

博士學位論文

内容の要旨

および

審査結果の要旨

令和4年3月

近畿大学大学院

医学研究科

学位論文審査結果の報告書

氏 名 村上 幸祐

生 年 月 日 昭和 59年 3月 8日

本 籍 (国 籍) 兵 庫 県

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 第 1355 号

学位授与の条件
(博士の学位) 学位規程第5条該当

論 文 題 目

Frequent *PIK3CA* mutations in eutopic endometrium of patients with ovarian clear cell carcinoma


卵巢明細胞癌患者の正所性子宮内膜には高頻度に*PIK3CA* 変異が存在する

学位論文受理日 2021年 10月 27日

学位論文審査終了日 2022年 1月 20日

審 査 委 員 (主 査) 伊 藤 彰 彦 

(副主査) 岡 田 齊 

(副主査) 植 村 天 受 

指 導 教 員 松 村 謙 臣 

論文内容の要旨

【目的】近年、病理学的に正常な子宮内膜にがんに関連する遺伝子変異が多数あることが報告されてきているが、その意義は未だ明らかでない。我々は以前、正所性子宮内膜のがん関連遺伝子変異が、子宮内膜症や内膜症関連卵巣がんの発生源となっている可能性について提唱した。それを直接的に示すため、子宮内膜症関連卵巣がんの中で特に卵巣明細胞がん (Ovarian clear cell carcinoma; OCCC) に着目し、腫瘍と正所性子宮内膜の遺伝子変異の関係について検討した。

【方法】1999年から2019年に近畿大学病院で手術を行った卵巣がん症例、子宮内膜症症例の腫瘍部分および正所性子宮内膜、およびコントロール症例の正所性子宮内膜のホルマリン固定パラフィン包埋標本から、macrodissectionもしくはlaser-capture microdissectionでDNAを抽出し、droplet digital PCRによって *PIK3CA* の3つのホットスポット (E542K、E545K、H1047R) の変異について調べた。

【結果】 *PIK3CA* の変異アリル頻度が15%以上の正所性子宮内膜腺管が存在する割合は、腫瘍に *PIK3CA* 変異が存在する OCCC 症例が 11/14 例で 20/300 ホットスポット、 *PIK3CA* 変異が存在しない OCCC 症例が 11/12 例で 42/78 ホットスポット、高異型度漿液性がん症例が 3/5 例で 8/45 ホットスポット、卵巣子宮内膜症性嚢胞症例が 5/6 例で 5/63 ホットスポットであった。これらの割合は、がんではない非子宮内膜症のコントロール症例 (5/17 例で 7/309 ホットスポット) よりも頻度が高かった。 *PIK3CA* 変異を持たない OCCC 症例では、7/12 例 (58%) で、同一の正所性子宮内膜腺管に複数箇所のホットスポット変異が認められた。また、解析した全 54 例中 3 例 (5.6%) で、正所性子宮内膜間質に *PIK3CA* 変異が認められた。 *PIK3CA* 変異が認められた OCCC 腫瘍のマルチサンプリング解析では、8 例中 3 例で腫瘍内の不均一性が認められた。また、8 例中 2 例では腫瘍の間質成分に *PIK3CA* 変異が検出された。腫瘍の上皮成分における *PIK3CA* 変異の均質性が、正所性子宮内膜腺管の変異と一致したのは 8 例中 1 例のみであった。

【考察】卵巣がんや子宮内膜症の正所性子宮内膜腺管では、腫瘍とは一致しない高頻度の *PIK3CA* 変異が認められたが、一方で複数のホットスポット変異が同一腺管に認められることが多く、相互排他的ではなかった。さらに、正所性子宮内膜と腫瘍の均質な *PIK3CA* 変異は稀であり、OCCC の腫瘍内不均一性も認められた。これらのことから、正所性子宮内膜腺管で確認された *PIK3CA* 変異は、OCCC の起源たるドライバー変異ではないか、あるいはドライバー変異であってもがんの発生に必要なステップを踏んでいないことが示唆された。

【結論】OCCC の正所性子宮内膜には子宮内膜腺管に特異的な *PIK3CA* 変異が頻繁に認められ、そのほとんどが OCCC の発症とは関係ない可能性があることを明らかにした。正所性子宮内膜におけるがん関連遺伝子変異の意義を明らかにするには、さらに包括的な分析が必要である。

| | 公表年月日 | 出版物の種類および名称 |
|-----------|--|---|
| 博士論文の印刷公表 | 2021年6月25日 Online 公表 (DOI:10.1038/s41379-021-00861-3) | 博士学位論文 Modern Pathology |
| | 全文 ・ 要約 | Frequent <i>PIK3CA</i> mutations in eutopic endometrium of patients with ovarian clear cell carcinoma |

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】近年、病理学的に正常な子宮内膜にがんに関連する遺伝子変異が多数あることが報告されてきているが、その意義は未だ明らかでない。学位申請者らは以前、正所性子宮内膜のがん関連遺伝子変異が、子宮内膜症や内膜症関連卵巣がんの発生源となっている可能性について提唱した。それを直接的に示すため、子宮内膜症関連卵巣がんの中で特に卵巣明細胞がん (Ovarian clear cell carcinoma; OCCC) に着目し、腫瘍と正所性子宮内膜の遺伝子変異の関係について検討した。

【方法】1999年から2019年に近畿大学病院で手術を行った卵巣がん症例、子宮内膜症症例の腫瘍部分および正所性子宮内膜、およびコントロール症例の正所性子宮内膜のホルマリン固定パラフィン包埋標本から、macrodissectionもしくはlaser-capture microdissectionでDNAを抽出し、droplet digital PCRによってPIK3CAの3つのホットスポット (E542K, E545K, H1047R) の変異について調べた。

【結果】PIK3CAの変異アリル頻度が15%以上の正所性子宮内膜腺管が存在する割合は、腫瘍にPIK3CA変異が存在するOCCC症例が11/14例で20/300ホットスポット、PIK3CA変異が存在しないOCCC症例が11/12例で42/78ホットスポット、高異型度漿液性がん症例が3/5例で8/45ホットスポット、卵巣子宮内膜症性嚢胞症例が5/6例で5/63ホットスポットであった。これらの割合は、がんではない非子宮内膜症のコントロール症例 (5/17例で7/309ホットスポット) よりも高かった。PIK3CA変異を持たないOCCC症例では、7/12例 (58%) で、同一の正所性子宮内膜腺管に複数箇所のホットスポット変異が認められた。また、解析した全54例中3例 (5.6%) で、正所性子宮内膜間質にPIK3CA変異が認められた。PIK3CA変異が認められたOCCC腫瘍のマルチサンプリング解析では、8例中3例で腫瘍内の不均一性が認められた。また、8例中2例では腫瘍の間質成分にPIK3CA変異が検出された。腫瘍の上皮成分におけるPIK3CA変異の均質性が、正所性子宮内膜腺管の変異と一致したのは8例中1例のみであった。

【考察】卵巣がんや子宮内膜症の正所性子宮内膜腺管では、腫瘍とは一致しない高頻度のPIK3CA変異が認められたが、一方で複数のホットスポット変異が同一腺管に認められることが多く、相互排他的ではなかった。さらに、正所性子宮内膜と腫瘍の均質なPIK3CA変異は稀であり、OCCCの腫瘍内不均一性も認められた。これらのことから、正所性子宮内膜腺管で確認されたPIK3CA変異は、OCCCの起源たるドライバー変異ではないか、あるいはドライバー変異であってもがんの発生に必要なステップを踏んでいないことが示唆された。

【結論】OCCCの正所性子宮内膜には子宮内膜腺管に特異的なPIK3CA変異が頻繁に認められ、そのほとんどがOCCCの発症とは関係ない可能性があることを明らかにした。正所性子宮内膜におけるがん関連遺伝子変異の意義を明らかにするには、さらに包括的な分析が必要である。

本論文は、主に卵巣明細胞がんの腫瘍部分と正所性子宮内膜のPIK3CA遺伝子変異の関係について検討したものである。卵巣がんおよび子宮内膜症の腫瘍と正所性子宮内膜、およびコントロールの正所性子宮内膜について、PIK3CAの3つのホットスポット変異にターゲットを絞って、マイクロダイセクションとデジタルPCRを用いる手法は、非常に独創的であり、最適な選択である。そして、卵巣がんや子宮内膜症の正所性子宮内膜では、腫瘍部分とは一致しない高頻度のPIK3CA変異が認められ、複数のホットスポット変異が同一腺管に認められることがしばしばあること、また、正所性子宮内膜と腫瘍の均質なPIK3CA変異はまれであること、および卵巣明細胞がんの腫瘍内不均一性を示した。これらの結果から、正所性子宮内膜腺管で確認されたPIK3CA変異は、そのほとんどが卵巣明細胞がんの発症とは関係ない可能性があることを明らかにした。この研究内容は極めてoriginalityが高く、価値があるものと考えられる。

2) 審査結果の要旨

本論文に対する最終試験は、2022年1月5日の13時から専門棟第6講義室で実施された。

産婦人科医である申請者が、本邦での患者数が多く難治性の卵巣明細胞癌について、その発癌の起源について仮説を立て、結果的に著者の意図した結果とは異なっていたものの、明細胞癌患者の正所性子宮内膜にPIK3CA変異が多いことを見出し、さらに非がん組織のがん関連遺伝子変異の意義、腫瘍内不均一性にまで踏み込んだ極めて意義深い研究を行った。そしてこの研究が病理学分野のトップジャーナルの一つに掲載されるに至った点について敬意を表したい。

最終試験では、まず、申請者から本研究を行うに至った背景、対象と方法、結果と考察が発表され、それに対して主査である伊藤彰彦、副主査である岡田斉、植村天受両教授がいくつか疑問点を質した。

はじめに、植村教授から、卵巣明細胞癌における人種差などのバックグラウンドについてどうか、腫瘍のheterogeneityに関してmorphologyは同じでも不均一性は存在すると考えて良いか、

また本研究の今後の展開について質問があった。続いて岡田教授から、PIK3CA変異と微小環境との相互作用についてどう考えるか、PIK3CA変異の臓器特異性について、今後臨床への応用についての展望についての質問があった。そして最後に伊藤から、腫瘍にPIK3CA変異がない明細胞癌の方が子宮内膜のPIK3CA変異が多いことについてどのように考えるか、また間質、特に子宮内膜間質の変異とそのstemに関してどのように考えるか、とということについて質疑応答が行われた。

これらの質問に対し、申請者は現在までにわかっていること、まだ未解明であること、および今後の展望など極めて的確に応答した。また、論文内容から、卵巣明細胞癌と子宮内膜のPIK3CA変異について極めて的確に研究を立案・実行し、結果をまとめ、考察を行っていることが確認された。

したがって、主査・副主査は合議の上、提出された学位論文が確かに村上氏の研究成果であること、学位授与にふさわしい研究指導能力を持つことを確認し、最終試験を合格と判定した。

3) 最終試験の結果：
合格

4) 学位授与の可否：
可