, Ikeda K, Tokunaga S, Nagahara H, Sakurai K, Inoue T, Nishiguchi Y (2008) Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological factors and biomarkers. *Int J Clin Oncol*, 13: 431-435.
3. Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, Bianco-Miotto T, Centenera MM, Harris JM, Jindal S, Segara D, Jia L, Moore NL, Henshall SM, Birrell SN, Coetzee GA, Sutherland RL, Butler LM, Tilley WD (2009) Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer. *Cancer Res*, 69: 6131-6140.
4. Soreide JA, Lea OA, Varhaug JE, Skarstein A, Kvinnsland S (1992) Androgen receptors in operable breast cancer: relation to other steroid hormone receptors, correlations to prognostic factors and predictive value for effect of adjuvant tamoxifen treatment. *Eur J Surg Oncol*, 18, 112-118.
5. Suzuki T, Miki Y, Moriya T, Akahira J, Ishida T, Hirakawa H, Yamaguchi Y, Hayashi S, Sasano H (2007) 5alpha-reductase type 1 and aromatase in breast carcinoma as regulators of in situ androgen production. *Int J Cancer*, 120: 285-291.
6. Aristomenis A, Ilianna Z, Athanasios GP, Michalis VK (2020) Androgen Receptor in Breast Cancer-Clinical and Preclinical Research Insights. *Molecules*, 25, 358.
7. Recchione C, Venturelli E, Manzari A, Cavalleri A, Martignetti A, Secreto G (1995) Testosterone, dihydrotestosterone and oestradiol levels in postmenopausal breast cancer tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 52: 541-546.
8. Vihko P, Herrala A, Harkonen P, Isomaa V, Kaija H, Kurkela R, Li Y, Patrikainen L, Pulkka A, Soronen P, Torn S (2005) Enzymes as modulators in malignant transformation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 93, 277-283.
9. Yoda T, Kikuchi K, Miki Y, Onodera Y, Hata S, Takagi K, Nakamura Y, Hirakawa H, Ishida T, Suzuki T, Ohuchi N, Sasano H, McNamara KM (2015) 11 $\beta$ -Prostaglandin F<sub>2</sub>  $\alpha$ , a bioactive metabolite catalyzed by AKR1C3, stimulates prostaglandin F receptor and induces slug expression in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*, 413: 236-247.
10. Suzuki T, Darnel AD, Akahira JI, Ariga N, Ogawa S, Kaneko C, Takeyama J, Moriya T, Sasano H (2001) 5alpha-reductases in human breast carcinoma: possible modulator of in situ androgenic actions. *J Clin Endocrinol Metab*, 86: 2250-2257.
11. Uemura M, Tamura K, Chung S, Honma S, Okuyama A, Nakamura Y, Nakagawa H (2008) Novel 5 alpha-steroid reductase (SRD5A3, type-3) is overexpressed in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer, Sci*, 99: 81-86.
12. Takagi K, Miki Y, Nagasaki S, Hirakawa H, Onodera Y, Akahira J, Ishida T, Watanabe M, Kimijima I, Hayashi S, Sasano H, Suzuki T (2010) Increased intratumoral androgens in human breast carcinoma following aromatase inhibitor exemestane treatment. *Endocr Relat Cancer*, 17: 415-430.
13. Takagi K, Miki Y, Onodera Y, Nakamura Y, Ishida T, Watanabe M, Inoue S, Sasano H, Suzuki T (2018) Krüppel-like factor 5 in human breast carcinoma: a potent prognostic factor induced by androgens. *Endocr Relat Cancer*, 19: 741-750.
14. Takagi K, Miki Y, Ishida T, Sasano H, Suzuki T (2018) The interplay of endocrine therapy, steroid pathways and therapeutic resistance: Importance of androgen in breast carcinoma. *Mol Cell Endocrinol*, 466: 31-37.
15. Fujii R, Hanamura T, Suzuki T, Gohno T, Shibahara Y, Niwa T, Yamaguchi Y, Ohnuki K, Kakugawa Y, Hirakawa H, Ishida T, Sasano H, Ohuchi N, Hayashi S (2014) Increased androgen receptor activity and cell proliferation in aromatase inhibitor-resistant breast carcinoma. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 144 Pt B: 513-522.
16. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, Larsimont D, Macgrogan G, Bergh J, Cameron D, Goldstein D, Duss S, Nicolaz AL, Brisken C, Fiche M, Delorenzi M, Iggo R (2005) Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene*, 24: 4660-4671.
17. Yamaguchi M, Takagi K, Narita K, Miki Y, Onodera Y, Miyashita M, Sasano H, Suzuki T (2021) Stromal CCL5 Promotes Breast Cancer Progression by Interacting with CCR3 in Tumor Cells. *Int J Mol Sci*, 22: 1918.