

乳癌の発生・進展・転移過程における染色体 数的異常の生物学的役割

平井昭彦 今西幸仁 太田善夫* 乾 浩己 綿谷正弘

近畿大学医学部第1外科学教室 *近畿大学医学部奈良病院臨床検査部

抄 録

乳癌の発生・進展・転移過程における染色体不安定性の生物学的意義を明らかにする目的で、蛍光 in situ hybridization (FISH) 法を用いて乳癌原発巣および乳癌に併存している乳腺症、また転移リンパ節巣のホルマリン固定パラフィン包埋切片から染色体数的異常を解析した。128例の乳癌原発巣の検体から1番染色体 polysomy は disomy 乳癌に比べ有意に高頻度にリンパ節転移を認め ($p < 0.05$)、また17番染色体 aneusomy も有意に高頻度にリンパ節転移乳癌に認められた ($p < 0.05$)。33例のリンパ節転移陽性乳癌の原発巣と転移リンパ節巣における1番、11番、17番染色体数的異常の比較検討では11番染色体 aneusomy は原発巣に比べ転移リンパ節巣で有意に高頻度に認められた ($p < 0.05$)。24例の45歳以下の乳癌と併存する乳腺症病変における解析では、2例において乳癌とそれに併存する乳腺症の両病変に17番染色体 monosomy が認められ、この2例の乳腺症は組織学的には proliferative lesion without atypia であった。p53 免疫染色は乳癌24例中9例に p53 陽性がみられたが、併存する乳腺症ではすべて陰性であった。また P53 免疫染色は17番染色体数的異常との関連は認められなかった。これらのことから、1番、17番染色体の aneusomy は乳癌リンパ節転移過程で腫瘍細胞の原発巣からの離脱機構に関与し、11番染色体 aneusomy は転移巣での浸潤および増殖に関与していると考えられる。そして17番染色体 monosomy は乳癌発生初期過程への関与が、また p53 異常は乳癌発生・進展の後期過程での関与が示唆される。

Key words: 乳癌, 染色体数的異常, 乳癌 carcinogenesis, 乳腺症, p53 遺伝子, FISH 法

緒 言

疫学的研究から乳癌における組織学的な多段階発癌機構が提唱されている。すなわち case control study や retrospective cohort study から、乳腺症のなかでも proliferative lesions without atypia (usual ductal hyperplasia; UDH) は乳癌発生の相対危険度が1.3~1.9倍高く、また atypical ductal hyperplasia (ADH) では3.9~5.3倍の乳癌発生相対危険度が増加することが示されている^{1,2}。これらのことから、組織学的に正常乳腺上皮から UDH, ADH を経て非浸潤性乳管癌 (Ductal carcinoma in situ; DCIS), 浸潤性乳管癌へと進展すると考えられている。さらに原発腫瘍内に転移能を獲得したサブクローンが出現し、やがてはリンパ節を含む特定臓器へと転移する転移性乳癌へと進行する自然史が考えられる³。

Fearon, Vogelstein らは、adenoma-carcinoma sequence による大腸癌発生・進展に多段階的に遺伝子異常が関与することを報告した⁴。その後、癌は組織学的に正常組織から前癌病変を経て浸潤・転移能を有する表現型へと多段階的に進行すると考えられ、分子生物学的にも正常細胞に遺伝的な変化の蓄積が生じ選択的に growth advantage が与えられ、その結果癌は発生し進展すると考えられるようになった⁵。これら遺伝的な変化は数的なあるいは構造的な染色体の変異である。染色体の数的異常は固形腫瘍でその存在は知られていたが、解析手技の困難さから染色体および染色体特定領域の欠失や過剰などの細胞遺伝学的な異常程度は明らかでなかった⁵。近年、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (fluorescence in situ hybridization; FISH) 法の技術進歩により、固形腫瘍においても腫瘍細胞のもつ常染色体構造異常に代表される多様な生物学的特性が分子

細胞遺伝学的レベルで次第に明らかになってきた^{6,7}. 乳腺腫瘍においても FISH 法によって、多くの遺伝子異常が報告され、なかでも 1 番, 3 番, 4 番, 6 番, 7 番, 8 番, 10 番, 11 番, 12 番, 16 番, 17 番, 18 番および X 染色体の異常と組織型, リンパ節転移, 遠隔転移や臨床病期などの臨床病理学的諸因子との関連が検討されている⁸⁻¹⁰. また DCIS と浸潤性乳管癌病変における複数の染色体数的異常の解析から、乳癌の発生・進展過程における染色体不安定性の生物学的意義も研究されている¹¹. しかし乳癌の発生・進展・転移における腫瘍細胞の生物学的多様性から、それぞれの過程に特異的なあるいは共通した染色体異常は明らかでない。

本研究は乳癌リンパ節転移過程に特異的にあるいは共通に関与する染色体数的異常を明らかにする目的で、乳癌で高頻度に異常が報告されている 1 番, 11 番, 17 番染色体の数的異常を原発巣と転移リンパ節巣それぞれの病変のホルマリン固定パラフィン包埋標本から FISH 法にて検討した。また同一患者のホルマリン固定パラフィン包埋標本から乳癌原発巣と乳癌に併存する非増殖性あるいは増殖性変化を主体とする乳腺症病変を同定し、それぞれの病変における 1 番, 11 番, 17 番染色体異常を比較し乳癌発生のどのような段階で染色体不安定性によるゲノム不安定性の破綻が生じて乳癌発生・進展へと導かれるのかを検討した。

対象と方法

対象

1989年から2000年までに治癒切除された原発性乳癌128例を対象とした。128例の臨床病理学背景を表1に示す。対象の平均年齢は49.7歳(26~70歳)であった。腋窩リンパ節転移陽性例は59例(46%)に認められた。59例中33例(n1; 17例, n2; 16例)では原発巣および転移リンパ節において染色体数的異常を解析した。腫瘍と腫瘍に併存する乳腺症病変における染色体数的異常の解析は45歳以下の24例を対象に行った。対象の平均年齢は38歳(29~45歳)であった。対照群として、組織学的に乳腺症の確定診断がなされている21例(平均年齢43歳; 28~45歳)において染色体数的異常を検討した(表2)。

方法

FISH 法

腫瘍と腫瘍に併存する乳腺症病変ならびに転移リンパ節巣の HE 染色標本を用いて対象病変部の組織像を観察確認後、それぞれ目的とする部位を10%ホルマリン固定パラフィン包埋標本から厚さ60 μmのサイズで切り出した。細胞の単離核標本を作成す

表1 臨床病理学的背景

臨床病理学的因子	症例数 (n=128)	(%)	
腫瘍径 (cm)	t ≤ 2	27	21
	2 < t ≤ 5	84	66
	5 < t	17	13
組織型	乳頭腺管癌	67	52
	充実腺管癌	33	26
	硬癌	20	16
	特殊型	8	6
腋窩リンパ節転移	陽性	59	46
	陰性	69	54

表2 腫瘍に併存する乳腺症と乳腺症単独例の背景因子

	腫瘍に併存する 乳腺症	乳腺症単独
症例数	24	21
平均年齢	38 ± 5.1 (29~45)	43 ± 1.1 (28~45)
乳腺症の組織型		
Nonproliferative lesion	17	18
Proliferative lesion without atypia	7	3

る目的で xylene で脱パラフィン後、37°C16時間 0.25% trypsin 処理を行い40 μm ナイロンメッシュで濾過し1200 rpm (177×G) 5分間遠沈後、poly-L-lysine 加工されたスライドガラス上に塗抹した。スライドガラスを70% formamide/2×SSC 下で75°Cの熱変性後、ethanol で洗浄し、目的のプロープと37°C19時間遮光下で hybridization を行った。プロープは、1 番, 11 番, 17 番染色体セントロメア領域にそれぞれ特異的な α-satellite DNA probe (CEP 11 Spectrum orange™, CEP 17 Spectrum Green™; Vysis 社) と satellite II/III DNA probe (CEP 1 Spectrum Orange™; Vysis 社) を使用した。hybridization 終了後、50% formamide/2×SSC で洗浄し、対比染色として0.5 μg/ml DAPI 15 μl と VECTASHIELD® mounting medium (VECTOR 社) 15 μl を添加した。蛍光顕微鏡(BX50, Olympus 社)で、orange シグナル検出時は励起波長559 nm 吸収波長588 nm, また green シグナル検出時は励起波長509 nm 吸収波長538 nm の条件にて、400倍率で鏡検した¹⁰。

判定

観察した間期核は、核同士が接触したり重合したりせず、境界が明瞭で物理的に損傷をうけていないもののみとした。1 標本につき100個の間期核を観察

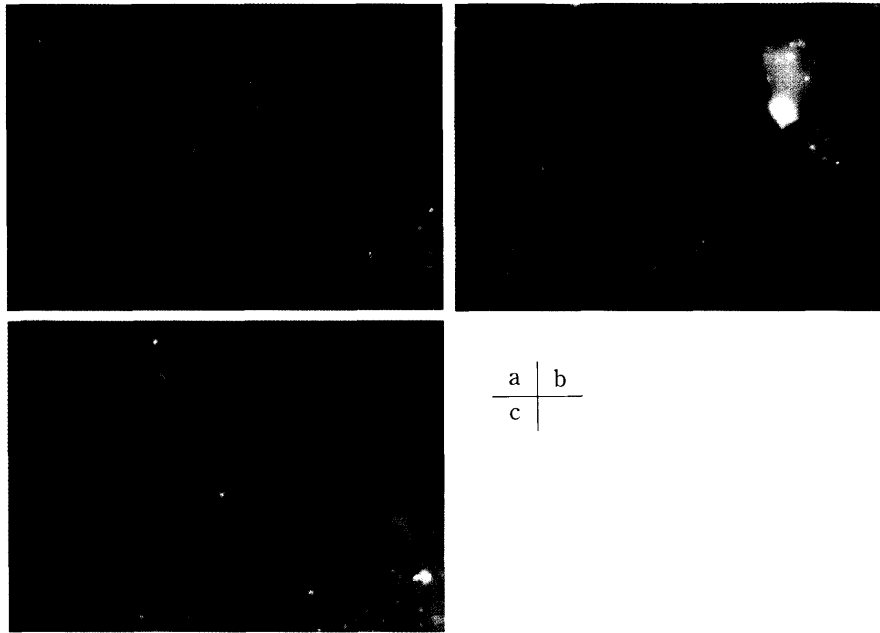


図1 Two-color FISH法による乳癌細胞間期核での染色体数的異常の検出 (orange: 1番染色体, green: 17番染色体) (倍率×1,000)
 a: 核内に orange, green の蛍光シグナルがともに2個ずつ検出される (Chr1: disomy, Chr17: disomy)
 b: 核内に orange の蛍光シグナルが6個, green の蛍光シグナルが1個検出される (Chr1: polysomy, Chr17: monosomy)
 c: 核内に orange の蛍光シグナルが3個, green の蛍光シグナルが4個検出される (Chr1: polysomy, Chr17: polysomy)

し, triple bandpass filter (Vysis 社) を用いて蛍光シグナルを観察した。間期核の染色体数的異常の判定は, 単一の蛍光シグナルを25%以上検出する場合を図1cに示すように monosomy, 3個以上の蛍光シグナルを25%以上検出する場合を図1b, cに示すように polysomy と判定した¹⁰ (図1)。

p53 免疫染色

FISH法で検討した病変と同一病変をホルマリン固定パラフィン包埋標本から厚さ4 μ mの切片で切り出した。xyleneで脱パラフィン後, microwave処理にて抗原賦活を行い, 内因性 peroxidase 阻止目的で0.3% H_2O_2 加methanol処理を行いPBSで洗浄した。1次抗体として mouse 由来抗 p53 monoclonal 抗体 (DO-7; DAKO 社) を用いて室温で30分反応させた。PBSで洗浄し biotin 化抗 mouse IgG を反応させた後, peroxidase-conjugate streptavidin と反応させた。0.02% H_2O_2 加3,3-diaminobenzidine を用いて発色させ hematoxylin で染色した。各実験ごとに positive control として, p53 免疫染色が強陽性に認められる大腸癌を同時染色した。染色性の判定は, 目的細胞の20%以上が染色される場合を陽性と判断した¹²。

統計

2群間の検定は χ^2 検定あるいは Fisher's exact test にておこなった。

成 績

染色体数的異常とリンパ節転移

128例の原発巣における染色体数的異常の解析からリンパ節転移との関連を検討した。128例中リンパ節転移陽性乳癌は59例 (46%) で, 1番染色体のaneusomyはリンパ節転移陽性乳癌59例中36例 (61%) にみられ, リンパ節転移陰性乳癌におけるaneusomy頻度と比べて高頻度であったが, 1番染色体の数的異常とリンパ節転移に有意な相関はなかった (表3)。しかし1番染色体aneusomy36例中34例 (94%) は polysomy であり, 1番染色体 polysomy 乳癌は disomy 乳癌と比べ有意に高頻度にリンパ節転移を認めた ($p < 0.05$)。11番染色体aneusomyはリンパ節転移陽性乳癌および陰性乳癌でそれぞれ42%, 35%にみられ, 11番染色体数的異常とリンパ節転移に関連は認められなかった。17番染色体aneusomyはリンパ節転移陰性乳癌で30%に見られたが, リンパ節転移陽性乳癌では有意に高頻度に見られ ($p < 0.05$)。原発巣における解析から17番染色体の数的異常とリンパ節転移に有意な相関

表3 乳癌128例においてリンパ節転移から検討した染色体数的異常

染色体数的異常	リンパ節転移		P 値
	陽性	陰性	
Chr. 1			
Disomy	23 (39)	38 (55)] NS 0.03
Aneusomy	36 (61)	31 (45)	
monosomy	2 (3)	5 (7)	
polysomy	34 (58)	26 (38)	
Chr. 11			
Disomy	34 (58)	45 (65)] NS
Aneusomy	25 (42)	24 (35)	
monosomy	4 (7)	9 (13)	
polysomy	21 (35)	15 (22)	
Chr. 17			
Disomy	30 (51)	48 (70)] 0.03
Aneusomy	29 (49)	21 (30)	
monosomy	15 (25)	11 (16)	
polysomy	14 (24)	10 (14)	
Total	59	69	

() : %, NS : not significant

表4 33例のリンパ節転移陽性乳癌の原発巣と転移リンパ節巣における染色体数的異常

		Disomy	Aneusomy	P 値
Chr. 1	原発巣	14 (42)	19 (58)] NS
	転移リンパ節	9 (27)	24 (73)	
Chr. 11	原発巣	20 (61)	13 (39)] 0.04
	転移リンパ節	12 (36)	21 (64)	
Chr. 17	原発巣	17 (52)	16 (48)] NS
	転移リンパ節	11 (33)	22 (67)	

() : %, NS : not significant

が認められた。

リンパ節転移陽性乳癌における染色体数的異常

原発巣で染色体数的異常が検討されたリンパ節転移陽性乳癌は59例であったが、そのうちの33例では転移リンパ節巣においても染色体数的異常を解析した。リンパ節転移陽性乳癌では、1番、11番、17番染色体のいずれにおいても原発巣と比べ転移リンパ節巣で disomy の頻度と比べ aneusomy 頻度は増加した(表4)。なかでも11番染色体は原発巣において aneusomy 頻度は39%であったが、転移リンパ節巣においては64%と有意に aneusomy 頻度は増加した(表4)。一方、原発巣での染色体数的異常の解析からリンパ節転移との相関が見られた17番染色体は原発巣での aneusomy 頻度(48%)と比べ転移リンパ節巣で aneusomy 頻度は66%と増加したものの、1番染色体数的異常と同じく aneusomy 頻度の有

表5 腫瘍と腫瘍に併存する乳腺症病変における染色体数的異常

	乳腺症	腫瘍			計
		Monosomy	Disomy	Polysomy	
Chr. 1	Monosomy	0	0	0	0
	Disomy	1	8	15	24
	Polysomy	0	0	0	0
Chr. 11	Monosomy	0	0	0	0
	Disomy	0	14	10	24
	Polysomy	0	0	0	0
Chr. 17	Monosomy	2	0	0	2
	Disomy	3	16	3	22
	Polysomy	0	0	0	0

意な増加ではなかった。

腫瘍と腫瘍に併存する乳腺症における染色体数的異常

疫学的研究から乳腺症の既往は乳癌リスク因子と考えられている¹³。そこで、組織学的に乳腺症病変を併存する45歳以下の乳癌を対象に、腫瘍部分と乳腺症部分において染色体数的異常を解析した。45歳以下の乳癌原発巣における1番、11番、17番染色体 disomy, aneusomy の頻度は、検討対象とした乳癌128例における各染色体の数的異常の頻度と有意な違いは認められなかった。表5に24例の腫瘍と腫瘍に併存する乳腺症での各染色体の数的異常の関連を示した。24例中22例の併存する乳腺症病変においては、1番、11番、17番染色体は disomy であった。他の2例では1番、11番染色体はいずれも disomy であったが、17番染色体は monosomy であった。そしてこの2例の腫瘍病変においては併存する乳腺症病変で認められたように17番染色体は monosomy であった。

さらに併存する乳腺症を組織分類し染色体数的異常を検討した¹⁴。腫瘍に併存する乳腺症で、非増殖性病変(nonproliferative lesion)は17例で異型のない増殖性病変(proliferative lesion without atypia)は7例であった。一方対照とした腺症、硬化性腺症、軽度・中等度の通常型上皮過形成で乳腺症と診断された21例では、非増殖性病変18例、異型のない増殖性病変3例であった。腫瘍に併存する乳腺症で17番染色体 monosomy がみられた2例の組織型は proliferative lesion without atypia であった(表6, 図2)。一方、対照とした乳腺症単独病変21例のいずれにおいても1番、11番、17番染色体の異常は認められなかった。

17番染色体数的異常と p53 免疫染色

17番染色体短腕 17p13.1 に p53 遺伝子が局在して

表6 乳腺症病変における17番染色体数的異常

	Nonproliferative Lesion	Proliferative lesion without atypia
乳腺症単独		
Disomy	18 (86)	3 (14)
Monosomy	0	0
Polysomy	0	0
乳腺症併存		
Disomy	17 (71)	5 (21)
Monosomy	0	2 (8)
Polysomy	0	0

() : %

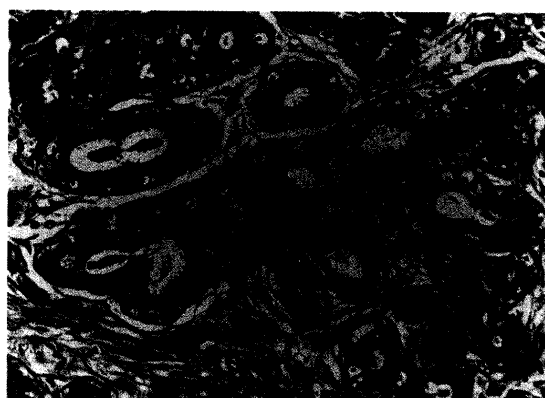


図2 17番染色体 monosomy が検出された乳癌に併存する proliferative lesion without atypia (倍率×200)

表7 17番染色体数的異常と p53 免疫染色

	染色体数的異常	p53 免疫染色	
		(-)	(+)
腫瘍と腫瘍に近接する乳腺症例			
乳腺症病変	Disomy	22	0
	Monosomy	2	0
	Polysomy	0	0
腫瘍病変	Disomy	10	6
	Monosomy	4	1
	Polysomy	1	2
乳腺症単独	Disomy	21	0
	Monosomy	0	0
	Polysomy	0	0

いる¹⁵。腫瘍に併存する乳腺症で17番染色体 monosomy が認められたことから、乳腺症と腫瘍病変において p53 発現を免疫染色から検討した。腫瘍病変において p53 発現は24例中9例 (38%) に認められた。しかし17番染色体数的異常と p53 発現に有意な相関はみとめられなかった(表7)。乳腺症病変で17番染色体が monosomy であった2例において

も、また17番染色体が disomy であった残りの22例においても p53 蛋白発現は認められなかった。対照とした乳腺症病変においても p53 蛋白発現は認められなかった。

考 察

乳腺腫瘍において染色体異常の頻度が高いと報告されている1番, 11番, 17番染色体に着目し、染色体数的異常による染色体不安定性が乳癌の転移過程へどのように関与しているかを検討した¹⁶。転移は連続的なステップから成り、まず初めに1) 原発巣から腫瘍細胞が離脱し、脈管内への浸潤が生じる。次に2) 宿主防御機構を回避しながら、脈管内を遊走し、新たな特定の臓器で腫瘍細胞は捕捉される。さらに3) 新たな場所で腫瘍細胞は脈管から脱出し、周囲へ浸潤する。そして4) 転移臓器で新たな腫瘍細胞の増殖が成立する¹⁷。本研究では1)の過程、すなわち転移の初期過程での染色体不安定性の関与を原発巣における染色体数的異常として検討した。そして3)4)のステップ、すなわち新たな場所での浸潤・増殖の過程における染色体不安定性の関与を局所リンパ節転移病巣における染色体数的異常として解析した。

DNA 多型性マーカーを用いた乳癌原発巣での解析から、17pの欠失はリンパ節転移との有意な関連が報告されている¹⁸。一方、著者らの乳癌原発巣における染色体欠失の解析から、17qの欠失はリンパ節転移と有意な関連がみられた¹⁹。また著者らは乳癌原発巣を対象に FISH 法を用いて染色体数的異常を解析し、17番染色体の monosomy 乳癌は disomy 乳癌と比べ高頻度にリンパ節転移を示すことを明らかにした¹⁰。Ichikawa らは乳癌の穿刺細胞診を用いた FISH 法にて、17番染色体 aneusomy とリンパ節転移の相関を報告している¹⁶。本研究の128例の原発巣での検討では、17番染色体 aneusomy 乳癌は disomy 乳癌と比べ有意に高頻度にリンパ節転移陽性であることが認められた。分子遺伝学的また細胞遺伝学的な研究から、17番染色体に局在する未知の遺伝子または遺伝子群が欠失することと、未だその機構が明らかにされていないが17番染色体の数的異常が生じることで、リンパ節転移の初期過程に何らかの形で影響を及ぼすものと考えられる。

乳癌の核型分析から1番染色体の転座、再配列などの染色体構造異常が知られている²⁰。近年の報告では1番染色体の長腕が増加し短腕が欠失するとされている²¹。FISH 法を用いた解析では1番染色体は最も高頻度に数的異常が報告されていて²²、本研究でも3つの染色体の中でも1番染色体 aneusomy

の頻度は52%と最も高かった。しかも1番染色体 aneusomy のほとんどが polysomy と報告されているように²³、本研究でも1番染色体 aneusomy の90%が polysomy であった。Tsukamoto らは乳癌原発巣における穿刺吸引細胞を用いた1番染色体の検討から、1番染色体 polysomy とリンパ節転移に有意な相関を認めている²⁴。乳癌原発巣のパラフィン包埋切片を用いた本研究でも1番染色体 polysomy とリンパ節転移に有意な関連が認められた。一方、転移の表現型が異なることで染色体コピー数の増加に違いがみられるが、転移と1番染色体コピー数の増加に関連はないという報告もみられる²⁵。1番染色体の数的異常が乳癌悪性度の進行に伴って出現するのか、あるいは転移過程に直接的な生物学的責任を担っているのかは今後の検討課題である。

転移リンパ節巣では1番、11番、17番のいずれの染色体においても aneusomy 頻度は増加し、癌が進行することに付随する現象を考えられなくはない。しかしながら原発巣における解析でリンパ節転移の表現型と有意な相関のなかった11番染色体の数的異常が、転移リンパ節巣での解析では有意にその頻度は増加したことから、それぞれの染色体数的異常はリンパ節転移機構で何らかの生物学的役割を果たしていることが考えられる。すなわち1番染色体と17番染色体の aneusomy は、原発巣から腫瘍細胞が離脱するのに必要な浸潤能を担っている可能性が示唆される。しかしながら1番と17番染色体が aneusomy であることだけでは局所リンパ節への転移が起こらず、マウス B16 メラノーマ細胞の反復静注による肺転移の形式で考えられるように、新たなクローンが11番染色体の aneusomy の形質を獲得することで転移先のリンパ節で増殖しコロニーを形成すると考えられる²⁶。11番染色体長腕 11q13.1-q13.2 に breast-cancer metastasis suppressor 1 (BRMS1) の存在が近年報告され、乳癌転移の癌抑制遺伝子の1つと考えられている²⁷。転移機構を解明するための解析は原発巣を対象に検討がなされてきた。今後は本研究で行われたように原発巣と転移巣での比較検討することで、11番に局在する遺伝子と遺伝子異常が関連する11番染色体不安定性が転移過程で果たす生物学的役割が明らかにされることが期待される。

乳癌の自然史はいまだ明らかでないが、正常乳管上皮から異常のない乳管過形成 (proliferative disease without atypia)、乳管異型過形成を経て DCIS さらには浸潤癌へと進展するシナリオが考えられている⁵。乳癌に隣接する前癌病変を対象とした対立遺伝子欠失の解析から、17p および 17q の欠失が過形

成病変で報告されている²⁸。また FISH 法を用いた癌に隣接する乳腺実質の捺印細胞での解析から、正常乳腺実質での17番染色体 aneusomy の出現が報告されている²⁹。本研究は乳癌の発生・進展過程における染色体不安定性の生物学的役割を明らかにする目的で、非増殖性病変 (non proliferative disease) および proliferative disease without atypia に分類される中等度の通常型上皮過形成を対象に、染色体数的異常を検討した¹⁴。併存する良性病変24例中7病変が proliferative disease without atypia で、そのうちの2例で腫瘍巣と同じく17番染色体 monosomy が検出された。乳癌発生過程における分子細胞遺伝学的な結果から、17番染色体に局在する遺伝子異常と17番染色体の不安定性は乳癌発生の初期過程で関与していると考えられる。MC Cummings らの乳癌の組織学的進展に応じた1番染色体コピー数の増加の報告と考え合わせると、乳癌に併存する前癌病変にすでに1番および17番染色体上の遺伝子あるいは染色体不安定性によるゲノム統合性の破綻が生じていることが示唆される³⁰。これらのことから、担癌状態の乳腺はエストロゲンなどの癌原物質に長期間暴露されて発癌が起こりやすくなっている“field of cancerization”を支持すると思われる²⁹。それ故、乳房温存術後の残存乳腺組織における1番あるいは17番染色体異常の検索は、温存乳房に second primary breast cancer が発生するリスクを予測する biological marker になるものと期待される。

p53 遺伝子異常が関連した aneuploidy と多数の染色体の構造変化による遺伝子不安定性機構がある³¹。本研究では p53 遺伝子変化を免疫染色から検討し、17番染色体 aneusomy との関連を研究した。腫瘍病変における検討から、17番染色体数的異常と p53 染色に有意な相関はなく、また17番染色体 monosomy が検出された2例を含め、腫瘍に併発するしないに拘わらず良性病変では p53 染色陰性であった。諸家の報告でも、atypical ductal hyperplasia, proliferative hyperplasia without atypia 病変で p53 染色は陰性であるが、low-grade の DCIS 病変に進展すると約5%の頻度で p53 陽性が認められている。そして high-grade の DCIS や浸潤癌ではその頻度は飛躍的に上昇するとされている²⁸。p53 異常は乳癌発生の後期過程で関与していると考えられるが、p53 遺伝子以外の未知の遺伝子が機能喪失することで17番染色体 monosomy は乳癌発生の早期過程に関与していると思われる。

乳癌発生は正常乳腺上皮細胞に不可逆的、質的な形質転換が起こり自律的な増殖が始まり、さらにク

ロナルな細胞に複数の染色体異常が積み重なり、その上いくつかの subpopulation が出現し、不均一な染色体構成をとりながら進展し、ついにはサブクローンの細胞が転移能を獲得するようになる。不均一な染色体構成をとる乳癌においても FISH 法をはじめとする分子細胞遺伝学的手法で、発生・進展・転移機構が解明され、効果的な発癌予防法や乳癌治療法が開発されることが期待される。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました近畿大学第1外科塩崎均教授に深甚な謝意を捧げます。また本研究の方向性を示していただいた近畿大学医学部安富正幸医学部長に厚くお礼を申し上げます。そして本研究に御協力いただいた第1外科乳腺グループの先生方に心から感謝いたします。

なお、本文中の一部は第38回日本癌治療学会総会(平成12年9月, 仙台), 第9回日本乳癌学会総会(平成13年6月, 前橋)で発表した。

文 献

- Dupont WD and Page DL (1985) Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 312: 146-151
- Dupont WD, Parl FF, Hartmann WH, Brinton LA, Winfield AC, Worrell JA, Schuyler PA, Plummer WD (1993) Breast cancer risk associated with proliferative breast disease and atypical hyperplasia. *Cancer* 71: 1258-1265
- Lee ME, Garth LN, Isaiah JF (1998) Concepts and mechanisms of breast cancer metastasis, In: Kirby IB, Edward MC (eds): *The breast: comprehensive management of benign and malignant diseases*. Philadelphia, Saunders, pp 564-581
- Fearon ER, Vogelstein B (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759-767
- Studzinski GP, Godyn JJ (1995) The genetic basis for the emergence and progression of breast cancer: Donegan WL, Spratt JS (eds): *Cancer of the breast*. Philadelphia, Saunders, pp 309-316
- 稲澤譲治編. 臨床 FISH プロトコール: 目で見る染色体・遺伝子診断法. 東京: 秀潤社, 1997
- 三澤信一 (1997) *がんと染色体*: 阿部達夫, 藤田弘子編. 新染色体異常アトラス. 東京: 南江堂. pp 358-362
- Persons DL, Robinson RA, Hsu PH, Seelig SA, Borell TJ, Hartmann LC, Jenkins RB. (1996) Chromosome-specific aneusomy in carcinoma of the breast. *Clin Cancer Res* 2: 883-888
- Adeyinka A, Mertens F, Idvall I, Bondeson L, Pandis N (1999) Multiple polysomies in breast carcinomas: preferential gain of chromosomes 1, 5, 6, 7, 12, 16, 17, 18, and 19. *Cancer Genet Cytogenet* 111: 144-148
- 今西幸仁, 乾 浩己, 平井昭彦, 綿谷正弘 (2000) 浸潤性乳癌における染色体不安定性の臨床意義: 蛍光 in situ

hybridization 法による 1, 11, 17 番染色体数異常の解析から. *近畿大医誌* 25: 119-127

- Visscher D, Jimenez RE, Grayson M 3rd, Mendelin J, Wallis T (2000) Histopathologic analysis of Chromosome aneuploidy in ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 31: 201-207
- 家田真太郎, 綿谷正弘 (1996) 大腸癌切除後異時性腺腫発生における p53 遺伝子蛋白発現と bcl-2 遺伝子蛋白発現の生物学的: 初発腺腫との比較から. *日本大腸肛門病会誌* 49: 191-198
- 富永祐民 (1993) 乳癌の疫学: 泉 雄勝, 妹尾亘明編. 乳癌疾患. 東京: 金原出版, pp 309-324
- 飯野佑一 (1997) 癌と乳腺症の関連: アンケート結果および文献的考察: 日馬幹弘, 秋山 太, 池田 正, 芳賀駿介編: 乳癌症の臨床: その概念と診療のためのアトラス. 東京, 篠原出版新社, pp 107-114
- Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC (1994) Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 54: 4855-4878
- Ichikawa D, Hashimoto N, Hoshima M, Yamaguchi T, Sawai K, Nakamura Y, Takahashi T, Abe T, Inazawa J (1996) Analysis of numerical aberrations in specific chromosomes by fluorescent in situ hybridization as a diagnostic tool in breast cancer. *Cancer* 77: 2064-2069
- Chambers AF, Hill RP (2000) 腫瘍の進展と転移: 谷口直之, 鈴木敬一郎, 松浦成昭, 手島昭樹監訳: *がんのベーシックサイエンス*, 東京, メディカルサイエンスインターナショナル, pp 261-284
- Takita K, Sato T, Miyagi M, Watatani M, Akiyama F, Sakamoto G, Kasui F, Abe R, Nakamura Y (1992) Correlation of loss of alleles on the short arms of chromosomes 11 and 17 with metastasis of primary breast cancer to lymph nodes. *Cancer Res* 52: 3914-3917
- Watatani M, Inui H, Nagayama K, Imanishi Y, Nishimura K, Hashimoto Y, Yamauchi E, Hojo T, Kotsuma Y, Yamato M, Matsunami N, Yasutomi M. (2000) Identification of high-risk breast cancer patients from genetic changes of their tumors. *Surg Today* 30: 516-522
- Dutrillaux B, Gerbault-Seureau M, Zafrani B (1990) Characterization of chromosomal anomalies in human breast cancer. A comparison of 30 paradiplod cases with few chromosome changes. *Cancer Genet Cytogenet* 49: 203-217
- 伊達幸生 (2000) 乳癌の染色体異常に関する研究: 1 番染色体を中心とした FISH 解析および allelotyping 解析—*京府医大誌* 109: 705-717
- Heim S, Mitelman F (1995) *Cancer Genetics: Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells*. New York: Wiley-Liss, 1995
- 稲澤譲治, 伊達幸生, 市川大輔 (1996) FISH 法による癌細胞診断. *癌の臨床* 42: 1567-1572
- Tsukamoto K, Ito N, Yoshimoto M, Kasumi F, Akiyama F, Sakamoto G, Nakamura Y, Emi M (1998)

- Allelic loss on chromosome 1p is associated with progression and Lymph node metastasis of primary breast carcinoma. *Cancer* 82 : 317-322
25. Adeyinka A, Mertens F, Idvall I, Bondeson L, Ingvar C, Mitelman F, Pandis N (1999) Different patterns of chromosomal imbalances in metastasising and non-metastasising primary breast carcinomas. *Int J Cancer*. 84 : 370-375
26. Ling V, Chambers AF, Harris JF, Hill RP (1985) Quantitative genetic analysis of tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 4 : 173-192
27. Seraj MJ, Samant RS, Verderame MF, Welch DR (2000) Functional evidence for a novel human breast carcinoma metastasis suppressor, BRMS1, encoded at chromosome 11q13. *Cancer Res* 60 : 2764-2769
28. Allred DC, Mohsin KS (2000) Biological features of human premalignant breast disease: Harris JR, Lippman MC, Morrow M, Osborne CK (eds) : *Diseases of the Breast*. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, pp 355-366
29. Botti C, Pescatore B, Mottolese M, Sciarretta F, Greco C, Di Filippo F, Gandolfo GM, Cavaliere F, Bovani R, Varanese A, Cianciulli AM (2000) Incidence of chromosomes 1 and 17 aneusomy in breast cancer and adjacent tissue: an interphase cytogenetic study. *J Am Coll Surg* 190 : 530-539
30. Cummings MC, Aubele M, Purdie D, Mattis A, Hutzler H, Hofler H, Werner M (2000) Increasing chromosome 1 copy number parallels histological progression in breast carcinogenesis. *Br J Cancer* 82 : 1204-1210
31. Shackney SE, Shankey TV (1997) Common patterns of genetic evolution in human solid tumors. *Cytometry* 29 : 1-27