



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
報告番号	甲第2002号
学位記番号	第1407号
氏名	加藤 明子
授与年月日	令和6年3月22日
学位論文の題名	Low TINAGL1 expression is a marker of poor prognosis in breast cancer (TINAGL1 遺伝子低発現は乳癌における予後不良因子である) Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 149:4771-4782, 2023
論文審査担当者	主査： 稲垣 宏 副査： 瀧口 修司, 須田 久雄

＜背景・目的＞乳癌は罹患数が増加傾向にある女性の代表的な悪性疾患であり、死亡者数も近年増加傾向にある。乳癌において転移を促進する様々なメカニズムが解明されてきており、細胞外マトリックスの1つである Tubulointerstitial nephritis antigen-like 1 (TINAGL1) がトリプルネガティブ (TN) 乳癌において腫瘍の転移・増殖を抑制することが報告された。また TINAGL1 発現は、細胞外タンパク質の分泌に関与する SEC23A に依存することが示唆されている。我々は、長期経過観察中の乳癌患者において、TINAGL1 発現と臨床病理学的因子および予後との関連を検討し、SEC23A 発現と TINAGL1 発現ならびに乳癌の予後との関連を評価するために本研究を計画した。

＜対象・方法＞1992～2008年に当院で手術を施行した病期IVを除く浸潤性乳癌 599例を対象とした。乳癌組織から total RNA を抽出し、TaqMan real-time PCR system を用いて、乳癌組織における *TINAGL1* mRNA 発現と *SEC23A* mRNA 発現を定量的に測定し、それぞれの発現量と予後および臨床病理学的因子との相関について検討した。また、599例のうち組織アレイが得られた 299例を対象に、デジタル病理診断アプリケーションを用いて、TINAGL1 タンパク発現と SEC23A タンパク発現をそれぞれ数値化し、予後および臨床病理学的因子との相関について検討した。すべての検討において、中央値をカットオフとして高発現群と低発現群に分類した。

＜結果＞追跡期間の中央値は 12.0 年であった。*TINAGL1* mRNA 発現の低下は、高い腫瘍グレードと有意に相関していた ($P<0.001$)。また全症例において、*TINAGL1* mRNA の低発現群は高発現群と比較し、無病生存期間 (DFS)・全生存期間 (OS) とともに有意に予後不良であることが示された ($P=0.003$, $P=0.01$)。ホルモン受容体陽性症例でも、*TINAGL1* mRNA の低発現群で DFS・OS とともに予後不良であった ($P=0.01$, $P=0.03$)。閉経前症例において、*TINAGL1* mRNA 高発現群が予後良好を示した (DFS: $P=0.001$, OS: $P=0.02$) 一方で、閉経後症例では予後に差をみとめなかった。多変量解析では、*TINAGL1* mRNA 低発現は DFS における独立した予後不良因子であった (HR, 1.41; 95% CI 1.02-1.96, $P=0.036$)。TINAGL1 タンパク発現は予後との関連をみとめなかった (DFS: $P=0.3$, OS: $P=0.5$)。次に、SEC23A 発現について検討した。*SEC23A* mRNA 発現は *TINAGL1* mRNA 発現と相関をみとめた ($r=0.35$, $P<0.001$)。*SEC23A* mRNA 低発現は、高い腫瘍グレード、ER α 、PgR、HER2 などの予後不良因子と有意に関連していた (それぞれ $P<0.01$)。しかし、*SEC23A* mRNA 発現量の違いによって、DFS・OS に有意な差はみとめなかった ($P=0.3$, $P=0.1$)。SEC23A タンパク発現と予後との関連はみとめなかった。

＜考察＞*TINAGL1* 遺伝子低発現を示す乳癌のなかには、腫瘍の悪性度が高く予後不良である症例群が存在することが示唆された。*TINAGL1* 遺伝子と乳癌に関する報告は少なく、乳癌の発生や進展との関連について明らかにされていない点が多い。本検討で、閉経前乳癌症例において *TINAGL1* mRNA 低発現群が予後不良であったことから、女性ホルモンレベルが高い状況では *TINAGL1* 遺伝子発現が乳癌の増殖に関与している可能性が考えられた。また *SEC23A* 遺伝子は *TINAGL1* 遺伝子発現との相関をみとめたが、*SEC23A* 遺伝子が予後との関連を示さなかったことから、*TINAGL1* 遺伝子のほうがより臨床効果予測因子として有用である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

【背景・目的】乳癌は罹患数が増加傾向にある女性の代表的な悪性疾患であり、死亡者数も近年増加傾向にある。最近、細胞外マトリックスの1つである Tubulointerstitial nephritis antigen-like 1 (TINAGL1) がトリプルネガティブ (TN) 乳癌において腫瘍の転移・増殖を抑制することが報告された。私たちは、長期フォローアップを施行した乳癌患者を対象として、乳癌における TINAGL1 遺伝子およびその関連因子の発現と、臨床病理学的因子・生命予後との関連を評価するために本研究を計画した。【対象・方法】1992～2008年に当院で手術を施行した原発性浸潤性乳癌 599 例を対象とした。乳癌組織から total RNA を抽出し、TaqMan real-time PCR system を用いて、乳癌組織における TINAGL1 遺伝子およびその関連遺伝子である SEC23A 遺伝子の mRNA 発現を定量的に測定し、臨床病理学的因子と予後との相関について検討した。また、599 例のうち組織アレイで評価可能であった 299 例を対象に、デジタル病理診断アプリケーションを用いて、TINAGL1 および SEC23A タンパク発現をそれぞれ数値化し、臨床病理学的因子・予後との相関について検討した。すべての検討において、中央値をカットオフとして高発現群と低発現群に分類した。【結果】追跡期間の中央値は 12.0 年。乳癌における TINAGL1 mRNA 発現の低下は、高い腫瘍グレードと有意に相関した。また、TINAGL1 mRNA 低発現群は高発現群と比較し、無病生存期間 (DFS) ・全生存期間 (OS) とともに有意に予後不良であることが示された。興味深いことに、閉経前症例において、TINAGL1 mRNA 高発現群が予後良好を示した一方で、閉経後症例では予後に差を認めなかった。単変量・多変量解析の結果、TINAGL1 mRNA 低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 (HR, 1.41; 95%CI 1.02-1.96, P=0.036)。SEC23A mRNA 発現と TINAGL1 mRNA 発現の間には弱い相関を認めた。【結語】TINAGL1 遺伝子低発現の乳癌は予後不良で、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、乳癌の治療標的となる可能性が示された。【審議の内容】主査の稲垣教授から、1) 本研究でリファレンス遺伝子として GAPDH を選んだ理由、2) GAPDH 以外のリファレンス遺伝子での解析結果、3) TINAGL1 遺伝子の正常乳腺での発現状況、4) 乳癌細胞・正常細胞での TINAGL1 タンパク発現の局在、5) TINAGL1 タンパク発現の cut-off 値を中央値とした理由、6) 解析対象に浸潤性乳管癌だけでなく浸潤性小葉癌などの様々なタイプの乳癌を加えた理由、7) 統計解析に Log-rank 検定と Cox 比例ハザードモデルを用いた理由、8) 多変量解析の対象とした因子の選択理由、9) 多変量解析で T 因子が予後因子として残らなかった理由、10) mRNA 発現解析で使用したプライマーが認識する遺伝子部位、11) 治療法の変遷が研究結果に与えた可能性、12) validation 研究の必要性、など 18 項目の質問を行った。第 1 副査の瀧口教授からは、1) 古い症例を用いているがサンプル劣化が解析結果に与えた可能性、2) 乳癌における増殖速度の予後への影響、3) 先行研究と本研究の遺伝子発現陽性割合の違い、4) 閉経状態が研究結果に与えた影響、など 6 項目の質問がされた。第 2 副査の須田教授からは、1) cut-off 値を中央値とした理由、2) 先行研究と異なる結果が出た理由、3) 治療法の変遷が研究結果に与えた影響、4) 今後の研究の展望、など 5 項目の質問がされた。これらの質問に対して、申請者からは概ね適切な回答が得られた。以上より、本論文の著者は学位論文の内容を十分に把握し、また、大学院修了者としての学力を備えていると判断した。本研究は、乳癌における TINAGL1 遺伝子発現が独立した予後不良因子であり、治療標的となる可能性を示した重要な研究であり、高く評価される。よって、本論文著者は博士 (医学) の学位を授与するに値するものと判定した。

論文審査担当者 主査 稲垣 宏 副査 瀧口 修司 須田 久雄