



Title	Association of loss of BRCA1 expression with centrosome aberration in human breast cancer
Author(s)	下村, 淳
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49903
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	しもむらあつし 下村 淳
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 7 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Association of loss of BRCA1 expression with centrosome aberration in human breast cancer (ヒト乳癌における BRCA1 の発現低下と中心体異常との相関)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 野口眞三郎 (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 森 正樹

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

ヒト乳癌では、中心体の数の増加や径の増大などの異常がしばしば報告されている。中心体は染色体分離において中心的役割を荷っており、中心体の異常は、染色体分離異常を経て染色体不安定性 (CIN) につながり、癌の発生に関わっていると考えられている。我々は、乳癌において中心体の異常と CIN との相関の有無、および中心体制御の候補因子 (BRCA1, Aurora-A, p53) と中心体異常との相関について検討した。

〔 方 法 〕

原発性乳癌 50 例の手術標本組織を用い、中心体は坑 ャチューブリン抗体による免疫蛍光染色で数および大きさを 1 症例につき 200 個の乳癌細胞にて計測した。中心体を 3 個以上持つ細胞の割合を中心体の数的異常の指標とした。中心体の大きさについては、腫瘍周辺の正常乳腺上皮組織 (7 例) にて中心体の径の平均 (Av.) を計測し、Av. + 3SD 以上の中心体径を持つ細胞の割合を異常の指標とした。

CIN は、1, 11, 17 番染色体のセントロメア領域に対するプローブを用いた fluorescence in situ hybridization (FISH) 法にて、染色体数を 1 症例につき 200 個の乳癌細胞にて計測し解析した。各染色体において染色体数を階級値とし最大度数 (modal (%)) を 100 から引いた値 (non-modal (%)) を算出し、3 つの染色体での non-modal の平均をその症例の CIN の指標 (CIN value) として用いた。

BRCA1 の発現の有無、および Aurora-A, p53 の過剰発現の有無は、免疫染色にて解析した。BRCA1 と p53 は核の染色の有無、Aurora-A は細胞質の染色の有無で判定した。いずれも 10% 以上の乳癌細胞が染色された場合を陽性とした。

〔 成 績 〕

(1) 正常乳腺上皮における中心体径の平均は $0.91 \pm 0.12 \mu\text{m}$ であった。50 例の乳癌で中心体数異常がある細胞の割合は、0.5-86.5% (中央値 34.5%) で、中心体の増大 (最大径が Av. + 3SD 以上) がある細胞の割合は、0.9-30.4% (中央値 9.5%) であった。中心体の数または大きさの異常と臨床病理学的因子 (年齢、腫瘍径、リンパ節転移、ER, PR, 病理学的グレード、Her2 遺伝子の増幅) との間には有意な相関を認めなかった。

(2) CIN value は 34.2-69.5% (中央値 57.3%) で、臨床病理学的因子の中では、腫瘍径と有意な相関 ($P=0.005$) を示し、病理学的グレードとは境界有意な相関 ($P=0.050$) を示した。中心体の数と CIN value との相関係数は、Spearman $r = -0.113$ ($P=0.436$) 中心体の大きさと CIN value との相関係数は、Spearman $r = -0.160$ ($P=0.268$) であり、いずれも有意な相関は認められなかった。

(3) BRCA1, Aurora-A, p53 の免疫染色の結果は、陽性例がそれぞれ 18 例 (36%), 9 例 (18%), 16 例 (32%) であった。BRCA1 染色陰性例は陽性例に比べて中心体の数が有意に増加していたが ($P=0.001$), 中心体の大きさでは有意差を認めなかった。BRCA1 遺伝子変異を持つ BRCA1 乳癌 3 例についても解析したところ、BRCA1 発現陽性の乳癌に比べ中心体の数が有意に増加していた ($P=0.011$)。Aurora-A および p53 の発現は中心体の数、大きさともに有意な相関が認められなかった。また、CIN との関係では、Aurora-A が過剰発現している乳癌では、CIN が有意に高かったが ($P=0.003$)、BRCA1 および p53 は CIN とは有意な相関を認めなかった。

〔 総 括 〕

乳癌では中心体の数および大きさの異常は、ともに CIN との間に有意な相関関係を認めなかった。乳癌においては中心体の異常が CIN の主な原因ではないと考えられる。細胞株を使った最近の報告では、中心体が異常に増加しても、2 極に集合し異常な染色体分離を防ぐことが観察されているが、本研究においても、乳癌組織の分裂中の細胞で同様のことが観察されており、中心体の異常だけでは CIN を引き起こさないと考えられた。

BRCA1 の発現低下が中心体数の増加と有意に相関していることから、BRCA1 は中心体の数の制御に関わっていることが示されたが、CIN とは相関が認められなかった。

CIN と有意な相関を認めるのは Aurora-A の過剰発現だが、Aurora-A は spindle checkpoint の異常に関わっており、乳癌で CIN のおこる原因は中心体の異常ではな

く、spindle checkpointの破綻による可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究の目的は、中心体の異常を有するヒト乳癌がどのような臨床病理学的特徴を持つかを明らかにすること、並びに、中心体の異常と染色体不安定性の相関を明らかにすることである。本申請者らは、中心体の数、大きさ、および、染色体不安定性を免疫組織学的またはFISH法を用いて詳細に検討している。また、中心体の異常を惹起する可能性のある候補因子BRCA1、Aurora-A、p53の発現と中心体の異常との相関についても合わせて検討している。その結果、(1)中心体の異常は古典的な臨床病理学的因子（腫瘍径、リンパ節転移、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、HER2等）とは相関しないこと、(2)中心体の異常と染色体不安定性との間には相関がないこと、更には、(3)BRCA1の発現低下が中心体の数の増加と有意な相関を示すことを明らかとした。

ヒト乳癌組織を用いて中心体の異常と染色体不安定性、臨床病理学的特徴、中心体制御因子との相関を詳細に検討したのは本研究が最初であり、本研究の成果は、今後、ヒト乳癌における中心体異常の生物学的意義を研究する上で重要な示唆を与えるものと考えられる。よって本論文は学位に値するものと判断する。