

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Immunohistochemical analysis of Toll like receptors, MyD88, and TRIF in human papillary thyroid carcinoma and anaplastic thyroid carcinoma
別タイトル	ヒト甲状腺乳頭癌および未分化癌におけるToll様レセプター、MyD88およびTRIFの免疫組織化学的解析
作成者(著者)	二本 康博
公開者	東邦大学
発行日	2022.01.13
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：近藤元就 / タイトル：Immunohistochemical analysis of Toll like receptors, MyD88, and TRIF in human papillary thyroid carcinoma and anaplastic thyroid carcinoma / 著者：Yasuhiro Nihon Yanagi, Megumi Wakayama, Naobumi Tochigi, Fumi Saito, Hideaki Ogata, Kazutoshi Shibuya / 掲載誌：Journal of Thyroid Research / 巻号・発行年等：2021, 2021 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661乙第2953号
学位記番号	乙第2791号
学位授与年月日	2022.01.13
学位授与機関	東邦大学
DOI	10.1155/2021/4226491
その他資源識別子	<a href="https://www.hindawi.com/journals/jtr/2021/4226491/">https://www.hindawi.com/journals/jtr/2021/4226491/</a>
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD26753397">https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD26753397</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

二本柳康博より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2791 号

学位申請者 : にほんやなぎ やす ひろ  
二 本 柳 康 博

学位論文 : Immunohistochemical analysis of Toll-like receptors, MyD88, and TRIF in human papillary thyroid carcinoma and anaplastic thyroid carcinoma

(ヒト甲状腺乳頭癌および未分化癌における Toll 様レセプター、MyD88 および TRIF の免疫組織化学的解析)

著 者 : Yasuhiro Nihon-Yanagi, Megumi Wakayama, Naobumi Tochigi, Fumi Saito, Hideaki Ogata, Kazutoshi Shibuya

公表誌 : Journal of Thyroid Research  
DOI: 10.1155/2021/4226491

論文内容の要旨 :

Toll-like receptor (TLR) は、自然免疫系の初期反応における重要なレセプターであり、それらのシグナルは myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88) や Toll/interleukin-1 receptor domain-containing adaptor inducing  $\text{INF-}\beta$  (TRIF) といった分子の活性化を介して下流のカスケードへ伝達される。近年、慢性炎症 (持続感染) が発癌に関与しているというエビデンスが集積されており (例: ヘリコバクターピロリ感染と胃癌、B 型肝炎や C 型肝炎ウイルスと肝細胞癌、あるいはヒトパピローマウイルスと子宮頸癌など)、種々の癌腫において、TLR 発現の有無を調べた報告がみられるようになった。

甲状腺癌は、甲状腺乳頭癌 (以下乳頭癌) をはじめ、いくつかの組織学的亜型が存在するが、乳頭癌は甲状腺悪性腫瘍の中で最も多く、かつ最も予後良好なものである。一方、甲状腺未分化癌 (以下未分化癌) は比較的稀であり、予後不良な経過を辿る。甲状腺は消化管や呼吸器系の器官などと異なり、病原体の直接の曝露には比較的乏しい臓器であり、また放射線感受性が高いことが特徴である。18 歳以下での放射線曝露歴は甲状腺癌のリスクファクターとされ、照射量と発癌のリスクは直線的な相関がみられる。さらに放射線障害における別の研究では、TLR のアゴニストないしアンタゴニストが、従来の放射線障害の予防薬に比べ、より少ない副作用でより効果的であるという報告があり、TLR の果たす放射線防御の役割が注目されている。

これらの知見に基づき我々は、自然免疫系が甲状腺の発癌に関与しているという仮説を立て、乳頭癌と未分化癌のそれぞれについて、TLR、MyD88 および TRIF の発現を、免疫組織化学染色（以下免疫染色）を用い検討した。具体的には手術材料のパラフィン包埋切片を用いて、未分化癌 11 症例、乳頭癌 25 症例、腺腫様甲状腺腫（非癌組織コントロールとして）8 例について、それぞれ TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR7、TLR9、MyD88 および TRIF の発現を免疫染色で調べ、その発現の差を、既報の論文で使用されている定量化の方法を用い比較した。

結果は、いくつかの TLR がそれぞれの組織に発現しているのが確認された。すなわち TLR3 は全ての組織で強発現をしていたが、TLR4 は全ての組織で発現がみられなかった。TLR5 は腺腫様甲状腺腫で中等度発現していたのに対し、乳頭癌と未分化癌では減弱していた。一方 TLR9 は、腺腫様甲状腺腫で発現が見られなかったのに対し、乳頭癌と未分化癌では中等度の発現を認めた。MyD88 については、乳頭癌と腺腫様甲状腺腫との間で有意差がみられたが、未分化癌と腺腫様甲状腺腫、また乳頭癌と未分化癌との間に有意差はみられなかった。TRIF においては、乳頭癌と未分化癌では、TRIF が腺腫様甲状腺腫に比し有意に発現が上昇していた。

驚くべきことに今回の実験では、乳頭癌と未分化癌のいずれもほぼ同様の TLR 発現パターンを呈した。MyD88 に依存したシグナル伝達は、TLR3 を除く全ての TLR で行われているが、MyD88 については前述のごとく、未分化癌と腺腫様甲状腺腫、また乳頭癌と未分化癌との間に有意差はみられず、従って MyD88 依存性の経路における TLR と発癌との関係は明らかになることができなかった。

一方興味深いことに、TRIF については前述のごとく、乳頭癌と未分化癌では腺腫様甲状腺腫に比し有意に発現が上昇していた。TRIF に依存したシグナル伝達は、TLR3 または TLR4 を介してのみ行われるが、今回 TLR4 の発現が全ての組織で発現していなかったことを踏まえると、癌組織における TRIF の高発現は、TLR3 のみからのシグナル伝達とみなすことができる。

消化管放射線障害についてのある論文は、小腸陰窩を形成する細胞が TLR3 を介し TRIF 依存性のシグナル伝達を惹起したと報告している。また、TLR3 をブロックすることによりこれらの消化管障害が抑制されたことを同時に述べている。TLR3 はウイルスの二本鎖 RNA の他、自己の細胞死により放出された核酸などにより刺激を受ける。前述のごとく、甲状腺は病原体の直接の曝露には比較的乏しい臓器で、また放射線曝露は甲状腺癌の高リスクファクターであることから、放射線曝露により障害を受けた細胞から内因性の物質が放出され TLR3 を刺激している可能性は考えられる。本研究の結果により我々は、TLR3 が放射線感受性に関与するセンサーの役割を果たし、TRIF 依存性に発癌に関与していると推察したが、この仮説を証明するには、またさらに多くの追試が必要である。

まとめると、乳頭癌と未分化癌では、TLR、MyD88 および TRIF において驚くほど同様の発現パターンがみられ、特に TLR3 を介した TRIF の活性化が乳頭癌と未分化癌のそれぞれについて確認されたことは、自然免疫系が甲状腺の発癌に関与している証拠と考えられ、甲状腺の発癌のメカニズムにおける新知見といえる。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2791 号	氏 名	二 本 柳 康 博
学位審査担当者	主 査	近 藤 元 就
	副 査	三 上 哲 夫
	副 査	弘 世 貴 久
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	島 田 英 昭

学位論文の審査結果の要旨 :

ウイルスの持続感染は、慢性炎症を引き起こす場合がある。近年、慢性炎症ががん化の要因の一つとなっていることが示唆されている。ウイルス感染は、Toll-like receptor (TLR) を含む、パターン認識受容体を介して自然免疫を活性化する。本論文では、自然免疫と甲状腺腫瘍との関連を明らかにする目的で、外科手術時に摘出された乳頭癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 11 例、未分化癌 (anaplastic thyroid carcinoma, ATC) 25 例、さらにコントロールとして結節性過形成 (nodular hyperplasia, NH) 8 例における TLR、および、TLR シグナル伝達に関わる myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88)、Toll/interleukin-1 receptor domain-containing adaptor inducing  $INF-\beta$  (TRIF) の発現を免疫染色により精査した。その結果、それぞれの発現は、いくつかのパターンに分けられることがわかった。すなわち、TLR4 はいずれの場合にも発現が見られなかった一方、TLR3 はいずれにも発現していた。これに対し、TLR5 の発現は NH と比較し、PTC、ATC では低下していた。また、TLR9、TRIF の発現は、NH に比べ、PTC、ATC で共に亢進していた。さらに、TLR2、Myd88 は NH に比し、PTC で上昇していたものの、ATC では有意差は認められなかった。加えて、TLR7 は ATC で亢進していたものの、PTC では NH と有意差はなかった。以上の結果は、自然免疫が PTC や ATC 発症に何らかの関与をしていることを示唆するものである。特に、TLR3-TRIF シグナル軸が、PTC や ATC に至るがん化に関わることが想定され、本研究結果は甲状腺がん発症機構に新たな知見をもたらすものと考えられる。学位審査会では審査委員から様々な質問がなされた。その中で、TLR、MyD88、TRIF の発現パターンと予後の間に相関があるかとの質問がなされた。それに対し、手術後の患者のフォローが病院などにより難しく、解析をするために十分な症例数を確保することができなかった旨の回答がなされた。抗体の特異性については、データベースにより本研究の標的分子を発現していることがわかっている筋組織を含む検体により確認したと回答があった。また、TLR3 を刺激するメカニズムに関する質問に対し、甲状腺にウイルス感染があった場合に加え、他臓器に対するウイルス感染であっても、ウイルス遺伝子由来する 2 本鎖 RNA により TLR3 を刺激し得ることが示された。さらに、実際に PTC や ATC 症例で TLR の活性化が起きているか解析できるか、という質問に対し、TLR 刺激で誘導される IL-1 などの炎症性サイトカインの発現を免疫染色で調べるにより明らかに出来るかもしれないという考えが示された。また、本研究結果の診断への応用に関する議論もなされた。以上、研究論文、および、質疑応答の内容から、審査委員全員一致で本論文は学位に相応しいと結論し、学位審査会を終了した。