

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461990

研究課題名(和文) 乳癌に対する新規ホルモン療法薬の開発を目的としたチロシンキナーゼノックダウン療法

研究課題名(英文) The target therapy for LMTK3 in hormone receptor-positive breast cancer

研究代表者

浅野 倫子 (Asano, Tomoko)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：70624427

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌組織を用いて、LMTK3 mRNA発現と臨床病理学的因子および予後との相関について検討した。次に、LMTK3 mRNA発現に關与することが報告されている2カ所のイントロン領域のSNP解析を行った。結果は、全乳癌を対象とした解析ではLMTK3 mRNA発現と予後には相関はなかったが、ホルモン療法を施行したER陽性乳癌においてLMTK3高発現症例は低発現症例に比べて有意に予後不良であった。多変量解析の結果、LMTK3 mRNA高発現はER陽性乳癌の独立した予後不良因子であることが示された。2つのLMTK3 genotypeと予後との間には相関を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Our data showed that LMTK3 expression level was not associated with prognosis in all patients. We then analyzed the impact of LMTK3 mRNA expression on the prognosis of breast cancer according to estrogen receptor alpha status. Both disease-free survival and overall survival were significantly shorter in estrogen receptor alpha-positive patients with high LMTK3 expression receiving adjuvant endocrine therapy than in those patients with low LMTK3 expression. Multivariate Cox regression analysis revealed that high LMTK3 expression was an independent poor prognostic factor in estrogen receptor alpha-positive breast cancer patients. We did not find any correlation between LMTK3 genotypes and prognosis of breast cancer patients in our series. Our results show that high expression of LMTK3 is an independent prognostic factor in estrogen receptor alpha-positive breast cancer patients receiving adjuvant endocrine therapy.

研究分野：乳腺外科学

キーワード：乳癌

1. 研究開始当初の背景

(1) 乳癌の約 80%においてエストロゲン・レセプター(ER)の過剰発現が認められる。これら ER 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療法が有効である。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耐性を示す時期が訪れ、そして死に至る。したがって、ホルモン療法耐性の克服は重要な臨床的課題である。

(2) 通常、ER の大部分は「核内」に存在し、エストロゲンが核内に移行して ER と結合することにより、ER 下流遺伝子の転写活性が起こる。乳癌におけるホルモン療法耐性の機序として、「膜型」ER と増殖因子受容体シグナル経路の関与が重要とされている。

(3) 網羅的キノーム・スクリーニングという手法により、LMTK3 (lemur tyrosine kinase-3) というチロシンキナーゼが、ER の発現および分解を調整していることが報告された。

(4) 私たちは、ホルモン療法耐性の克服にチロシンキナーゼ LMTK3 が重要な役割を果たすのではないかと考え、本研究を立案した。

2. 研究の目的

LMTK3 を標的とした新規ホルモン療法の開発を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 対象: mRNA 発現解析は、2001~2005 に当施設にて手術を施行した乳癌 219 例、SNP 解析は、1983~2005 年までに当施設にて手術を施行した乳癌 471 例を用いた。

(2) TaqMan microRNA assay システムを用いて LMTK3 mRNA 発現を測定した。

(3) ER、プロゲステロン・レセプター (PgR)、HER2 発現の評価を免疫組織化学的方法にて施行した。

(4) LMTK3 mRNA 発現および SNP と、予後および臨床病理学的因子との関連性について検討した。予後との関連は、Cox の比例ハザードモデルおよび Kaplan-Meier 法にて検討した。

4. 研究成果

(1) 全症例 (n=219) を対象とした解析において、LMTK3 mRNA 発現と臨床病理学的因子との間に特に相関は認めなかった (Table 1)。また、LMTK3 mRNA 発現と無再発生存期間 (DFS: Disease-free survival) および全生存期間 (OS: Overall survival) との間に相関は認めなかった (Figure 1, 2)。

Table 1. LMTK3 mRNA 発現と臨床病理学的因子との相関 (全症例、n=219)

	All patients, n (%)	Low LMTK3, n (%)	High LMTK3, n (%)	P value
Patients	219	176	43	
Age (years)				
< 50	91 (42)	77 (44)	14 (33)	0.178
≥ 50	128 (58)	99 (56)	29 (67)	
Tumor size				
≤ 2cm	66 (30)	52 (30)	14 (33)	0.679
> 2cm	149 (68)	121 (68)	28 (65)	
Unknown	4 (2)	3 (2)	1 (2)	
Nodal status				
Negative	115 (53)	97 (55)	18 (42)	0.374
Positive	88 (40)	70 (40)	18 (42)	
Unknown	16 (7)	9 (7)	7 (16)	
Grade				
1	71 (32)	51 (29)	20 (47)	0.085
2	81 (37)	69 (39)	12 (28)	
3	67 (31)	56 (32)	11 (25)	
Histology				
IDC	188 (86)	151 (86)	37 (86)	0.997
ILC	10 (5)	8 (5)	2 (5)	
Others	21 (9)	17 (9)	4 (9)	
ERα status				
Positive	154 (70)	120 (68)	34 (79)	0.161
Negative	65 (30)	56 (32)	9 (21)	
PgR status				
Positive	138 (63)	109 (62)	29 (67)	0.502
Negative	81 (37)	67 (38)	14 (33)	
HER2 status				
Positive	25 (11)	22 (13)	3 (7)	0.307
Negative	194 (89)	154 (87)	40 (93)	
Adjuvant therapy				
Endocrine therapy	104 (47)	84 (48)	20 (47)	0.363
Chemo-therapy	52 (24)	45 (26)	7 (16)	
Endocrine + Chemo-therapy	50 (23)	36 (20)	14 (33)	
None	13 (6)	11 (6)	2 (4)	

ERα, estrogen receptor α; PgR, progesterone receptor;
IDC, invasive ductal carcinoma;
ILC, invasive lobular carcinoma.

(2) LMTK3 はホルモン療法抵抗性に関連すると考えられているため、次に、ER 陽性乳癌のみ (n=154) を対象として、LMTK3 mRNA 発現と DFS、OS との関連について検討した。その結果、LMTK3 mRNA 発現と DFS (P=0.031) および OS (P=0.002) の間に有意な相関を認めた (Figure 3, 4)。

さらに、ホルモン療法を施行した ER 陽性乳癌のみ (n=146) を対象として、LMTK3 mRNA 発現と DFS、OS との関連について検討したところ、同様に、LMTK3 mRNA 発現と DFS (P=0.031) および OS (P=0.003) の間に有意な相関を認めた (Figure 5, 6)。

ホルモン療法を施行した ER 陽性乳癌 (n=146) において、LMTK3 mRNA 発現と臨床病理学的因子との間には特に相関は認めなかった (Table 2)。

Figure 1. 全症例における無再発生存期間 (Disease-free survival) (LMTK3 発現別)

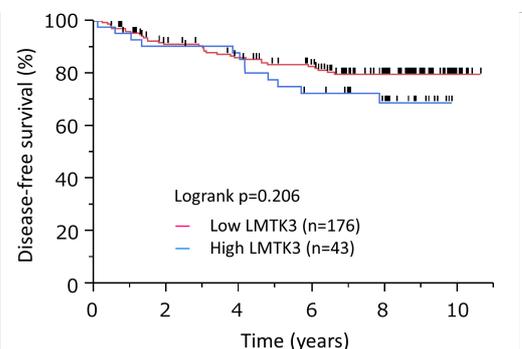


Figure 2. 全症例における全生存期間 (Overall survival) (LMTK3 発現別)

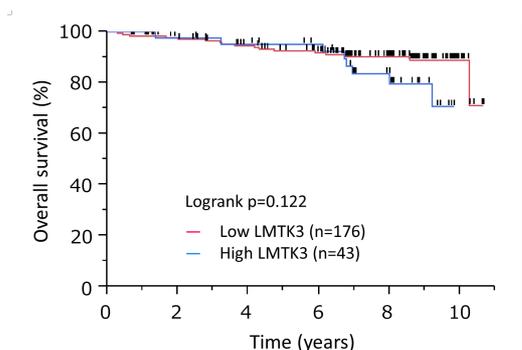


Figure 3. ER 陽性乳癌における無再発生存期間 (Disease-free survival) (LMTK3 発現別)

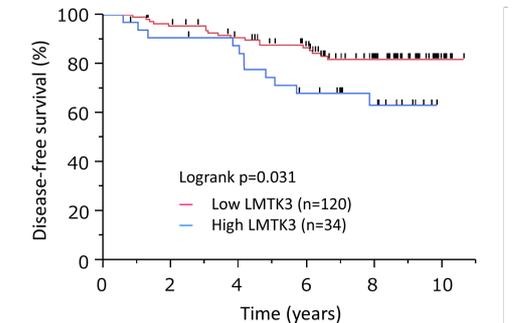


Figure 4. ER 陽性乳癌における全生存期間 (Overall survival) (LMTK3 発現別)

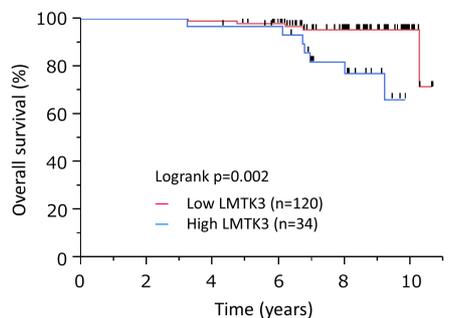


Table 2. LMTK3 mRNA 発現と臨床病理学的因子との相関 (ホルモン療法を施行した ER 陽性乳癌症例、n=146)

	All patients, n (%)	Low LMTK3, n (%)	High LMTK3, n (%)	P value
Patients	146	113	33	
Age (years)				
< 50	64 (44)	53 (47)	11 (33)	0.166
≥ 50	82 (56)	60 (53)	22 (67)	
Tumor size				
≤ 2cm	49 (34)	38 (34)	11 (33)	0.974
> 2cm	97 (66)	75 (66)	22 (67)	
Nodal status				
Negative	70 (48)	59 (52)	11 (33)	0.298
Positive	66 (45)	51 (45)	15 (45)	
Unknown	10 (7)	3 (3)	7 (22)	
Grade				
1	56 (38)	41 (36)	15 (45)	0.270
2	62 (43)	52 (46)	10 (30)	
3	28 (19)	20 (18)	8 (25)	
Histology				
IDC	126 (86)	98 (87)	28 (85)	0.834
ILC	10 (7)	8 (7)	2 (6)	
Others	10 (7)	7 (6)	3 (9)	
PgR status				
Positive	124 (85)	97 (86)	27 (82)	0.569
Negative	22 (15)	16 (14)	6 (18)	
HER2 status				
Positive	10 (7)	7 (6)	3 (9)	0.562
Negative	136 (93)	106 (94)	30 (91)	
Adjuvant therapy				
Endocrine therapy	100 (68)	80 (71)	20 (61)	0.267
Endocrine + Chemo-therapy	46 (32)	33 (29)	13 (39)	

ERα, estrogen receptor α; PgR, progesterone receptor; IDC, invasive ductal carcinoma; ILC, invasive lobular carcinoma.

Figure 5. ホルモン療法を施行したER 陽性乳癌における無再発生存期間 (Disease-free survival) (LMTK3 発現別)

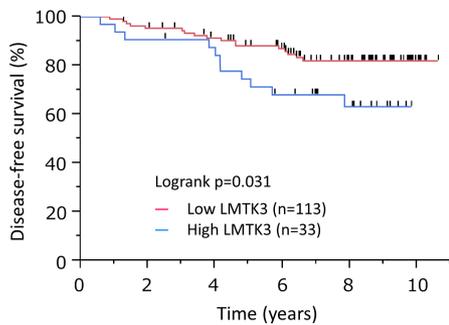


Figure 6. ホルモン療法を施行したER 陽性乳癌における全生存期間 (Overall survival) (LMTK3 発現別)

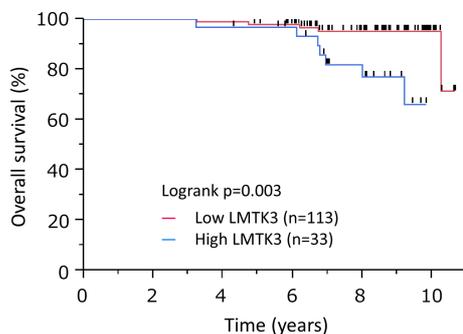


Figure 7. ER 陰性乳癌における無再発生存期間 (Disease-free survival) (LMTK3 発現別)

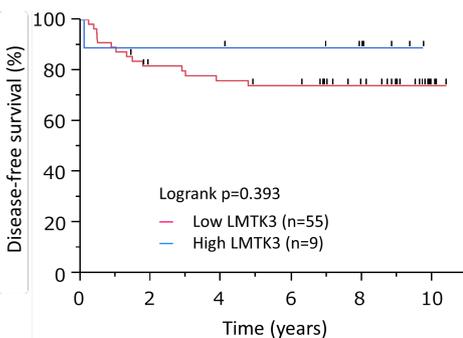
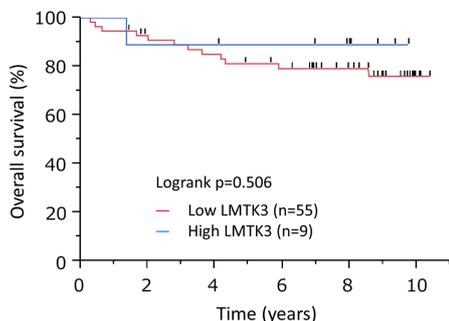


Figure 8. ER 陰性乳癌における全生存期間 (Overall survival) (LMTK3 発現別)



ER 陰性乳癌のみ (n=64) を対象として、LMTK3 mRNA 発現と DFS、OS との関連について検討したところ、LMTK3 mRNA 発現と DFS (P および OS の間には相関を認めなかった (Figure 7, 8)。

(3) 乳癌 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、2 つの SNP、rs9989661(T>C) T/T 遺伝子型と rs8108419(G>A) G/G or A/G 遺伝子型と、予後との間には相関を認めなかった (Figure 9, 10)。ER 陽性乳癌のみを対象として検討したが、これら genotype と予後の間には相関を認めなかった (Figure 11, 12)。

Figure 9. 全乳癌における無再発生存期間 (Disease-free survival) (rs9989661)

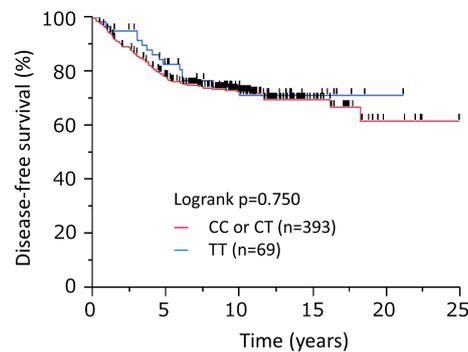


Figure 10. 全乳癌における無再発生存期間 (Disease-free survival) (rs8108419)

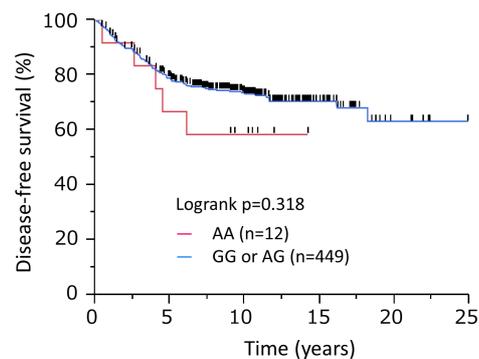


Figure 11. ER 陽性乳癌における無再発生存期間 (Disease-free survival) (rs9989661)

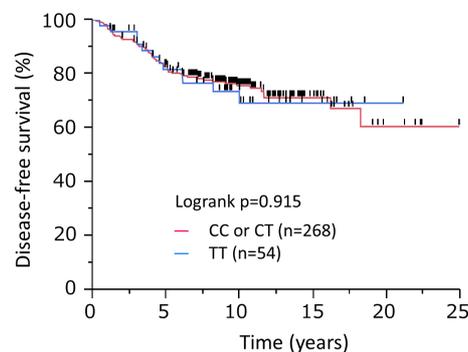
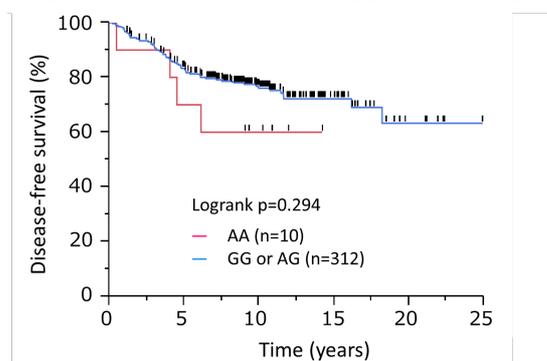


Figure 12. ER 陽性乳癌における全生存期間 (Disease-free survival) (rs8108419)



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 1 件)

Asano T, Sato S, Yoshimoto N, Endo Y, Hato Y, Dong Y, Takahashi S, Fujii Y, Toyama T, High expression of LMTK3 is an independent factor indicating a poor prognosis in estrogen receptor α -positive breast cancer patients, Jpn J Clin Oncol., 査読あり, 2014, 44, 889-97.
DOI: 10.1093/jjco/hyu113.

〔学会発表〕(計 1 件)

Toyama T, Asano T, Sato S, Yoshimoto N, Endo Y, Hato Y, Yu D, Takahashi S, Fujii Y, High expression of LMTK3 is an independent factor indicating a poor prognosis in Japanese estrogen receptor α -positive breast cancer patients, 2014 Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, Dec 9-13, 2014 (San Antonio, U.S.A).

〔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

<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/mammal.dir/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

浅野 倫子 (ASANO, Tomoko)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究

員

研究者番号 : 70624427

(2)研究分担者

遠山 竜也 (TOYAMA, Tatsuya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号 : 30315882

吉本 信保 (YOSHIMOTO, Nobuyasu)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号 : 10551244