

氏 名（本籍）	た 田 村 充 利
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 3 1 4 7 号
学位授与年月日	平 成 11 年 3 月 3 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	平 成 3 年 3 月 31 日 東北大学医学部医学科卒業
学位論文題目	ヒト卵巣子宮内膜症性嚢胞のクロナリティー解析

(主 査)

論文審査委員	教授 矢 嶋 聰	教授 折 笠 精 一
	教授 名 倉 宏	

# 論文内容要旨

## 【目 的】

悪性腫瘍やその前駆病変，及び一部の良性腫瘍は，単一細胞由来の増殖により発生することが報告されている。しかし，卵巣子宮内膜症性嚢胞に関しては嚢胞細胞の由来についての報告はほとんどない。本研究では，卵巣子宮内膜症性嚢胞のホルマリン固定パラフィン包埋標本を検体として，新たに設定した PCR 用プライマーと改変した stepdown 法による PCR プログラムを用いて，X 染色体の不活化のパターンを解析し，そのクロナリティーについて検討することを目的とした。

## 【方 法】

病理組織学的に卵巣子宮内膜症性嚢胞と診断された 25 例の標本を，患者の同意を得た上で，対象とした。対照には同一患者の正常卵巣間質組織を用いた。摘出腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋標本より連続切片を作成し，ヘマトキシリン-エオシン染色標本に基づき，倒立顕微鏡下にマイクロダイセクション法にて嚢胞上皮細胞を選択的に採取した。その微小切片より DNA を抽出しメチル化部位認識制限酵素である SnaBI で処理した後，X 染色体に連鎖した Phosphoglycerate Kinase (PGK) をターゲットとした PCR-RFLP 法を施行した。1 回目の PCR は新たに設定したプライマーを使用し，stepdown 法にて施行した。続いて内部のプライマーを用いた hemi-nested PCR を施行した。次に PGK の DNA 多型部位を制限酵素 BstXI にて処理して，6%ポリアクリルアミドゲル電気泳動にてアレル由来の PCR 産物を解析した。

## 【結 果】

PGK が DNA 多型を有したのは 25 例中 11 例 (44%) であった。このうち解析可能であった 10 例すべてがモノクローナルなパターンを示した。また，同一嚢胞内の異なる 2ヶ所を検索した 4 症例のメチル化のパターンは，すべてにおいて一致した。

## 【結 論】

本研究では，ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いてクロナリティーを検索するために，新たに PCR 用のプライマーを設定し，改変した stepdown 法を用いた PCR プログラムに基づく，新しいクロナリティー解析法を考案し，その有効性を立証した。また解析の結果，ヒト卵巣子宮内膜症性嚢胞の上皮組織は単一細胞由来 (モノクローナル) の増殖により発生することを確認した。

## 審査結果の要旨

子宮内膜症は婦人科領域における主要疾患の一つであるが、その発生機序や原因は未だ解明されていない。良性疾患ではあるが難治性であり、発生頻度も年々増加している。卵巣子宮内膜症性嚢胞からの卵巣癌の発生率は他の嚢胞と比較し有意に高く、また、嚢胞の上皮細胞の一部には、悪性腫瘍では一般的な所見である、細胞異型、DNA aneuploidy、染色体のヘテロ接合性の消失が見られるという報告があり、子宮内膜症性嚢胞が前癌病変として位置づけられる可能性を生じつつある。子宮内膜症性嚢胞のクロナリティーを解析することは、病変の発生と進展の解明に重要な情報を与え、また、分子生物学的に遺伝子変異を調べるための第一歩となるため、病理学的に意義深い。

本研究では、まず、ホルマリン固定パラフィン包埋標本を検体として卵巣子宮内膜症性嚢胞のクロナリティーを検索するために、新たに設定したPCR用プライマーと改変したstepdown法によるPCRプログラムに基づく、全く新しいクロナリティー解析法を考案し、その有効性を立証した。一般に、病理標本はパラフィン包埋して保存されており、また、微小病変はプレパラート上の検鏡によって初めて確認されるため、クロナリティー解析においてパラフィン包埋標本を検体として用いる本法を確立した意義は極めて大きいと考えられる。

また、採取の困難である卵巣子宮内膜症性嚢胞の上皮細胞を効率よく得るため、マイクロダイセクション法を施行し、極めて純度の高い上皮細胞検体を入手した。これにより、他細胞の混入が致命的であるクロナリティー解析を正確に成し得た。解析の結果、卵巣子宮内膜症性嚢胞の上皮組織はモノクローナル（単一細胞由来）の増殖により発生すること、及び、卵巣子宮内膜症性嚢胞は、複数の異なるモノクローナルな細胞集団がパッチのように組み合わせられて1つの嚢胞になったのではなく、嚢胞全体が単一細胞に由来していることが確認された。

本論文は、WHO分類では類腫瘍性病変に分類され、病理学的には非腫瘍とされる卵巣子宮内膜症性嚢胞が、腫瘍性病変と同様、モノクローナルな増殖をしていることを確認した、非常に興味深い研究であり、臨床的にも、患者の予後や治療管理に大きな示唆を与えると考えられる。解析結果は明確で信頼性が高く、その多くの部分は世界的にも報告がなく新規性を有しており、医学博士の学位に十分値するものと評価する。