

Title	BRCA1 promoter methylation of normal breast epithelial cells as a possible precursor for BRCA1-methylated breast cancer
Author(s)	大谷, 陽子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51912
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	大谷 陽子
論文題名 Title	<i>BRCA1</i> promoter methylation of normal breast epithelial cells as a possible precursor for <i>BRCA1</i> -methylated breast cancer (<i>BRCA1</i> プロモーターメチル化陽性乳癌の前駆細胞としての <i>BRCA1</i> メチル化陽性正常乳腺上皮細胞)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕組織学的に正常であっても分子学的異常を有する細胞集団が存在しそこから癌が発生すること(field cancerization)が種々の癌で報告されている。しかし、乳癌でfield cancerization仮説を検討した報告は少ない。<i>BRCA1</i>と<i>GSTP1</i>は乳癌でプロモーターのメチル化をしばしば認める癌抑制遺伝子であり、<i>BRCA1</i>のメチル化はER陰性乳癌と、<i>GSTP1</i>のメチル化はER陽性乳癌との関連が報告されている。本研究の目的は、この2つの遺伝子の癌周囲の正常組織でのメチル化を調べることにより、field cancerization仮説が乳癌にも当てはまるかを検証することである。 〔方法〕 2001～2012年に当院で乳房部分切除あるいは乳房切除を施行した147症例の腫瘍組織における<i>BRCA1</i>と<i>GSTP1</i>のプロモーター領域のメチル化をスクリーニングし(凍結腫瘍組織から抽出したDNAをbisulfite処理後にreal-time methylation specific PCR (MSP法)で解析)、<i>BRCA1</i>メチル化腫瘍15例・<i>BRCA1</i>非メチル化腫瘍15例、および、<i>GSTP1</i>メチル化腫瘍9例・<i>GSTP1</i>非メチル化腫瘍11例を以下の研究の対象とした。手術標本のパラフィン切片から実体顕微鏡観察下に正常乳腺上皮細胞を手動的に採取してDNAを抽出し、<i>BRCA1</i>と<i>GSTP1</i>プロモーターのメチル化をMSP法で解析した。正常組織のサンプリングは各症例1-5箇所で行った。また、<i>BRCA1</i>および<i>GSTP1</i>の免疫染色を行い、蛋白発現とメチル化の関連を解析した。更に、末梢血単核球の<i>BRCA1</i>メチル化と腫瘍および正常組織の<i>BRCA1</i>メチル化との関連も合わせて検討した。 〔成績(Methods/Results)〕 <i>BRCA1</i>メチル化腫瘍15例中9例で、正常乳腺組織のメチル化を少なくとも1箇所以上認めた。腫瘍の近傍から最大6cmの遠位部までメチル化を認めた症例や腫瘍の近傍にはメチル化を認めず遠位部のみにメチル化を認めた症例が混在していた。一方で、<i>BRCA1</i>非メチル化腫瘍では正常乳腺組織にメチル化を認めなかった。<i>GSTP1</i>に関しては腫瘍のメチル化の有無に関わらず正常組織には一例もメチル化を認めなかった。Magnetic-activated cell sorting (MACS) 法を用いて正常組織より上皮細胞を単離して<i>BRCA1</i>メチル化解析を実施することによって、メチル化が上皮細胞に存在することを確認した。また、<i>BRCA1</i>、<i>GSTP1</i>にメチル化がある症例ではそれぞれの蛋白発現(免疫染色)は有意に低下していた。更に、末梢血単核球に<i>BRCA1</i>のメチル化を認めた17例中9例では腫瘍に、5例では正常組織にメチル化を認めたのに対して、末梢血単核球に<i>BRCA1</i>のメチル化を認めなかった20例では、腫瘍および正常組織ともに一例もメチル化を認めなかった。 〔総括(Conclusion)〕 本研究より、まず正常乳腺上皮細胞に<i>BRCA1</i>のメチル化が誘導され、次にそれらの細胞が母地となって<i>BRCA1</i>メチル化乳癌が発生する可能性が示唆された。また、末梢血単核球に<i>BRCA1</i>のメチル化を有する症例は<i>BRCA1</i>メチル化乳癌の発生リスクが高くなることを以前報告したが、今回の検討より正常乳腺組織におけるメチル化とも相関していることが判明した。一方、<i>GSTP1</i>メチル化腫瘍では周囲の正常乳腺上皮細胞にメチル化が認められず、<i>GSTP1</i>メチル化はfield cancerizationには関与していないものと推察された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大谷 陽子

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 野口 眞三郎
	副 査	大阪大学教授 立井 英一
	副 査	大阪大学教授 木村 正

論文審査の結果の要旨

BRCA1とGSTP1は乳癌の発生に関与する癌抑制遺伝子である。本研究の目的は、正常乳腺組織におけるこれらの遺伝子のプロモーターのメチル化の有無とその分布を調べることである。乳癌手術標本を用いて、腫瘍の周囲あるいは遠隔の正常組織（パラフィン切片）より実体顕微鏡下に用手的に正常乳腺上皮細胞をmicrodissectionしDNAを抽出しBRCA1およびGSTP1のメチル化をMethylation-specific PCR法で解析した。腫瘍のBRCA1がメチル化されている症例では、15例中9例で正常組織のメチル化を認めた。一方、腫瘍のBRCA1がメチル化されていない症例（15例）では、全例で正常組織にメチル化を認めなかった。また、GSTP1に関しては腫瘍のメチル化の有無に関わらず正常組織にメチル化を認めなかった。Magnetic-activated cell sorting法により、BRCA1のメチル化が単離された正常乳腺上皮細胞に存在することを確認した。以上の結果より、BRCA1メチル化陽性の正常乳腺上皮細胞が、BRCA1メチル化陽性乳癌の前駆細胞となる可能性が示唆された。一方この仮説はGSTP1には当てはまらなかった。本論文は、BRCA1メチル化陽性乳癌の発生に”field cancerization”が関与することを示唆した点で意義があり、学位論文に値すると考える。