

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670699

研究課題名(和文)分葉状子宮頸管腺過形成(LEGH)の自然史と腫瘍性性質の解析

研究課題名(英文)Analysis of natural history and the neoplastic nature of lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH)

研究代表者

宮本 強 (MIYAMOTO, Tsutomu)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師

研究者番号：70418721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：分葉状頸管腺過形成(LEGH)の自然史検討のため、子宮頸部多嚢胞性病変患者を、細胞診、MRI、胃型粘液検出を組み合わせた臨床診断法で管理した。検討した109例中、悪性は7例であり、内1例は臨床診断がLEGH疑いであった(感度85.7%)。臨床診断LEGH疑い162例中41例、貯留嚢胞(NC)26例は、1年以上経過観察しているが、癌化例はない。本臨床診断法は悪性症例の抽出や経過観察に有効と考えられる。次にLEGH(10例)、異型LEGH(5例)、悪性腺腫(2例)組織のGNAS変異解析を行ったところ、異型LEGH2例に変異を認めた。GNAS変異はLEGH癌化過程に関与する可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：To explore the natural history of lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH), the patients with cervical multi-cystic lesion (CMCL) were managed by the clinical diagnostic method combined with endocervical cytology, MRI and detection of gastric type mucin. In total 109 cases, 7 cases were cervical adenocarcinoma including 1 case clinically diagnosed as suspicious of LEGH (LEGH S/O) (85.7% sensitivity). Forty-one cases of LEGH S/O and 26 cases of retention cysts (NC) were followed-up for more than 12 months, and no one was developing to carcinoma. These results suggest our clinical diagnostic methods may be useful for the detection of malignant cases and for follow-up of LEGH cases. Next, GNAS gene mutation was investigated using laser-microdissection and direct sequence in 10 cases of LEGH, 5 cases of atypical LEGH and 2 cases of adenoma malignum (MDA), and detected in 2 cases of atypical LEGH. These results suggest GNAS mutation may be involved in the malignant change of LEGH.

研究分野：産婦人科学

キーワード：悪性腺腫 分葉状頸管腺過形成 臨床診断 臨床経過 細胞診 胃型粘液 MRI GNAS

1. 研究開始当初の背景

子宮頸部の代表的な嚢胞性病変として分葉状頸管腺過形成 (LEGH) と子宮頸部悪性腺腫 (MDA) が知られている。臨床的には両者とも水様性帯下や子宮頸部の腫大を特徴とし、胃幽門腺型粘液を産生する (Am J Surg Pathol. 2000)。また組織学的には両者とも正常頸管腺に類似した腺構造の増殖を主徴とするが、LEGH は細胞異型がなく良性であるのに対し (Am J Surg Pathol. 1999)、MDA は軽度の細胞異型と間質浸潤を伴い、高分化型の腺癌として定義される (Am J Obstet Gynecol. 1975)。このため適切な治療を選択するためにはより正確な術前診断が必要である。この問題を検討するために我々は平成 17-18 年に、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。その結果、細胞診、胃型粘液産生、MRI 画像などから、LEGH と MDA をある程度術前診断することが可能であることを世界で初めて示した (Int J Gynecol Cancer, 2011)。しかしながらこの研究によって、LEGH 疑いと術前診断された症例でも、一部に MDA を合併している症例が約 10% 存在することが示され、これが臨床対応上の大きな課題として浮かび上がってきた。即ち、LEGH が疑われる場合に、予防的な子宮摘出をすべきか、経過観察でよいのか、また経過観察とした場合、手術に切り替える目安はあるかという問題である。我々はこの問題を解決するためには、LEGH の自然史と腫瘍性性格の更なる理解が必要であると考えた。

本研究では、当院および関連病院において LEGH 疑いと診断され経過観察している患者を抽出し、臨床経過を詳細に観察することで LEGH の自然史を解析することを目標とする。また LEGH のクロナリティー解析と遺伝子不安定性の検討を行い、LEGH の腫瘍性性格の評価をおこなう。

2. 研究の目的

子宮頸部の嚢胞性病変である分葉状頸管腺過形成 (LEGH) は良性疾患と考えられているが、しばしば悪性腺腫 (MDA) などの悪性腫瘍を合併することから前癌病変である可能性も指摘されており、その対応が課題となっている。我々は多施設共同研究により LEGH の診断と対応法を提唱したが、その精度を高めるためには LEGH の自然史と腫瘍性性格のさらなる解明が必要である。本研究では、LEGH 疑い患者のフォローアップ症例の臨床経過の解析を通して、LEGH の自然史を解明するとともに、クロナリティー解析により腫瘍性性格を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 臨床診断法を用いた子宮頸部多発嚢胞患者の臨床診断および follow-up

臨床診断は一般的な婦人科的診察に加えて、頸管部細胞診、MRI、胃型粘液検出を組み合わせる。細胞診で AGC-FN 以上は悪性を疑う。MRI で LEGH は中心部に微小な嚢胞の集簇～充実部を示し、辺縁部に粗大な嚢胞が配列する“コスモサイン”を示す (図 1)。境界不明瞭な充実部の存在もしくは充実部が粗大嚢胞を超えて深部に至る“充実部優位パターン”は MDA などの悪性を疑う。一方、粗大嚢胞のみ認められる場合には貯留嚢胞 (NC) などの非腫瘍性病変を疑う (図 2)。

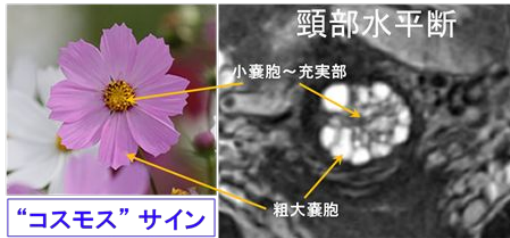


図 1: LEGH の典型的な MRI 所見

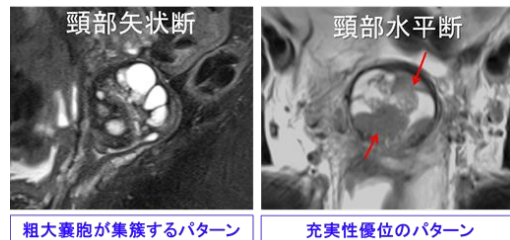


図 2: 左は NC、右は MDA の MRI 所見を示す

胃型粘液検出は細胞診のパパニコロウ染色で黄色を示す粘液の証明や、HIK1083 標識ラテックス凝集反応キット (関東化学) (以下 HIK テスト) で行う (図 3)。実際の臨床診断はこれらを組み合わせる (図 4)。

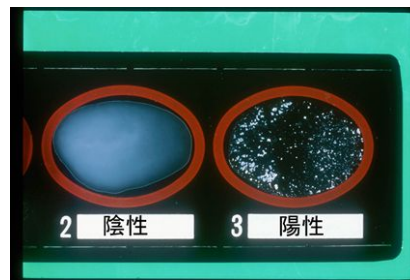


図 3: HIK テスト結果

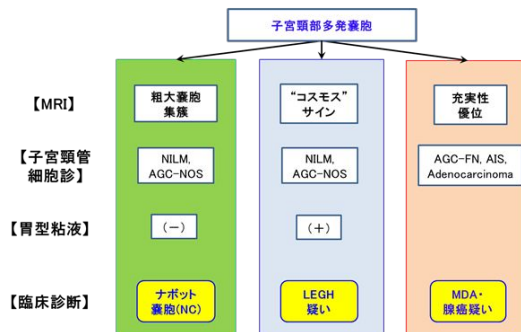


図 4: 子宮頸部嚢胞の臨床鑑別診断法

臨床診断後の管理方針を（図 5）に示す。臨床診断後の治療方針決定のため、生検や円錐切除を行う。臨床診断は follow-up 中も繰り返し行い、その都度、管理方針を検討した。

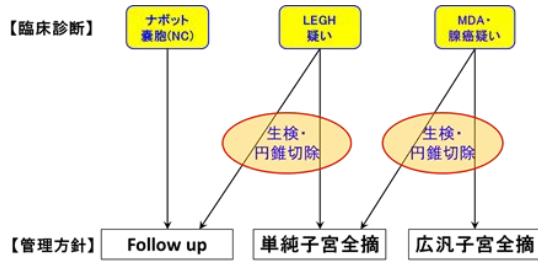


図 5 : 臨床診断後の管理方針

(2) LEGH および併存する MDA の clonality 解析

手術検体のホルマリン固定パラフィン包埋切片から患者の同意を得て、レーザーマイクロダイセクション法によって LEGH、MDA・腺癌病変を正確に採取し、DNA を抽出、アンドロゲン受容体 (AR) のメチル化パターンをメチル化特異的制限酵素を用いた PCR 法 (HUMARA 法) にて解析する。

(3) GNAS 遺伝子変異解析

(2) と同様に取り出した DNA から GNAS 遺伝子変異をシーケンス法で探索する。

4 . 研究成果

(1) 初回臨床診断結果

研究期間中および研究期間前に初診した患者についても再評価を行い、109 例について臨床診断法に基づき、臨床診断を行った。その結果、MDA・腺癌疑い 13 例、LEGH 疑い 62 例、NC34 例であった (図 6)。実際に MDA・腺癌であった 7 例中 1 例は臨床診断 LEGH 疑いで、組織生検で腺癌と診断されており、臨床診断法の癌検出の感度 85.7%、特異度 94.2%であった。また臨床診断 LEGH 疑いで子宮摘出もしくは円錐切除を受けた 9 例の病理診断はいずれも LEGH であった。

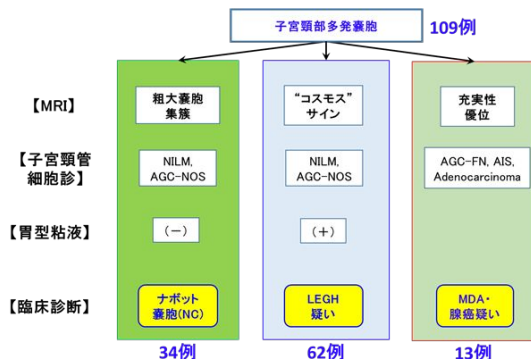


図 6 : 初回臨床診断結果

(2) LEGH および NC の follow-up 結果

臨床診断 LEGH 疑い 41 例、NC の 26 例を 12 か月以上 follow-up した (図 7)、これらのうち癌化例は一例も認められていない。このことは 1 年程度の期間での悪性化は稀である可能性と、初回診断での悪性例の見落とし頻度は低いことを示唆している。NC26 例は、嚢胞病変の大きさや細胞診結果に変化はないものの、HIK test 陽性となり LEGH 疑いと臨床診断が変更になった例が 2 例認められた。また、LEGH 疑いの全例が臨床診断は LEGH 疑いのままであったが、4 例に嚢胞病変の増大が認められたため、子宮全摘術が施行され、そのうち 2 例に異型 LEGH (LEGH with atypia) が認められた。異型 LEGH は細胞異型を伴う LEGH であり、前癌病変として、より重要と考えられている。このため、病変の増大は悪性化の最初の臨床的兆候である可能性が考えられた。

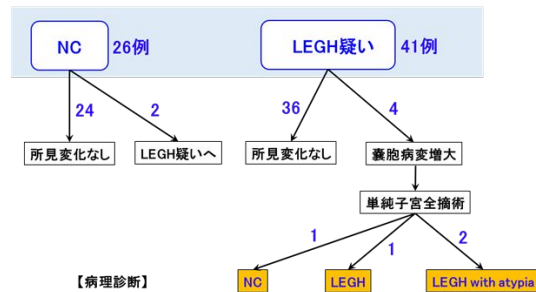


図 7 : 12 か月以上の follow-up 例

(3) LEGH および併存する MDA の clonality 解析結果

MDA などの悪性腫瘍を伴わない LEGH 単独例では多クローン性 4/9 例、単クローン性 5/9 例であった。一方、MDA・腺癌を伴う LEGH 部分は、多クローン性 2/6 例、単クローン性 4/6 例であったが、単クローン性の LEGH の AR 不活化パターンは、悪性部分と同一であった。LEGH の一部は単クローン性で腫瘍としての性格を持ち、MDA や腺癌の前駆病変となる可能性が考えられた。

(4) GNAS 遺伝子変異解析結果

14 例の子宮摘出組織からレーザーマイクロダイセクション (LM) で LEGH (10 例)、異型 LEGH (5 例)、MDA (2 例) の組織を正確に採取し、シーケンスによって変異解析を行ったところ、異型 LEGH のみ 2 例に変異を認めた。GNAS 変異は LEGH 癌化過程に関与する可能性が考えられる。

以上より、我々の子宮頸部嚢胞性病変の臨床診断法は、MDA・腺癌と LEGH の鑑別や follow-up に有用な方法と考えられた。LEGH の一部は monoclonal な腫瘍性増殖を示すが、1 年以内での癌化は稀である可能性が考えられた。また、嚢胞性病変の増大や GNAS 遺伝子変異は悪性化の兆候である可能性が考

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5件)

1. Ke H, Suzuki A, Miyamoto T, Kashima H, Shiozawa T. 4-hydroxy estrogen induces DNA damage on codon 130/131 of PTEN in endometrial carcinoma cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Jan 15;400:71-7. 査読有 doi: 10.1016/j.mce.2014.10.027.
2. Miyamoto T, Tachibana R, Kobara H, Takano T, Kato H, Shimizu A, Ohya A, Uehara T, Shiozawa T. Recurrent low-grade endometrial stromal sarcoma with intracaval and intracardiac tumor thrombus: diagnosis, treatment, and surgical management. *International Cancer Conference Journal* 2014; 3; 1-7 査読有
3. Yamada Y, Miyamoto T, Horiuchi A, Ohya A, Shiozawa T. Polypoid endometriosis of the ovary mimicking ovarian carcinoma dissemination: a case report and literature review. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014 May;40(5):1426-30. 査読有 doi: 10.1111/jog.12358.
4. Miyamoto T, Suzuki A, Asaka R, Ishikawa K, Yamada Y, Kobara H, Nakayama J, Shiozawa T. Immunohistochemical expression of core 2 β 1,6-N-acetylglucosaminyl transferase 1 (C2GnT1) in endometrioid-type endometrial carcinoma: a novel potential prognostic factor. *Histopathology*. 2013 Jun;62(7):986-93. 査読有 doi: 10.1111/his.12107.
5. Takatsu A, Miyamoto T, Fuseya C, Suzuki A, Kashima H, Horiuchi A, Ishii K, Shiozawa T. Clonality analysis suggests that STK11 gene mutations are involved in progression of lobular endocervical glandular hyperplasia (LEGH) to minimal deviation adenocarcinoma (MDA). *Virchows Arch*. 2013 Jun;462(6):645-51. 査読有 doi: 10.1007/s00428-013-1417-1.
6. Kobara H, Miyamoto T, Suzuki A, Asaka R, Yamada Y, Ishikawa K, Kikuchi N, Ohira S, Shiozawa T. Lipocalin2 enhances the matrix metalloproteinase-9 activity and invasion of extravillous trophoblasts

under hypoxia. *Placenta*. 2013; 34: 1036-43. 査読有 doi: 10.1016/j.placenta.2013.08.004.

[学会発表](計2件)

1. 宮本 強. 子宮頸部嚢胞の取り扱い. 2014年10月25日 第128回関東連合産科婦人科学会総会・学術講演会(松本・ホテルブエナビスタ)
2. 塩沢 丹里. 婦人科がんの形態と機能の架け橋 分葉状頸管腺過形成(LEGH)の機能. 2014年7月17日 第56回日本婦人科腫瘍学会学術講演会(栃木・栃木県総合文化センター)

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮本 強 (MIYAMOTO, Tsutomu)
信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師
研究者番号: 70418721

(2)研究分担者

石川 香織 (ISHIKAWA, Kaori)
信州大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 70646653

橋 涼太 (TACHIBANA, Ryota)
信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・助教
研究者番号: 90623687

塩沢 丹里 (SHIOZAWA, Tanri)
信州大学・学術研究院医学系・教授
研究者番号: 20235493

(3)連携研究者: なし