

主論文

**Expression of the ets-1 proto-oncogene in human breast carcinoma :
Differential expression with histological grading and growth pattern**

(ヒト乳癌における ets-1 proto-oncogene の発現の検討 ;
その組織学的進行度と発育様式による発現の違い)

片山明香、中山敏幸、伊東正博、内藤慎二、関根一郎

Histology and Histopathology 2005 年 20 巻 119-126 頁

長崎大学大学院医学研究科病理系専攻
(指導教授: 関根一郎教授)

緒言

乳癌患者の予後は通常、組織学的検索による浸潤度とリンパ節転移の有無に基づいて判定されるが、この原発巣の組織学的検索が転移の可能性やリスクを常に同定できるとは限らない。近年、多くの癌遺伝子や anti-oncogene や GF が発癌や癌の進展に関与していることが分かっているが、乳癌の浸潤のメカニズムについては完全には明らかにされていない。

Ets-1 は、1983 年に avian leukemic retrovirus E26 に見い出されたニワトリに erythroblastosis を起こす癌遺伝子であり、種々のペプチドやタンパク分解酵素の転写調節因子として知られている。相同性を有する遺伝子の中で ets family と呼ばれ、形態、器官、組織形成などの過程にある中胚葉細胞群に一過性に発現する。また、Ets-1 は細胞増殖や分化にも重要な役割を果たし、悪性腫瘍における間質浸潤との関係も示唆されている。

癌の浸潤と転移は浸潤する癌細胞の蛋白分解活性増加によると考えられ、MMP や cathepsins B&D、plasminogen activator が転移カスケードに関与していると提唱されている。Ets-1 タンパクは u-PA 遺伝子の enhancer や stromelysin-1、collagenase-1 の promoter に作用し、これらの発現を活性化することによって、腫瘍の間質浸潤を増加の方向に調節していると思われる。

今回我々は、これらの見解に基づき、ヒト乳癌における分化、増殖、浸潤に Ets-1 がどのように関与しているかを検討した。

対象と方法

- (1) 免疫組織化学 ; 24 例の正常乳腺組織と原発性乳癌 137 例を対象に、ヒト ets-1 抗体を用いて、免疫組織化学染色を行った。組織学的分類は WHO に基づき、TNM 分類を用いた。また、Bloom-Richardson grading system を用いて、浸潤性乳管癌を histologic grade により 3 グループに分類した。免疫染色の結果は 3 つのカテゴリー (陽性細胞の占める割合や染色性の強さで、0-10% ; -, 10-50% ; +, 50% < ; ++) に分類した。
- (2) In situ hybridization ; ヒト乳癌 4 症例を対象に、Human ets-1 oligonucleotide probe を用いて、Ets-1 mRNA の発現確認を行った。

(3) Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) ; ヒト正常乳腺組織、乳癌組織、ヒト乳癌培養細胞 (MCF-7、SK-BR-3、MDA-MB231) を用いた。

結果

免疫組織化学染色の結果、全乳癌症例 137 例中、114 例 (83.2%) で Ets-1 の発現を認めた。浸潤性乳管癌ではほとんどの組織型で Ets-1 の発現を認めたが、非浸潤性乳管癌、良性腫瘍、および正常乳腺組織には発現を認めなかった。しかし、Ets-1 発現の程度と組織型の間には相関はなかった。一方、浸潤癌において見られるいろいろな growth patterns で比較すると、Ets-1 発現形式は様々であり、それを 8 分類し比較検討したところ、充実性増殖、及び線維性間質に富む腫瘍増殖では高率に、また clinging pattern や低乳頭状発育を示す部位では低率に、有意差をもって Ets-1 発現を認めた。

更に、リンパ節転移や原発巣の 't' 分類、TNM 病期分類との相関を調べたが、有意差は認められなかった。

一方、細胞異型との関連についても検討したところ、Bloom-Richardson grading と Ets-1 発現率との間に有意差をもって相関関係を認めた。

In situ hybridization (ISH 法) による Ets-1 mRNA 発現の確認では、乳癌細胞の細胞質、核に発現を認めた。また、RT-PCR 法により、摘出乳癌組織、ヒト乳癌培養細胞に ets-1 mRNA を確認した。

考察

ets-1 family は胎生期に、多くの臓器において発現が見られ、特に腸管においては胎生後期には劇的に減少する。今回の研究で、Ets-1 は正常乳管上皮や腺腫においては発現しなかった。しかし、乳癌の 83.2% で Ets-1 蛋白の過剰発現を認めた。非浸潤癌では発現しなかったが、浸潤癌では高率に発現した。また、細胞異型度が Ets-1 発現に特に相関を示した。

近年、Ets-1 が乳癌における予後判定の指標になるという報告がある。多段階発ガン過程の概念は、乳癌においても提唱されており、広く受け入れられてきた。我々の結果は、乳癌の発癌において、その多段階発癌過程のいずれかの段階で ets-1 が何らかの役割を果たしており、更に浸潤性発育にも関与していることを示唆するものである。

Ets-1 は Fos や Jun、integrin、stromelysin、parathyroid hormone-related protein、u-PA、collagenase-1 などの蛋白を発現する遺伝子を調節すると言われている。また Ets-1 は腫瘍浸潤だけでなく、結合組織の remodeling に関与すると考えられている。今回、免疫組織学的に、そして ISH 法によって Ets-1 は乳癌細胞に強く発現が認められたが、間質の fibroblast にはごく弱くしか認められなかった。RT-PCR 法により、ヒト乳癌培養細胞 3 種類中 1 種、そして手術例 3 例中に 2 例 Ets-1 mRNA が確認された。Ets-1 の発現の強さは Bloom-Richardson grading とも相関が認められたことから、乳癌細胞の進展と悪性度に重要な役割を果たしていることが示唆された。また、浸潤癌の growth pattern によって Ets-1 の発現の仕方に違いが認められ、Ets-1 が細胞分化を調節するのに重要な役割を果たすことが示された。

Ets-1 が乳癌の発生や増殖・分化過程において、重要な役割を果たしていることが示唆された。これらの結果より、乳癌治療や悪性度判定に Ets-1 が重要な因子となる可能性があるが、今後のより詳細な検討が必要と思われる。