

Title	BRCA1 promoter methylation in peripheral blood cells is associated with increased risk of breast cancer with BRCA1 promoter methylation
Author(s)	岩本, 崇
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58984
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

【124】	
氏 名	いわもと たかし 岩 本 崇
博士の専攻分野の名称	博 士（医学）
学 位 記 番 号	第 2 4 9 9 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 1 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	BRCA1 promoter methylation in peripheral blood cells is associated with increased risk of breast cancer with BRCA1 promoter methylation （末梢血液細胞における BRCA1 遺伝子メチル化は BRCA1 遺伝子メチル化を有する乳癌のリスクと関連する）
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 土岐祐一郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

現在、乳癌の易罹患性の診断法の確立を目指して、乳癌罹患リスクと相関する様々な因子の同定を目的とした研究が行われている。乳癌のおよそ5-10%は、家族性に発生する乳癌で、そのうち約半数程度がBRCA1遺伝子あるいはBRCA2遺伝子の変異によって生じることが知られている。また、BRCA1遺伝子は家族性乳癌だけでなく散発性乳癌においても重要な役割を果たしている。即ち、乳癌の約10-15%ではプロモーターのメチル化によってBRCA1遺伝子が不活性化されていると報告されている。このように、BRCA1遺伝子のメチル化は乳癌の発生において重要な役割を担っていると考えられる。本研究では、末梢血液細胞におけるBRCA1遺伝子のメチル化が乳癌罹患のリスクファクターとなりえるかをケースコントロールスタディにより検討した。

〔 方 法 〕

乳癌患者200例（ケース）と健常女性（コントロール）200例の末梢血液細胞（乳癌患者では全例で術前に採血を実施）、および、乳癌患者162例の癌組織よりDNAを抽出し、パイサルファイト変換処理後、TaqMan法を用いたリアルタイムPCR法によりBRCA1プロモーター領域のメチル化および非メチル化の定量解析を行った。また、リアルタイムPCR後サンプルは全て2%アガロースゲルで電気泳動し、メチル化の有無を再確認した。乳癌罹患リスクは、他の疫学的リスクファクターである年齢、家族歴、出産の有無、閉経の状況、BMIを調整後に計算した。今回の実験において検出された末梢血液細胞のメチル化DNAが、循環血中癌細胞由来のものでないことを確認するため、メチル化DNAを非メチル化DNAに希釈混入し、メチル化特異的PCR法により感度の実験を行った。更に、癌組織162例のメチル化の有無と臨床病理学的因子（腫瘍径、リンパ節転移、組織型、病理学的悪性度）、ホルモン受容体（ER、PR）、HER2の発現との相関、および、癌組織50例を用いた免疫染色法によるメチル化の有無とBRCA1蛋白の発現との相関についても検討した。

〔 成 績 〕

末梢血液細胞においてBRCA1遺伝子のメチル化が確認された乳癌患者は200例中43例（21.5%）、健常者は200例中27例（13.5%）と乳癌患者において有意にメチル化率の増加を認めた（ $P = 0.045$ ）。さらに同サンプルの癌組織における臨床病理学的因子の解析では、原発乳癌組織では162例中31例（19.1%）にメチル化が認められ、ER陰性（ $P = 0.068$ ）、PR陰性（ $P = 0.006$ ）と有意な相関が認められた。乳癌組織50例による免疫染色においては非メチル化40例中33例（82.5%）、メチル化例10例中1例（10%）でBRCA1タンパクの発現を認め、メチル化により有意にBRCA1タンパクの発現が抑制されていることがわかった。乳癌をメチル化陽性と陰性に分類し、それぞれの乳癌罹患リスクを解析したところ、末梢血液

細胞においてメチル化が陽性の女性は陰性の女性に比して有意にBRCA1メチル化陽性の乳癌の罹患リスクが増加することが判明した(odd ratio=17.78 95% C.I. 6.71-47.13, P<0.001)。一方、BRCA1陰性乳癌の罹患リスクは有意に増加しなかった。また実験系の感度を調べる希釈実験の結果から、末梢血液細胞のメチル化の測定には循環血中癌細胞は影響しないことがわかった。

〔 総 括 〕

末梢血液細胞におけるBRCA1遺伝子のプロモーター領域のメチル化が、メチル化陽性乳癌のリスクファクターとなることが明らかとなった。また、メチル化陽性乳癌は、ER陰性、PR陰性の形質を示し、悪性度が高い乳癌であることが推察された。末梢血液細胞におけるBRCA1遺伝子のメチル化が新規の乳癌リスクファクターとなることが期待される。

論文審査の結果の要旨

本申請者は、乳癌の易罹患性の新たな診断法の開発を目指し末梢血細胞におけるBRCA1遺伝子のメチル化に着目して以下の研究を実施した。即ち、乳癌患者200例(ケース)と健常女性(コントロール)200例の末梢血細胞におけるBRCA1遺伝子のメチル化、および、乳癌患者においては乳癌組織におけるBRCA1遺伝子のメチルをMSP(methylation-specific PCR法)で解析した結果、末梢血細胞のBRCA1遺伝子のメチル化が、BRCA1遺伝子のメチル化が陽性である乳癌のリスクファクターとなることを明らかにした。また、BRCA1遺伝子メチル化陽性乳癌は、エストロゲン受容体陰性かつプロゲステロン受容体陰性の形質を示し、悪性度が高い乳癌であることも明らかにした。

末梢血細胞におけるBRCA1遺伝子のメチル化が新規の乳癌リスクファクターとなる可能性を示した本研究は学位論文に値すると考える。