Akita University

| | |
|---|---|
| 氏　名　・（本籍） | 菅原　多恵（山形県） |
| 専攻分野の名称 | 博士（医学） |
| 学位記番号 | 医博甲第 885 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 27 年 3 月 22 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 |
| 研究科・専攻 | 医学系研究科医学専攻 |
| 学位論文題名 | Efficient Screenimg Strategy for Lynch Syndrome in Japanese Endometrial Cancer<br>（日本の子宮体癌におけるリンチ症候群の効率的なスクリーニング戦略） |
| 論文審査委員 | （主査）　教授　柴田　浩行<br>（副査）　教授　高橋　　勉　　教授　後藤　明輝 |

Akita University

# 学位論文内容要旨

論　文　題　目:Efficient Screening Strategy for Lynch Syndrome in Japanese Endometrial Cancer

（日本の子宮体癌におけるリンチ症候群の効率的なスクリーニング戦略）

申請者氏名　菅原　多恵

## 研　究　目　的

リンチ症候群はミスマッチ修復（MMR）遺伝子（主に4種：MLH1、MSH2、MSH6、PMS2）の生殖細胞変異によって引き起こされ、大腸癌や子宮体癌をはじめとした多種の腫瘍を高頻度に発生させる。発癌リスクが加齢に伴って上昇するこの症候群は、常染色体優性の形式で遺伝する。欧米では子宮体癌患者には 2～6%の頻度でリンチ症候群が内包されると報告されている。消化器癌の発生率が高い日本において、子宮体癌患者からリンチ症候群患者を識別することは、子宮体癌治療後における他関連癌の予防と早期治療において臨床的意義が深い。リンチ症候群の診断により、近親の血縁者もサーベイランスや予防的医療の機会が得られる。しかしながら、現在の日常診療ではその多くが見過ごされている。この現状を改善するためには、子宮体癌患者にとって有用なリンチ症候群患者のスクリーニング法と適切な管理指針が必要だが、未だ定まっていない。本研究の目的は、日本の子宮体癌患者におけるリンチ症候群の臨床的分布と特徴を明らかにしつつ、効率的で実用的なスクリーニング戦略を考案することである。

## 研　究　方　法

2003年1月から2013年12月までの期間に、秋田大学医学部附属病院の産婦人科において、子宮体癌と診断し治療を行った360人を対象とした。我々は、簡便で寛容な3項目から構成される独自基準（APF基準と命名）を策定し、3項目の何れかに合致する患者を基準合致例として抽出した。APF基準の各項目は、A)50歳未満で子宮体癌を発症、B)リンチ症候群関連腫瘍の重複癌（同時・異時性）を持つ、C)近親者がリンチ症候群関連腫瘍を発症、の3つである。APF基準に合致し組織標本の研究利用が可能であった患者の腫瘍組織に対し、4種のMMR蛋白(MLH1、MSH2、MSH6、PMS2）に対する特異的抗体を用いて、免疫組織学的にMMR蛋白質の発現を評価した。さらに、MLH1蛋白が欠損した患者の腫瘍組織に対しては、MLH1遺伝子プロモーターのメチル化分析を追加した。以上のスクリーニング戦略により、「リンチ症候群疑い」患者を遺伝子分析の候補として抽出し、除外された患者群を「散発癌の可能性が高い子宮体癌」とした。

## 研　究　成　績

子宮体癌女性360人中、187人（51.9%）がAPF基準に合致し、そのうち182人には研究利用できる腫瘍組織があり、免疫組織化学によるMMR蛋白発現の評価が可能であった。182例中、54例（29.6%）の腫瘍組織において、少なくとも1つのMMR蛋白に発現欠損を認めた。MLH1蛋白の発現が欠損していた20例のうち14例の腫瘍組織では、MLH1遺伝子プロモーターに高メチル化を認め、これらの腫瘍は散発性子宮体癌と判断した。以上の結果により、我々は、全360人の子宮体癌患者のうちの40人（11.1%）を「リンチ症候群疑い」患者として選出した。40例のリンチ症候群疑い患者のうち、6例（15%）では患者自身の胃癌重複があり、18例（45%）には胃癌の家族歴が確認された。「リンチ症候群疑い」の患者群では、患者とその家族における胃癌の出現率は、大腸癌の出現率とほぼ同等であり、「散発癌の可能性が高い子宮体癌」患者群と比べて統計学的に有意に高かった。

## 結　論

本研究では、日本の子宮体癌におけるリンチ症候群の臨床的・組織学的特徴とその全体像をはじめて報告した。臨床情報を基にした寛容なトリアージと、分子学的検査である免疫組織学的検査およびMLH1プロモーターメチル化検査を組み合わせた、我々のスクリーニング戦略によって、全子宮体癌から 11%の「リンチ症候群疑い」患者を抽出した。日本の子宮体癌患者においても、欧米の報告と同等以上の比率でリンチ症候群が内包されている可能性を示した。高感度の臨床トリアージと特異的分子分析から構成される我々の戦略は、子宮体癌患者におけるリンチ症候群のスクリーニング効率を改善し、識別費用を削減させ得る。

基盤研究と管理指針の策定なしに遺伝性疾患の識別が行われた場合、患者とその家族には医学倫理的な問題が生じる。本研究は、本邦での臨床的遺伝子診断と管理指針策定に向けた基盤研究としての意義を含む。本研究の成果と発展により、患者とその近親家族を、適切な予防医学と癌の早期治療、そして適切なサーベイランス管理へと導くことが出来ると考える。

Akita University

# 学位（博士―甲）論文審査結果の要旨

主　査：柴田浩行

申請者：菅原多恵

論文題名：Efficient Screening Strategy for Lynch Syndrome in Japanese Endometrial Cancer （日本の子宮体癌におけるリンチ症候群の効率的なスクリーニング戦略）

要旨

子宮体癌はリンチ症候群関連腫瘍であり、その一部にリンチ症候群患者を含む。その頻度は 2－6％であり、これは決して無視のできない数値である。リンチ症候群の診断には改訂アムステルダム基準IIを含む幾つかの診断基準が存在するが、感度などの点で必ずしも十分とは言えない。そこで、本研究では、より感度が高く、より実用性の高いスクリーニング法として、APF基準とリンチ症候群の原因遺伝子産物であるMLH1, MSH2, MSH6, PMS2のミスマッチ修復系酵素の免疫組織化学、および*MLH1*遺伝子のプロモーターメチル化解析を組み合わせたスクリーニング法を提唱する。本法が効率的にリンチ症候群をスクリーニングできるか、その可能性について検証した。

対象は秋田大学医学部附属病院産婦人科を受診した360人の子宮体癌患者で、APF基準で一次スクリーニングを行った。APF基準は 1) 50 歳未満での子宮体癌の発症、 2) リンチ症候群関連腫瘍の合併、 3) 近親者のリンチ症候群関連腫瘍の発症、である。APF基準に合致した症例は187例でこのうち解析可能な腫瘍組織が存在する症例は182例であった。さらに、ミスマッチ修復系酵素の発現喪失を認めたのは 54 例であった。このうちMLH1の発現喪失を認めた 20 例中 14 例には、散発性子宮体癌の特徴である*MLH1*遺伝子プロモーターのメチル化が認められ、除外された。その結果、 40 例をリンチ症候群疑いとした。この 40 例のリンチ症候群疑い症例のうち、6例が胃癌を重複していた（ 15％ ）。また、 18 例に胃癌の家族歴が認められた（ 45％ ）。 これらは散発性子宮体癌とされた群の胃癌発生頻度よりも有意に高かった。このように本スクリーニング法により、リンチ症候群疑い症例を効率よくスクリーニングできる可能性が示された。

1）研究の斬新性

子宮体癌患者の 2－6％ に含まれるリンチ症候群患者を効率よくスクリーニングする方法は、これまで特に検討されていない。改訂アムステルダム基準IIなど問診や病歴聴取に依存した基準はあるものの、最終診断となる原因遺伝子のシークエンス解析との間には感度などの点で、おおきな隔たりがある。本研究は、この点に着目し、新たなスクリーニング方法を提案したという点において斬新である。また、症例集積数は360人、解析数は182人とデータも信頼性が高いと考えられる。

2）研究の重要性

子宮体癌にリンチ症候群患者を含む頻度は 2－6％ と決して低くない。子宮体癌患者からリンチ症候群患者を、ある一定の確度をもって抽出することは重要である。しかし、一般にリンチ症候群患者のスクリーニングは家族歴の聴取に始まるが、親族間の連携の希薄化などの問題から、必ずしも正確な情報が得られるとは限らない。また、原因遺伝子であるミスマッチ修復遺伝子のシークエンス解析は労力と費用がかかる。本研究では、これらの問題点に応えるべく、APFという基準を設け、より簡便な病歴聴取と腫瘍組織の免疫組織化学的解析およびプロモーターメチル化解析というより一般的で安価な分子生物学的手法により、汎用性のあるスクリーニング系の確立を目指した点で極めて重要であると評価される。

3）研究方法の正確性

ミスマッチ修復遺伝子の免疫組織化学的解析や*MLH1*遺伝子のプロモーターメチル化解析などの実験手技は正確に行われたと評価される。また、ヒト検体の取扱いは倫理的にも問題なく、データの解析も統計学的に行われ、臨床研究としてのガイドラインや基準に基づいて実施、検証された。

4）論旨の明瞭性

本学位論文で示された、子宮体癌におけるリンチ症候群の効率的なスクリーニング戦略については論旨に矛盾や錯誤、また結果解釈の著しい誇張などはなく、データに沿って明瞭に記載されている。本論文はTohoku J. Exp. Med.誌に投稿し、査読を受け受理された（ 2015, 235, 117-125 ）。このように外部査読においても十分な評価を得ている。

以上の観点から、本論文は学位を授与するに十分な条件を備えているものと判定された。

Akita University