

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	土田 純子
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第779号
学位授与の日付	平成29年9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Breast cancer sphingosine-1-phosphate is associated with phospho-sphingosine kinase 1 and lymphatic metastasis. (乳癌におけるスフィンゴシン 1 リン酸濃度と、リン酸化スフィンゴシンキナーゼ 1 の発現およびリンパ節転移と関連)
論文審査委員	主査 教授 小松 雅明 副査 講師 永橋 昌幸 副査 教授 若井 俊文

博士論文の要旨

背景：スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は、生理活性物質として働く脂質メディエーターであり、癌細胞の増殖、遊走、血管・リンパ管新生など、癌の発育・進展に重要な役割を果たしていることが基礎研究により報告されている。S1Pは、細胞内において2つの異なるスフィンゴシンキナーゼである SphK1 と SphK2 によりスフィンゴシンから産生される。SphK1 は主に細胞膜に近い細胞質に存在し、SphK1 によって産生された S1P の多くは S1P 輸送体を介して細胞外へ放出され、細胞膜上の S1P 受容体に結合し、オートクライン・パラクライン作用により、多様な生理作用を引き起こす。このシグナル伝達形式は“Inside-out signaling”と呼ばれる。S1P の乳癌における役割に関して多くの基礎研究が行われてきたが、S1P は脂質であるが故に定量が困難で、臨床検体において S1P を精密に測定した報告はほとんどない。本研究の目的は、乳癌患者における腫瘍内 S1P 濃度と臨床病理学的因子との関連を明らかにすること、および SphK1 の活性と腫瘍内 S1P 濃度との関連について明らかにすることである。

対象と方法：説明と同意が得られた初発乳癌手術症例 47 例を対象とし、腫瘍組織より脂質を抽出し、S1P を含むスフィンゴリン脂質の濃度を質量分析装置により定量した。術前化学療法施行例 5 例、重複癌および両側乳癌症例 7 例、Body Mass Index 35 以上の症例 2 例は、背景因子が S1P 濃度に影響を及ぼす可能性があるため除外した。35 例を解析対象とし、腫瘍内 S1P 濃度と臨床病理学的因子とを比較した。腫瘍における活性型リン酸化 SphK1 (pSphK1) の発現を免疫組織化学で評価し、腫瘍内 S1P 濃度および臨床病理学的因子と比較した。

結果：乳癌臨床検体におけるスフィンゴシン、デヒドロスフィンゴシン、S1P、デヒドロ S1P は全ての症例で測定可能であった。ホルモン受容体発現(エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体)、Ki-67 labeling index、核グレード、血管・リンパ管浸潤の有無、病理学的原発腫瘍因子において、腫瘍内 S1P 濃度との明らかな関連は見られなかった。白血球数高値($\geq 6100 / \mu l$)の症例は白血球数低値($< 6100 / \mu l$)の症例に比べて、腫瘍内 S1P 値が有意に高かった($P = 0.045$)。リンパ節転移陽性の症例では転移陰性の症例に比

べて腫瘍内 S1P 値が有意に高かった ($P = 0.044$)。Human epidermal growth factor receptor 2 蛋白過剰発現 (HER2 発現) 陰性の症例では発現陽性の症例と比べて腫瘍内 S1P 値が有意に高かった ($P = 0.001$)。pSphK1 原発腫瘍陽性例は、陰性例と比べて、腫瘍内 S1P 値が有意に高かった ($P = 0.040$)。また、統計学的な有意差はないものの、HER2 発現陽性 5 例全例において、原発腫瘍の pSphK1 発現は陰性であった。

考察：S1P シグナル伝達経路は様々な免疫細胞を制御し、恒常性の維持や疾患の発症に関与しているとされているが、乳癌患者においても、白血球数と腫瘍内 S1P 濃度との関連が示唆された。S1P はリンパ管新生を促し、乳癌を進展させ、結果として、リンパ節転移をきたすことが *in vivo* のモデルで証明されているが、臨床検体においても腫瘍内の S1P 濃度はリンパ節転移と関連することが示唆された。過去の報告ではエストロゲン受容体陰性例で SphK1 遺伝子が強発現しているとの報告があるが、今回の検討では有意差がでなかった。また、免疫組織化学による pSphK1 発現と腫瘍内 S1P 濃度とが関連することをはじめて明らかにした。HER2 発現陽性例は、腫瘍内 S1P 濃度が低く、いずれの症例でも pSphK1 発現が陰性であった。HER2 発現陽性例では MAPK や HER2 などの経路の活性が強いため、ネガティブフィードバックにより SphK1 の活性が下がっている可能性が推察される。

結論：腫瘍内 S1P 濃度は、腫瘍における pSphK1 発現とリンパ節転移とに関連している。乳癌患者において S1P や SphK1 は重要な役割を担っており、臨床応用へ向けた研究が望まれる。

審査結果の要旨

スフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) は、スフィンゴシンにリン酸基を付加するスフィンゴシンキナーゼ (SphK1 あるいは 2) により産生され、癌の進展に関わる脂質メディエータとして機能する。本研究課題では、初発乳癌手術症例を対象に、腫瘍内 S1P を含むスフィンゴリン脂質の定量と腫瘍部のリン酸化 SphK1 免疫染色を行い、臨床病理学的因子との比較を行った。その結果、1) 白血球数高値の症例では低値の症例と比して、腫瘍内 S1P 濃度が有意に高いこと、2) リンパ節転移陽性症例の腫瘍内 S1P 濃度は、陰性症例のそれと比べて有意に高いこと、3) Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) 発現陰性の症例で、発現陽性の症例と比べて腫瘍内 S1P 値が有意に高いことが判明した。本研究から、乳癌患者において白血球数と腫瘍内 S1P の相関、リンパ節転移と腫瘍内 S1P 濃度の相関がはじめて示され、S1P がリンパ管新生を促し、乳癌を進展させ、リンパ節転移をきたすことが強く示唆された。また、S1P の産生を担う SphK1 の発現と腫瘍内 S1P 濃度が関連することもはじめて明らかにした。これら新規性を鑑みて、学位論文としての価値を有すると判断した。