



Multiple (multicentric and multifocal) cancers in the ipsilateral breast with defferent histologies : profiles of chromosomal numerical abnormality

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中村, 律子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1264

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 4 1 1 号	学位授与年月日	平成 1 6 年 3 月 2 3 日
氏 名	中 村 律 子		
論文題目	Multiple(multicentric and multifocal)cancers in the ipsilateral breast with different histologies: profiles of chromosomal numerical abnormality (異なる組織型を示す同側性多発(多中心性および多病巣性)乳癌: 染色体数異常プロファイル)		

論文題目

Multiple (multicentric and multifocal) cancers in the ipsilateral breast with different histologies: profiles of chromosomal numerical abnormality

(異なる組織型を示す同側性多発 (多中心性および多病巣性) 乳癌: 染色体数異常プロファイル)

論文の内容の要旨

[はじめに]

同時性多発乳癌、特に同側乳房内発生した場合、その発生起源の特定や治療方針の決定は臨床、病理双方にとっての課題であり、今まではヘテロ接合性の消失 (loss of heterozygosity; LOH) などの情報をもとに、多中心性 (multicentric; 独立した多発癌) か多病巣性 (multifocal; 多数存在、臓器内転移なども含む) かについて推測されていた。染色体数の変化は癌細胞系譜を知るための有用な方法で、従来短期培養に基づく核型解析が両側性および同側性多発乳癌に対してもしばしば適用されていた。しかし短期培養や染色体核型解析は診断病理検査室にとってまだ技術的に難しく、より簡便な分子生物学的手法が必要であった。そこで我々は、通常の病理診断で使用されているホルマリン固定パラフィン切片に適用可能な新しい fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を用いて、同側性多発乳癌における染色体数異常の解析を行い、発生起源の推測を試みた。

[患者および方法]

肉眼的に、同側乳房内に2個の癌が発生した3症例 (症例1: 80歳女性、左側乳房内に粘液癌と硬癌; 症例2: 45歳女性、右側乳房内に充実腺管癌と硬癌; 症例3: 72歳女性、右側乳房内に2個、ともに硬癌性浸潤を伴う乳頭腺管癌) において、ホルマリン固定パラフィン切片を作成、マイクロウェーブ照射後、セントロメア α -サテライト DNA プローブを用い FISH 法にて染色体数の解析を行った。

[結果]

症例1: 組織型が異なるにもかかわらず、2個の癌の双方で1, 2, 3, 6, 7, 8, 11, 17番およびX染色体の増加、15番染色体の減少を認めた。さらに、硬癌の組織像をもつ病変では9, 12, 16番染色体の増加を、粘液癌の組織像をもつ別の病変では18番染色体の増加をそれぞれ認めた。

症例2: 異なる組織像の2個の癌双方で認められた染色体数異常は8番の増加のみで充実腺管癌の組織像をもつ病変では1, 3, 4, 7, 8, 10, 17, 20番染色体の増加およびX染色体の減少を認めたが、硬癌の像をもつ同一乳房内の別の病変では8番以外の染色体数に異常は認められなかった。

症例3: 同一組織型を示す2個の癌は3, 8, 9, 17番染色体の増加を双方で認め、1個はさらに20番に、片方はX染色体にそれぞれ増加を認めた。

[考察]

癌の分子病理学的解析のうち、対立遺伝子型解析 (allelotype analysis), LOH 解析や核型

分析から多発腫瘍の起源推定した報告がいくつかあるが、これらの方法論はいずれも主として多少とも進行した腫瘍に適応可能なものであり、また腫瘍部のみから顕微鏡下で組織を採取して上記の DNA 解析をするには、しばしば熟練した技術が必要とした。FISH 法は、培養腫瘍細胞核型分析と異なり観察したいその部位での変化を直接同定することが出来るという点で便利であるが、通常の病理診断で使用するホルマリン固定パラフィン切片サンプルでは明瞭な DNA シグナルを検出することは今まで困難であった。市販されているパラフィン前処理キットによりコントラストは上昇するが、特に 28 時間以上固定された標本ではその効果はさほど期待されるものではなかった。この点を改善するため、マイクロウェーブ照射による FISH 法を我々の教室で考案し、胃癌サンプルで良好な結果を得ることができたため、同手法を用い今回初めて管腔臓器ではなく実質臓器の癌、乳癌での検索を行った。症例 1 では 1, 2, 3, 6, 7, 8, 11, 17 番および X 染色体の増加を認め、染色体数異常のプロファイルとしては部分的には過去の報告と一致した結果が得られた。3 症例のうち、症例 2 の硬癌が最も少ない染色体数異常 (8 番染色体の増加) であった。Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法、腕特異的、部位特異的プローブを用いた FISH 法および spectral karyotyping (SKY) 法による最近の報告では、乳癌細胞株で 8 番染色体長腕の構造異常が認められている。我々の症例観察からは 8 番染色体の数的変異は乳癌に早期から起こり得る染色体異常と考えられる。乳癌でも他の固形腫瘍同様に、G-band 解析や染色体特異性 DNA プローブを使用した FISH 法による解析にて染色体数不安定性が報告されている。染色体数の不安定性の著しい症例ではリンパ節転移や組織学的悪性度が高いと述べられている。我々の解析したこれらの症例の結果からリンパ節転移のない段階でも、ある程度の染色体数異常を同定し得、乳癌の染色体数異常の臨床的意義を評価するのに有効な手段であることを示した。

〔結論〕

同側性多発乳癌における染色体数異常の解析より、硬癌、粘液癌などの組織学的特徴のみでは推測できない癌の発生起源の推測が可能であった。今回の症例では症例 1 は同一起源で、症例 2 は異なる起源であると推定できた。同じ組織型であった症例 3 はほぼ同様の染色体数異常を示した。この方法は組織型を問わず多発癌の起源推定に有用であり、多彩な臨床像を呈する多発乳癌の攻略のために診断病理検査室でも利用可能な方法であることを示した。

論文審査の結果の要旨

Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法は染色体数を検索するのに有用な方法であるが、明瞭なシグナルを得るためには標本の短期間の固定が望ましく、特に長期ホルマリン固定されたパラフィン包埋検体ではシグナルの検出が困難であるとされていた。申請者の所属する研究グループは、このようなホルマリン固定パラフィン包埋検体においても、マイクロウェーブ照射を加えることで明瞭なシグナルを得ることに成功したが、この手法の応用はこれまでは胃などの管腔臓器に限られていた。そこで、申請者はこの手法を乳腺に応用し、同側性多発乳癌 3 症例 (組織型の異なる 2 例及び同一組織型の 1 例) における、各癌部での染色体数異常パターンを比較することで、癌の起源推定を行った。

異なる組織型 (粘液癌及び硬癌) を示した症例 1、および同一組織型 (硬癌性の浸潤を伴う乳頭腺管癌) を示した症例 3 は、ほぼ同じ染色体 (10 個以上) における数の減少あるい

は増加を認め、染色体数異常パターンが類似したことより同一起源と推測できた。しかし充実腺管癌及び硬癌を示した症例2では、前者の癌が多くの(9個の)染色体で数の増加を示したのに対し、後者の癌は一個(第8番)の染色体でのみ数の増加を示した。2つの癌の染色体数異常パターンは大きく異なり、それぞれの癌は異なる起源を持つものと推測できた。

このような観察結果から、申請者は、癌の起源推定をするには組織型の判定のみでは不十分であり、染色体数異常パターンの比較が起源推定を行う一つの有用な基準になることを結論した。また、マイクロウェーブ照射を加えた FISH 法が、ホルマリン固定時間の長い乳腺検体においても、明瞭なシグナルの検出に有用であることを示した。Human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2) 高発現の転移性乳癌を選別するための検査法の一つに FISH 法があり、従来の FISH 法では固定時間を短くするなどの配慮が必要であったが、今回申請者が使用した検体(最大6日ホルマリン固定)でも明瞭なシグナル検出が可能であり、意味のある比較ができたことは、病理業務の簡略化やマイクロウェーブ法の適応検体の拡大に貢献しうる仕事として、高く評価された。各検査施設での今後の普及を加速する結果が得られたと考えられる。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 起源が同じか、同じでないかがわかることは、臨床的にどのような意義があるのか
- 2) 遺伝子から転移性の難易の推測ができるか
- 3) なぜ DNA アレイを使わないのか
- 4) 検査するプローブの数を増やせないのか
- 5) FISH シグナルの計数作業における主観性と個人差はどうか
- 6) 使用したプローブを選んだ基準は
- 7) マイクロウェーブは固定組織にどのような効果をもつのか
- 8) 煮沸とマイクロウェーブ照射の差は
- 9) 染色体数の異常減少に結びつくアーチファクト混入の程度は
- 10) ハーセプチン適応症では FISH はどのように使われるか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	寺川	進	
	副査	阪原	晴海	副査 沖 隆