

論文内容の要旨

Molecular analysis of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma: a proposal for novel classification of endometrioid adenocarcinomas

(エストロゲンレセプター, プロゲステロンレセプター, HER2 発現に基づく子宮類内膜腺癌の分子異常解析-類内膜腺癌の新しい分類の提唱)

(苫米地英俊, 菅井有, 菅安寿子, 永沢崇幸, 上杉憲幸, 石田和之, 竹内聡, 杉山徹)

(Modern Pathology (投稿審査中))

I. 研究目的

子宮内膜癌の分子腫瘍発生はこれまでタイプ 1 (子宮内膜癌の 90%) とタイプ 2 (子宮内膜癌の 10%) に分類して解析されてきた。前者は類内膜腺癌で, *PTEN* 変異, *KRAS* 変異, MSI などの異常が特徴的で, DNA diploid の頻度が高いとされている。一方タイプ 2 の場合は, 漿液性, 明細胞癌などの特殊な腫瘍で p53 や LOH の蓄積, DNA aneuploidy がみられるとされる。上記の変化はゲノム上の変化が発癌の中心的役割を担っていることを指摘しているが, 最近になって遺伝子のエピゲノム上の変化が発癌においても重要であることが明らかになってきた。

従来の内膜癌の腫瘍発生仮説では, 多数を占める類内膜腺癌をタイプ 1 として一括して扱っており, 類内膜癌の多様性を表現しているとは言い難い。近年, ホルモン依存性腫瘍の乳癌ではエストロゲン, プロゲステロン, HER2 の発現を基に 4 つの形質に分類することが行われており, 組織学的特徴や予後, 悪性度, 治療の反応性などと良く関連することが明らかになっている。一方類内膜腺癌も乳癌同様エストロゲン依存性腫瘍であるにもかかわらず, これまで上記の因子の発現に基づいた類内膜腺癌の病理学的, 分子病理学的な検討はほとんど行われていない。

本研究では, エストロゲン, プロゲステロン, HER2 の発現を基に, 類内膜癌を 4 つのタイプに分けて臨床病理学的, 分子病理学的に解析を行い, これらの分類の妥当性について検証することを目的とした。

II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学産婦人科学講座で経験した 83 症例 (2004-2012) の子宮類内膜腺癌患者の手術により摘出した手術標本から新鮮材料を採取し, 腺管分離法により分離腺管を実体顕微鏡下で回収し, これにより得られた分離腺管サンプルから形態解析用腺管, DNA 抽出用腺管, RNA 抽出用腺管を採取した。正常サンプルについては腫瘍から最も離れた部位の組織片を採取するが, 組織片が得られなかった場合には血液サンプルより正常サンプルを採取した。

形態解析用分離腺管とその近傍の部分を作成した病理組織標本の双方を用いて, 免疫組織化学染色 (Dako envision システム) を行い, エストロゲンレセプター (ER), プロゲステロンレセプター (PgR), HER2 の発現状況により A 型: ER 陽性もしくは PgR 陽性かつ HER2 陰性, B 型: ER 陽性もしくは PgR 陽性かつ HER2 陽性, C 型: ER 陰性かつ PgR 陰性かつ HER2

陽性, D 型: いずれも陰性に分類した.

さらにそれぞれに p53, *PTEN* の免疫組織化学染色を行った. また, 分子解析として LOH 解析 (3p, 5q, 10q, 13q, 17p, 18q), MSI 解析 (BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250) 変異解析 (*Ki-ras*, *BRAF*, *PIK3CA*), メチル化解析 (*SFRP1*, *SFRP2*, *SFRP5*, *DKK-2*, *DKK-3*, *HOXA9*, *mir-34b/c*, *p16*, *MLH1*, *MINT1*) の解析を行った. そして, 4 つのタイプ間で上記遺伝子解析と免疫組織化学染色の結果の相違について検討した. 有意差検定には χ^2 検定を用いた.

III. 研究結果

1. 臨床病理学的因子では, タイプ A, タイプ B には有意に高分化なものが多くみられた. 進行期はタイプ A・B では I / II 期が多いが, typ タイプ C では III / IV 期が多かった. 筋層浸潤はタイプ C・D で 1/2 以上の浸潤が有意に認められた.
2. p53 過剰発現例はタイプ C で多く認められた. *PTEN* の発現低下は全てのタイプでみられるが, タイプ C で少なく認められた.
3. *Ki-ras* 変異はいずれのタイプでもみられたが, タイプ C での *ki-ras* 変異が多い傾向がみられた. *BRAF* 変異はタイプ D に多い傾向がみられた. *PIK3CA* 変異はタイプ A と B に多い傾向がみられた.
4. タイプ A, B と比較してタイプ C, D における高 LOH 状態の頻度が高かった.
5. MSI 癌では各タイプに差は認められなかった. MSI 陽性癌の中で *MLH-1* のメチル化がみられたのは半数程度であった.
6. タイプ D で高メチル化状態が認められた. *SFRP1* は各タイプに共通していたが, *SFRP2*, *DKK2* のメチル化はタイプ別に異なっていた. *mir-34b/c* のメチル化は type C 以外で多く認められた.

IV. 結 語

今回我々は, 子宮類内膜腺癌を ER, PgR, HER2 に基づいて 4 つのタイプに分類し, それぞれの分子異常について解析を行った. 子宮類内膜腺癌の分子異常は上記 4 つの形質と関連しており, 我々が提案した 4 つの形質は子宮類内膜腺癌において有用な形質分類になるものと思われた. 従来, 子宮類内膜腺癌は 1 型癌として一括して扱われているが, 今回の検討で 1 型癌は臨床病理学的にも, 分子異常的にも異なった腫瘍群で構成されていることが明らかにされた. 加えて子宮類内膜癌の治療方針も我々が示したタイプ別に異なっている可能性もあるものと思われ, 今後の更なる検討が望まれる.

V. 学位申請後経過

※1 最終審査後, Journal of Iwate Medical Association に掲載予定.

※2 査読による内容の変更は不要であったが, 論文タイトルを「Molecular analysis of endometrial endometrioid adenocarcinoma based on estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 expression: a proposal for novel classification of endometrioid adenocarcinoma」に変更.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 石田 陽治（内科学講座：血液・腫瘍内科分野）

副査 教授 前沢 千早（腫瘍生物学研究部門）

副査 講師 及川 浩樹（病理学講座：病理病態学分野）

子宮内膜癌の分子腫瘍発生はこれまでホルモン依存性のタイプ 1（子宮内膜癌の 90%）と非依存性のタイプ 2（子宮内膜癌の 10%）に分類して解析されてきた。一方、近年ホルモン依存性腫瘍の乳癌ではエストロゲンレセプター (ER)、プロゲステロンレセプター (PgR)、HER2 の発現を基に 4 つの形質に分類することが行われており、組織学的特徴や予後、悪性度、治療の反応性などと良く関連することが明らかになっている。本論文では、ER、PgR、HER2 の発現を基に、タイプ I 子宮類内膜癌を 4 つのタイプ（タイプ A: ER (+) もしくは PgR (+) かつ HER2 (-)、タイプ B: ER (+) もしくは PgR (+) かつ HER2 (+)、タイプ C: ER (-) かつ PgR (-) かつ HER2 (+)、タイプ D: すべて (-)）に分けて臨床病理学的、分子病理学的に解析を行い、これらの分類の妥当性について検証することを目的とした。

タイプ A、B においては高分化、I/II 期癌、PTEN 発現低下、低 LOH 状態と共通したものが多くみられ、タイプ C では中～低分化、III/IV 期癌、高 LOH 状態、低メチル化状態、p53 過剰発現、*K-ras* 変異がみられた。一方タイプ D では中～低分化、III/IV 期癌、高 LOH 状態、高メチル化状態、*BRAF* 変異が認められた。以上よりこれまでタイプ I として分類されていた子宮類内膜腺癌は ER、PgR、HER2 の発現状態に基づいた形質分類を用いることによって、異なった 3 型の病型に分類されることが示された。

本研究は、タイプ 1 子宮類内膜癌の ER、PgR、HER2 発現に基づいたタイプ分類が、それぞれ悪性度や分子異常と密接に関連していることを明らかにした初めての論文である。学位に値する。

試験・試問の結果の要旨

エストロゲンレセプター、プロゲステロンレセプター、HER2 の発現に基づいた子宮類内膜腺癌の分子病理学的解析について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考ええる。

参考論文

- 1) 卵巣癌のバイオマーカー（小見英夫，他 2 名と共著）。成人病と生活習慣病 41 巻，9 号（2011 年 9 月掲載）
- 2) 卵巣明細胞腺癌の臨床像（杉山徹，他 2 名と共著）。産科と婦人科 79 巻，10 号（2012 年 10 月掲載）