

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 9 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22591851

研究課題名（和文） 悪性腺腫およびその類縁疾患の診断と治療に関する包括的研究

研究課題名（英文） The comprehensive study on diagnosis and treatment of minimal deviation adenocarcinoma and related disease of the cervix

研究代表者

宮本 強（MIYAMOTO TSUTOMU）

信州大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70418721

研究成果の概要（和文）：

合計112症例の検討では、MRIの特徴的所見や細胞診、円錐切除術による生検により、90%以上の確率で子宮頸部悪性腺腫（MDA）や腺癌と分葉状頸管腺過形成（LEGH）などの良性疾患を術前に鑑別可能であった。クローン性解析ではMDA・腺癌を伴うLEGH部分は、4/6例が単クローン性で、そのアンドロゲン受容体遺伝子不活化パターンは、悪性部分と同一であり、その内1例のMDA部分のみにSTK11遺伝子の変異を認めた。LEGHの一部は、MDAや腺癌の前駆病変となる可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Present study of 112 cases demonstrated that over 90% cases of adenocarcinoma including minimal deviation adenocarcinoma (MDA) could be distinguished from benign lesion of the cervix such as lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH) by magnetic resonance imaging (MRI), Papanicolaou cytology and cone biopsy. The clonality analysis revealed that 4 of 6 LEGH lesions associated with MDA or adenocarcinoma were monoclonal, and the patterns of X chromosome inactivation in monoclonal LEGH lesions were identical to those in coexisting malignant lesions. The mutation of STK11 was only identified in one MDA, but not in LEGH. These results indicated that a subset of LEGH may be a precursor to malignant tumors including MDA.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：婦人科腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：悪性腺腫、分葉状頸管腺過形成、術前診断、MRI、細胞診、クローン性

## 1. 研究開始当初の背景

子宮頸部悪性腺腫（adenoma malignum）、あるいは minimal deviation

adenocarcinoma、MDA）は、病理学的には子宮頸管に類似した極めて高分化型の腺癌として定義され、また臨床的には、大量の水

様性帯下、子宮頸部の腫大と嚢胞性病変を特徴とし、悪性の経過を呈する疾患である(Am J Obstet Gynecol. 1975)。MDA の組織像は正常頸管腺に非常に類似しているため組織診断が困難であるといわれているが、近年、形態学的に MDA に類似する良性の頸管腺増殖性疾患で、MDA と同様の症状を呈する疾患として lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH, Am J Surg Pathol. 1999)、pyloric gland metaplasia、diffuse laminar endocervical hyperplasia などが提唱されており、治療前に MDA かこれら良性の類縁疾患かを鑑別する必要性が高くなってきた。しかし、これら類縁疾患の自然史や細胞生物学的特徴はほとんど知られておらず、また病理学的な診断基準も十分に確立されてはいない。加えてこれらの病変は頸管の高位に発生することが多いため頸部生検や円錐切除では確定診断が困難なことが多く、組織診断以外の方法でも悪性腺腫かその類縁疾患かを鑑別する手段の確立が強く求められている。

MDA の診断に関しては、経膈超音波と MRI によって頸部の嚢胞性病変として発見できる可能性が示唆されている。しかし良性疾患である LEGH や多発ナボット嚢胞などの良性疾患も類似した画像を呈することから、MRI による MDA および類縁疾患の鑑別診断上の特徴をより詳細に検討する必要がある。また重要な検査として子宮頸部細胞診があげられる。MDA は非常に高分化型の腺癌ではあるが、異型腺細胞の検出によって診断可能であるという報告がある反面、この異型は軽度で発見が難しいという意見もある。また良性類縁疾患では特徴的な細胞診上の所見に乏しい。一方、大変興味深いことに我々は免疫組織学的検討によって MDA は高率に胃型粘液を発現することを発見した(Int J Gynecol Pathol. 1997)。また我々のグループはこの胃型粘液を特異的に認識する抗体 HIK1083 を樹立した(Am J Clin Pathol. 2001)。胃型粘液の検出が MDA の早期診断に有効である可能性が考えられたので、この抗体を用いて頸管粘液中の胃型粘液をラテックス凝集反応にて検出するキットを開発した(Clin Chim Acta. 2001)。同時に我々は胃型粘液を産生する腺細胞は細胞診上、細胞質が特有の黄色を呈することを見出した(Cancer. 1999)。当初はこのキットや細胞診による胃型粘液の検出が MDA の診断上特異性が高いと考えられたが、その後 LEGH も胃型粘液を産生することが報告され(Mod Pathol. 2004)、この胃型粘液細の診断上の意

義についてより広範な検討が必要であると考えられる。

さらに、もうひとつの大きな問題は MDA および類縁疾患に対する治療である。頸部の細胞診や組織診などで MDA が疑われる場合には手術が必要と考えられるが、この場合広汎子宮全摘が必要なのかあるいは単純子宮全摘でよいのかという問題がある。一方、頸部の嚢胞状病変を認めるものの細胞診などで悪性所見に乏しく、LEGH などの良性疾患が予想される場合は子宮摘出術が必要なのかという問題がある。現時点ではこれらの問題に対して標準的見解がなく、対応は極めて混乱している。実際、胃型粘液と頸部の嚢胞性病変を指摘されて手術を勧められたが、納得できずにセカンドオピニオンを求めて複数の病院を受診している方が多数見うけられる。MDA の診断および治療に関するこのような状況を打開するためには、できるだけ多数の症例を蓄積して総合的に検討することが必要であるが、MDA やその類縁疾患は稀な疾患であるため、我々は平成 17 年から 18 年にわたり、日本産婦人科学会の公募研究として「子宮頸部悪性腺腫(adenoma malignum)およびその類縁疾患の術前診断および治療法のガイドライン確立に向けた多施設共同研究」を施行した。この共同研究では全国各施設から、約 112 例の症例を集積し、Central pathological review を含む症例検討会を行い、病理診断、細胞診や胃型粘液の診断上の意義、および MRI 画像の診断精度、治療法と患者生存などについて検討した。その結果、診断では MRI と細胞診や胃型粘液を組み合わせることで MDA や LEGH の術前診断の可能性が示唆され、また LEGH の治療法としては単純子宮全摘で充分である可能性も示唆された。

## 2. 研究の目的

- ①上記共同研究を解析し、MDA とその類縁疾患の術前鑑別診断の可否を明らかにすることを目的とする。
- ②MDA および良性類縁疾患に対する対応を確立する。特に LEGH の自然史は不明であることから、LEGH 摘出後のフォローアップを行い再発の有無を調査すること、LEGH と術前診断されたが、手術を施行せず経過観察となった症例を集積し、経過を明らかにすることから、MDA の自然史を解明することを目的とする。
- ③MDA はしばしば LEGH と共存することが知られているため、LEGH は MDA の前癌病変ではないかという指摘があるがこの詳細は全く不明である。本研究では LEGH および MDA が共存する症例を集積し、各病変部位よりマイクロダイセクション法を用いて正確に DNA を採取し、LEGH の自然史を分

子生物学的に明らかにすることを目的とする。また、LEGH と MDA の腫瘍発生上の関連を明らかにする。

### 3. 研究の方法

①**共同研究結果の分析**:平成 17 年から 18 年にわたり、日本産婦人科学会の公募研究として「子宮頸部悪性腺腫(adenoma malignum)およびその類縁疾患の術前診断および治療法のガイドライン確立に向けた多施設共同研究」を施行した。この共同研究では全国各施設から、MDA や腺癌および LEGH などの良性類縁疾患の約 112 例の症例を集積し、Central pathological review を含む症例検討会を行い、病理診断、細胞診や胃型粘液の診断上の意義、および MRI 画像の診断精度、治療法と患者生存などについて検討した結果の分析を行った。

②**LEGH と診断した患者の外来経過観察**:①で得られた分析結果を基に LEGH と診断し得た症例 15 例を 3 ヶ月毎に 1 年以上外来経過観察を行った。

### ③LEGH のクロナリティー解析:

- a. LEGH 単独症例 9 例、MDA や腺癌を伴う LEGH6 例のホルマリン固定切片から laser-microdissection (LMD) 法で各病変部分のみを正確に採取し、微量 DNA を抽出した。
- b. HUMARA assay : X 染色体上のアンドロゲン受容体遺伝子 (HUMARA) は染色体毎に長さの違う CAG 繰り返し配列 (11~31 repeat) を exon1 内に持ち、その領域の 100bp 程度上流領域に細胞毎にランダムに片側の染色体上の遺伝子がメチル化で不活化されているサイトがあり、同部位はメチル化特異的制限酵素である HhaI で切断できる。HhaI 切断後にこの HhaI site と CAG 繰り返し site を含んで PCR を行うと、多クローン性では 2 本のバンドが観察されるが、単クローン性では 1 本のバンドのみになる。さらに単クローン性の中でも PCR 産物の長さからどちらの染色体が不活化しているのかを、判別可能である。

④**STK11 遺伝子変異**:STK11 遺伝子は MDA の原因候補遺伝子として注目されているが、MDA や腺癌を伴う LEGH の病変部分を③同様に LMD で採取し微量 DNA を抽出し、ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer ( Applied Biosystems 社) を用いて sequence を行った。

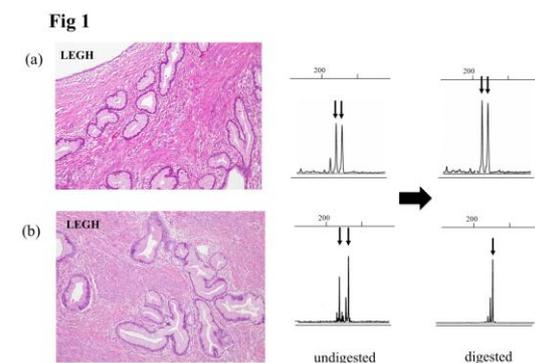
### 4. 研究成果

①**共同研究結果の分析**:112 例の検討から、頸管粘液からの胃型粘液の検出 (HIK1083 ラ

テックス凝集反応もしくは papanicolaou 染色における黄色粘液の存在) は MDA および LEGH と他の病変との鑑別に有用であった。また細胞診では LEGH では 69%が NILM で細胞異型を殆ど伴わないのに対し、MDA や腺癌では 60%が AIS 以上であった。また MRI では微小嚢胞や充実部が中心に存在し、辺縁に粗大嚢胞が配列するパターン (コスモサイン) が LEGH の所見として重要であり、MDA や腺癌では全体が充実性であるか、充実部が粗大嚢胞部を超えて浸潤する所見が見られる。これらにより、90%以上の確立で MDA や腺癌と LEGH を術前に鑑別可能であることが示された。

②**LEGH と診断した患者の外来経過観察**:①の結果を元に LEGH と診断して外来で 1 年以上 (12~36 ヶ月) にわたって経過観察している患者さん 15 人について、経過を検討すると細胞診所見、MRI 所見に変化なく、現時点まで悪性化を認めた症例はない。経過中、2 人が妊娠し、正常分娩した。LEGH は MDA などの前駆病変となる可能性が考えられているが、その経過は少なくとも数年以上を要すると考えられる。

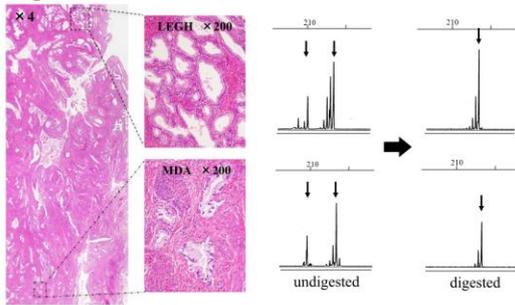
③**LEGH のクロナリティー解析**:LEGH 単独例 9 例のクロナリティー解析では多クローン性 4 例 (44%)、単クローン性 5 例 (56%) であった。一方、MDA や腺癌を伴う LEGH6 例の解析では、悪性腫瘍部分は全例単クローン性であったが、LEGH 部分は 4 例 (67%) が単クローン性で 2 例 (33%) が多クローン性であった。少なくとも一部の LEGH は単クローン性であり腫瘍としての性格を持つと考えられる。(Fig. 1)



(a)多クローン性、(b)単クローン性 (Virchow Arch, In press)

また、4 例の単クローン性 LEGH は全て悪性部分と同じ X 染色体が不活化されている同様のパターンを示しており、LEGH が MDA や腺癌の前駆病変である可能性が示された。(Fig. 2)

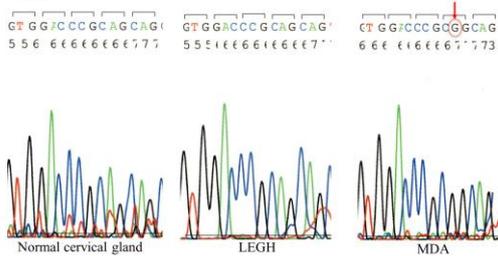
Fig 2.



(Virchow Arch, In press)

④SKT11 遺伝子変異：悪性を伴う単クローン性 LEGH の 4 例中 1 例の MDA 部分のみに SKT11 遺伝子の変異が認められた。(Fig. 3)

Fig 3.



(Virchow Arch, In press)

以上より、一部の LEGH は単クローン性の腫瘍性性格を示し、MDA や腺癌の発生母地となる可能性が考えられるが、その発生には数年以上を要すると考えられる。また LEGH から MDA への進展には SKT11 遺伝子変異が関与している可能性が考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- Mitsuhashi Y, Horiuchi A, Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Shiozawa T. Prognostic significance of Notch signalling molecules and their involvement in the invasiveness of endometrial carcinoma cells. *Histopathology*. 2012; 60: 826-37. (査読あり)
- Fuseya C, Horiuchi A, Hayashi A, Suzuki A, Miyamoto T, Hayashi T, Shiozawa T. Involvement of pelvic inflammation-related mismatch repair abnormalities and microsatellite instability in the malignant transformation of ovarian endometriosis. *Hum Pathol*. 2012; 43: 1964-72. (査読あり)
- 高津亜希子、塩沢丹里 LEGH(lobular endocervical glandular hyperplasia)は悪性腺腫の前駆病変か? 産婦人科の実際 61 巻, 1539-1543 頁, 2012 年 (査読なし)
- Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Kikuchi N, Konishi I, Seki N, Shiozawa T. Laser-captured microdissection-microarray analysis of the genes involved in endometrial carcinogenesis: stepwise up-regulation of lipocalin2 expression in normal and neoplastic endometria and its functional relevance. *Hum Pathol*. 2011; 42: 1265-74. (査読あり)
- Takatsu A, Shiozawa T, Miyamoto T, Kurosawa K, Kashima H, Yamada T, Kaku T, Mikami Y, Kiyokawa T, Tsuda H, Ishii K, Togashi K, Koyama T, Fujinaga Y, Kadoya M, Hashi A, Susumu N, Konishi I. Preoperative differential diagnosis of minimal deviation adenocarcinoma and lobular endocervical glandular hyperplasia of the uterine cervix: a multicenter study of clinicopathology and magnetic resonance imaging findings. *Int J Gynecol Cancer*. 2011; 21: 1287-96. (査読あり)
- Miyamoto T, Asaka R, Suzuki A, Takatsu A, Kashima H, Shiozawa T. Immunohistochemical detection of a specific receptor for lipocalin2 (solute carrier family 22 member 17, SLC22A17) and its prognostic significance in endometrial carcinoma. *Exp Mol Pathol*. 2011; 91: 563-8. (査読あり)
- Miyamoto T, Ishii K, Asaka R, Suzuki A, Takatsu A, Kashima H, Shiozawa T. Immunohistochemical expression of keratan sulfate: a possible diagnostic marker for carcinomas of the female genital tract. *J Clin Pathol*. 2011; 64: 1058-63. (査読あり)
- 高津亜希子、塩沢丹里 Peutz-Jeghers 症候群と子宮頸部腫瘍 (特集 婦人科における遺伝性腫瘍の取扱いの実際) 産科と婦人科 78 巻, 1096-1100 頁, 2011 年 (査読なし)
- Suzuki A, Horiuchi A, Oka K, Miyamoto T, Kashima H, Shiozawa T. Immunohistochemical detection of steroid receptor cofactors in ovarian endometriosis: involvement of down-regulated SRC-1 expression in the

- limited growth activity of the endometriotic epithelium. Virchows Arch. 2010; 456: 433-41. (査読あり)
10. Fakhry H, Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Ke H, Konishi I, Shiozawa T. Immunohistochemical detection of histone deacetylases in endometrial carcinoma: involvement of histone deacetylase 2 in the proliferation of endometrial carcinoma cells. Hum Pathol. 2010; 41: 848-58. (査読あり)
  11. 宮本強、塩沢丹里 水様帯下 (特集 外来診療マニュアル) -- (婦人科・腫瘍) 産婦人科の実際 59 巻, 1698-1701 頁, 2010 年 (査読なし)
- [学会発表] (計 21 件)
1. 塩沢丹里 : 子宮頸部と嚢胞性病変の取り扱い、子宮内膜癌の発生とエストロゲン. 平成 24 年山口県産婦人科医会研修会 2012 年 11 月 11 日 特別講演 山口
  2. 山田 諭、山田 靖、近藤沙織、橘 涼太、鹿島大靖、宮本 強、岡 賢二、塩沢丹里 : 多彩な像を呈した LEGH 病変の 3 例. 第 128 回信州産婦人科連合会学術講演会 2012 年 10 月 20 日 一般講演 松本
  3. Miyamoto T, Asaka R, Yamada Y, Ishikawa K, Kobara H, Suzuki A, Kashima H, Shiozawa T : Lipocalin2 enhances the proliferation of endometrial carcinoma cells in nude mice. 14th International Gynecologic Cancer Society (IGCS) 2012 年 10 月 13 日 ~ 16 日 Poster Vancouver
  4. Shiozawa T : Preoperative Differential Diagnosis of Minimal Deviation Adenocarcinoma (MDA) and Lobular Endocervical Glandular Hyperplasia (LEGH) of the Uterine Cervix by Clininopathology and Magnetic Resonance Imaging (MRI) Findings. Asian Society of Gynecologic Oncology 2nd International Workshop in Gynecologic Oncology (ASGO) 2012 年 9 月 28 日 招待講演 京都
  5. 塩沢丹里 : 子宮頸部嚢胞性病変の取扱. 第 13 回 JSAWI 2012 年 9 月 21 日 ~ 9 月 22 日 ワークショップ 淡路
  6. 塩沢丹里 : 子宮頸部嚢胞性病変の診断と治療. 高水三郡産婦人科医会学術講演会 特別講演 2012 年 9 月 6 日 中野
  7. 宮本 強 : 産婦人科と乳がん. 第 1 回中信地区女性のがん医療連携フォーラム ~ 乳腺外科医と産婦人科医の連携を深める ~ 2012 年 6 月 23 日 一般講演 松本
  8. 宮本 強、橘 涼太、近藤沙織、鹿島大靖、浅香志保、藤永康成、塩沢丹里 : 早期卵巣癌におけるリンパ節郭清不要症例の抽出に Multidetector CT および MRI は有用か. 第 123 回関東連合産科婦人科学会学術集会 2012 年 6 月 17 日 ワークショップ 東京
  9. Asaka R, Miyamoto T, Suzuki A, Takatsu A, Kashima H, Nakayama J, Shiozawa T : Immunohistochemical expression of Core2  $\beta$ 1-6 N-acetylglucosaminyl transferase 1 in the endometrial carcinoma; a novel potential prognostic factor. Asian Society of Gynecologic Oncology 2011 年 11 月 3 日 ~ 11 月 5 日 Poster Korea
  10. Takatsu A, Imanishi T, Tunoda H, Tanino S, Asaka R, Kashima H, Miyamoto T, Shiozawa T : Pre-operative diagnosis and the management of minimal deviation adenocarcinoma and lobular endocervical glandular hyperplasia of the uterine cervix: a multi-center, retrospective study. Asian Society of Gynecologic Oncology 2011 年 11 月 3 日 ~ 11 月 5 日 Poster Korea
  11. Miyamoto T, Asaka R, Imanishi T, Kashima H, Shiozawa T : Laser captured microdissection-microarray analysis of the genes involved in endometrial carcinogenesis: stepwise up-regulation of lipocalin2 expression in normal and neoplastic endometria, and its functional relevance. Asian Society of Gynecologic Oncology 2011 年 11 月 3 日 ~ 11 月 5 日 Poster Korea
  12. 高津亜希子、布施谷千穂、鈴木昭久、宮本 強、堀内晶子、塩沢丹里 : LEGH (lobular endocervical glandular hyperplasia) は悪性腺腫の前駆病変か? . 第 63 回日本産科婦人科学会・総会・学術講演会 2011 年 8 月 29 日 ~ 8 月 31 日 ポスター 大阪
  13. 塩沢丹里 : 子宮頸部悪性腺腫とその類縁疾患の診断と治療. 第 10 回諏訪産婦人科研修会 2011 年 5 月 26 日 特別講演 諏訪
  14. 塩沢丹里 : 子宮頸部悪性腺腫と関連疾患の診断と治療. 飯田下伊那産婦人科学術講演会 2011 年 4 月 15 日 特別講演 飯田
  15. 宮本 強 : 子宮内膜癌発癌に関する基礎的研究、および婦人科悪性腫瘍手術の新たな展開. 松本市・塩筑合同産婦人科医会 2011 年 1 月 19 日 講演 松本
  16. Takatsu A, Fuseya C, Miyamoto T, Horiuchi A, Shiozawa T : Pre-operative diagnosis

and the management of minimal deviation adenocarcinoma (MDA) and lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH): a multi-center, retrospective study. International Gynecologic Cancer Society (IGCS 2010) 2010年10月23日～10月26日 poster Praha Česká republika

17. Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Kikuchi N, Takatsu A, Konishi I, Seki N, Shiozawa T: Microarray analysis of the genes involved in endometrial carcinogenesis: up-regulation of lipocalin2 in neoplastic endometria, and its functional relevance. International Gynecologic Cancer Society (IGCS 2010) 2010年10月23日～10月26日 Oral presentation Praha Česká republika
18. 高津亜希子、布施谷千穂、鈴木昭久、宮本 強、石井恵子、塩沢丹里: 悪性腺腫および分葉状頸管腺過形成 (LEGH) の臨床病理学的解析 - 全国共同研究の結果 - 第24回日本臨床細胞学会関東連合学術集会 2010年9月18日 シンポジウム 軽井沢
19. 高津亜希子、布施谷千穂、鈴木昭久、宮本 強、石井恵子、塩沢丹里: LEHG (lobular endocervical glandular hyperplasia) は悪性腺腫の前駆病変か? 第9回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会 2010年9月10日 一般講演 大津
20. 塩沢丹里: 子宮頸部悪性腺腫とその類縁疾患の診断と治療. 中信地区産婦人科医学会学術講演会 2010年7月16日 特別講演 松本
21. 高津亜希子、布施谷千穂、小原久典、鈴木昭久、宮本 強、堀内晶子、塩沢丹里: LEHG (lobular endocervical glandular hyperplasia) は悪性腺腫の前駆病変か?. 生殖フォーラム 2010年6月4日～6月5日 一般講演 佐賀

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮本 強 (MIYAMOTO TSUTOMU)  
信州大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 70418721

### (2) 研究分担者

高津 亜希子 (TAKATSU AKIKO)  
信州大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 90447730

塩沢 丹里 (SHIOZAWA TANRI)  
信州大学・医学部・教授  
研究者番号: 20235493