

[ワークショップ1 / 子宮内膜症の癌化 Update (1) (疫学・自然史・病理・分子メカニズム)]

子宮内膜症の癌化 —その病理と分子メカニズム—

京都大学大学院医学研究科器官外科学講座婦人科学産科学

万代 昌紀, 山口 建, 松村 謙臣, 馬場 長
濱西 潤三, 小西 郁生

緒 言

子宮内膜症から比較的高頻度に卵巣癌が発生することは、近年よく知られるようになってきた。小林らの報告 [1] や、その他、国内外の報告でも、子宮内膜症症例の約 1%弱が将来卵巣癌を発症すると考えられており、内膜症から発生する卵巣癌を総称して endometriosis-associated ovarian cancer (EAOC) と呼ぶこともある。しかしながら卵巣癌の発生母地としての子宮内膜症がどのような性格をもっており、どのようにして癌が発生するのかといったメカニズムに関しては、まだほとんどわかっていない。EAOC には明細胞腺癌や類内膜癌といった、一般の卵巣癌では比較的まれな組織型のものが多いこともよく知られているが、その理由は不明である。そこで、なぜ内膜症から高頻度に癌が発生するのか？ なぜ特殊な組織型の癌が発生するのか？ という疑問のなかに内膜症の発癌を考えるヒントがあるのではないかと考え、今回、内外の文献のレビューとわれわれの最近の研究から、その答えを探ってみる。

子宮内膜症は腫瘍性病変か？

—クローナリティー解析の結果から

子宮内膜症は WHO や日本産科婦人科学会の分類では「類腫瘍」に分類されており、腫瘍としては正式には認められていない。しかしながら、少なくとも卵巣の子宮内膜症性嚢胞、いわゆるチョコレート嚢胞に関しては多くのクローナリティー解析の研究があり、そのほとんどで嚢胞内の上皮が単クローンであることが示され

ている。すなわち、卵巣の内膜症性嚢胞に関してはすでに腫瘍としての性格を獲得していると考えらるべきである。さらに、さまざまな遺伝子解析においても、内膜症が腫瘍性病変であることを裏づける結果が示されている。CGH・in situ hybridization による染色体の解析や、マイクロサテライト解析等において、内膜症性嚢胞の上皮にはさまざまな LOH が認められることが示されており、また PTEN 等の遺伝子変異があったという報告も認められる。このような結果から内膜症性嚢胞は遺伝子の変異を伴った腫瘍性病変であり、前癌病変としての性格を備えている可能性がある [2]。

EAOC は内膜症からどのようにして発生

するか？—病理学的・分子生物学的解析から

1925年に Sampson らが内膜症と卵巣癌の関連に関して発表して以来、病理学的に内膜症から卵巣癌が発生することを示唆する所見は数多く示されてきた。Scott らは、内膜症から発生した卵巣癌の病理学的な基準を提唱した [3]。この基準は臨床的にみるとやや厳格すぎる感があるが、確かにこれを満たす症例は存在し、内膜症と卵巣癌の関係を示す 1 つの根拠である。さらに、このように内膜症と癌が共存するような症例の遺伝子解析においても両者に共通する遺伝子変異を認めることがあり、内膜症から癌が発生したことを示唆する根拠と考えられている。

異型子宮内膜症—前癌病変としての役割

子宮内膜症と卵巣癌が共存する症例において

両者の移行部を注意深く観察すると、さまざまな程度の異型を示す内膜症上皮が見つかることがあり、異型内膜症と名づけられている。Czer-nobilsky と Morris は194例の内膜症を検討し、高度な異型をもつ子宮内膜症が約3.6%、軽度の異型をもつものが約22%、また、adenomatous hyperplasia 様の所見を示すものが2%に認められたことを報告した [4]。さらに LaGrenade と Silverberg は、内膜症と癌の移行部に異型内膜症を認める7症例を報告した [5]。Fukunaga らの報告では、EAOC の約60%に異型内膜症が認められた [6]。一方、遺伝子解析においても異型内膜症が通常の内膜症と EAOC の中間的な変異状態であることを示すデータもあり、やはり異型内膜症が EAOC への移行病変としての性格をもつことが示唆される。ただし、異型内膜症が EAOC の発生過程でどのような役割を果たしているかは現時点では明確ではない。

EAOC の発生に関与すると考えられる 遺伝子の変化

他の卵巣癌と共通の遺伝子変異として、漿液性腺癌に多い p53 の変異は EAOC の数十%に存在すると報告されている。また、粘液性腺癌で報告されている K-ras の変異もみつかっている。しかしながら、これらの遺伝子変異は総じて頻度が低く、特に明細胞腺癌においては特徴的な遺伝子の変異はみつかっていない。一方、類内膜癌で報告されている PTEN の変異は EAOC でも特に類内膜癌に多く報告され、共通の発生機序が考えられる。また、明細胞腺癌では特異な遺伝子発現として HNF-1 β の強発現が報告されている。すなわち Tsuchiya らはマイクロアレイ解析の結果から、転写因子の1つである HNF-1 β が明細胞腺癌に特異的に発現していることを見出した [7]。その後 Kato らは、免疫組織染色を用いて同様の結果を報告した [8]。われわれの検討でも、マイクロアレイや RT-PCR 解析から明細胞腺癌において確かに HNF-1 β の発現が亢進していた [9]。しかしながら、その機能的な役割や発癌における意義はまだ明らかではなく、今後の検討が必要

である。

以上の文献的検討から、卵巣の子宮内膜症性嚢胞は腫瘍性病変であり、前癌病変的性格を備えている可能性があること、さらに異型内膜症は EAOC との移行病変である可能性があることが示された。しかし、一般の卵巣癌と共通の遺伝子変異の頻度は高くはなく、むしろ、EAOC の発生には特別な要素が関与している可能性をうかがわせた。そこでわれわれは、EAOC の発生に特異的な要因として、子宮内膜症の内部の微小環境に着目した。

子宮内膜症性嚢胞の内部微小環境が 発癌に及ぼす影響 [9]

卵巣の良性腫瘍、すなわち漿液性や粘液性の嚢胞腺腫から卵巣癌が発生することがあるが、その頻度は子宮内膜症性嚢胞から EAOC が発生する頻度に比べて明らかに低い [1]。その原因はさまざま考えられるが、われわれは、内膜症性嚢胞に特有なものとして、微小環境の影響を考えた。内膜症の内容液は陳旧性の血液を含む特殊なものであり、内膜症上皮はこのような環境に常時さらされていることになる。このような微小環境は発癌にどのような影響を及ぼすのだろうか？ まず、内膜症性嚢胞内容液はどのような成分に富んでいるかを調べてみると、血液由来のものと思われる鉄を過剰に含んでいることがわかった。蛋白と結合していない鉄である自由鉄の濃度も、内膜症性嚢胞では他の良性卵巣嚢腫に比べて明らかに高値であった (図1)。自由鉄は酸化ストレスを生成する要因であることが知られているので、次に酸化ストレスの程度を示す lipid peroxidase (LPO) の濃度を測定してみると、これも内膜症性嚢胞で有意に高かった (図1)。さらに細胞傷害の指標である LDH や、DNA 傷害の指標である 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) の蓄積も内膜症性嚢胞で有意に多く認められた。すなわち、内膜症性嚢胞内では高度の酸化ストレスが生じており、そのため内膜症の上皮細胞には細胞傷害や DNA 傷害が多く引き起こされていることが示唆された。実際、内膜症性嚢胞内容液

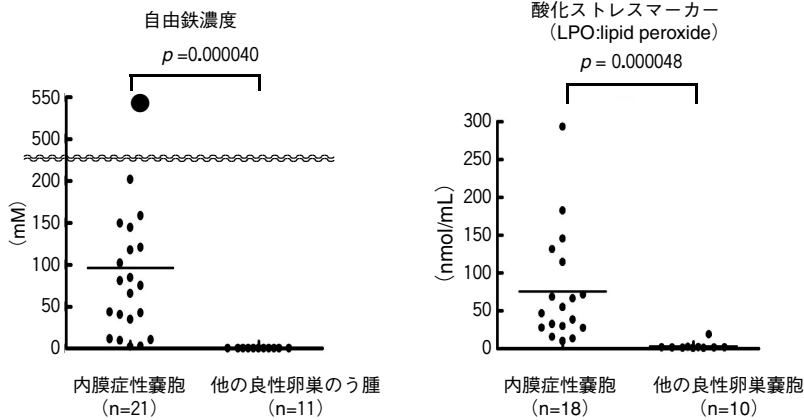


図1 子宮内膜症性嚢胞内容液中の自由鉄濃度と酸化ストレスマーカー値

を培養細胞に添加すると、他の良性卵巣嚢腫に比べて酸化ストレスやDNAの変異が有意に多く起こることがわかった。このように、内膜症性嚢胞内のストレスフルな環境が高い頻度でのEAOCの発癌につながっている可能性が示唆された。

卵巣明細胞癌に特異的な 遺伝子発現の解析〔10〕

それでは、このような環境はEAOCの特殊な組織型にも関連しているのだろうか？この疑問に対する答えを探るために、われわれはEAOC、特に明細胞腺癌という特徴的な組織型において特異的な遺伝子発現を解析することとした。マイクロアレイ解析を用いて、臨床検体と細胞株に共通して明細胞腺癌に高発現していた437遺伝子からなる遺伝子群を抽出し、これをovarian clear cell carcinoma signature (OCCC signature)と命名した。OCCC signatureを用いて、Web上の卵巣癌検体のなかから明細胞腺癌を抽出可能かどうかを調べてみると、調べたすべてのデータベースで再現性良く明細胞腺癌を区別できたことから、確かにOCCC signatureが明細胞腺癌特有の遺伝子群であることが示された。そこで、次にOCCC signature, 437遺伝子中にどのような性格の遺伝子が多く含まれるかを調べてみたところ、驚くことに酸化ストレス関連の遺伝子が有意に数多く含まれていた(図2)。すなわち、酸化ス

トレスに関連した遺伝子は明細胞腺癌を特徴づける遺伝子であるということがいえる。そこで次に、培養細胞に内膜症性嚢胞内容液を添加して遺伝子発現の変化をマイクロアレイで調べてみると、OCCC signature 遺伝子群が経時的に上昇することが示された。すなわち、明細胞腺癌に特徴的な遺伝子群は、内膜症性嚢胞内という特殊な環境に置かれることによって上昇し、その特徴がそのまま癌にも引き継がれていることがわかった。見方を変えると、内膜症性嚢胞内というストレスフルな環境に置かれた上皮細胞は、それに適応するために酸化ストレス関連遺伝子を発現し、その結果として明細胞腺癌という特殊な組織型の癌が発生した可能性も考えられる。

以上のわれわれの検討から、内膜症性嚢胞内の特殊な環境は特異な遺伝子発現を引き起こし、その結果、特徴的な組織型のEAOCが発生する可能性が示唆された(図3)。

まとめ—EAOC発生の全体像〔1〕

ここまで、内膜症性嚢胞内の微小環境に着目してEAOCの発生機序を考えてみたが、EAOCには、明細胞腺癌以外にも類内膜癌や、さらには、mucinous Mullerian borderline tumorをはじめとするさまざまなMuller管由来の癌も発生することが知られており、それぞれ異なった発癌プロセスを経ることが考えられる。内膜症の上皮は形態的に子宮内膜に類似しており、

Categorical (GO Term) 解析

161 datasets in MSigDB c5. all (GO term) 1454 datasets: $p < 0.05$

| rank | MSigID c5. all (GO term) | n.probesets | z.score | p value |
|------|---|-------------|-------------|-------------|
| 1 | <u>SUPEROXIDE_METABOLIC_PROCESS</u> | 12 | 7.194261602 | 3.13998E-13 |
| 2 | INTEGRIN_COMPLEX | 28 | 6.775735948 | 6.18873E-12 |
| 3 | CELL_RECOGNITION | 32 | 6.229988773 | 2.33234E-10 |
| 4 | CARBOHYDRATE_BINDING | 101 | 5.785404312 | 3.61691E-09 |
| 5 | GLYCOSAMINOGLYCAN_BINDING | 52 | 5.390791828 | 3.50739E-08 |
| 6 | POLYSACCHARIDE_BINDING | 54 | 5.248400301 | 7.67128E-08 |
| 11 | <u>OXYGEN_AND_REACTIVE_OXYGEN_SPE-</u> <u>CIES_METABOLIC_PROCESS</u> | 25 | 4.586676267 | 2.25179E-06 |
| 25 | BLOOD_COAGULATION | 71 | 3.47461364 | 0.000255795 |
| 26 | COAGULATION | 71 | 3.47461364 | 0.000255795 |
| 37 | <u>RESPONSE_TO_OXIDATIVE_STRESS</u> | 58 | 3.226961145 | 0.000625562 |
| 41 | MONOSACCHARIDE_BINDING | 13 | 3.15898401 | 0.000791601 |
| 53 | SUGAR_BINDING | 45 | 2.962681471 | 0.00152486 |
| 57 | <u>OXIDOREDUCTASE_ACTIVITY</u> | 443 | 2.821212071 | 0.002392128 |
| 103 | <u>STRESS_ACTIVATED_PROTEIN_KINASE-</u> <u>SIGNALING_PATHWAY</u> | 82 | 2.308532673 | 0.010484764 |

図2 OCCC signature に含まれる遺伝子群 (下線は酸化ストレス関連遺伝子)

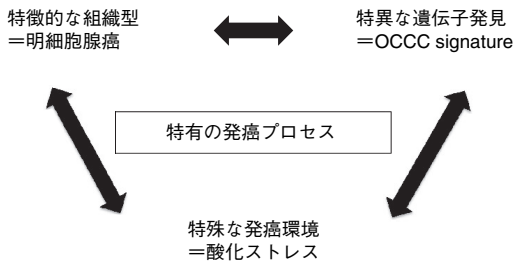


図3 子宮内膜症の癌化における、組織型・遺伝子発現・微小環境の相互関係

エストロゲンの影響を受けての発癌という要素も考えられるだろう。そこで最後に子宮内膜症の悪性転化、すなわち EAO 発生 の全体像を考えると、おそらく、大きく3タイプに分かれると思われる(図4)。すなわち、第1の発癌プロセスは内膜症上皮の Muller 管としての性格を背景とした発癌であり、第2の発癌プロセスは、これにエストロゲンの影響が加わったもの、そして第3の発癌プロセスとして、酸化ストレスに影響された発癌過程が考えられる。もちろん、これはあくまで仮説であり、個々

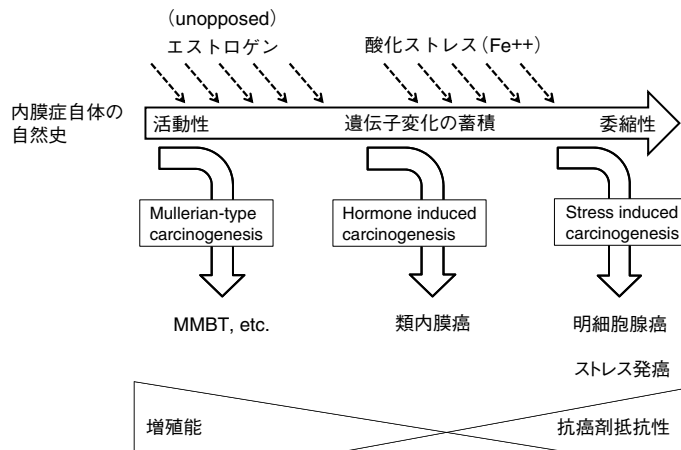


図4 子宮内膜症の癌化メカニズム (仮説)

の症例ではそれぞれの影響が複雑に関係しているものと考えられる。

文 献

- [1] Kobayashi H et al. Risk of developing ovarian cancer among women with ovarian endometrioma: a cohort study in Shizuoka, Japan. *Int J Gynecol Cancer* 2007 ; 17 : 37-43
- [2] Mandai M et al. Ovarian cancer in endometriosis: molecular biology, pathology, and clinical management. *Int J Clin Oncol* 2009 ; 14 : 383-391
- [3] Scott RB. Malignant changes in endometriosis. *Obstet Gynecol* 1953 ; 2 : 283-289
- [4] Czernobilsky B et al. A histologic study of ovarian endometriosis with emphasis on hyperplastic and atypical changes. *Obstet Gynecol* 1979 ; 53 : 318-323
- [5] LaGrenade A et al. Ovarian tumors associated with atypical endometriosis. *Hum Pathol* 1988 ; 19 : 1080-1084
- [6] Fukunaga M et al. Ovarian atypical endometriosis: its close association with malignant epithelial tumours. *Histopathology* 1997 ; 30 : 249-255
- [7] Tsuchiya A et al. Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: identification of hepatocyte nuclear factor-1 beta as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma. *Am J Pathol* 2003 ; 163 : 2503-2512
- [8] Kato N et al. Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) in clear cell tumors and endometriosis of the ovary. *Mod Pathol* 2006 ; 19 : 83-89
- [9] Yamaguchi K et al. Contents of endometriotic cysts, especially the high concentration of free iron, are a possible cause of carcinogenesis in the cysts through the iron-induced persistent oxidative stress. *Clin Cancer Res* 2008 ; 14 : 32-40
- [10] Yamaguchi K et al. Identification of an Ovarian Clear Cell Carcinoma Gene Signature that reflects inherent disease biology and the carcinogenic processes. *Oncogene* 2010 [Epub ahead of print]