

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 永井 康一

横浜市立大学大学院医学研究科 生殖生育病態医学

審 査 員

- | | |
|-----|------------------------------------|
| 主 査 | 横浜市立大学大学院医学研究科 分子生物学
主任教授 高橋 秀尚 |
| 副 査 | 横浜市立大学附属病院 消化器外科
准教授 秋山 浩利 |
| 副 査 | 横浜市立大学大学院医学研究科 放射線診断学
准教授 山城 恒雄 |

博士の学位論文審査結果の要旨

MED12 mutations in uterine leiomyomas: prediction of volume reduction by gonadotropin-releasing hormone agonists

(*MED12* 遺伝子変異解析に基づく子宮筋腫の縮小予測)

1. 序論

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) アナログは強力なゴナドトロピン分泌抑制作用により女性ホルモンを低下させる。子宮筋腫に対する子宮全摘術や子宮筋腫核出術を控えた術前使用では、腹腔鏡下手術を視野に筋腫核の縮小効果を期待して GnRH アナログを投与するが、すべての子宮筋腫が縮小する訳ではない。期待した筋腫縮小効果が得られない場合、外科的治療介入のタイミングが遅れるだけでなく、エストロゲン欠乏による更年期症状や骨密度低下などの副作用が生じる。

本研究の目的は、GnRH アナログによる子宮筋腫の縮小効果を予測可能にする遺伝子マーカーの探索と、その遺伝子変異を組織生検することなく MRI 画像から同定する診断クライテリアの確立である。本研究によって、薬剤効果を投与開始前に予測可能となれば、縮小の見込める症例に対して選択的に GnRH アナログを使用することで患者の負担軽減につながる。また不要な GnRH アナログ投与を減らすことで頻回の外来通院や医療費の高騰を避けられることから医療経済的にもメリットが期待できる。

2. 実験材料と方法

GnRH アナログの子宮筋腫体積縮小効果を予測する遺伝子マーカーとして、*MED12* 遺伝子変異の有用性を明らかにするため、横浜市立大学附属病院で 2005 年から 2021 年の間に手術（子宮摘出術または子宮筋腫核出術）を受けた 168 例の患者から子宮筋腫の検体を採取した。子宮筋腫の体積縮小率を計測するため、41 例の患者に GnRH アゴニスト（酢酸リュープロレリン 3.75mg、月 1 回皮下注射）を 3 ヶ月間投与し、治療前後の単純 MRI 画像を用いて筋腫核体積の変化を計測した。子宮筋腫の *MED12* 遺伝子変異を解析し、MRI 画像を用いて算出した体積縮小率との関連を評価した。また、子宮筋腫 168 例のリュープロレリン投与前の単純 MRI 画像と *MED12* 遺伝子解析結果に基づいて、*MED12* 遺伝子変異の有無を非侵襲的に推定する子宮筋腫の新しい分類法を作成した。本研究は、横浜市立大学倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号 A150122017）。

3. 結果

MED12 変異型筋腫 21 例と *MED12* 野生型筋腫 20 例の筋腫体積をリュープロレリン投与前後で計測したところ、*MED12* 変異型筋腫の子宮筋腫体積縮小率は中央値 15.6%であったのに対して、*MED12* 野生型筋腫の子宮筋腫体積縮小率は中央値 43.4%と有意に高かった ($P < .001$ Mann-Whitney U 検定)。

子宮筋腫の *MED12* 遺伝子変異の有無を投与前の単純 MRI 画像から推定するため、T2 強調画像における Junctional zone と正常筋層を基準に子宮筋腫 168 例を LOW Group, INT Group, HIGH Group の 3 グループに分類した。LOW Group ($n = 68$) には *MED12* 変異型筋腫 56 例と *MED12* 野生型筋腫 12 例が含まれ、遺伝子変異頻度は 82.4%であった。INT Group ($n = 44$) には *MED12* 変異型筋腫 23 例と *MED12* 野生型筋腫 21 例が含まれ、遺伝子変異頻度は 52.3%であった。HIGH Group ($n = 56$) には *MED12* 変異型筋腫 3 例と *MED12* 野生型筋腫 53 例が含まれ、遺伝子変異頻度は 5.4%であった。この MRI 分類の LOW Group, INT Group, HIGH Group における *MED12* 遺伝子変異のオッズ比 (95%信頼区間) は、それぞれ 13.28 (6.17-28.60), 1.21 (0.61-2.40), 0.02 (0.01-0.08) であった。

4. 考察

MED12 変異型筋腫と比較して *MED12* 野生型筋腫はリュープロレリンにより縮小しやすいことを示した。*MED12* 遺伝子変異の有無は、子宮筋腫に対する GnRH アナログの薬剤効果を予測する遺伝子マーカーの候補となりうる。

T2 強調画像において *MED12* 変異型筋腫は低信号を、*MED12* 野生型筋腫は高信号を示すことが多いことを明らかにし、子宮筋腫の *MED12* 遺伝子変異の有無を単純 MRI 画像から推定する分類法を考案した。この新しい分類法を用いることで組織生検のような侵襲的検査を避け、*MED12* 遺伝子変異の有無を GnRH アナログ投与前に推定することができる。

審査冒頭に申請者より上記の論文要旨の説明がなされた。

学位論文の審査にあたり、主査・副査より以下の質疑応答が行われた。

秋山副査からの講評, 質疑に対して以下の回答がなされた。

1. 「*MED12* 遺伝子と GnRH アナログの効果」および「*MED12* 遺伝子と MRI との相関」に関する二つの検討であるが、それぞれに新規性があるのか。

回答：*MED12* 遺伝子変異の有無で子宮筋腫縮小率が異なる点と、子宮筋腫の *MED12* 遺伝子変異の有無を組織生検することなく単純 MRI で推定できる点の両方に新規性がある。

2. *MED12* 遺伝子と GnRH アナログに関する先行研究はあるのか。

回答：*MED12* 遺伝子変異を介して GnRH アナログの縮小効果を予測した研究はこれまでない。機序の異なる別の薬剤である ulipristal も筋腫縮小のため用いられるが *MED12* 遺伝子との関連が初めて報告されたのは 2023 年であり、子宮筋腫縮小の分野において特定の遺伝子変異に着目して研究が進んだのは近年の動きである。

3. 薬が効いた症例と効かなかった症例に分けて次世代シーケンサーで網羅的に遺伝子を抽出するアプローチがあるが、子宮筋腫に用いる手法としてはどうか。

回答：GnRH アナログの筋腫縮小効果に関わる因子の探索という点から遺伝子を網羅的に解析する手法は、これまで良性疾患のため研究されていなかったという背景がある。*MED12* 以外の遺伝子に関しても研究対象としたい。

4. MRI による筋腫縮小予測の validation として、前向き研究などで検証する予定はあるか。

回答：本研究においては GnRH agonist の注射薬 leuproterin を用いたが、近年は偽閉経療法として GnRH antagonist の経口薬 relugolix が主に臨床で使用されている。leuproterin での症例集積は難しいため今後 GnRH antagonist を用いた検証を行いたいと考えている。

5. 消化管間質腫瘍において治療開始前に生検し遺伝子変異を調べるが、子宮筋腫の生検は通常は行わないという理解でよいか。

回答：体表に近い部位にある子宮筋腫の needle biopsy は、技術的には可能だが侵襲性が高く、現実的に診断に用いるのは難しい。liquid biopsy を検討したこともあるが多発している症例に対して臨床応用が難しいと考えている。同一患者においても筋腫核ごとに *MED12* 遺伝子変異は異なるという heterogeneity に着目すると、MRI 画像から個々の病変に対して mutation status を推定する臨床的意義は大きいと考えている。

山城副査からの講評、質疑に対して以下の回答がなされた。

1. 複数の子宮筋腫を有する同一患者において *MED12* 変異型筋腫と *MED12* 野生型筋腫が混在することがあるが、本研究では heterogeneity を調べているか。

回答：子宮筋腫の縮小率と遺伝子変異を調べるにあたり、患者における最大の筋腫のみを検体として解析の対象としたため、本論文においてはそのデータは含まれていない。

2. 本研究において筋腫縮小率の検討をしているが、治療開始前の子宮筋腫のサイズと mutation status との間に関連はあったか。

回答：*MED12* 野生型筋腫の方が変異型筋腫より大きいという既報があるが、本研究においては 5cm 以下の筋腫を除外しており患者背景において最大筋腫径に有意差はなかった。

3. *MED12* 遺伝子変異の推定ができることに意味があるのか、縮小しやすい筋腫が予想できることに意味があるのか、今後の展望を含め、どちらが重要と考えているか。

回答：子宮筋腫の遺伝子変異の有無を MRI 画像から推定できることが重要と考えている。*MED12* 野生型筋腫が GnRH アナログで縮小しやすいというのは筋腫の一側面であり、遺伝子変異という観点から MRI を用いて筋腫の腫瘍学的性質を推定することで、閉経や他の薬剤による筋腫縮小予測にも応用できる可能性がある。子宮筋腫の遺伝子変異推定が画像診断で可能になれば、患者ごとにより適した治療を提供できると考えている。

4. 医療経済の観点で考えたときに MRI を撮ることで筋腫縮小効果がわかるならば、MRI を中心としたアプローチのみでも可能と思われるが、GnRH アナログによる子宮筋腫縮小という観点から考えたとき *MED12* 遺伝子変異の有無、MRI 画像、エリスロポエチンのどれが一番関連していると考えているか。

回答：*MED12* 遺伝子変異の有無が一番関連していると考えている。エストロゲンに大きく左右される腫瘍としての成り立ちを考えたとき、遺伝子変異が筋腫の増大縮小に最も影響を与えていると考えており、ゲノム解析を軸とした研究を推し進めていきたい。

5. T2 強調画像の信号は水分量だけでは説明できないと考えられ、病理学的な変性と関連があると思われる。本研究における筋腫はどのような検体を中心となっているのか。

回答：赤色変性や石灰化など特殊な変性症例は本研究検体には含まれておらず、病理診断で leiomyoma と診断された検体を中心に研究を行った。

高橋主査からの講評、質疑に対して以下の回答がなされた。

1. *MED12*は転写に関わるメディエーター複合体として注目され、徐々に子宮筋腫との関連が報告されるようになったが、他の疾患との関連はあるのか。

回答：子宮筋腫の他には、乳癌、肺癌、大腸癌、甲状腺癌との関連が報告されている。本研究において、これらの癌の併存はなかった。

2. *MED12*はX染色体上にあるが、男性においてはどのような疾患があるのか。

回答：男性においては前立腺癌との関連が報告されている。

3. メディエーター複合体のうち *MED1* はエストロゲン受容体と結合することが知られている。エストロゲン受容体は転写因子であるが、*MED12*の変異とエストロゲン感受性との関連はどのようなものを想定しているか。

回答：*MED12*遺伝子に変異のある子宮筋腫はエストロゲンへの反応性が低いと考えられるが、詳細な機序は明らかではない。

4. *MED12*は直接的にエリスロポエチンと関わっているのか。

回答：*MED12*遺伝子に変異のない子宮筋腫においてエストロゲン依存性にエリスロポエチン発現が誘導され、筋腫血管を成熟させていると考えられる。そのような筋腫ほどGnRHアナログによりエストロゲン欠乏が引き起こされることで血管成熟が保てなくなるため、より縮小しやすいという結果に繋がると仮説をたてている。

5. 研究全体を通じて、申請者が果たした貢献度はどうであったか。

回答：研究計画を立案し、実験、統計解析、論文執筆を申請者自身が主体的に行った。MRI画像の判定は申請者がすべての症例に目を通し、共著者と複数名で評価した。

本学位論文は、低エストロゲン環境下の子宮筋腫縮小を *MED12* 遺伝子変異解析およびMRI画像の観点から、世に先駆けて研究した学術的価値の高い報告である。審査員からの質問においても的確な回答がなされ、本課題に対し深い理解と洞察をもって研究を遂行し、新たな知見を得たこと示した。以上より博士（医学）の学位授与に値すると判断された。