

学位論文題名

免疫組織化学によるヒト稀少腫瘍の特性解明と
病理診断への寄与

学位論文内容の要旨

【緒言】

病理診断の基本はHE染色標本での形態観察だが、今日では、免疫組織化学染色による検討も重要な役割を担う。その結果から、腫瘍の本態解明につながる情報が得られることも経験される。その具体例として、本研究では、比較的発症頻度が低く、その本態が未だ完全には明らかになっていない2つの腫瘍(群)に対し、免疫組織化学的解析が、腫瘍の特性解明や正確な診断に寄与した例を提示する。

第一章では、胸腺上皮性腫瘍における、プロテアソームサブユニット $\beta 5t$ の発現を解析した研究を提示する。このサブユニットは、胸腺皮質上皮細胞に特異的に発現する機能分子として、胸腺の基礎研究分野で注目されているが、これを診断に応用すべく、その腫瘍マーカーとしての価値を検証した研究である。第二章では、濾胞樹状細胞肉腫 follicular dendritic cell sarcoma (FDC sarcoma) における、免疫組織化学的検討を提示する。本例の免疫組織学的形質は、既知の例とは異なり、本腫瘍の形質的多様性の一端を明らかにしたと考える。

〈第一章 胸腺上皮性腫瘍における胸腺プロテアソームサブユニット $\beta 5t$ の発現に関する検討〉

【背景】

胸腺上皮性腫瘍は、胸腺上皮細胞を由来とする(あるいは胸腺上皮細胞への形態・機能分化を示す)腫瘍であり、大別して胸腺腫と胸腺癌がある。これらは、現在、国際的に広く用いられている World Health Organization (WHO) 分類上、A型、AB型、B1型、B2型、B3型の各胸腺腫、および胸腺癌に分類される。胸腺上皮性腫瘍は、発症頻度が低い、病理組織像が多彩である等の理由から、採取量が少ない生検検体や、異所性発生例などで診断に苦慮する例がある。このため、長きにわたり、胸腺皮質あるいは髄質上皮細胞に特異的なマーカーを探す努力がなされてきたが、日常の病理診断に応用し得るマーカーは、未だ報告されていない。

近年、マウスとヒトにおいて、胸腺皮質上皮細胞のみが発現する新規のプロテアソーム β サブユニット、 $\beta 5t$ が発見された。 $\beta 5t$ は、T細胞の positive selection に関与する胸腺プロテアソームのサブユニットの一つである。その皮質上皮細胞局在性から、この機能分子が、胸腺上皮性腫瘍の診断マーカーとなる可能性を秘めていると考えられる。

【対象と方法】

北海道大学病院および北海道大学医学部医学研究科分子病理学講座関連施設において、胸腺腫あるいは胸腺癌と診断された、生検・手術材料、54例を用いた。HE染色標本による形態観察にて、これらを、WHO分類に基づき、A型胸腺腫3例、AB型胸腺腫17例、B型胸腺腫(B1, B2, B3を含む)21例、その他の胸腺腫2例、胸腺癌14例に分類した。この垂型毎に、 $\beta 5t$ の発現を免疫組織化学染色により検討した。39例の非胸腺上皮性腫瘍についても、同様の検討を行った。

【結果】

$\beta 5t$ は、ほとんどのB型胸腺腫症例に陽性を示した(20/21)。AB型胸腺腫では、 $\beta 5t$ の染色性は症例により様々であった(6/17)。一方、A型胸腺腫症例、胸腺癌症例は全例陰性であった。統計学的に、 $\beta 5t$ 陽性症例は、他の垂型に比しB型胸腺腫で有意に多く認められた。

次に、生命予後の違いから明確に鑑別すべきであるが、形態像が比較的類似し、ときに鑑別に難渋するB3型胸腺腫と胸腺癌において、 $\beta 5t$ と、胸腺癌の診断に有用なマーカーとされるCD5, c-kit, GLUT-1

の発現を比較した。結果、B3型胸腺腫はβ5tに陽性を示す一方、ほぼ全ての症例で、他の3抗体には陰性であった。胸腺癌では、13例中12例がCD5、c-kit、GLUT-1のうち2つ以上に陽性を示し、残る1例はGLUT-1に陽性であった。即ち、β5tの発現はCD5、c-kit、GLUT-1の発現と相反していた。非胸腺上皮性腫瘍39例は、全例β5t陰性であった。

【考察】

本研究では、世界に先駆けて胸腺上皮性腫瘍におけるβ5tの発現を免疫組織化学的手法で検討し、B型胸腺腫と、AB型胸腺腫の一部でβ5tの発現が認められることを明らかにした。非胸腺上皮性腫瘍においてはβ5tの発現が認められなかったことから、β5tは腫瘍特異的なマーカーとして病理診断に寄与すると考えられた。また、胸腺癌ではβ5tの発現が認められなかったことから、胸腺腫と胸腺癌の鑑別においても、β5tの検討が有用であることが示された。

<第二章 T細胞性形質の異常発現を伴った、小腸 follicular dendritic cell sarcoma の一例>

【背景】

Follicular dendritic cell sarcoma (FDC sarcoma) は、形態形質学的にFDCの特徴を示す腫瘍であり、卵円形あるいは紡錘形核を有する、比較的異型性に乏しい腫瘍細胞の束状増殖からなる。免疫組織化学においては、腫瘍細胞は複数のFDCマーカーに陽性を示す一方、CD45RB、B細胞性マーカー、T細胞性マーカーには陰性とされる。但し、この腫瘍に関する文献報告は、現在まで約240例と比較的少なく、本腫瘍の形態形質の全貌が明らかになったとは言い難い。

【対象と方法】

82歳・男性の空腸部分切除術により摘出された小腸腫瘍に対し、HE染色標本による形態観察に加え、免疫組織化学染色を主体とした多面的な検討を行い、診断の確定を試みた。

【結果】

摘出された空腸には、潰瘍形成性の10 x 10 cm大の腫瘍が見られ、組織学的には、同部に、大型の腫瘍細胞が主にシート状に増殖する像が観察された。散在性に凝固壊死を伴っていた。腫瘍細胞は明瞭な核小体、粗いクロマチンパターンを示す多形核、豊かな淡好酸性胞体を有し、多数の核分裂像を伴っていた。腫瘍細胞間には、一部は血管周囲に集簇する小型リンパ球が散在し、腫瘍巢内や転移リンパ節内には、既存のリンパ濾胞の残存が認められた（これらの所見は、FDC sarcomaで認められやすいとされる）。

免疫組織化学染色において、腫瘍細胞はFDCマーカーであるCD23、CD35、CNA 42にびまん性に陽性であったが、T細胞性マーカーであるCD45ROおよびCD4にも、びまん性に陽性を示した。他のT細胞性マーカーには陰性であった。Polymerase chain reaction法にて、腫瘍巢内に存在する細胞のT-cell receptorの再構成パターンを検討したところ、ポリクローナルパターンであった。

これらの形態形質を総合し、T細胞性マーカーの異常発現を伴った、FDC sarcomaと診断した。

【考察】

本症例は年齢、部位、細胞学的異型性、免疫組織化学所見等がFDC sarcomaとしては典型ではなく、特に、CD45ROに陽性を示した症例は、これまでに報告がない。病理診断に苦慮する症例では、多種類のマーカーを用いた免疫組織化学的検索が、正確な診断に寄与する一方、既知の免疫組織化学的形質とは異なった結果を得た場合には、分子生物学的手法も含めた多面的な検討が必要であることが示された。本例のような、非典型的な免疫組織化学的プロファイルを示す症例を集積することは、診断のピットフォールを回避する上でも重要と思われる。

【総括】

免疫組織化学が腫瘍の特性解明、病理診断に果たす役割を、2つの研究で例示した。分子標的療法の発達も相まって、診断病理学分野において免疫組織化学的検討が果たす役割は、今後ますます増加し、多様化すると思われる。この要請に応えるためには、染色結果の判定に際し注意すべき点への十分な認識、診断に有用な抗体の探索、分子標的療法の適応に関わる機能分子に関する理解、再現性・正確性の高い免疫染色を得るための精度管理、標準化等の、多方面からの努力が必要であろう。

学位論文審査の要旨

主査	教授	田中伸哉
副査	教授	秋田弘俊
副査	准教授	濱田淳一
副査	教授	佐邊壽孝
副査	教授	松野吉宏

学位論文題名

免疫組織化学によるヒト稀少腫瘍の特性解明と 病理診断への寄与

本研究は、発症頻度が低いことが一因となって解析が進まず、本態が未だ十分には明らかになっていない2つの腫瘍（群）に対し、免疫組織化学的解析が、その特性解明や病理診断に寄与することを実証したものである。第一章では、胸腺上皮性腫瘍の特性解明と病理診断に対して、胸腺プロテアソームサブユニット $\beta 5t$ の発現解析が果たす役割を明らかにした研究が提示された。第二章では、高齢者の小腸腫瘍に対して、網羅的な免疫形質の発現解析と分子生物学的手法を用い、T細胞性マーカーを異常発現した follicular dendritic cell sarcoma（濾胞樹状細胞肉腫。FDC sarcoma）との診断を下し、本腫瘍ではこれまでに未報告であった形質発現を見出し、本腫瘍や鑑別診断となる腫瘍に対するピットフォールとしての意義を果たした症例報告研究が提示された。

学位審査は5名の審査員により非公開で行われ、申請者の発表後、質疑応答が行われた。

第一章の胸腺上皮性腫瘍に関する研究に関し、まず、副査の濱田准教授より、胸腺皮質上皮細胞およびB型胸腺腫の腫瘍細胞に heterogeneity が存在する可能性についての質問がなされた（同様の質問は、後に副査の秋田教授からもなされた）。申請者は、その可能性が十分にあること、非胸腺皮質上皮細胞における heterogeneity の可能性が、基礎研究者の間で盛んに議論されている最中である（それ故に十分には解明されていない）と回答した。次に、 $\beta 5t$ の発現解析を通じて鑑別されるB3型胸腺腫と胸腺癌の治療方針の違いについて質問がなされ、申請者は、胸腺上皮性腫瘍の治療方針は基本的には病期に基づくが、生物学的悪性度と患者の生命予後が厳然と異なる二群を鑑別することの意義は大きいことを説明した。

続いて、副査の佐邊教授より、 $\beta 5t$ の発現が予後予測因子になり得るか否かについての質問があり、申請者は、現時点ではデータがないと回答した。 $\beta 5t$ 陽性細胞の分布と未熟リンパ球の分布の相関についての質問に対しては、申請者は、両者の分布は一致する傾向にあると回答した。

秋田教授より、 $\beta 5t$ の発現が腫瘍細胞の由来の推定に果たす役割について質問があり、申請者は、 $\beta 5t$ 陽性と判断される B 型胸腺腫が胸腺皮質上皮に由来する可能性に言及した。また、各亜型の生物学的悪性度に $\beta 5t$ が果たす役割とそのメカニズムに関する質問があり、申請者は、現時点では、回答に足る十分なデータを持ち合わせていないと述べた。更に、非胸腺上皮性腫瘍の $\beta 5t$ の発現について、質問がなされた（同様の質問は、後に主査の田中教授からもなされた）。申請者は、胸腺近傍の臓器を由来とする癌腫、発生頻度の高い癌腫を中心に、多種類の腫瘍を網羅的に検討したこと、 $\beta 5t$ の発現は、これらの腫瘍には認められなかったことを報告した。

田中教授より、酵素抗体法の判定基準（腫瘍細胞の陽性率に関する判定基準）に関する質問がなされた。申請者は、実際には、個々の症例の陽性率はほぼ 10%毎に評価していること、明らかに陽性細胞が認識できる症例を陽性とする目的で、20%という陽性細胞率をカットオフとした旨を説明した。田中教授からは、陽性率を数段階に分けて評価する方法も考慮すべきとの指摘があった。

副査であり指導教官である松野教授からは、今後どのようなアプローチで胸腺上皮性腫瘍のさらなる本態解明を試みるかについての質問があり、申請者は、髄質上皮のマーカーを用いた検討が有用である可能性、分子生物学的手法を用いた検討の必要性に言及した。

最後に総合討論がなされ、秋田教授より、thymoma と thymic carcinoma が sequence をなしている可能性に関する質問があり、申請者は、B3 型胸腺腫と胸腺癌の間にその可能性があることを指摘した。

本研究は、従来解析的アプローチの難しかったこれらヒト稀少腫瘍に対して、機能的分子や形質発現を免疫組織化学的に解析することにより疾患本態の理解を深めるために大きく貢献したと認められる。特に第一章の胸腺上皮性腫瘍に関する研究は、世界に先駆けて、胸腺皮質上皮特異的分子を用いて胸腺上皮性腫瘍の特性に迫ったものであり、胸腺上皮性腫瘍の枠組みを再検討する契機にもなりうる、価値ある研究である。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院過程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。