

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 結城 明彦
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 887 号
学位授与の日付 令和元年 9 月 20 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 CADM1 is a diagnostic marker in early-stage mycosis fungoides: Multicenter study of 58 cases
(早期菌状息肉症の診断における CADM1 の有用性についての検討)

論文審査委員 主査 教授 味岡 洋一
副査 教授 近藤 英作
副査 講師 藤本 篤

博士論文の要旨

背景・目的

菌状息肉症は最も多い皮膚 T 細胞リンパ腫である。過去の国内報告によれば、いわゆる早期例に該当する stage IA から IIA は全体の 7 割を占めている。早期病変では臨床的、病理組織学的に非悪性の炎症性皮膚障害との鑑別が困難な場合がある。近年、非小細胞肺癌の癌抑制遺伝子として同定された Cell adhesion molecule 1 (CADM1) という細胞接着分子が、成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATLL) において有用な診断マーカーとなる可能性が報告された。CADM1 は免疫グロブリンスーパーファミリー細胞接着分子群に属する細胞間接着分子であり、上皮細胞、神経組織、肥満細胞などに広く発現しているが、一般に正常の T 細胞では発現が見られない。主に細胞間接着や上皮様形態維持に関わり、NK 細胞や CD8 陽性 T 細胞を介して癌免疫応答にも関与するほか、肺癌などの多くの癌の進行に伴いその発現が低下するといった特徴を有する。

菌状息肉症の診断における単一の分子マーカーは過去に報告がなく、今回申請者らは菌状息肉症の特に早期例における CADM1 の診断マーカーとしての有用性を検証した。

方法

新潟大学病院皮膚科および北海道大学病院皮膚科で 2017 年 10 月までに菌状息肉症と診断された患者 58 例 (stage IA 12 例、IB 20 例、IIA 2 例、IIB 15 例、IIIA 7 例、IVA1 1 例、IVA2 1 例) を対象とし免疫組織化学的解析を行った。臨床および病理組織学的に早期菌状息肉症と類似することのある炎症性皮膚障害を有する患者 50 例を対照群とした (慢性苔癬状皰糠疹 11 例、扁平苔癬 14 例、薬疹 13 例、貨幣状湿疹 4 例、炎症細胞浸潤を伴う基底細胞癌 8 例)。菌状息肉症の診断は、臨床所見および経過、病理組織学的所見、TCR 遺伝子再構成検査結果をもとに行った。全 108 例より得られた 108 の組織を用いて抗 CADM1 抗体による免疫染色を行い、200 倍視野中の CADM1 陽性細胞を定量的に画像解析し、菌状息肉症群と炎症性皮膚障害群間における CADM1 の発現率について統計学的に解析した。

また、菌状息肉症と炎症性皮膚障害における CADM1 の mRNA の比較を行った。CADM1 は表皮にも

恒常的に発現しているため、その影響を回避するために Laser microdissection で腫瘍細胞のみを選択的に採取し Reverse-transcription PCR 法を行い、2 群間を比較解析した。

結果

免疫組織化学染色により菌状糸肉症 58 例中 55 例 (94.8%) で腫瘍細胞における CADM1 の発現を認め、対照群との間に統計学的有意差を認めた ($P < 0.0001$)。また、Laser microdissection で選択的に採取した腫瘍細胞を用いた PCR 解析により、菌状糸肉症のみにおいて CADM1 の mRNA 発現を同定した。

菌状糸肉症と模倣病態との鑑別における診断マーカーとしての有用性を検証するための ROC 解析では、AUC 0.97、感度 94.8%、特異度 98.0%であり、cut off は 5.0%であった。

考察

本研究において、初診時に菌状糸肉症の確定診断がつかず、解析対象期間中の再精査によって菌状糸肉症と最終診断した例が全 58 例中 4 例あった。いずれも初診時に TCR 遺伝子再構成が認められていなかった。4 例とも経過中に皮疹が明らかに増悪し、うち 3 例は経過中の再検査で TCR 遺伝子再構成が同定され、MF と診断し直された。興味深いことに、この 4 例の初回生検組織を用いて CADM1 の免疫染色を行ったところ、4 例とも浸潤リンパ球に CADM1 の発現を認めた。

TCR 遺伝子再構成検査は T 細胞のクローナルな増殖において有用な検査だが、診断感度が 50~90%と幅があり、かつ良性・反応性病態でも陽性となることがある。本研究全例における TCR 遺伝子再構成検出率は 56.8%であり、早期例 (stage IA-IIA) に限ると 41%であった。細胞浸潤の乏しい菌状糸肉症早期例では、TCR 遺伝子再構成検査や CD マーカーの検索に加えて、CADM1 の免疫組織化学的解析を行うことによって診断精度が向上する可能性が示唆される。

CADM1 は表皮を含む多くの上皮組織で発現しており、細胞接着において重要な役割を担っている。細胞外に免疫グロブリン様ループを 3 個もつ 1 回膜貫通型糖タンパク質である。CADM1 は、上皮細胞ではラテラル面にびまん性に発現しホモ 2 量体を形成して隣接細胞との接着に関わる。細胞内領域では 4.1 結合モチーフを介してアクチン結合性タンパク質である DAL-1 と、C 末端の PDZ 結合モチーフを介して裏打ちタンパク質群である MAGuKs と結合する。DAL-1 はアクチンフィラメントおよびスペクトリンと相互作用する。CADM1 はこれらの結合タンパク質を介して、上皮細胞の細胞骨格や極性形成に関わると考えられており、細胞構築の維持をなすことで細胞の浸潤や転移を防ぎ、上皮細胞においては癌抑制因子として働く。しかし一方 ATLL では CADM1 の下流結合分子経路が上皮と異なり、アクセラレーターとして機能する。ATLL 細胞では、CADM1 は C 末端の PDZ 結合を介して Tiam1 (T-cell invasion and metastasis 1) と結合する。すると低分子量 G タンパク質 Rac が activate され、葉状仮足の形成が促進され細胞の運動性、浸潤性が高められる。このように下流結合分子の違いで相反する機能を引き起こすことがわかっているが、菌状糸肉症の腫瘍細胞の発現する CADM1 が病態に対しどのような意義や機能を有するのかについては今後明らかにしていく課題と考える。

今回、申請者らは 58 例の菌状糸肉症における CADM1 の発現について、50 例の模倣病態との比較解析を行った。今回の結果から、浸潤細胞が少数である菌状糸肉症早期例においても CADM1 陽性細胞の同定が可能であり、CADM1 は菌状糸肉症の特に早期例の診断および炎症性皮膚障害との鑑別に有用な指標となる可能性が示唆された。

審査結果の要旨

菌状糸肉症 (mycosis fungoides: MF) は最も頻度の高い皮膚 T 細胞リンパ腫であるが、早期病変 (stage

IA～IIA) では臨牀的、病理組織学的に炎症性皮膚障害との鑑別が困難な場合がある。本研究は、近年、非小細胞肺癌の癌抑制遺伝子として同定された Cell adhesion molecule 1 (CADM1) の発現が、MF(特に早期例)の診断マーカーとして有用かどうかを検証した。

MF58例(stage IA 12例、IB 20例、IIA 2例、IIB 15例、IIIA 7例、IVA1 1例、IVA2 1例)を対象として免疫組織化学的解析を行った。臨床および病理組織学的に早期MFと類似することのある炎症性皮膚障害を有する患者50例を対照群とした。また、菌状息肉症と炎症性皮膚障害におけるCADM1のmRNA発現の比較を行った。CADM1は表皮にも恒常的に発現しているため、その影響を回避するために Laser microdissection で腫瘍細胞のみを選択的に採取し Reverse-transcription PCR法を行い、2群間を比較解析した。

免疫組織化学染色によりMF58例中55例(94.8%)で腫瘍細胞におけるCADM1の発現を認め、対照群との間に統計学的有意差を認めた($P < 0.0001$)。また、Laser microdissection で選択的に採取した腫瘍細胞を用いたPCR解析により、MFのみにおいてCADM1のmRNA発現を同定した。MFと模倣病態との鑑別における診断マーカーとしての有用性を検証するためのROC解析では、AUC 0.97、感度94.8%、特異度98.0%であり、cut offは5.0%であった。

本研究は、浸潤細胞が少数であるMF早期例においてもCADM1陽性細胞の同定が可能であり、CADM1がMFの診断および炎症性皮膚障害との鑑別に有用なマーカーとなる可能性を示した点で、学位論文としての価値を認める。