

授与番号	甲第 1652 号
------	-----------

## 論文内容の要旨

### Analysis of clinicopathological and expression of proliferative-related protein of breast cancer based on tumor phenotype

(乳癌における形質分類に基づいた臨床病理学的及び増殖関連タンパク発現の検討)  
(松井雄介, 菅井有, 石田和之, 上杉憲幸, 川崎朋範, 柏葉匡寛, 若林剛)  
(Virchows Archiv (投稿審査中))

#### I. 研究目的

乳癌はLuminal A型, Luminal B型, HER2型, Triple negative (TN)型の4つの形質に分類されている. この分類は主にエストロゲンレセプター (ER), プロゲステロンレセプター (PgR), HER2 タンパクの発現の有無で分類されるが, 最近では増殖能の指標であるKi-67 陽性細胞率も形質分類の判定に影響を及ぼしている. 形質ごとに治療方針や予後が異なることが知られており, 乳癌診療において形質分類は欠くことのできない診断要素となっている.

一方で増殖能を制御している細胞周期のメカニズムも解明されてきており, 細胞増殖を正に制御するいくつかの重要な因子が知られている. 細胞をS期に進行させる因子としてはRb タンパクのリン酸化が最も本質的とされているが, それに関わる因子としてサイクリンD1 やサイクリンAも癌の増殖能を検討する上で重要とされている. 一方p53 タンパクはp21を介して細胞周期を負に制御しており, これが変異することにより細胞周期の制御を失わせることが知られている. 乳癌細胞においても同様のメカニズムによって細胞増殖が制御されているが, 各形質におけるKi-67の発現増加(増殖能の亢進)と上記細胞周期関連タンパク発現との関連性についてはこれまで十分に明らかにされていない.

本研究では, 乳癌を各形質に分類し, その臨床病理学的特徴と増殖能および細胞周期関連タンパクとの関連性について解析することを目的にした.

#### II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学外科学講座で切除された女性の原発性乳癌のうち, 術前化学療法を施行されていない浸潤性乳管癌175例(2009-2013年)を対象とした. 組織型の診断と癌の進行度分類は乳癌取り扱い規約に基づいて行い, 組織学的グレードはNottingham分類に従って決定した. 代表切片を選択し, 各種抗体を用いて免疫染色を施行した. ER, PgR, HER2, Ki-67の発現状況に基づき形質分類し, それぞれの形質でCyclin A, Cyclin D1, p-Rbおよびp53の発現状況を解析した. 免疫染色には自動免疫染色装置(Autostainer, Dako, Denmark)を使用した. ER, PgRおよびHER2の評価は乳癌取り扱い規約に準じて行い, Ki-67, Cyclin A, Cyclin D1, p-Rbおよびp53はScanScope AT turbo (Aperio, Leica biosystems Imaging, Germany)にてヴァーチャルスライドに取り込み, 自動計測用ソフト(Aperio

Pathology system, Germany) を用いて陽性細胞率を算出した。Ki-67, Cyclin A, Cyclin D1, p-Rb, p53 陽性細胞率の関係についてはMann-WhitneyのU検定にて検討し、臨床病理学的所見の多群間比較にはFisher's exact testを用いて $p < 0.05$ を有意差ありとした。

### III. 研究結果

1. 臨床病理学的検討:形質間における組織型では, Luminal A型では乳頭腺管癌が多く, Luminal B型およびTN型では充実腺管癌が多かった。各形質で硬癌の頻度に差はなかった。また組織学的グレードはLuminal A型でグレード1が多く, Luminal B型ではグレード2が多かった。一方, HER2型およびTN型ではグレード3の頻度が高かった( $p < 0.01$ )。
2. Ki-67 陽性細胞率: TN型およびHER2型はluminal A型, Luminal B型と比較して有意に高かった( $p < 0.01$ )。一方, Luminal B型もLuminal A型と比較して有意に高かったが( $p < 0.01$ ), HER2型とTN型の間には統計学的有意差はなかった。
3. Cyclin A 陽性細胞率: TN型はLuminal A型, Luminal B型, HER2型と比較して有意に高く( $p < 0.01$ ), HER2型もLuminal A型もしくはLuminal B型間において有意な差を認めた(それぞれ $p < 0.01, p < 0.05$ )。
4. Cyclin D1 陽性細胞率: Luminal A型はHER2型およびTN型と比較して有意に高く( $p < 0.05$ ), Lumina B型においても同様にHER2型, TN型と比べて高値を示した( $p < 0.05$ )。
5. p-Rb 陽性細胞率: TN型はLuminal A型およびLuminal B型と比較して有意に高く( $p < 0.05$ ), HER2型も同様にLuminal A型もしくはLuminal B型間において有意な差を認めた( $p < 0.05$ )。
6. p53 陽性細胞率: HER2型およびTN型はLuminal A型もしくはLuminal B型と比べて有意に高く( $p < 0.01$ ), またLuminal B型においてもLuminal A型と比較して有意に高かった( $p < 0.01$ )。

### IV. 結 語

乳癌における形質分類間には解析した因子間に有意な違いが多くみられ、形質分類が臨床病理学および分子病理学的異常によって特徴づけられることが示唆された。Ki-67 陽性細胞率と形質分類間には関連性があることが明らかになったが、この関係はCyclin A およびp-Rbの発現によって規定されている可能性が示唆された。一方、Cyclin D1と形質との関係はKi-67 陽性細胞率、Cyclin A およびp-Rbの発現のそれとは逆の関係にあることが示された。乳癌において形質分類は日常診療においても不可欠の診療要素とされているが、本研究はその意義について臨床病理および分子レベルの観点から重要な基礎的根拠を示すものと考えられた。

### V. 学位申請後経過

- ※1 最終審査後、Journal of Iwate Medical Association 67 巻 3 号に 2015 年 8 月掲載予定
- ※2 査読による内容の変更は不要であった。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査	特任教授	木村 祐輔	(緩和医療学科)
副査	教授	菅井 有	(分子診断病理学分野)
副査	准教授	石田 和之	(分子診断病理学分野)

乳癌は、エストロゲンレセプター、プロゲステロンレセプター、HER2 タンパク発現の有無、および細胞増殖能の指標である Ki-67 陽性細胞率により、Luminal A 型、Luminal B 型、HER2 型、Triple negative (TN 型) の 4 つの形質に分類され、治療方針の決定、予後予測に不可欠な診断要素となっている。一方、細胞増殖を制御する細胞周期メカニズムの解明が進み、重要な種々の制御因子が明らかとなってきた。本研究論文は、乳癌における各形質ごとの臨床病理学的特徴と、増殖能および、細胞周期関連タンパク (p-Rb, Cyclin D1, Cyclin A, p53) との関連を明らかにする事を目的とした論文である。Ki-67 陽性細胞率と各形質分類間には関連があり、Luminal A 型、Luminal B 型に比較し、HER2 型、TN 型で有意に高い結果を得た。この結果は、Cyclin A および p-Rb の発現により規定されている可能性が示唆された。一方、Cyclin D1 は、Ki-67 陽性細胞率と逆の関係がある事が示唆された。

本論文は、乳癌の各形質分類における細胞増殖能、主要な細胞周期関連蛋白との関連を詳細に検討した報告であり、臨床病理学および分子レベルの観点から重要な基礎的根拠を示した研究といえる。学位に値する論文である。

### 参考論文

- 1) 胃癌分離腺管および周囲粘膜における分離腸上皮化生腺管、分離非上皮化生腺管の分子病理学的解析. (杉本 亮 他 6 名の共著) 岩手医学会雑誌 6 (松井巻, 4 号 (2013) : p271-283.
- 2) 腫瘍グレードに基づいた分化型早期胃癌の分子病理学的解析. (織笠俊輔 他 6 名の共著) 岩手医学会雑誌 6 5 巻, 3 号 (2013) : p155-164.
- 3) 大腸鋸歯状病変の臨床病理および分子異常-鋸歯状経路の意義-. (菅井 有 他 9 名の共著) 大腸癌 FRONTIER 5 巻, 4 号 (2012) : p24-31.