

学位論文題名

High expression of Ki-67 and cyclin D1  
in invasive extramammary Paget's disease

(浸潤性乳房外パジェット病における  
Ki-67 と cyclin D1の高発現に関する研究)

学位論文内容の要旨

【背景と目的】 一般的に乳房外 Paget 病 (EMPD) は高齢者に生じ、外陰部がその好発部位である。初期病変は紅斑ないし脱色素斑で、進行していくと表面はびらんを呈し、次第に硬結を触れ、進行例では結節・腫瘤を形成する。臨床経過では、長期間、癌細胞は上皮内に留まり、大部分はその状態で治療されるが、なかには早い段階で真皮や皮下への深い浸潤を来たす進行例がある。そして、ひとたびリンパ節転移を来たした場合の予後は不良である。早期に真皮浸潤の有無を発見するのが重要だが、一部の炎症の強い症例等ではその診断が遅れる場合がある。近年、いくつかの免疫組織学的マーカーが各種悪性腫瘍の予後を予測出来るかどうかの検討が多く報告されている。P53 は、細胞死や細胞周期に関与していて、細胞増殖との関連性からいくつかの癌における予後のパラメータとして有用との報告がある。Her2 は細胞増殖に関係し、過剰発現が乳癌における腫瘍発生因子として考えられている。また、過剰発現と予後とが相関することが知られている。Cyclin D1 は、細胞周期での腫瘍進展因子や癌化に重要な役割を果たしていると考えられていて、皮膚癌においても腫瘍の増殖や分化の段階での過剰発現が報告されている。Ki-67 は、腫瘍における増殖マーカーとして頻用されている。特に、乳癌において病理組織学的な悪性度に関連しているとの報告がある。しかしながら、いまだ EMPD では予後を反映する特定のマーカーが確立されておらず、これらのマーカーの有用性に関して十分に検討されているとはいえない。

本研究の目的は、EMPD の上皮内癌・浸潤癌・転移巣によって、ある特定の免疫組織学的マーカーの発現の差がみられるかどうかを検討することである。これらの発現の差が、癌の進展の予測に重要な役割を果たす可能性がある。これまでの研究で、各種の癌において興味深い結果が得られている代表的な増殖マーカーを中心に今回用いた免疫組織学的マーカーを選択した。これらの免疫組織学的マーカーと EMPD の各進展病変間との関連性を調べた。

【対象と方法】 2001 年から 2007 年の間に当科にて治療した EMPD23 症例 32 病変を対象とした。平均年齢は 70.6 歳、男性が 65.2%と多く、初発部位は陰囊が最多で 14 例、女性外陰部が 7 例、腋窩が 2 例であった。32 病変中、23 病変が上皮内癌、6 病変が浸潤癌、3 病変がリンパ節転移病変であった。2 例で重複癌を認め、いずれも胃癌であった。平均観察期間は 29.4 ヶ月で、1 例のみ原病死している。免疫組織学的マーカー、Her2, p53, Ki-67, cyclin D1, Bcl-2 について、それぞれの発現と病変との関連性を検討した。

免疫組織染色は、一般的な手技を用いて行った。病変部での腫瘍細胞での発現は、4 段

階にスコア化し、統計学的な有意差の有無を検討した。

**【結果】** 各免疫組織染色において腫瘍細胞は、Her2は32病変中23病変で陽性(71.8%)、p53は32病変中10病変で陽性(31.2%)であった。cyclin D1は、32病変中30病変で陽性(93.7%)と大部分の病変で発現していた。発現の強さを比較したところ、Her2, p53, Bcl-2の発現については、上皮内癌・浸潤癌・転移巣という病変の性質との相関はみられなかったが、Ki-67, cyclin D1では、上皮内癌に比べ浸潤部において有意に発現が強かった。スコア化したKi-67とcyclin D1の発現スコア合計値では、上皮内癌と浸潤癌とでは顕著な差異がみられた。しかしながら、Ki-67とcyclin D1の浸潤癌とリンパ節転移部における発現には差はみられなかった。また、Ki-67とcyclin D1の発現の強さは正の相関を示したが、cyclin Dと他のHer2, p53, Bcl-2では発現の強さには相関がみられなかった。

**【考察】** 過去の報告では、EMPDにおいてcyclin D1の発現と浸潤度に関して検討がなされ、リンパ節転移部でのより強い発現が認められている。一方、Ki-67の発現と浸潤度の関連は認められていない。本研究結果では、腫瘍細胞でのcyclin D1の高い発現率を認めたとともに、発現の強さが腫瘍の浸潤度に相関していた。これらの結果から、EMPDにおいて、浸潤癌の状態ではcyclin D1が発現が強くなることが推察できる。また、cyclin D1の、発現の強さが増殖マーカーであるKi-67の発現度と相関を示すことから、腫瘍細胞の増殖機序へのcyclin D1の何らかの関与が示唆される。さらに、cyclin D1の高発現は、EMPDの浸潤癌への進展の予測に有用である可能性がある。Ki-67とcyclin D1を組み合わせることにより、上皮内癌と浸潤癌とでの発現スコアの差はより顕著に認められたことから、この両者の組み合わせがEMPDの浸潤能を反映し、上皮内癌から微小浸潤を来たす初期像の早期発見に有用である可能性を示唆している。しかしながら、一部の症例では、異なる結果も認められたことから、別の因子の関与の可能性も考える必要がある。

本研究結果では関連性が認められなかったHer2の発現と浸潤癌への進行に関して、過去の報告では、いまだ統一された結論が得られていない。今後のデータの蓄積が必要と思われる。一方、p53, Bcl-2は、本結果と過去の検討から、EMPDでは進展機序に関与している可能性は低いと考えられる。

**【結論】** 本研究の結果、EMPD病変(上皮内癌・浸潤癌)においてKi-67とcyclin D1は上皮内癌に比し、浸潤癌で有意に強く発現していた。また、個別のマーカーの発現スコアと比して、Ki-67の発現スコアとcyclin D1の発現スコアの合計値は、上皮内癌から浸潤癌への進展と、さらに強く相関していた。これらの結果から、Ki-67とcyclin D1の同時強発現は、EMPDの浸潤性増殖と関連している可能性が示された。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 野々村 克 也  
副 査 教 授 清 水 宏  
副 査 教 授 笠 原 正 典

学 位 論 文 題 名

## High expression of Ki-67 and cyclin D1 in invasive extramammary Paget's disease

(浸潤性乳房外パジェット病における

Ki-67 と cyclin D1の高発現に関する研究)

Cyclin D1 は、細胞周期での腫瘍進展因子や癌化に重要な役割を果たしていると考えられていて、皮膚癌においても腫瘍の増殖や分化の段階での過剰発現が報告されている。一方、乳房外 Paget 病 (EMPD) では予後を反映する特定のマーカーが確立されておらず、各種のマーカーの有用性に関して十分に検討されているとはいえない。

このような背景から、学位申請者は、EMPD の上皮内癌・浸潤癌・転移巣の各病変によって、ある特定の免疫組織学的マーカーの発現に差がみられるかどうかを検討することを着想した。これらの発現の差が、癌の進展の予測に重要な役割を果たす可能性があると考えた。これまでの研究で、各種の癌において興味深い結果が得られている代表的な増殖マーカーを中心に今回用いた免疫組織学的マーカーを選択し、EMPD の各進展病変間との関連性を調べた。

2001 年から 2007 年の間の EMPD23 症例 32 病変を対象とした。平均年齢は 70.6 歳、男性が 65.2% と多く、初発部位は陰囊が最多で 14 例、女性外陰部が 7 例、腋窩が 2 例であった。32 病変中、23 病変が上皮内癌、6 病変が浸潤癌、3 病変がリンパ節転移病変であった。2 例で重複癌を認め、いずれも胃癌であった。平均観察期間は 29.4 カ月で、1 例のみ原病死している。免疫組織学的マーカー、Her2, p53, Ki-67, cyclin D1, Bcl-2 について、それぞれの発現と病変との関連性を検討した。

その結果、各免疫組織染色において腫瘍細胞では、Her2 は 32 病変中 23 病変で陽性 (71.8%)、p53 は 32 病変中 10 病変で陽性 (31.2%) であった。cyclin D1 は、32 病変中 30 病変で陽性 (93.7%) と大部分の病変で発現していた。発現の強さを比較したところ、Her2, p53, Bcl-2 の発現については、上皮内癌・浸潤癌・転移巣という病変の性質との相関はみられなかったが、Ki-67, cyclin D1 では、上皮内癌に比べ浸潤部において有意に発現が強かった。スコア化した Ki-67 と cyclin D1 の発現スコア合計値では、上皮内癌と浸潤癌とでは顕著な差異がみられた。しかしながら、Ki-67 と cyclin D1 の浸潤癌とリンパ節転移部における発現には差はみられなかった。また、Ki-67 と cyclin D1 の発現の強さは正の相関を示したが、cyclin D と他の Her2, p53, Bcl-2 では発現の強さには相関がみられなかった。

過去の報告では、EMPD において cyclin D1 の発現と浸潤度に関して検討がなされ、リンパ節転移部でのより強い発現が認められている。一方、Ki-67 の発現と浸潤度の関連は認められていない。本研究結果では、腫瘍細胞での cyclin D1 の高い発現率を認めるとともに、

発現の強さが腫瘍の浸潤度に相関していた。これらの結果から、EMPDにおいて、浸潤癌の状態では cyclin D1 は発現が強くなることが推察できる。また、cyclin D1 の、発現の強さが増殖マーカーである Ki-67 の発現度と相関を示すことから、腫瘍細胞の増殖機序への cyclin D1 の何らかの関与が示唆される。さらに、cyclin D1 の高発現は、EMPD の浸潤癌への進展の予測に有用である可能性がある。Ki-67 と cyclin D1 を組み合わせることにより、上皮内癌と浸潤癌とでの発現スコアの差はより顕著に認められたことから、この両者の組み合わせが EMPD の浸潤能を反映し、上皮内癌から微小浸潤を来たす初期像の早期発見に有用である可能性が示唆された。

以上の学位申請者の発表の後、質疑応答がなされた。

質疑応答では、1. 腫瘍細胞における増殖亢進と浸潤能獲得への機序について、2. 乳房外 Paget 病の組織学的発生母地について、3. 乳房外 Paget 病での cyclin D1 の遺伝子増幅の報告について、4. 同一症例での上皮内癌と浸潤部の染色結果の判定法、5. 乳房 Paget 病との疾患上の差異について、6. 乳房外 Paget 病の臨床的な予後因子についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は、本研究データや既知報告データ、過去の文献からの引用を用いて、各質問事項に関して的確かつ詳細に回答した。

この論文は、EMPD において Ki-67 と cyclin D1 の組み合わせが浸潤能を反映し、上皮内癌から微小浸潤を来たす初期像の早期発見に有用である可能性を示唆している点で高く評価され、今後のさらなる症例の蓄積によるマーカーとしての有用性の確立が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。