



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1467号
学位記番号	第1053号
氏名	浅野 倫子
授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位論文の題名	High expression of <i>LMTK3</i> is an independent factor indicating a poor prognosis in estrogen receptor $\alpha$ -positive breast cancer patients ( <i>LMTK3</i> の高発現が ER $\alpha$ 陽性乳癌では予後不良因子となる)  Japanese Journal of Clinical Oncology, 44(10): 889-897, 2014
論文審査担当者	主査： 高橋 智 副査： 稲垣 宏, 竹山 廣光

## 論文内容の要旨

### 【背景】

乳癌は女性の代表的な悪性疾患であり、乳癌による死亡数は近年増加傾向にある。乳癌の約80%においてエストロゲン・レセプター (ER)  $\alpha$  の過剰発現が認められるが、これら ER $\alpha$  陽性乳癌は、エストロゲン依存性の増殖を示すため、約70~80%の症例においてホルモン治療が有効である。しかしながら、一旦再発すると、一定期間はホルモン療法が有効であっても、すべての患者においてホルモン療法に抵抗性を示す時期が訪れ、そして死に至る。したがって、ホルモン療法抵抗性の機序の解明は重要な臨床的課題となっている。最近、網羅的キノーム・スクリーニングという手法により、ER $\alpha$  のリン酸化に関与するチロシンキナーゼ LMTK3 (lemur tyrosine kinase-3) が同定され、LMTK3 は ER $\alpha$  の発現および分解を調整することでホルモン療法抵抗性に関与している可能性が示された。

### 【目的】

そこで今回私たちは、乳癌組織における LMTK3 発現、および LMTK3 mRNA 発現への関与が報告されている遺伝子多型 (SNP ; single nucleotide polymorphism) (rs9989661, rs8108419) の予後への影響を検討した。

### 【対象・方法】

2001年4月~2005年12月に当院で手術を施行した原発乳癌219例の手術検体を用いて RNA を抽出、TaqMan を用いた RT-qPCR 法にて LMTK3 mRNA 発現を解析した。また、1983年5月~2005年12月に当院で手術を施行した乳癌約471例の手術検体を用いて DNA を抽出し、LMTK3 の2か所の SNP の解析を行い予後との相関関係を検討した。

### 【結果】

全症例 (n=219) を対象とした解析では LMTK3 mRNA 発現と予後との間に相関は認めなかった。しかし、ER $\alpha$  陽性症例 (n=154) を対象として解析したところ、LMTK3 高発現症例は低発現症例に比べ、無病生存期間 (DFS (disease-free survival))、全生存期間 (OS (overall survival)) とともに短く予後不良であった (それぞれ  $P=0.031$ 、 $P=0.002$ )。次に、術後ホルモン療法を受けた ER $\alpha$  陽性乳癌 (n=146) を対象に同様の検討を施行したが、LMTK3 高発現症例は低発現症例に比べ、DFS、OS とともに予後不良であった ( $P=0.031$ 、 $P=0.003$ )。次に、術後ホルモン療法を受けた ER $\alpha$  陽性乳癌を対象に、多変量解析を行った結果、LMTK3 高発現は乳癌における独立した予後不良因子であることが示された。一方、ER $\alpha$  陰性乳癌では LMTK3 発現と予後との間に相関は認めなかった。次に、SNP の検討を行ったが、rs9989661(T>C) T/T 遺伝子型と rs8108419(G>A) G/G or A/G 遺伝子型と予後との間に相関は認めなかった。

### 【考察】

乳癌におけるホルモン療法の抵抗性の機序として、現在までに ER $\alpha$  の陰性化や変異、ER $\alpha$  と増殖因子受容体のシグナル伝達経路のクロストークなど様々な因子が報告されている。今回検討した LMTK3 は、heat shock 蛋白のひとつである HSPB8 (heat shock 22kDa protein 8) の発現を亢進すること、HSPB8 発現亢進は乳癌における代表的なホルモン療法薬でタモキシフェンによる乳癌細胞の細胞死を抑制することが報告されている。本研究では、術後ホルモン療法を施行された ER $\alpha$  陽性乳癌において LMTK3 高発現症例の予後が不良であったが、その理由として、LMTK3 発現亢進が HSPB8 発現亢進を誘導し、その結果として術後ホルモン療法の効果が減弱して予後不良に至ったのかもしれない。また、LMTK3 の SNP (rs9989661(T>C) T/T 遺伝子型と rs8108419(G>A) G/G or A/G 遺伝子型) は欧米人を対象とした検討では予後に関与するとされたが、今回の日本人乳癌患者を対象とした検討では予後との相関はなかった。その理由のひとつとしてこれら SNP のアレルの分布が欧米人と日本人との間で大きく異なることが原因なのかもしれない。

## 論文審査の結果の要旨

【目的】乳癌は女性の代表的な悪性疾患であり、乳癌による死亡数は近年増加傾向にある。乳癌の約80%においてエストロゲン・レセプター (ER)  $\alpha$  の過剰発現が認められるが、これら ER $\alpha$  陽性乳癌は、エストロゲン依存性の増殖を示すため、約70~80%の症例においてホルモン治療が有効である。しかしながら一旦再発すると、一定期間はホルモン治療が有効であっても、すべての患者においてホルモン療法に抵抗性を示す時期が訪れ、そして死に至る。したがって、ホルモン療法抵抗性の機序の解明は重要な臨床的課題となっている。最近、網羅的キノーム・スクリーニングという手法により、ER $\alpha$  のリン酸化に関与するチロシンキナーゼ LMTK3 (lemur tyrosine kinase-3) が同定され、LMTK3 は ER $\alpha$  の発現および分解を調整することでホルモン療法抵抗性に関与している可能性が示された。そこで、乳癌組織における LMTK3 発現、および LMTK3 mRNA 発現への関与が報告されている遺伝子多型 (SNP ; single nucleotide polymorphism) (rs9989661、rs8108419) の予後への影響を検討した。

【方法および結果】2001年~2005年に当院で手術を施行した原発乳癌219例の手術検体を用いて RNA を抽出、TaqMan を用いた RT-qPCR 法にて LMTK3 mRNA 発現を解析した。全症例 (n=219) を対象とした解析では LMTK3 mRNA 発現と予後との間に相関は認めなかった。しかし、ER $\alpha$  陽性症例 (n=154) を対象として解析したところ、LMTK3 高発現症例は低発現症例に比べ、無病生存期間 (DFS (disease-free survival))、全生存期間 (OS (overall survival)) とともに短く予後不良であった。術後ホルモン療法を受けた ER $\alpha$  陽性乳癌 (n=146) を対象に同様の検討を施行した場合においても、LMTK3 高発現症例は低発現症例に比較して DFS、OS とともに予後不良であった。術後ホルモン療法を受けた ER $\alpha$  陽性乳癌を対象に多変量解析を行った結果、LMTK3 高発現は乳癌における独立した予後不良因子であることが示された。一方、ER $\alpha$  陰性乳癌では LMTK3 発現と予後との間に相関は認めなかった。次に、1983年~2005年に当院で手術を施行した乳癌約471例の手術検体を用いて DNA を抽出し、LMTK3 の2か所の SNP の解析を行い予後との相関関係を検討した。しかし、rs9989661 (T>C) T/T 遺伝子型と rs8108419 (G>A) G/G or A/G 遺伝子型と予後との間に相関は認めなかった。

【考察】乳癌におけるホルモン療法抵抗性獲得の機序としてさまざまな因子が報告されているが、今回検討した LMTK3 は、heat shock 蛋白のひとつである HSPB8 (heat shock 22kDa protein 8) の発現を亢進すること、HSPB8 発現亢進はタモキシフェンによる乳癌細胞の細胞死を抑制することが報告されている。本研究では、術後ホルモン療法が施行された ER $\alpha$  陽性乳癌において LMTK3 高発現症例の予後が不良であったが、その理由のひとつとして、LMTK3 発現亢進が HSPB8 発現亢進を誘導し、その結果として術後ホルモン療法の効果が減弱して予後不良に至った可能性が示唆された。

【審査内容】主査の高橋から、ER $\alpha$ 陽性乳癌を luminal A, B で分類した場合にはどのような結果になるのか、ER $\alpha$ のリン酸化に関与する kinase は他にはどのようなものが存在するのかなど10項目、第一副査の稲垣教授からは、網羅的キノーム・スクリーニングとはどのようなものか、予後解析について Log-rank 検定以外にどのような解析を行ったのかなど13項目、さらに第二副査の竹山教授からは Triple negative 乳癌に対する治療法などについての質問があった。これらの質問に対して申請者から概ね適切な回答が得られ、学位論文の内容を十分に理解していると判断した。本研究は ER $\alpha$ 陽性乳癌において、ER $\alpha$  のリン酸化に関与する LMTK3 が独立した予後不良予測因子になりうることを明らかにした。よって、これらの新しい知見を報告している本論文の筆頭著者は博士 (医学) の学位を授与されるに相応しいと判定した。

論文審査担当者 主査 高橋 智 副査 稲垣 宏、竹山廣光