

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 加藤 貴美

2 論文題目

乳癌における中心体構成蛋白質ペリセントリン異常発現の病理学的意義についての研究

3 論文の内容の要旨

1. 背景と目的

乳癌は女性の部位別がん罹患率第一位であり, 予後や薬物感受性に関する関心が高い疾患の一つである. ホルモン受容体と HER2 いずれも陰性の triple-negative breast cancer (TNBC) は, ホルモン受容体陽性乳癌に比べて予後不良であり, 遺伝子発現プロファイリング上も複数のサブタイプが含まれる為, その生物学的特性や有効な治療戦略の開発には様々なアプローチが必要と考えられる. 一般に TNBC は高い核異型度, 細胞増殖性, 染色体不安定性が高頻度で見られる. 我々は染色体不安定性や分裂異常に関連する中心体増幅と, 中心体マーカーのペリセントリン発現異常に着目した. まず, 中心体増幅の指標に免疫組織化学 (IHC) 法によるペリセントリンの評価法を確立し, その上で TNBC における中心体増幅の頻度, 中心体増幅と核 DNA 量異常, 病理学的所見や患者予後との関連を調べ, TNBC の生物学的特性を明らかにすることを目的とした.

2. 対象と方法

当院で初回治療に手術療法を受けた TNBC 55 例とホルモン受容体陽性かつ HER2 陰性, Ki-67 標識率 14%未満の対照群 luminal A-like breast

cancer (BC) 55 例, 計 110 例 (凍結検体保有症例: TNBC 19 例, luminal A-like BC 27 例, 計 46 例) を対象とした. 当初, 46 例のペリセントリンの数の異常につき, 凍結検体の捺印標本 (細胞全体) を用いた免疫細胞染色/免疫蛍光染色 (ICC/IF) 法とパラフィン包埋組織 (FFPE) ($4\ \mu\text{m}$ の薄切標本の為, 細胞の一部) を用いた IHC 法の双方を評価し, ペリセントリンの数の異常の保有細胞割合 平均値以上の割合が両測定法で有意に相関することを確認した上で IHC 法を用いた. IHC 法によるペリセントリン発現異常の評価は TNBC 55 例と luminal A-like BC 55 例につき症例毎 200 細胞のペリセントリン染色陽性領域 (spot) の数と大きさを計測した. 3 個以上の spot 数と $2\ \mu\text{m}$ 以上の spot の大きさを異常発現と定義し, ペリセントリン spot の「数かつ/または大きさ」及び「大きさ」の増加 spot 保有細胞割合について TNBC の再発に関する ROC 曲線から cutoff 値を見出して高値群/低値群に分類した.

次に, 染色体不安定性の評価に TNBC 55 例, luminal A-like BC 10 例で FFPE ブロックを用いた Feulgen 反応による核 DNA 量異常 (最大ピークの DNA 係数区域, 最大ピークが占める細胞比率, 複数ピークの有無等) が凍結検体の FISH 法による染色体数異常の結果と有意に関連することを確認し, 核 DNA 量異常を染色体不安定性の指標に用いた. 最後に, ペリセントリン発現異常と染色体不安定性, 臨床病理学的因子との関連, 予後への影響 [log-rank 検定, 無再発生存率 (RFS) 及び疾患特異的生存率 (DSS)] を調査した.

3. 結果

サブタイプの比較では, ペリセントリン spot の「数/大きさ」と「大きさ」の増加 spot 保有細胞割合は共に TNBC の方が有意に高値であった. 染色体不安定性の評価では TNBC の方が luminal A-like よりも高度で複雑な核 DNA 量異常の割合 (最大ピークの核 DNA 係数 $3c$ 以上等) が有意に多かった.

TNBC 55 例では「数/大きさ」の高値群は低値群よりも高度で複雑な核 DNA 量異常の割合が有意に多く (最大ピークの核 DNA 係数 over $4c$ 等), 中心体増幅と染色体不安定性の関連が示された.

中心体増幅と臨床病理学的指標について、「数/大きさ」、「大きさ」の高値群は、TNBC 群と対照群を併せた乳癌 110 例では低値群よりも増殖指標(核グレード, Ki-67 標識率)と強い相関を示し、TNBC 55 例の中でもリンパ管侵襲等の悪性度指標と関連がみられた。

中心体増幅と予後との関連は、TNBC 55 例では「数/大きさ」と「大きさ」の高値群は、各低値群よりも RFS と DSS が不良であり、Cox の単変量解析においても再発に関する有意な予後因子であった。「数/大きさ」、「大きさ」の高値群は、化学療法施行/未施行に関わらず低値群に比べ予後不良の傾向を示した。また「大きさ」の高値群ではタキサンを含むレジメン群が EC 群に比べより予後良好であったのに対し、「大きさ」の低値群ではいずれのレジメンでも予後良好であった。

4. 考察

乳癌と中心体増幅の研究においてサブタイプ等の悪性度が中心体増幅や染色体不安定性と関連するとの報告はみられるが、IHC 法を用いた多数例の TNBC について中心体増幅が予後因子であることを示したという報告はまだない。TNBC においては高度の中心体増幅が高頻度でみられ、高度で複雑な核 DNA 量異常と関連し増殖指標とも強く関連した。さらに中心体増幅高度の群は予後不良であり、化学療法レジメンに対する感受性と中心体増幅とが関連する可能性も示唆された。ペリセントリンの「数/大きさ」は中心体増幅総量を表し、「大きさ」は増幅した中心体が集簇して有糸分裂が継続する状態をみている可能と考えられ、染色体不安定性を有しながら活発な増殖を継続する状態が予想された。本研究結果をさらに確認する為に症例数を増やした別コホートにおける検討の価値があると考えられた。

5. 結論

乳癌における IHC 法によるペリセントリンの異常発現は、TNBC の予後因子となることが示された。

4 キーワード

Triple-negative breast cancer (TNBC), 中心体増幅, 核 DNA 量, 染色体不安定性, ペリセントリン