

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007 ~ 2009

課題番号：19791168

研究課題名 (和文) 子宮内膜症の卵巢明細胞癌、類内膜腺癌への悪性メカニズムの解析

研究課題名 (英文) The mechanism of carcinogenesis in ovarian clear cell carcinoma and ovarian endometrioid carcinoma from endometriosis.

研究代表者

赤羽 智子 (AKAHANE TOMOKO)

慶應義塾大学・医学部・研究員

研究者番号：40398699

研究成果の概要 (和文)：

卵巢子宮内膜症から卵巢明細胞腺癌、卵巢類内膜腺癌への発癌機構解明を目的とし、子宮内膜症共存癌組織切片個別単離細胞由来 DNA の *p53* 変異と卵巢癌症例 genomic DNA *p53* codon72 (Arg72Pro) 多型解析をした。結果 *p53* 変異は卵巢明細胞腺癌共存良性子宮内膜症細胞にのみ検出され、卵巢癌症例には Pro/Pro 多型が優位に高率であった ($P < 0.003$)。成果より卵巢子宮内膜症発症時の遺伝子変異は異なる組織型への分化要因であり、*p53* codon72 Pro/Pro 多型は卵巢癌予測因子と示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

The origin of ovarian clear cell carcinoma and ovarian endometrioid carcinoma has been speculated to derive from endometriosis. In this research, we revealed the mechanism of carcinogenesis of ovarian clear cell carcinoma and ovarian endometrioid carcinoma from endometriosis. We analyzed both *p53* gene mutation using DNA extracted from pathological section of ovarian clear cell carcinoma and ovarian endometrioid carcinoma with endometriosis obtained by Laser Microdissection method, and the allele frequency of the amino acid variation (c.215 G>C Arg72Pro) of the *p53* gene codon72 using ovarian cancer patient's genomic DNA. We found that *p53* gene mutation was detected in ovarian clear cell carcinoma with endometriosis cells and not in ovarian endometrioid carcinoma of endometriosis, and Pro/Pro allele frequency increased in ovarian cancer patients ($P < 0.003$). These results suggested that the factor *p53* gene mutation is related in the specialization of different pathological types and that *p53* codon72 Pro/Pro allele is a risk factor of ovarian cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	540,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：卵巣癌 卵巣卵巣明細胞腺癌 卵巣類内膜腺癌 子宮内膜症 悪性メカニズム

1. 研究開始当初の背景

卵巣異所性子宮内膜症は性成熟期女性に好発する良性疾患であり、月経困難症を主訴とし、不妊症などの原因疾患として臨床で頻繁に遭遇する。近年の研究において子宮内膜症は、良性疾患であるにも関わらず染色体異常、特に17q染色体の異常が高頻度に検出されることが報告されている(Sato et al. *Cancer Res* 2000)。一方、卵巣癌の中でも卵巣明細胞癌および卵巣類内膜腺癌は同一組織切片内に子宮内膜症の存在が多く認められることから、子宮内膜症が癌発生母地である可能性が1950年代より指摘されており(Scott RB et al *Obstet Gynecol* 1953)、我々が日常業務にて鏡見を行う病理標本中にも、良性の子宮内膜症細胞が核および細胞異型の見られる異型子宮内膜症細胞へと変化し(Fukunaga M et al. *Histopathology* 1997)、癌病変へと連続的に移行する組織像にしばしば遭遇する。卵巣明細胞癌および類内膜腺癌は同一細胞が発癌母地と推測されているにも関わらず、その性質は大きく異なっており、卵巣明細胞癌は白金製剤等の各種抗癌剤に抵抗性を示すなど予後の悪い腫瘍である。さらに染色体レベルの比較において卵巣明細胞癌には卵巣子宮内膜症同様、17q染色体の異常が報告されていることから(Hirasawa et al *Clin*

Cancer Res. 2003)、両者の間には癌化過程において共通の関与が示唆される。しかしながら1950年代から今日に至っても、子宮内膜症からの卵巣明細胞癌および卵巣類内膜腺癌の発癌メカニズムについてその詳細は解明されておらず、性質の大きく異なる両腫瘍の発癌機構について詳細解明が望まれている。

以上の背景より、我々はこれまで子宮内膜症から卵巣明細胞癌と卵巣類内膜腺癌の発癌メカニズムについて以下の検討を行ってきた。卵巣類内膜腺癌と同様の病理組織所見を持つ子宮体部の類内膜腺癌には、エストロゲンが高発現し、その影響による子宮内膜上皮細胞増殖作用があることから、卵巣癌においても子宮内膜症細胞の増殖にエストロゲンの関与が示唆される。つまり子宮内膜症細胞におけるステロイドホルモン感受性の違いが、異なる組織型分化への要因となっているのではないかと推測された。よってエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)の発現を子宮内膜症から異型子宮内膜症さらには癌へと連続的に分化している病理組織切片を用い、免疫組織染による染色性の違いから発現量の比較を行った。その結果 ER、PR の発現は癌部において卵巣類内膜腺癌には強発現しているにもかかわらず、明細胞腺癌では発現を認めなかった。さらに移

行病変部での比較においては、卵巣明細胞腺癌、卵巣類内膜腺癌ともに同一組織内に付随する子宮内膜症細胞には ER、PR の発現を認めたと関わらず、異型子宮内膜症細胞では卵巣明細胞癌に付随する異型子宮内膜症細胞には明らかな発現の減弱があり、卵巣類内膜腺癌では反対に発現の増強が認められた。この染色性の違いから、子宮内膜症から卵巣明細胞癌への発癌機構には、ステロイドホルモン感受性からの離脱が関与し、この違いが同一細胞を発生母地と推測されている両腫瘍の異なる組織型への分化や予後を決定する一要因であることを報告した(Akahane T et al. *Int J Gynecol Pathol.* 2005)。

近年、本邦では卵巣明細胞癌が増加する傾向にあり、2006 年の日本産科婦人科学会における統計調査において欧米諸国の 10% 以下と比較し、日本国内では 21.4% と高率に発生を認め、ここ 30 年間では 5 倍もの増加傾向にある。卵巣明細胞癌は抗がん剤及び白金製剤に抵抗性を示すなど予後不良であり、また卵巣癌は、卵巣が腹腔内臓器であることから簡便な検診法の確立がされておらず早期発見が難しいことから、子宮内膜症細胞からの悪性転化メカニズムの解明による卵巣子宮内膜症罹患患者長期フォローアップからの癌早期介入を目指し、本研究課題は早急に解明すべき課題である。

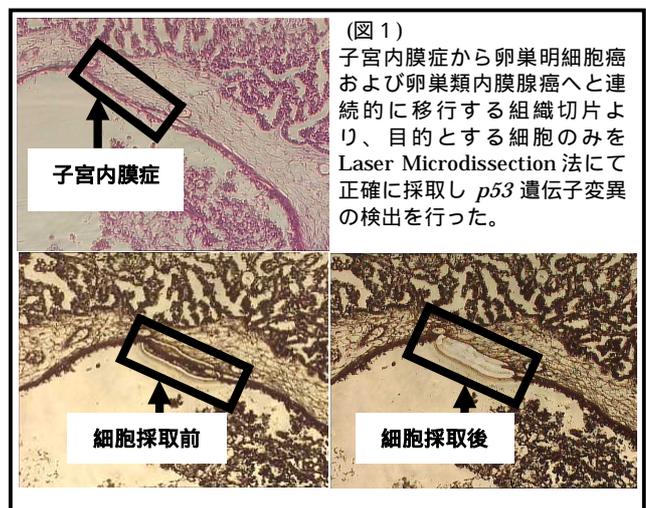
2 . 研究の目的

本研究では卵巣に発症する異所性の子宮内膜症がその発生母地と推測されている卵巣明細胞腺癌および卵巣類内膜腺癌について、良性の子宮内膜症細胞が悪性転化するメカニズムを遺伝子レベルおよび蛋白発現による変化から解明することを目的としている。

3 . 研究の方法

(1) 卵巣癌組織における病理所見変化と *p53* 遺伝子変異の比較

病理学的に子宮内膜症から異型子宮内膜症、卵巣明細胞腺癌および卵巣類内膜腺癌へと連続的に移行している像が確認される病理組織切片を用い、子宮内膜症、異型子宮内膜症、卵巣明細胞腺癌および卵巣類内膜腺癌の各細胞を個別に Laser Microdissection 法にて正確に単離し(図1)、採取した細胞由来 DNA の *p53* 遺伝子変異をダイレクトシーケンス法にて解析を行い癌化に伴って変化する細胞所見と遺伝子変異の有無について解析を行った。



(図1)
子宮内膜症から卵巣明細胞癌および卵巣類内膜腺癌へと連続的に移行する組織切片より、目的とする細胞のみを Laser Microdissection 法にて正確に採取し *p53* 遺伝子変異の検出を行った。

(2) 卵巣癌患者における *p53* 遺伝子多型頻度による発癌リスク解析

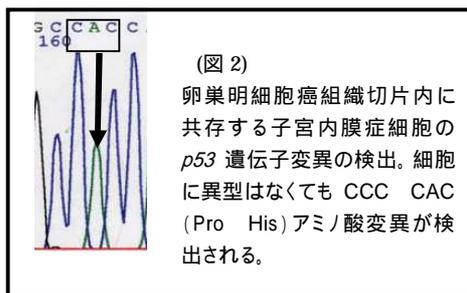
p53 遺伝子のなかでも codon72 位のアミノ酸多型(c.215 G>C Arg72Pro)は他臓器において癌患者に Pro/Pro 多型が高頻度であるとされ、発癌リスク因子として応用できる可能性が高い。しかしながら卵巣癌における報告は少数であることから、卵巣癌患者由来 genomic DNA における当該遺伝子の多型が、卵巣癌における発癌リスク因子となりうるか解析を行った。症例は対象群に卵巣癌 149 症例とし、組織型内訳は卵巣明細胞腺癌、卵巣類内膜腺癌、漿液性腺癌、粘液性腺癌の主要

な上皮性組織症例について解析し、非対象群は非癌症例 86 例とした。多型解析はダイレクトシーケンス法による波形検出を行った。

4. 研究成果

(1) 卵巣癌組織における病理所見変化と p53 遺伝子変異の比較

卵巣明細胞腺癌組織中に共存して見られる子宮内膜症細胞には全症例中の 30% に p53 遺伝子の変異が検出され、また変異の部位は同一症例中の悪性細胞とは異なる位置に検出された。さらに、この変異は卵巣明細胞癌にのみ検出される変異であり、卵巣類内膜腺癌では全く検出されなかったことから(図 2)、卵巣明細胞腺癌と卵巣類内膜腺癌は同一細胞が発生母地と推測されているが、子宮内膜症発症段階での遺伝子の性質は異なることを報告した(Akahane T et al. *Int J Gynecol Pathol*, 2007)。



(2) 卵巣癌患者における p53 遺伝子多型頻度による発癌リスク解析

卵巣癌症例における p53 遺伝子の多型頻度から当該遺伝子の多型が発癌リスク因子となりうるか検索を行った。その結果、非癌患者と比較し卵巣癌患者では、Pro/Pro 多型が優位差をもって高頻度に検出され(p<0.003)、この頻度はこれまでの他臓器における報告と同様の傾向を示した。また卵巣癌症例の中で組織型別頻度の差は検出されなかった。よって当該遺伝子の多型は人種を問わず、卵巣癌においても発癌リスク因子となる可能性が示唆された(表1)。

(表1)

	多型頻度		
	(Arg/Arg Arg/Pro)	Pro/Pro	Arg/Pro
非卵巣癌	78(90.6%)	8(10.4%)	0.62:0.37
卵巣癌	112(75.1%)	37(24.9%)	0.54:0.45

現在本邦において、悪性腫瘍は死亡原因の第一位を占めることから、癌撲滅のための有用な研究および研究成果の臨床応用が早急に望まれている。卵巣癌は、卵巣が腹腔内臓器であることから早期発見が難しい腫瘍の一つである。よって前癌病変からの発癌機構の解明や、発癌リスク因子の解明による発癌症前の早期介入につながる検査法の確立が望まれる。癌早期発見は癌患者における精神的苦痛や経済的負担を軽減するばかりでなく、いまや増加の一途をたどる社会予算全体に占める医療費の削減にもつながることから、本研究の意義は高いと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計3件)

Nagisa Kamioka, Tomoko Akahane, Motoi Ohba et al Protein kinase C δ and η differently regulate the expression of loricrin and Jun family proteins in human keratinocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010 in press (査読有)。

上岡なぎさ、赤羽智子、大場基 他 3 名 ヒト三次元培養皮膚への遺伝子導入法の確立と表皮分化への C キナーゼの関与
昭和医学会誌 2010 in press (査読有)。

Akahane T, Sekizawa A, Purwosunu Y, Nagatsuka M, Okai T. The role of P53 mutation in the carcinogenesis from endometriosis. *Int J Gynecol Pathol*, 26, 2007, 345-351 (査読有)。

[学会発表](計13件)

Matsumura S, Hirasawa A, Akahane T et al Association between the *UGT1A1* polymorphism, bilirubin levels, and dyslipidemia in endometrial cancer. AACR/JCA Joint Conference 2010.2.5-9 Hawaii, USA

Hirasawa A, Akahane T, Matsumura S et al Association between the *UGT1A1* polymorphism, dyslipidemia and endometrial cancer. AACR/JCA Joint Conference 2010.2.5-9 Hawaii, USA

平沢 晃、松村聡子、鶴田智彦、赤羽智子 他6名 ファーマコゲノミクスの臨床応用を目指した新規遺伝子多型診断システムの確立 第30回日本臨床薬理学会年会 平成21年12月3-5日 横浜

Hirasawa A, Akahane T, Tsuruta T et al Effects of *UGT1A1* polymorphism on irinotecan-induced drug reaction and serum bilirubin levels. The 59th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics 2009.10.20-24 Hawaii, USA

Hirasawa A, Akahane T, Tsuruta T et al Analysis of *UGT1A1* *6, *27, *28 and *60 polymorphism and serum bilirubin levels for individualized cancer therapy using irinotecan. The 4th Asian Conference on Pharmacoeconomics 2009.10.23-25 Tainan, Taiwan

富永英一郎、進伸幸、赤羽智子 他4名 子宮体癌における腹腔細胞診の臨床的意義と新規診断マーカーの検索 第50回日本組織細胞化学会総会 平成21年9月26、27日 滋賀

平沢 晃、赤羽智子、鶴田智彦 他5名 *UGT1A1*遺伝子多型と血清ビリルビン値およびイリノテカンの有害事象に関するゲノム薬理学的検討 第54回日本人類遺伝学会 平成21年9月24-26日 東京

平沢 晃、齋藤康一郎、赤羽智子 他6名 子宮体癌におけるマイクロRNAの発現プロファイリング 第46回日本婦人科腫瘍学会学術集会 平成21年7月10日 新潟

鶴田智彦、平沢 晃、赤羽智子 他6名 アレイCGHによる子宮体癌関連遺伝子および薬剤感受性遺伝子の探索(ワークショップ)

第50回日本臨床細胞学会総会
平成21年6月27日 東京

富永英一郎、進伸幸、平沢晃、赤羽智子 他3名 子宮体癌腹腔細胞診の臨床的意義(シンポジウム) 第50回日本臨床細胞学会総会 平成21年6月27日 東京

Hirasawa A, Akahane T, Tsuruta T et al Pharmacogenomic effects of UDP-glucuronosyltransferase1A1 on irinotecan-induced drug reaction and serum bilirubin levels. 2009 European Human Genetics Conference 2009.5.23-26 Vienna, Austria

平沢 晃、赤羽智子、他10名 *UGT1A1*遺伝子多型と血清ビリルビン値の関連および婦人科イリノテカン療法副作用への関与に関する検討 第67回日本癌学会学術総会 2008/10/29(名古屋)

平沢 晃、赤羽智子、他10名 *UGT1A1*遺伝子多型と血清ビリルビン値の関連および婦人科イリノテカン療法副作用への関与に関する検討 第29回日本臨床薬理学会 2008/12/13(東京)

(図書)(計0件)

(産業財産権)

出願状況(計1件)

名称:バイオマーカーとしてのマイクロRNAを用いた婦人科がんの診断・治療選択
発明者:座間 猛 平沢晃 齋藤康一郎
赤羽智子
権利者:座間 猛 平沢晃 齋藤康一郎
赤羽智子

種類:特許

番号:2008-310487

出願年月日:2008/12/4

国内外の別:国内

取得状況(計1件)

名称:バイオマーカーとしてのマイクロRNAを用いた婦人科がんの診断・治療選択
発明者:座間猛 平沢晃 齋藤康一郎
赤羽智子
権利者:座間猛 平沢晃 齋藤康一郎

赤羽智子

種類:特許

番号:2008-310487

取得年月日:2008/12/24

国内外の別:国内

[その他]

ホームページ等

[http://k-ris.keio.ac.jp/Profiles/0150/0017635/
profile.html](http://k-ris.keio.ac.jp/Profiles/0150/0017635/profile.html)

6. 研究組織

(1)研究代表者

赤羽 智子 (AKAHANE TOMOKO)
慶應義塾大学・医学部・研究員
研究者番号:40368699

(2)研究分担者

該当無し

(3)連携研究者

該当無し