




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第311号	氏名	亀井美玲
審査委員会委員	主査氏名	白尾 國昭	
	副査氏名	鈴木 正志	
	副査氏名	加島 健司	
論文題目: HE4 expression can be associated with lymph node metastases and disease-free survival in breast cancer 乳癌におけるHE4の発現はリンパ節転移および無再発生存に関与する			
論文掲載誌名: ANTICANCER RESEARCH			
論文要旨: 【緒言】 Human epididymis (以下HE4) 遺伝子は様々なストレスに反応して活性化されるアンチプロテアーゼのSLPIやelafinと同様、生体防御に関係すると言われている。さらに、卵巣癌でHE4が発現しており、これが腫瘍マーカーになることも報告されている。しかし、乳癌における働きは現在のところ不明である。本研究はHE4発現と乳癌の臨床病理学的因子および無病生存率との関係を検討したものである。【対象・方法】2004年1月から2009年9月まで大分大学付属病院で手術を施行された原発性乳癌症例129例 (stage 0-III) が対象であった。検体は4µmのパラフィン包埋切片を用い、抗HE4抗体で免疫染色を行った。判定は癌細胞における細胞質のHE4蛋白染色強度および陽性細胞占有率をもとに行った。強度は、0、1+、2+、3+の4段階、占有率は、0,1(1-24%),2(25-49%),3(50-74%),4(75-100%)の5段階において判定し、両ポイントの積が4以上を陽性とした (H-score)。RT-PCRにてmRNAの定量を行い、正常組織よりも発現が高いものを陽性とした。【結果】HE4の免疫染色による発現状況と臨床病理学的因子との関連をみると、年齢、腫瘍径、組織型、核グレード、ER、PgR、HER2、Ki-67、いずれにおいても有意な相関は認めなかった。しかし、リンパ節転移の有無でみると、リンパ節転移例で有意にHE4陽性が多かった。また、HE4陽性例は陰性例に比べ無病生存率が有意に不良だった。DCIS (ステージ0) 症例を除いた検討においても、HE4陽性症例は陰性症例にくらべ無病生存率が有意に高い結果となった。しかし、RT-PCR法においては、HE4 mRNAの結果と無病生存率との間に有意な関連性は認められなかった。さらに、mRNA発現とリンパ節転移の有無に関しても、免疫組織染色で認めたような有意な相関は認められなかった。【考察】HE4発現と臨床病理学的因子との関連性の検討ではリンパ節転移の有無のみ有意な相関がみられた。無病生存率に関する検討では、HE4発現陽性症例は陰性症例に比べ有意に再発率が高い結果となった。しかし、mRNA発現に関して、無病生存率とリンパ節転移との相関は認めなかった。この結果の違いの要因として、正常組織におけるHE4 mRNAの発現や転写後修飾の影響などが考えられた。【結語】乳癌におけるHE4の発現はリンパ節転移の指標となり得るかもしれない。さらに、HE4の発現は乳癌の予後因子となる可能性も示唆された。			
本研究は、免疫組織染色法およびRT-PCR法によって、乳癌にHE4が発現していることを証明した重要な研究である。また、乳癌におけるHE4の発現がリンパ節転移および予後 (再発) と密接に関連していることを示唆した研究でもあり、未だ研究報告の少ない乳癌領域において意義のある研究と思われる。今後のさらなる研究の発展が望まれるところである。以上、本研究は新しい予後因子の可能性を示唆した意義ある研究であり、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。			

学 位 論 文 要 旨

氏名 亀井 美玲

論 文 題 目

HE4 expression can be associated with lymph node metastases

And disease-free Survival in breast cancer

乳癌における HE4 の発現はリンパ節転移および無再発生存に関与する

要 旨

緒言 Human epididymis(以下 HE4) 遺伝子は様々なストレスに反応して活性化されるアンチプロテアーゼの SLPI や elafin と同様に生体防御に 関する働きが知られている。また、卵巣癌 において発現しており腫瘍マーカーになることが報告されているが、乳癌における働きは明らかとなっていない。本研究は HE4 発現と臨床病理学的因子との関連性を調べ、再発予後因子となりうるか検討した。

研究対象及び方法

対象：2004 年 1 月から 2009 年 9 月まで当院にて手術を施行された原発性乳癌症例 129 例

方法：検体は 4 μ m のパラフィン包埋切片を用い、抗 HE4 抗体を用い免疫染色を行った。

癌細胞の細胞質の HE4 蛋白陽性染色の強度および陽性細胞占有率を観察し、強度は、0、

1+、2+、3+、占有率は 0,1(1-24%),2(25-49%),3(50-74%),4(75-100%)にわけて判定し、

両者から H-score として判定し 4 以上を陽性とした。RT-PCR 法では、手術にて摘出した

癌および正常組織を RNA later 存在下に -80°で保存し、RNeasy Mini Kit にて RNA を抽出した。Real time RT-PCR にて定量を行い、GAPDH にて補正を行い、正常組織よりも発現が高いものを陽性とした。

ウ、結果

乳癌細胞株 MCF-7 と BT474 では蛋白および mRNA レベルで HE4 発現を確認した。

HE4 発現と臨床病理学的因子との検討では、年齢、腫瘍径、組織型、核グレード、ER、PgR、HER2、Ki-67 においていずれも有意な相関は認めなかったが、リンパ節転移の有無においては陽性例で有意に HE4 が高発現であった。

観察期間が短く死亡例が少ないため無再発生存率について検討した結果、ステージ 0～Ⅲまでの無再発生存率では、HE4 陽性例は陰性例に比べ無再発生存率は有意に不良だった。

DCIS(ステージ 0)を除いた結果においても、HE4 陽性症例は陰性症例にくらべ再発率が有意に高い結果となったが、RT-PCR 法においては HE4 mRNA の陰性陽性例で無再発生存率では有意差が認められなかった。また、mRNA 発現とリンパ節転移の有無に関して免疫組織染色で認められたような有意な相関は認めなかった。

エ、考察

HE4 発現と臨床病理学的因子との検討ではリンパ節転移の有無のみ有意な相関がみられた。

無病生存率に関する検討では HE4 発現陽性症例は陰性症例に比べ有意に再発率が高い結果となったが、mRNA 発現を検討すると無病生存率とリンパ節転移との相関は認められなかった。要因としては正常組織においても HE4 mRNA が発現していること、および転写後修飾の影響により有意差が出なかったものと思われる。

オ、結語

乳癌における HE4 の発現はリンパ節転移の指標と成り、今後の観察によっては予後因子となり得る可能性が示唆された。