

平成 21 年 6 月 5 日現在

研究種目： 若手研究 (B)  
 研究期間： 2007 ~ 2008 年度  
 課題番号： 19790932  
 研究課題名 (和文) 乳癌初期病変におけるホルモン受容体と細胞周期関連因子への  
 エストロゲンの作用  
 研究課題名 (英文) Estrogen effects on the expression of hormone receptors and cell  
 cycle regulators in rat mammary premalignant lesions  
 研究代表者 坂 貴司 (YURI TAKASHI)  
 関西医科大学・医学部・講師  
 研究者番号： 50330212

## 研究成果の概要：

1. 性的に未熟な 3 週齢雌 Lewis ラットに 50mg/kg *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) を単回腹腔内投与すると、投与 9 週間には効率的に乳管内過形成や乳管内癌を誘発する
2. MNU 誘発ラット乳管内病変モデルにおいて、短期高用量エストロゲンの投与は、乳管過形成の発生には影響を及ぼさないが、乳管内癌の発生は有意に抑制された。
3. 乳腺病変局所における G1 期細胞周期関連因子である cyclin D1 の発現は有意に低下し、エストロゲンの投与は cyclin D1 の発現を抑制することにより、乳管過形成から乳管内癌への進展を抑制している可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	2,200,000	0	2,200,000
平成 20 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	210,000	3,110,000

研究分野： 実験病理学

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・外科学一般

キーワード： 乳癌, エストロゲン, 乳管内過形成, 乳管内癌, ホルモン受容体, cyclin D1

1. 研究開始当初の背景  
 WHO は長期的な疫学的研究結果をもとに、各種乳腺疾患の悪性化への危険性が明確化され、なかでも異型乳管過形成は乳癌前駆病変と明確に定義付けられた。多段階発癌説に

基づくと、これら前癌病変の理解は重要と考えられるが、乳管過形成および浸潤癌に至る前段階である乳管内癌に関し、経時的な進展や形質変化の有無といった病変の本質は、深い理解が得られていない。

細胞の癌化は遺伝子の異常により生じることは広く理解されており、なかでも細胞周期の異常は癌化に深く関与し、乳癌をはじめ多くの癌で細胞周期関連遺伝子の破綻が確認されている。細胞周期 G1 期早期の推移に重要な働きをもつ cyclin D1 は、癌化した乳腺上皮局所での発現亢進が示されている。また、エストロゲンをはじめとしたホルモンは乳腺/乳癌の増殖に多大な影響を及ぼすが、ヒト乳癌細胞株を用いた *in vitro* の実験では、エストロゲンによる cyclin D1 遺伝子の発現誘導や cyclin D1/Cdk (cyclin-dependent kinase)4 複合体が癌化促進作用を有するという報告をみる。エストロゲンは細胞周期からみても、乳腺上皮の癌化および乳癌の浸潤能獲得に大きな関与をみると考えられる。細胞周期からみた乳癌の危険因子の一つとみなされるエストロゲンは、妊娠歴の有無といった内的要因のみならず、経口避妊薬の使用をはじめとした外的要因によっても体内レベルは大きく変化し、血清エストロゲン濃度の変動は乳癌の自然史に深く関与すると考えられる。従って、ヒトが内因的にも外因的にも暴露される性ホルモンの、細胞異型を有する乳癌初期病変における細胞増殖におよぼす影響を解明する意義は大きいと考える。

## 2. 研究の目的

妊娠を経験した女性は乳癌の発生が低いという疫学的背景をもとに、我々は MNU ラット乳腺発癌誘発モデルを用いて、妊娠期レベルのエストロゲン・プロゲステロンの短期 (3 週間、ラットの妊娠期間に相当) 投与を行ったところ、その後の乳癌の発生を抑制するというヒトでの現象を再現する知見を得たが、長期投与 (>20 週間) では乳癌は抑制しないという結果も得ている。エストロゲンの投与量ならびに投与期間の違いにより乳癌初期病変に異なる影響を与えるとともに細胞周期関連因子やホルモン受容体の発現に差をみれば、乳癌初期病変の進展ならびに浸潤能の獲得を理解する上で、新たな解釈を生む可能性がある。

MNU を性的に未熟な 3 週齢の雌ラットに投与すると、2 か月後には効率的にこれらの病変を誘発しうることを申請者は見出した。このモデルを用い、乳管内過形成および非浸潤乳管癌の病理学的特質ならびに性ホルモンによる修飾メカニズムについて検討することが本課題の目的である。

## 3. 研究の方法

3 週齢雌 Lewis ラット 40 匹に対し、

50mg/kg MNU を単回腹腔内投与し、対照群およびエストロゲン投与群の 2 群に分け、エストロゲン投与群には、6 週齢時から 2 週間有効な 0.25mg の 17 $\beta$ -estradiol 含有徐放ペレットを投与した。MNU 投与 9 週後にすべてのラットを深麻酔下に屠殺、血清エストロゲン値を測定するとともに、両側腰部～会陰部乳腺組織を摘出した。組織学的に乳管内過形成および乳管内癌の発生を同定し、乳管内病変局所におけるホルモンレセプター (エストロゲン・プロゲステロン受容体)、proliferating cell nuclear antigen (PCNA) および cyclin D1 の発現を免疫組織化学的に検討した。

## 4. 研究成果

血清エストロゲン値は、エストロゲン投与後 4 週の退縮期間を設けたため、各群差をみなかった (対照群 45.1 $\pm$ 2.6pg/ml, エストロゲン投与群 28.9 $\pm$ 5.5pg/ml)。乳管内過形成の発生率は各群差をみなかったが、非浸潤癌の発生率は対照群 50%に対し、エストロゲン投与群は 0%と有意な発生率の低下をみた。MNU 投与により生じた乳管内過形成の免疫組織学的検討を行ったところ、エストロゲン・プロゲステロン受容体および PCNA の発現は各群差をみなかったが、cyclin D1 の発現は、エストロゲン投与群で有意に低下した (labeling index;対照群 30.0 $\pm$ 10.6, エストロゲン投与群 15.8 $\pm$ 4.2)。

短期高用量エストロゲン投与による乳腺の小葉分化にともない、細胞周期 G1 期早期に関与する cyclin D1 の発現低下が、乳管過形成から乳管内癌への進展抑制に関与することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. 頼 彦長, 塚本麗子, 三木克朗, 螺良愛郎  
高齡雌 Lewis ラットへの妊娠期ホルモン環境を模倣した短期エストロゲンとプロゲステロン処置による N-methyl-N-nitrosourea 誘発乳癌への影響  
乳癌基礎研 17: 11-15, 2008

2. Tsubura A, Uehara N, Matsuoka Y, Yoshizawa K, Yuri T Estrogen and

progesterone treatment mimicking pregnancy for protection from breast cancer.  
*In Vivo* 22(2):191-201, 2008

3. Tsukamoto R, Mikami T, Miki K, Uehara N, Yuri T, Matsuoka Y, Okazaki K, Tsubura A  
*N*-methyl-*N*-nitrosourea-induced mammary carcinogenesis is promoted by short-term treatment with estrogen and progesterone mimicking pregnancy in aged female Lewis rats.  
*Oncology Reports* 18(2):337-342, 2007

4. 松岡洋一郎, 上原範久, 垾 貴司, 塚本麗子, 螺良愛郎 経産乳腺の発癌刺激低感受性に関する研究. 乳癌基礎研 16: 23-26, 2007

〔学会発表〕 (計 6 件)

1. 頼 彦長, 垾 貴司, 兼松清果, 桑田満喜, 螺良愛郎 高齢期での妊娠を模倣する短期エストロゲン/プロゲステロン処置による乳癌発生への影響  
第 18 回乳癌基礎研究会 (福島) 2008/07

2. 頼 彦長, 垾 貴司, 上原範久, 松岡洋一郎, 螺良愛郎 若年期短期エストロゲン/プロゲステロン処置によるラット乳腺脂肪酸組成の変動  
第 97 回日本病理学会 (金沢) 2008/05

3. 松岡洋一郎, 上原範久, 垾 貴司, 螺良愛郎 経産乳腺の発癌刺激低感受性に関する研究  
第 97 回日本病理学会 (金沢) 2008/05

4. 垾 貴司, 兼松清果, 頼 彦長, 螺良愛郎 MNU 誘発ラット乳癌前癌病変の短期エストロゲン投与による修飾作用  
第 97 回日本病理学会 (金沢) 2008/05

5. 松岡洋一郎, 深町勝巳, 上原範久, 垾 貴司, 津田洋幸, 螺良愛郎 妊娠・出産による乳腺発癌抑制についての基礎的研究  
第 96 回日本病理学会 (大阪) 2007/03

6. 垾 貴司, 塚本麗子, 上原範久, 松岡洋一郎, 螺良愛郎 エストロゲン・プロゲステロン投与による乳腺上皮におけるホルモン受容体の発現変化と乳腺発癌への影

響  
第 96 回日本病理学会 (大阪) 2007/03

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
(なし)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者  
垾 貴司 (YURI TAKASHI)  
関西医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 50330212

(2)研究分担者

(3)連携研究者