

氏 名 北村 美奈

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士乙第 442 号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 2 項

学 位 授 与 年 月 日 平成 3 1 年 3 月 8 日

学 位 論 文 題 目 Progression Potential of Ductal Carcinoma in situ
Assessed by Genomic Copy Number Profiling.

審 査 委 員 (非浸潤性乳管癌の進展ポテンシャルのゲノムコピー数プロ
ファイルによる評価)
主査 教授 野崎 和彦

副査 教授 等 誠司

副査 教授 依馬 正次

論文内容要旨

※整理番号	446	(ふりがな) 氏名	北村 美奈
学位論文題目	Progression Potential of Ductal Carcinoma in situ Assessed by Genomic Copy Number Profiling (非浸潤性乳管癌の進展ポテンシャルのゲノムコピー数プロファイルによる評価)		
目的	<p>乳癌では非浸潤性乳管癌 (DCIS) から浸潤癌 (IDC) に進展すると考えられているが、IDC に進展しない DCIS があるかどうかは不明である。様々な臓器の癌で、早期または前駆病変と進行期病変との間で、アレイ CGH 解析により遺伝子コピー数変化のパターンを比較し、系譜の連続性にに基づき、早期の段階で転移や進展のリスクを予測できる可能性が報告されている。この研究では、IDC と DCIS のアレイ CGH 解析を行い、DCIS の進展リスクを予測することを目的とした。</p>		
方法	<p>滋賀医科大学病院乳腺一般外科で乳房手術を受けた DCIS を 22 症例と IDC を 30 症例のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 標本を使用し、切片から乳癌の乳管内病変、間質浸潤部、転移リンパ節と正常リンパ節を採取し、DNA を抽出、増幅、標識し、アレイ CGH を行った。</p> <ul style="list-style-type: none"> アレイ CGH の結果の Validation として <i>HER2</i> の FISH を行い、アレイの結果と比較した。 個々のサンプルの染色体レベルのコピー数変化を penetrance plot で表し、特定の染色体領域の増減を数え、臨床病理学的特徴やクラスタ間で頻度を比較し Fisher 検定を行った。 測定データの解析には遺伝子コピー数 (CNA) プロファイル全体の類似性からコピー数変化のパターンを分類する階層的クラスタリング、クラスタ間でコピー数の有意な差を示す遺伝子を抽出するためにがん関連遺伝子に対して t 検定を行った。 		
結果	<ul style="list-style-type: none"> 81 個の乳癌サンプルのサブタイプ分類はザンクトガレンコンセンサスに基づいて行い、20 検体がルミナル A、37 検体がルミナル B (HER2 陰性)、6 検体がルミナル B (HER2 陽性)、6 検体が HER2 陽性、12 検体がトリプルネガティブであった。 アレイでの <i>ERBB2</i> の平均コピー数は、FISH で HER2 増幅陽性の 7 症例で 4.2 と高く、HER2 増幅陰性の 8 症例では平均 1.05 と低かった。 		

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

- 染色体レベルで IDC と DCIS の間でコピー数変化に有意な違いがあったのは IDC に多く見られた 6q-, 11q-, 22q-であった。核グレードでは 4q-と 22q-が高グレードで、16q-が低グレードで有意に多くみられ、ER 発現では ER-で 4q-, 7p+, 8q+, 10p+, 21q+が、ER+では 16q-が有意に高頻度でみられた。
- リンパ節転移では、16q-のみ、転移がないことと相関した。
- 階層的クラスタリングの結果、大きく A と B の 2 つのクラスタに分かれた。クラスタ A では 5p+, 16p+, 21q+, 4p-, 8p-が特徴的だった。クラスタ A では B に比べて有意に遺伝子や染色体コピー数の変化が多く、IDC/DCIS の比率が高く、非ルミナルタイプが多く、ルミナルタイプが少なく、核グレードの高いものが多かった。リンパ節転移の頻度は差がなかった。
- CNA について両クラスタ間で t 検定を行い、クラスタ間でコピー数に有意差のある 728 遺伝子をスクリーニングし、そのうち、これまでに報告のある乳癌に関連した 93 遺伝子から、染色体と遺伝子のコピー数変化が一致したのは *GATA3*+と *TP53*-であった。

考察

- 今回の乳癌の浸潤部における染色体コピー数の増減の結果は、多施設共同研究による 560 例の IDC の次世代シーケンスによるコピー数解析の結果とほぼ同様であった。
- 今回の multisampling による腫瘍内 heterogeneity の解析では、これまで DCIS と IDC との間で差があると報告されていた染色体コピー数変化は、(6q-, 11q-, 22q-以外は)ほとんど差がなかった。進展に伴う変化は、腫瘍の症例間の差よりもずっと小さく、乳癌では良く保たれた初期の変化から進展予測がしやすいことが分かった。
- 階層的クラスタ解析にてサンプルはクラスタ A と B に分類された。当初想定した IDC にならない DCIS は示せなかったが、IDC/DCIS 比がクラスタ A で有意に高かったことから、クラスタ A の DCIS は B の DCIS よりも IDC に進展しやすいと考えられた。
- これまで進展と関係があると言われていた核グレード分類や、サブタイプ分類では IDC/DCIS の比率に有意差がなく、進展予測が困難であった。
- リンパ節転移リスクはクラスタ間で差がなかった。転移リスクは 16q-の有無と強く相関している可能性があり、この点は更に検討したい。
- このクラスタ分類に大きく寄与したのは *TP53* と *GATA3* 等のコピー数であり、*TP53* の欠失と *GATA3* の増幅がクラスタ A の特徴であった。

結論

DCIS の CNA プロファイルによりクラスタ A に分類される DCIS はクラスタ B の DCIS より進展リスクが高いと考えられた。臨床応用として、FFPE 手術検体で *TP53* や *GATA3* 等の遺伝子コピー数からクラスタ分類を推定することは、DCIS の治療選択の一助になり得ると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	446	氏 名	北村 美奈
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) ※明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと</p> <p>本論文では、滋賀医科大学病院乳腺一般外科で乳房手術を受けた非浸潤性乳管癌 (DCIS) 22 例と浸潤癌 (IDC) 30 例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用い、アレイ CGH 解析を行い特定の染色体領域のコピー数変化を臨床病理学的特徴との相関をクラスタ間で解析し DCIS の進展リスク予測について検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 各標本から得られた 81 サンプルのサブタイプ分類は、ルミナル A 20、ルミナル B (HER2 陰性) 37、ルミナル B (HER2 陽性) 6、HER2 陽性 6、トリプルネガティブ 12 であった。 2. 染色体のコピー数は DCIS と IDC、核グレードの高低、エストロゲン受容体発現の有無、リンパ節転移の有無で異なっていたが、進展に伴う変化は腫瘍の症例間の差より小さかった。 3. 階層的クラスタ解析により A と B の 2 群に分類され、A において IDC/DCIS 比と核グレードが高く非ルミナルタイプが多く HER2 陽性が多く、ER 発現が低かった。 4. 染色体と遺伝子のコピー数が一致している 9 遺伝子のうち、クラスタ間でコピー数に有意差が認められた乳癌関連遺伝子は <i>GATA3</i>、<i>TP53</i> で、クラスタ A において <i>TP53</i> のコピー数の減少と <i>GATA3</i> のコピー数の増加が認められた。 <p>本論文は、乳癌における染色体コピー数と臨床病理学的特徴の関連において従来の知見を追試するとともに新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 595 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 31 年 1 月 29 日)</p>			