

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(樋口 徹) 印

(学位論文のタイトル)

Variation in use of estrogen receptor- α gene promoters in breast cancer compared by quantification of promoter-specific mRNA

(エストロゲン受容体性乳癌におけるERmRNA転写開始点の選択状況について)

(要旨)

(背景と目的) 乳癌患者の約7割がエストロゲン受容体 (ER) 陽性であり、一般的に予後良好だが、一定数の患者が再発を来す。こうした再発患者は治癒が困難であり、リスク評価のためのバイオマーカーの開発が急がれている。当研究室では乳癌ER転写制御機構と同時に転写という観点から新規バイオマーカーの検索を行っている。ERには複数のプロモーターも含めた転写開始点があるがその生物学的意義は明確にされていない。特定の転写開始点からの転写産物量が予後因子となる報告もあり、この結果はmRNAの定量が新たなバイオマーカーとなりうる可能性が示唆している。本研究ではこうした報告を踏まえ、プロモーター特異的な転写に再度着目し、臨床乳癌においてプロモーター特異的なmRNAを定量することにより、ER陽性乳癌におけるプロモーターの選択、すなわちプロモーターusageを確認し、それが臨床病理学的因子と関連性があるかどうか、あるならばリスク評価のための因子となり得るかどうかを検討した。

(方法) ERにはpromoter特異的なmRNAが少なくとも6つ (promoter A~F: proA~F) あることが報告されている。これら複数の異なる転写開始点から転写されるmRNAは、同じ機能を持ったERに翻訳される。これらを別々に検討できるように各々のmRNAの特異的な部分にフォワードプライマーを設定した。この方法を用いて代表的なER陽性乳癌株、陰性細胞株と群馬大学医学部附属病院で手術を施行されたER陽性乳癌43例を解析した。

(結果) ER陽性乳癌においては3株ともにproAからの転写産物が最も多く、次にproCから、その次がproDという結果になった。proBやproE, proFからの転写産物量は極めて少なく、さらに陰性株では転写産物はほとんど定量されなかった。この結果を踏まえ、臨床検体ではproA, proC, proDの3つからの転写産物を検討する方針とした。臨床検体43例のプロモーターusageの結果では、ほとんどの検体でproAからの転写産物が最も多く、次いでC, Dという順番であった。次にこの結果を統計学的に検討する目的で、それぞれのプロモーター特異的な転写産物とtotal ERのmRNAとの相関を確認した。

proA, proC, proD, total ERとも有意に強い相関を示した。この結果は、原発性乳癌においてはプロモーターの選択の違いがない可能性が高いことが示唆された。次に、別の側面から検討を行うために、個々のプロモーター特異的な転写産物と臨床病理学的因子との関わりを検討し、プロモーターの選択の違いがあるかどうかを確認した。有意な結果が得られたのは、年齢、閉経状況、ER Allred score, HER2 IHCの4つであった。各プロモーター特異的な転写産物, total ERのmRNAも含めて、年齢と各転写産物は正の相関を示し、閉経後に転写産物が有意に高く、ER Allred scoreとは正の相関を示し、一方HER2 IHCとはscore0を除いて逆の相関を示した。これらの結果か

ら、臨床病理学的因子との検討においても、各プロモーター特異的転写産物は同じ傾向を示しており、この点からもプロモーターの選択に違いがないことが示唆された。次に、ER total mRNAを従属変数、proA, proC, proDからの転写産物量を目的変数として回帰分析を行った。単回帰分析では3つの変数とも有意な変数となったが、重回帰分析では、proAからの転写産物のみが有意な独立変数となった。この結果から、ER転写状況を最も反映しているのは、翻訳開始点より最も近位から転写が行われているproAの転写産物量であることが示唆された。

（考察）過去にproCからの転写産物が有意に予後不良因子となりうると報告されている。本研究においては、リンパ節転移の有無や核異型度など予後不良因子として知られている要素と、proC特異的転写産物の関連性が見出せず一見すると矛盾する結果のように思われる。しかし、その報告はパラフィン切片からのmRNA抽出による検討であり、半減期が短いproAの転写産物の検出感が低くなってしまった可能性は否定できない。本検討は凍結切片からの抽出であり、以前の結果と異なることも十分に考えられる。プロモーターusageに関する検討は複数あるが、臨床病理学的因子との検討に関しては本検討がおそらく初めてである。プロモーターusageに関する報告は複数あり、おもにERを発現する異なる組織における検討である。異なる組織においてはproA以外の転写開始点からの転写産物が多いことも見出されており、ERの複数ある転写開始点の生物学的意義は発生・分化などに関与している可能性が考えられるが、この仮説に関してはさらなる検討が必要である。本研究においてERのプロモーター特異的な転写産物量が乳癌における新たなバイオマーカーとなりうるか検討を行ったものの、現状ではその可能性が低いと考えられた。複数存在する転写開始点は分化・発生などに寄与する可能性が考えられた。