

# 木戸川秀生学位論文内容の要旨

## 主 論 文

Clinical Significance of Double Staining of MIB-1 and AgNORs  
in Primary Breast Carcinoma

(原発性乳癌における MIB-1/AgNORs 二重染色の臨床的意義)

木戸川秀生、七島篤志、矢野 洋、松本 恵、安武 亨、永安 武

Anticancer Research 25 : 3957-3962, 2005

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻  
(指導教授：永安 武)

### 【緒 言】

Argyrophilic nucleolar organizer regions (以下 AgNORs) は第 13,14,15,21,22 染色体短腕上に存在する ribosomal DNA の関連蛋白であり、銀染色法によって特異的に染色される。AgNORs 数は細胞増殖活性を反映すると云われており、増殖期細胞における AgNORs 数は非増殖期細胞と比較して有意に高いことが報告されている。一方、モノクローナル抗体 MIB-1 は細胞周期上、休止期以外の細胞において発現する Ki-67 抗原に反応するめ、MIB-1 陽性細胞は増殖期細胞と見なすことができる。

本研究では原発性乳癌切除症例に対して AgNORs と MIB-1 同時二重染色を行うことで増殖期細胞と非増殖期細胞の特徴を把握することを目的とし、細胞合成期における増殖活性と臨床病理学的因子並びに予後との関連を検討した。

### 【対象と方法】

#### 1) 対象

1996 年から 1998 年まで長崎大学腫瘍外科において切除された女性乳癌 42 例を対象とした。年齢は平均 59.5 歳 (37~85 歳) であった。癌の進行程度は stage Ⅰ が 5 例、stage Ⅱ 24 例、stage Ⅲ 10 例、stage Ⅳ 3 例であった。最低観察期間は 6 年であった。

#### 2) 組織二重染色および測定

パラフィン包埋切片に対してマイクロウェーブによる抗原賦活化を行った後に、MIB-1 抗体を用いた免疫組織染色 (LSAB 法) を行った。引き続き One step silver staining 法を用いて AgNORs 染色

を行った。MIB-1 陽性癌細胞と MIB-1 陰性癌細胞それぞれ 100 個の細胞につき核内 AgNORs dot 数を計測し、平均 AgNORs 数を算出した。

### 3) 統計学的分析

2 群間の差の検定は one-way analysis of variance (ANOVA) および Student' t-test を用いた。AgNORs 数と臨床病理学的因子の比較は Mann-Whitney test を用いた。多変量解析はロジスティック回帰分析を行った。生存曲線は Kaplan-Meier 法で算出し有意差検定は Logrank 法で行った。危険率 0.05 未満を有意差ありとした。

#### 【結果】

MIB-1 陽性細胞の平均 AgNORs 数は  $6.18 \pm 2.85$  であり MIB-1 陰性細胞の平均 AgNORs 数  $2.65 \pm 1.08$  と比較して有意に高かった。腫瘍径 2cm 以上の患者の MIB-1 陽性細胞の平均 AgNORs 数 ( $5.83 \pm 2.23$ ) は、2cm 未満の患者 ( $3.61 \pm 0.74$ ) よりも有意に高く、またリンパ節転移陽性の患者における MIB-1 陽性細胞の平均 AgNORs 数 ( $6.21 \pm 2.18$ ) は、リンパ節転移陰性患者 ( $4.35 \pm 2.10$ ) よりも有意に高かった。一方、MIB-1 陰性細胞における AgNORs 数はいずれの因子とも有意な関連は認めなかった。

リンパ節転移に関する因子に対する多変量解析では、MIB-1 陽性細胞で平均 AgNORs 数 4.5 以上の因子のみが有意に独立した因子であった (odds 比 =2.1、95%CI:1.07 ~ 4.21、 $p=0.031$ )。また MIB-1 陽性細胞の平均 AgNORs 数 4.5 以上の患者の予後は有意に不良であった。一方、MIB-1 labeling index、AgNORs 単染色の結果のみでは臨床病理学的因子並びに予後との関連は認められなかった。

#### 【考察】

乳癌において腫瘍増殖マーカーとしての AgNORs の評価はいまだ定まっていない。Mourad らと Janmohamede らは Ki-67 と AgNORs 二重染色を行い、Ki-67 陽性細胞の AgNORs 数は陰性細胞と比較して高いことを示した。このことは増殖期細胞は非増殖期細胞よりも高い AgNORs 数を持つことを示している。本研究結果においても同様の結果が得られたことから二重染色の有用性が示唆された。

本研究において、MIB-1 陰性細胞における AgNORs 数や AgNORs 単染色と比べ、MIB-1 陽性細胞における AgNORs 数のみが腫瘍径、リンパ節転移と関連していた。さらに MIB-1 陽性細胞における AgNORs 数は唯一のリンパ節転移に関する独立した因子であった。これらの結果から MIB-1 陽性細胞において AgNORs 数が多い細胞は増殖・転移活性が高く、腫瘍増殖とリンパ節転移に関連しているものと推測された。以上より、原発性乳癌における MIB-1/AgNORs 二重染色法は乳癌の悪性度の指標として有用である可能性が示唆された。