

氏名・(本籍)	田村 大輔 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 995 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 21 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	<b>Adenomatoid tumour of the uterus is frequently associated with iatrogenic immunosuppression</b> (子宮アデノマトイド腫瘍は医原性免疫抑制と相関する)

論文審査委員	(主査) 羽瀧 友則 教授
	(副査) 柴田 浩行 教授      田中 正光 教授

## 学位論文内容要旨

Adenomatoid tumour of the uterus is frequently associated with iatrogenic immunosuppression  
(子宮アデノマトイド腫瘍は医原性免疫抑制と相関する)

申請者氏名 田村 大輔

### 研究目的

【目的】アデノマトイド腫瘍(adenomatoid tumour:AT)はカルレチニン、ポドプラニン陽性に特徴づけられる中皮系分化を示す良性腫瘍である。性腺(子宮、卵巣、精巣、精巣上部)で好発するが、稀に性腺外発生(副腎、心臓、腸間膜、小腸、大網、胸・腹膜)が認められる。近年、*HUMARA*法を用いた研究(Wang W, et al. *Hum. Pathol.* 2016)ではATが真の腫瘍である事が証明された。さらに、次世代シーケンサー(*next-generation sequencing: NGS*)を用いた研究(Goode B, et al. *Mod. Pathol.* 2018)では、ATはNF- $\kappa$ B経路の活性化を導くTRAF7変異を伴う腫瘍であることが判明した。一方、子宮におけるATの発生頻度は約1-5%と報告されている。子宮ATの大多数は単結節性であるが、稀に子宮筋層内にびまん性に拡がる症例においては医原性免疫抑制薬との関連が示唆されてきた。しかし、これまで子宮ATと免疫抑制薬との関連を詳細に検討した症例対照研究はない。また、子宮ATの発生機序が子宮漿膜中皮細胞の陥入であるという仮説が唱えられているが科学的な実証はなされていない。

### 研究方法

【方法】2011年から2016年の間に、秋田大学医学部附属病院で子宮全摘術が施行された611例の連続子宮検体を対象に免疫抑制薬内服歴、細胞傷害性の抗癌剤投与歴、ATの有無を検討した。さらに、生前に免疫抑制療法を受けていた4人の女性剖検例の子宮を全割全包埋し、ラテントATの有無を探索した。ATに対して中皮系マーカー(カルレチニン、ポドプラニン)、p16、ミスマッチ修復タンパク(mismatch repair(MMR): MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)、腫瘍ウイルス(human herpesvirus type 8 (HHV-8), Merkel cell polyomavirus (MCPyV), SV40 large T antigen (SV40))の発現の有無を免疫組織化学やin situ hybridization(Epstein-Barr virus (EBV), human papilloma virus (HPV))を用いて検討した。また、*NGS*を用いた既報(Goode B, et al. *Mod. Pathol.* 2018)によると、ATはTRAF7変異を伴い5つのhot spots(c.1556T>C: 3%, c.1562A>G: 35%,

c.1613A>C: 10%, c.1683C>A or G: 42%, c.1730A>C: 10%)に変異が集約されるとされた。我々は、サンガーシーケンスを用いて自験例12例の子宮ATに対してTRAF7変異の評価を行った。また、近年、組織透明化技術を応用し共焦点顕微鏡を用いた生体組織の三次元的蛍光イメージング(可視化)の試みが行われている。我々は組織透明化技術(*CLARITY*法)を応用し、共焦点顕微鏡を用いた子宮ATの三次元構造の解明を試みた。

### 研究成績

【成績】子宮全摘611例中14例(2.3%)にATを認めた。ATの発生頻度は非免疫抑制群で1.52%(9/591)に対し、免疫抑制群で25.0%(5/20)と有意に高く( $P<0.0001$ )、相対危険度は16.4であった。また、免疫抑制群に発生した5例の子宮ATにおいて、3例は多結節性又はびまん性の拡がり認められた。さらに、免疫抑制剤による治療歴のある4例の剖検例のうち1例(25.0%)に多結節状のラテントATが検出された。一方で、抗癌剤投与歴と子宮ATとの有意な相関は認められなかった( $P=0.2669$ )。また、大部分の子宮ATは免疫組織化学検査においてp16びまん性陽性像(block-type positive)を示した。これは他の中皮系細胞及び腫瘍(正常子宮漿膜、悪性中皮種、well-differentiated papillary mesothelioma)がp16部分又は局所陽性である事とは対照的であった。さらに、全ての子宮ATにおいて、MMR(MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)の発現を認め、HHV-8、MCPyV、SV40、EBV、HPVは陰性であった。また、TRAF7変異は8.3%(1/12)に認められた。蛍光免疫染色後の共焦点顕微鏡観察において*CLARITY*を改変した方法では、完全な子宮組織の透明化は困難であったが、レーザー深度60-80 $\mu$ mの画像は取得可能であった。加えて、子宮ATの管腔様構造の間に複雑な吻合や連続性が確認された。

### 結論

【結論】子宮ATはp16びまん性陽性に特徴づけられる免疫抑制関連腫瘍である。子宮ATの発生頻度は施設間の相違(対象とする患者の免疫抑制薬内服の有無)によって変動すると考えられる。本研究の結果からは、患者の免疫抑制状態が子宮ATの発生や進展に関与している可能性が示唆された。また、子宮ATの分子学的発生機序においてはTRAF7-NF- $\kappa$ B経路とp16 upregulationとの相互関係の解明が今後の検討課題である。さらに、子宮ATの管腔様構造が互いに連続性を示すという事実は、子宮ATの発生機序が子宮漿膜中皮細胞の陥入であるという説に矛盾しないものであり、子宮ATは複雑な吻合や分岐を示す蟻の巣状の病変である可能性がある。

## 学位(博士一甲)論文審査結果の要旨

主査: 羽瀧 友則

申請者: 田村 大輔

Adenomatoid tumour of the uterus is frequently associated with iatrogenic immunosuppression  
(子宮アデノマトイド腫瘍は医原性免疫抑制と相関する)

### 要旨

アデノマトイド腫瘍(adenomatoid tumour:AT)はカルレチニン、ボドプラニン陽性に特徴づけられる中皮系分化を示す良性腫瘍である。両性の性腺(子宮、卵巣、精巣、精巣上体)に好発するが、性腺外発生が稀に認められる。近年、分子遺伝的手法による研究によりATが真の腫瘍である事が証明され、さらにATはNF- $\kappa$ B経路活性化を導くTRAF7変異を伴うことが判明した。子宮におけるATの発生頻度は約1-5%とされており、子宮ATの大多数は単結節性であるが、稀に子宮筋層内にびまん性に拡がる症例においては医原性免疫抑制薬との関連が示唆されてきた。しかし、これまで子宮ATと免疫抑制薬との関連や発生機序を詳細に検討した研究はなく、田村大輔氏らはこの点に注目し、研究を進めた。

2011年から2016年の間に、秋田大学医学部附属病院で子宮全摘術611例の子宮検体を対象に免疫抑制薬内服歴、抗癌剤投与歴、ATの有無を検討した。さらに免疫抑制療法既往のある4人の女性剖検例の子宮を全割全包埋し、ラテントATの有無を探索した。免疫組織化学やin situ hybridization、サンガーシーケンスを用いたTRAF7変異の評価を行った。さらに組織透明化技術を加えた共焦点顕微鏡を用いて子宮ATの三次元構造の解明を試みた。

結果として、子宮全摘611例中14例(2.3%)にATを認めた。ATの発生頻度は非免疫抑制群で1.5%(9/591)に対し、免疫抑制群で25.0%(5/20)と有意に高く( $P < 0.0001$ )、相対危険度は16.4であった。また、免疫抑制群に発生した5例中、3例は多結節性又はびまん性の拡がり認められた。さらに、免疫抑制剤治療歴のある4例の剖検例のうち1例(25.0%)に多結節状のラテントATが検出された。抗癌剤投与歴と子宮ATとの相関は認められなかった。また、大部分の子宮ATは免疫組織化学検査においてp16びまん性陽性像を示した。さらに、全ての検体において、MMRsの発現を認め、HHV-8、MCPyV、SV40、EBV、HPVは陰性であった。TRAF7変異は8.3%(1/12)に認められた。共焦点顕

微鏡観察により子宮ATの管腔様構造の間に複雑な吻合や連続性が確認された。

### 結論

#### 1) 斬新さ

患者の免疫抑制状態が子宮ATの発生や進展に関与している可能性を示したこと。子宮ATの分子学的発生機序においてはp16 upregulationが関与している可能性を示したこと。子宮ATの管腔様構造が互いに連続性を示すという事実は、子宮ATの発生機序が子宮漿膜中皮細胞の陥入であるという説に矛盾しないものであり、子宮ATは複雑な吻合や分岐を示す蟻の巣状の病変である可能性を示したこと。他の腫瘍関連の感染症やMMRの破綻が関与している可能性は低いことを示したこと。以上、子宮ATの発生機序と病態解明に非常に重要な所見を初めて提供した。

#### 2) 重要性

患者の免疫抑制状態が子宮ATの発生や進展に関与している可能性を示し、他の腫瘍関連の感染症やMMRの破綻が関与している可能性は低いことを示したことなど、臨床的に、子宮ATのモニタリング、予防に繋がる重要な知見を提供する研究である。また子宮ATの発生において、p16 upregulationが関与している可能性を示したことや、構造解明など、子宮ATの発生機序と病態解明に関する新たな情報も提供しているため、予防や治療にも繋がる重要な研究である。

#### 3) 研究方法の正確性

免疫組織化学やin situ hybridization、サンガーシーケンスを用いたTRAF7変異の解析、組織透明化技術を加えた共焦点顕微鏡による観察など、妥当性のある方法で行われている。得られたデータの統計的解析も妥当である。

#### 4) 表現も明確さ

抄録、背景、対象と方法、結果、考察、結論、表、図など簡潔で明瞭に記載されている。さらに、すでに学術雑誌に英文論文として掲載受理されており、学位論文として校正、表現など問題ない。

以上、本論文は学位を授与するに十分値する内容と判定された。