

平成23年12月

桑本聡史 学位論文審査要旨

主査 井藤久雄
副主査 山元修
同 林一彦

主論文

Association of Merkel cell polyomavirus infection with morphologic differences in
Merkel cell carcinoma

(メルケル細胞ポリオマウイルス感染とメルケル細胞癌における形態学的相違との関
連)

(著者：桑本聡史、森裕美（旧姓：檜垣）、金井享輔、岩崎健、佐野仁志、長田佳子、
加藤郁、加藤雅子、村上一郎、堀江靖、山元修、林一彦)

平成23年 Human Pathology 42巻 632頁～640頁

学 位 論 文 要 旨

Association of Merkel cell polyomavirus infection with morphologic differences in Merkel cell carcinoma

(メルケル細胞ポリオーマウイルス感染とメルケル細胞癌における形態学的相違との関連)

近年メルケル細胞癌 (MCC) の約80%において腫瘍細胞から新規ポリオーマウイルスであるメルケル細胞ポリオーマウイルス (MCPyV) が検出されることが示され (Fengら、Science、2008)、本症の発癌に関わっている可能性が強く示唆されている。一方約20%のMCCではMCPyVの感染が認められないが、MCPyV感染例と非感染例とでMCCが生物学的に異なっているかについてはよく分かっていない。筆者らはMCC症例をMCPyV感染例／非感染例の2群に分けた上で、組織標本上での観察および画像処理ソフトによる腫瘍細胞の形態解析を行い、両群間に有意な形態学的差異が見られるかを検討した。

方 法

実験は本学の倫理審査委員会の承認の下、附属病院および近隣機関で採取されたMCC26例を用いて行われた。MCPyVの検出はホルマリン固定標本から抽出したDNAを用いたPCRとリアルタイム定量PCR、および免疫組織化学 (使用抗体: CM2B4、MCPyVのLT抗原を検出) にて行った。対照として皮膚有棘細胞癌、肺小細胞癌、悪性黒色腫の各1例を用いた。次にMCCの各症例において組織切片上で腫瘍細胞形態 (核のサイズ、核の真円度、核に対する細胞質の面積、クロマチン分布、核小体の明瞭さ、核分裂像の数、腫瘍周囲のリンパ球浸潤の程度) を計測し、MCPyV感染例／非感染例の2群間で比較した。核の真円度、細胞質の面積は画像解析ソフトウェア「ImageJ」を用いて詳細に計測した。さらに計測結果の客観性を検討するため複数回の計測を行い、級内相関係数を用いた信頼性評価を施行した。

結 果

PCRによりMCCの26例中20例 (77%) においてMCPyVが検出された。興味深いことに、26例中に有棘細胞癌との合併腫瘍 (MCC+SqCC) が4例含まれていたが、これらは全てMCPyV陰性であった。リアルタイム定量PCRではMCPyV陽性例において0.337~2.603 copy/cellのウイルスが存在することが示された。CM2B4による免疫染色では概ねPCRと同等の結果が得ら

れた。対照症例の3例はいずれもMCPyV陰性であった。MCCの形態解析においては、MCPyV感染例では非感染例と比較して有意に細胞核の真円度が高く ($P<0.001$)、核に対する細胞質の面積が小さい ($P<0.001$) ことが示された。その他のパラメータには有意差は示されなかった。真円度の計測に関する信頼性評価では検者内信頼性がICC[1, 1]=0.855、検者間信頼性がICC[2, 1]=0.775と概ね良好で、客観性が確保されていることが示された。

考 察

筆者らはMCPyV感染例と非感染例との間で、MCCの細胞形態が核の真円度および細胞質の広さの点において有意に異なっていることを示した。過去の報告では片野ら (J Med Virol、2009) が両群間での細胞所見の差異を示唆しているが、形態計測によって科学的に統計学的有意差を示した報告は今回が初めてである。また通常MCCではMCPyVが高頻度に検出されるのに対して、合併腫瘍 (MCC+SqCC) では免疫組織化学およびPCRのいずれでもMCPyVが検出されない傾向にあることを4例の検討によって示した。以上の結果はMCPyV感染例と非感染例における生物学的差異を示していると考えられ、すなわちMCPyV感染例においてウイルスが発癌機序に関与していることを示唆する所見である。

腫瘍細胞の形態に直接関与する因子は明らかでないが、その一つとして染色体の量的・質的变化が示唆されている。Barr Fritcherら (Am J Clin Pathol、2007) は膵胆道系腫瘍において、細胞多形性と染色体異常との間に相関が見られることを報告した。MCCにおいてはPaulsonら (J Invest Dermatol、2009) がMCPyV非感染例に感染例よりも多くの遺伝子異常が見られる傾向を報告している。これらの知見から筆者らは、MCPyV感染例ではウイルスが直接発癌を引き起こすために細胞の遺伝子異常が少なく、従って腫瘍細胞が形態的に均一である (真円度が高い) という可能性、またMCPyV非感染例ではより複雑な (ウイルスによらない) 発癌機序を介するために細胞の遺伝子異常が多く、従って腫瘍細胞の形態が不均一である (真円度が低い) という可能性を指摘している。

結 論

MCCのMCPyV感染例と非感染例の間では、腫瘍の細胞形態、および合併腫瘍として発症する頻度が有意に異なっていることが示された。これは両群間での生物学的な相違を示唆するだけでなく、本症の予後に関連するMCPyVの感染の有無を組織切片上で簡便に推測する手掛かりとなり、個々の症例の取り扱いに関連する臨床的有用性を有していることが期待される。