

氏名・(本籍)	えのもと やすこ 榎本康子 (福岡県)		
学位の種類	博士 (医学)		
報告番号	乙第1573号		
学位授与の日付	平成27年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当 (論文博士)		
学位論文題目	Downregulation of DYRK2 can be a predictor of recurrence in early stage breast cancer (DYRK2は早期乳癌症例における再発予測因子である)		
論文審査委員	(主査) 福岡大学	教授	岩崎昭憲
	(副査) 福岡大学	教授	白澤専二
	福岡大学	教授	田村和夫
	福岡大学	講師	佐々木隆光

内容の要旨

背景

悪性腫瘍の中でも乳癌は女性の罹患率が最も高い疾患である。リンパ節転移陰性の早期乳癌症例でさえも25-30%程度は10年以内に再発をする。乳癌の予後予測因子として、様々な遺伝子が報告されており、遺伝子解析は予後を予測する方法として確立されている。今後は、より正確にリスク分類を行い、治療の個別化を目的とするマーカーが必要であると考えられる。

癌抑制遺伝子であるp53はDNA損傷にตอบสนองしてSer46のリン酸化を経て、アポトーシスへ誘導している。DYRK2 (dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation-regulated kinase) は、このp53によるアポトーシス誘導に関するチロシンおよびセリンスレオニンキナーゼの1種である。DYRK2はc-Junやc-Mycのリン酸化を介して細胞周期抑制を行うことで、腫瘍抑制効果があると言われている。正常乳腺組織と乳癌の免疫組織染色では、乳癌におけるDYRK2の発現は有意に低下していると報告されている。また、最近の報告では、DYRK2発現が低下している乳癌患者はDYRK2高発現例に比べると無再発生存期間が短いとある。そこで、DYRK2の発現が早期乳癌の予後予測因子になる得る可能性を検証した。

対象・方法

2000年1月から2009年12月の間に当院にて手術を施行した原発性乳癌のうち、ステージ1から2B期の274症例(術前化学療法施行例は除く)を対象とした。抗DYRK2抗体による免疫組織染色にてDYRK2の発現の有無を評価した。染まりのないものを0、10%未満の軽度の染色を1+、10%以上の中等度の染色を2+、10%以上の強い染色を3+とし、0と1+は低発現、2+と3+は高発現と判定した。DYRK2の発現と臨床病理学的因子や再発率との相関を解析した。無再発期間はKaplan-Meier法にて算

出し、log-rank test で検討した。

結果

平均年齢51才(30-87)。ステージ1/2A/2B:58/99/117例。リンパ節転移+/-:59/125例、Histological grade1/2/3:118/102/42例、ER+/-:212/62、PgR+/-:181/90、HER2+/-:45/223。274症例のうち85例(31%)がDYRK2高発現であった。腫瘍径、組織グレード、ホルモンレセプター、HER2などの臨床病理学的因子とDYRK2の発現との相関は認めなかった。また、Ki-67との相関も認められなかった。しかし、リンパ節転移とDYRK2の発現に有意な相関を認めた($p=0.04$)。再発症例のうちDYRK2低発現症例は26例(89.6%)、高発現3例(10.3%)であった。10年無再発生存率は低発現87.3%、高発現95.9%で、有意差を認め、低発現例は高発現例に比べて、再発しやすい傾向を認めた。($p=0.05$)

考察・結語

この研究ではDYRK2が乳癌の新たな予後予測因子になる可能性を示した。DYRK2の低発現では、亜鉛フィンガータンパクのスネイルタンパクを増加させ、またEMTを介してE-カドヘリンのプロモーターを抑制することで、乳癌の進行に関与していると言われている。今回の研究では、スネイルタンパクやE-カドヘリンの発現について調べていないが、前述した

機序によって生じるリンパ節転移とDYRK2が深い関係にあるとの結果であった。また、リンパ節転移陰性患者の無再発生存期間について検討した結果、DYRK2低発現例では再発率が高く、無再発生存期間も短かった。これらの結果より、DYRK2はリンパ節転移陰性の早期乳癌患者において新たな再発の予測因子となり得る可能性が示唆された。

審査の結果の要旨

本論文は、乳癌の予後予測因子として新規マーカーになり得るDYRK2というキナーゼについて、乳癌組織での発現の有無を評価し、臨床病理学的因子と再発率、全生存率との相関関係を解析し、報告している。DYRK2高発現例は低発現例と比し、無再発生存率が長い傾向であり、DYRK2は早期乳癌の再発予測因子マーカーとなり得る可能性が示唆された。

1. 斬新さ

乳癌の予後予測因子として、様々な遺伝子シグネチャーが開発されているが、今回の研究で用いられているDYRK2は、すぐに臨床応用できる簡便な免疫染色による評価法が可能なものである。対象をステージ2期までの早期乳癌にしぼり、274症例という多くの臨床データに基づき解析された初めての報告である。

2. 重要性

現在の早期乳癌診療は、術後の薬物療法に重きを置き再発予防に努めている。薬物治療の方針決定には、乳癌のサブタイプによる分類が指針となっている。遺伝子発現解析によるサブタイプの代用として、実臨床では簡便な免疫染色による臨床病理学的定義が用いられている。この問題点として、臨床病理学的分類はあくまでも、遺伝子発現解析によるサブタイプの推定結果でしかないということであり、真のサブタイプと病理学的定義によるサブタイプは一致していない場合もある。この点から、予後予測

因子となる新規のマーカーが必要と考える。本研究では、癌抑制遺伝子である p53 のアポトーシス誘導に関する DYRK2 が予後予測因子となり得る可能性を報告しており、今後の乳癌診療のさらなる個別化治療には重要な因子と考える。

3. 研究方法の正確性

対象症例は 2000 年 1 月から 2009 年 12 月に当院にて施行された 274 症例を対象としてある。術前化学療法施行症例は除外され、ステージ 2 期までの早期乳癌が対象とされている。大学に保管されてある病理組織資料、手術資料、カルテ情報をもとに解析が行われている。DYRK2 の免疫染色による評価方法では、検体は手術パラフィン標本を用い、免疫染色を行った。免疫染色による評価方法は、独立した 4 人の医師によって判定し、再現性を認めている。

4. 表現の明確さ

従来の乳癌診療と現状を参考文献を加えながら説明した。薬物療法決定における乳癌のサブタイプに関して、実臨床で用いている臨床病理学的定義での代用と遺伝子発現解析による分類とは必ずしも一致せず、さらなる治療の個別化、適正な薬物使用のためには乳癌の予後予測因子、治療効果因子となる新規マーカーが必要であることを提示した。今回の研究では早期乳癌症例の予後予測因子として、DYRK2 が新たなマーカーとなりうるかを研究テーマとしているが、DYRK2 の説明、そして、p53 のアポトーシス誘導にどのように作用するのかを図を用いて明確に解説した。DYRK2 と臨床病理学的因子、無再発生存率、生存率は図や表にまとめられており、理解しやすい内容であった。

5. 主な質疑応答

以上の研究内容の説明に対して、審査員により以下のような質疑がなされ、活発な討議が行われた。

Q：DYRK2 と臨床病理学的因子に関して、化学療法の有無が不明な症例が 57 例あるが、単変量解析はどのようにして行ったのか。なぜ有意なデータとしてとらえなかったのか。

A：化学療法の施行が不明な 57 例は省いて解析を行いました。DYRK2 と化学療法施行との相関関係では p 値 0.01 と出ていますが、化学療法を施行している DYRK2 高発現症例が非常に少ない数であること、化学療法施行が不明な症例が 57 症例とありますので、有意なデータとはとらえませんでした。化学療法は、多変量解析では有効な因子となっていません。

Q：DFS では有意差が出て、全生存率で有意差が出なかったのはどう考えるのか。

A：全生存率に有意差が出なかったのは、観察期間中のイベント（死亡）数が極めて少なかったことが原因で、全生存率には差が出なかったと考えます。乳癌の場合、再発をしても、その後の治療が有効であるため、再発後の治療が影響していると考えます。

Q：「DYRK2 は腫瘍増殖だけでなく、浸潤・転移に関係があるのか」と考察にあると思います。また、浸潤性乳癌、非浸潤癌での DYRK2 の発現は差があるとの報告もありますが、サブタイプと DYRK2 の発現の相関はあったのでしょうか。

A：今回はサブタイプと DYRK2 の相関関係は調べておりません。サブタイプは数年前に臨床に用いられるようになった概念で、以前のデータでは正確に分類することが困難な状況です。例えば、エストロゲンレセプターやプロゲステロンレセプターの発現は現在は数値化されていますが、以前は陽性か陰性でしかの評価がなく、再度、ホルモンレセプターの発現を評価すればサブタイプに分類し、相関関係が解析できると思いますので、今後の課題とさせていただきます。

Q：DYRK2は乳癌のヘテロジェナイティが関与しているなど、気付いたことはありましたか。

A：DYRK2の発現と乳癌のヘテロジェナイティに関しては特に気付いたことはありませんでした。

Q：DYRK2の発現の評価はKi-67の評価と同様、非常に主観的であるが、それはどう考えますか。

A：ご指摘の通り、主観的な評価であるが、3回、4人で評価した結果、同じ判定になり、評価のばらつきはなかったと考えます。

Q：DYRK2の発現は正常な乳管組織に比べ、乳癌のほうが高発現に感じたが、それはどう考えていますか。

A：癌に関しては、高発現のものや低発現のもの、様々あり、なぜ、高発現になるか、低発現になるかはわかっていません。これは今後の課題でもあるが、これが解明されれば、癌の治療に大きく関わってくると考えます。

Q：p53の遺伝子変異は乳癌では認められると述べられていましたが、遺伝性乳癌で話題になっているBRCAの遺伝子変異は全体のどのくらいの割合であるんですか。

A：遺伝性乳癌は全乳癌の10%程度です。BRCAの遺伝子変異は乳癌の約3%程度です。

Q：乳癌の遺伝子変異の表にはBRCAの変異のことはのっていないが、それはどう考えますか。

A：BRCA変異の場合、高頻度に乳癌を発症するが、乳癌全体で考えると変異の割合は他の遺伝子に比べると少ないので表には載っていないと考えます。

Q：トリプルネガティブが一番予後不良に思っていたが、それはどうなんですか。

A：サブタイプと生存率の曲線では、ルミナルA以外のルミナルB、HER2タイプ、トリプルネガティブは予後が悪いとデータが出ています。

コメント：DYRK2の遺伝子レベルの話でいうと、DYRK2遺伝子変異の症例も含まれているのではないかと考えるが、そこをもっと追究するとさらにいい研究になると思います。

本論文は、内容の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さおよび質疑応答の結果を踏まえ、博士学位論文に値すると評価された。