

# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 木内 静香

## 学位論文題名

胸腺及び胸腺上皮性腫瘍における細胞内プロテアーゼの発現に関する研究

(Studies on the expression of intracellular protease  
in the thymus and thymic epithelial tumors)

【背景】細胞内タンパク質分解系は、生体内における多彩な生理機能と病態に関与しており、ユビキチン・プロテアソーム系とオートファジー・リソソーム系に大別される。ユビキチン・プロテアソーム系においては、20Sプロテアソームの構成サブユニットである $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ がプロテアーゼ活性を担っている。プロテアソームには構成型プロテアソーム、免疫プロテアソーム、胸腺プロテアソームの3種類が存在するが、特に胸腺プロテアソームは、胸腺皮質上皮細胞(cTECs)に特異的に発現し、キモトリプシン様活性の低いサブユニットである $\beta 5t$ が20Sプロテアソームを形成し、胸腺皮質においてユニークなペプチドレパートリーを生み出すことで、腫瘍組織適合抗原(MHC) class I 拘束性 CD8<sup>+</sup>T細胞の正の選択に重要な役割を果たしている。一方、オートファジー・リソソーム系においては、リソソーム内に局在するプロテアーゼであるカテプシンが中心的役割を担い、全身組織でのタンパク品質管理に加え、胸腺においてはMHC class IIに結合する自己ペプチドを産生することで、MHC class II 拘束性 CD4<sup>+</sup>T細胞の分化・成熟に寄与している。プロテアソームやカテプシンは、自己免疫疾患等の免疫異常に加え、悪性腫瘍を含む種々の疾患において発現の変化が報告されており、その発現解析は疾患の診断や病態解明に有用であると考えられる。本研究では、胸腺上皮性腫瘍におけるカテプシンの発現、及びダウン症患者における胸腺の組織学的変化についてプロテアソームサブユニット $\beta 5t$ の発現に着目した研究を行った。

### 研究(1) 胸腺上皮性腫瘍におけるカテプシンの発現に関する研究

【背景と目的】胸腺上皮性腫瘍は、多彩な病理組織像や臨床像を呈する疾患群を包含しており、その病理形態学的分類には困難を伴ってきた歴史があるが、近年は形態に基づいたWHO分類が国際標準として用いられ、A型胸腺腫、AB型胸腺腫、B型胸腺腫(B1、B2、B3)、胸腺癌に分類される。正常胸腺では、カテプシンL(CTL)とカテプシンV(CTV)がcTECsに発現し、カテプシンS(CTS)が胸腺髄質上皮細胞(mTECs)と樹上細胞に発現し、MHC class IIに結合する抗原ペプチドの産生において重要な役割を果たしている。本研究では、胸腺上皮性腫瘍の診断マーカーとしてのカテプシンの有用性を検討する目的で、胸腺腫及び胸腺癌においてCTL、CTV、CTSの発現を免疫組織化学的に解析した。

【対象と方法】77例の胸腺腫及び胸腺癌組織(A型胸腺腫5例、AB型胸腺腫26例、B型胸腺腫29例、胸腺癌17例)を用い、CTL、CTV、CTSの単染色と、CTV/keratin、CTS/keratin、CTS/fascinの二重染色を酵素抗体法により施行し、カテプシンの発現を染色強度スコア1-3で判定した。

【結果】CTVはB型胸腺腫とAB型胸腺腫の全例で陽性となり、A型胸腺腫の大部分(4/5例)で

陽性となった。CTS は B 型胸腺腫の全例に陰性であった。大部分の A 型胸腺腫と AB 型胸腺腫では CTS が陽性であった (4/5 例、24/26 例)。AB 型胸腺腫では、CTV は B 型成分に優位に発現しており、A 型成分に陽性を示したのはごく少数例であった。一方、CTS は多数の A 型成分に陽性を示した。B 型成分を形態学的に 3 分類した場合、CTS の発現は<b-1>成分にのみ認められた。胸腺癌においては、CTV が 41.2%の症例に、CTS が 47.1%の症例に陽性となった。B3 型胸腺腫と胸腺癌における、カテプシンの染色パターンを比較検討したところ、B3 型胸腺腫では全例が CTV<sup>+</sup>/CTS<sup>-</sup>を示した。一方、胸腺癌では 4 例が CTV<sup>+</sup>/CTS<sup>-</sup>、3 例が CTV<sup>+</sup>/CTS<sup>+</sup>、5 例が CTV<sup>-</sup>/CTS<sup>+</sup>、5 例が CTV<sup>-</sup>/CTS<sup>-</sup>と、多彩なカテプシン発現パターンを呈した。

【考察】B 型胸腺腫では CTS ではなく CTV が発現していたことから、B 型胸腺腫は cTECs への分化傾向を有する細胞に由来すると推定された。AB 型胸腺腫においては、CTV が B 型成分で優位に発現し、A 型成分と<b-1>成分の大部分に CTS の発現が確認されたことから、AB 型胸腺腫におけるカテプシンの発現パターンは、腫瘍細胞の形態像と関連し、分化の方向を反映していると考えられた。B3 型胸腺腫と胸腺癌ではカテプシンの発現パターンが異なっていたことから、カテプシンの発現パターンの解析は、B3 型胸腺腫と胸腺癌との鑑別に有用であると考えられた。

【結論】カテプシンの発現は胸腺腫の形態に関連していることが明らかとなり、カテプシン染色が腫瘍の組織発生の推定や鑑別診断に有用である可能性が示された。

#### 研究(2) ダウン症患者の胸腺におけるプロテアソームサブユニット $\beta 5t$ の発現に関する検討

【背景と目的】21 トリソミーであるダウン症(DS)患者の多くでは、胸腺の形態異常を認め、主として細胞性免疫に影響する内因性免疫異常を有する。本研究の目的は、機能的に重要な分子の発現が、DS 患者の胸腺基質において変化しているかを検討する点にある。

【対象と方法】13 トリソミー(n=4)、18 トリソミー(n=14)、21 トリソミー(n=13)の患者の胸腺組織において、重要な機能分子である  $\beta 5t$  の発現を免疫組織化学的に検討した。

【結果】13 トリソミーおよび 18 トリソミーの患者では、胸腺は形態的に正常あるいは軽度の胸腺皮質細胞の脱落のみであった。対照的に、21 トリソミー患者では、胸腺に様々な組織学的変化を認め、13 例中 6 例では、小葉の構築の消失を伴う高度な胸腺細胞の脱落が見られた。こうした胸腺では、紡錘形の keratin 陽性細胞が密に分布し、 $\beta 5t$  が顕著に減少した。

【考察】 $\beta 5t$  は胸腺プロテアソームの構成要素であり、皮質分化を示す TECs にのみ発現する。TECs は胸腺における T 細胞分化に重要であり、特に cTECs は正の選択に関与していることから、胸腺組織における  $\beta 5t$  の発現低下は、DS 患者の免疫異常に関与している可能性が考えられた。

【結論】異常な胸腺の構築や、胸腺基質における機能的に重要な分子の発現低下が、DS 患者における免疫学的異常に関与すると推定された。

【総括】細胞内プロテアーゼの果たす役割は多岐に渡り、正常組織における生理機能のみならず、自己免疫疾患や腫瘍を含む様々な疾患においてその病態形成に関与している。本研究では、胸腺での発現が免疫機構の形成に重要であるとされるプロテアーゼであるカテプシンとプロテアソームに着目し、その発現を形態学的解析と合わせて検討することにより、疾患の診断マーカーあるいは治療標的としての有用性や、病態解明の可能性を示した。今後は、より多くの症例解析により、カテプシン染色や  $\beta 5t$  染色の有用性が確立され、疾患の病態や診断・治療に関する理解が深まることが期待される。