

# 学 位 論 文 要 約

## Subcellular localization of maspin correlates with histone deacetylase 1 expression in human breast cancer

(ヒト乳癌においてマスピンの細胞内局在はヒストンデアセチラーゼ1発現と相関する)

セリンプロテアーゼインヒビター的一种であるマスピンは正常乳腺上皮細胞で発現しており、癌の進展に伴って発現が低下することが報告されている。また、マスピンを乳癌培養細胞株で過剰発現させると細胞増殖、遊走能、浸潤能の減少を誘導したことから、一般に癌抑制遺伝子と考えられている。一方、ヒト乳癌組織検体におけるマスピン発現と乳癌の予後因子との関連性が多数報告されており、著者らも細胞質に局限したマスピン発現を認める乳癌患者は予後不良であることを報告している。近年、マスピンが癌抑制遺伝子として機能するためには核への局在が必要であることが報告され、その機序の一つに核内のヒストンデアセチラーゼ1 (HDAC1) の阻害が重要視されている。以上より、細胞質に局限したマスピン発現は核内のHDAC1高発現と関連しているという仮説をたて、ヒト乳癌組織検体を用い、マスピン発現の細胞内局在とHDAC1発現の関連について検討した。

## 方 法

2008年1月から2011年12月の期間に鳥取大学医学部附属病院乳腺内分泌外科で外科切除が行われた浸潤性乳管癌164例を対象とした。術前治療施行、両側同時多発、IV期などは除外した。免疫組織化学にてマスピン及びHDAC1の発現を評価した。マスピンは強発現しているものを陽性とし、局在を細胞質のみ、細胞質及び核、核のみ、発現なしの4群に分類した。HDAC1は発現の強度と範囲を評価し、高発現と低発現の2群に分類した。また、乳癌及び正常様不死化乳腺上皮細胞株を用い、免疫蛍光法とリアルタイムRT-PCR法にてマスピンの蛋白発現の局在とHDAC1のmRNA発現をそれぞれ評価した。マスピンの細胞内局在と臨床病理学的因子及びHDAC1発現との関連は $\chi^2$ 乗検定で解析した。生存解析には無再発生存期間を用い、生存曲線はKaplan-Meier法でプロットして群間比較にはlog-rank法を用いた。HDAC1のmRNA発現は一元配置分散分析とTukeyの範囲検定を用いた。

## 結 果

マスピン発現は、細胞質のみ群が50例 (30.5%)、細胞質及び核群が23例 (14.0%)、発現なし群が91例 (55.5%) であった。核のみの発現例はなかった。細胞質のみ群は組織学的

異型度が高く ( $p=0.009$ )、プロゲステロン受容体陰性が多く ( $p=0.006$ )、細胞質及び核群と比較して無再発生存期間が有意に短かった ( $p=0.043$ )。また、細胞質のみ群は、細胞質及び核群 ( $p<0.001$ )、発現なし群 ( $p=0.003$ ) 症例と比較し、HDAC1高発現が有意に多かった。さらに、細胞質及び核群は発現なし群と比較し、HDAC1低発現が有意に多かった ( $p=0.028$ )。細胞株におけるマスピン蛋白は、正常様不死化乳腺上皮細胞株 (MCF10A) では核と細胞質に強い発現がみられたが、乳癌細胞株 (MCF7、MDA-MB-231) では主に細胞質に発現が認められた。また、MCF7及びMDA-MB-231におけるHDAC1 mRNA発現は、MCF10Aと比較して有意な増加が認められた ( $p<0.001$ )。

## 考 察

本研究で、細胞質に限局したマスピン発現を認める乳癌患者は、短い無再発生存期間、高い組織学的異型度、プロゲステロン受容体陰性と正の相関を示し、予後不良であることが推定された。これらの結果は著者らの先行研究とほぼ同様であった。さらに、細胞質及び核へのマスピン発現は、無再発生存期間や予後不良因子と相関しないことを新たに示した。近年、マスピンが腫瘍抑制効果を発揮するためには核への局在が必要であり、マスピンを核から取り除いて細胞質のみとした腫瘍細胞は転移をきたしやすいことが報告されている。このことは、本研究及び先行研究の見解を支持する結果と考えられる。さらに、マスピンはHDAC1を阻害する唯一の内因性ポリペプチドとされており、核内でのHDAC1阻害がその腫瘍抑制機序の重要な一つと推定されているが、これまでに組織検体を用いてマスピンとHDAC1の発現を検討した報告はない。本研究では、免疫組織化学にて、細胞質内に限局したマスピン発現とHDAC1高発現について有意な相関が認められ、HDAC1発現にマスピンの局在が重要な役割を担うことが推察された。また、細胞株での実験においても、細胞質に限局したマスピン発現を認める乳癌細胞株では、HDAC1発現増加が認められるという結果が得られ、組織検体での結果を支持するものと考えられた。

## 結 論

乳癌において、細胞質に限局したマスピン発現は予後不良因子であり、HDAC1高発現と正の相関が認められた。このことは、マスピンが腫瘍抑制効果を発揮するためには核への局在が必要であり、内因性のHDAC1阻害がその機序の一つであるという仮説を支持する結果と考えられた。