

総 説

悪性卵巣腫瘍の分子生物学的発生機序

吉本賢史*、江口礼好*、柳沼裕二**

Molecular carcinogenesis of malignant ovarian tumors

Masafumi Yoshimoto*, Ayami Eguchi*, Yuji Yaginuma**

Key words : ovary, cancer, carcinogenesis, genetics

I. はじめに

卵巣癌は婦人科癌の中で子宮癌に次いで頻度が高く、最も死亡者の多い癌であり、日本では毎年約8300人が発症、約4600人が死亡している¹⁾。80%以上の卵巣癌患者で何らかの症状が出現するが、その症状は胃腸管や泌尿器、生殖器の症状と類似し、早期診断が困難なため、卵巣癌は「サイレントキラー」と言われる^{2,3)}。卵巣癌患者の約70%が診断時には既に進行したステージで、癌細胞は腹腔を含めて広範囲に浸潤・転移しているため、その5年生存率は僅か30%である。そのため、放射線療法や化学療法は進歩したが、卵巣癌患者の生存率は改善していないのが現状である⁴⁾。一方、スクリーニングにより約20%の患者は卵巣内で癌が発見され、その場合の5年生存率は90%を超える⁵⁾。したがって、卵巣癌治療の予後の改善には早期診断・早期治療が重要であり、そのためには卵巣癌の分子病態の理解に基づいた新たな腫瘍マーカーや分子標的治療薬の開発が必要不可欠と言える。

これまで卵巣癌は単一の疾患であると考えられてきたが、現在では様々な形態学的特徴や異なる

病態が混在する複雑な腫瘍であることが明らかになってきた⁴⁾。WHO (World Health Organization) は、卵巣癌を形態学的な違いに基づいて上皮性腫瘍、性索間質腫瘍、胚細胞性腫瘍に大きく分類している⁶⁾。この内、上皮性卵巣腫瘍 (EOC: epithelial ovarian carcinoma) は卵巣癌の約90%を占め、病理組織学的に5つに分類される。すなわち、漿液性腺癌を2つに分類し、高異型漿液性腺癌 (HGSC: high-grade serous carcinoma) と低異型漿液性腺癌 (LGSC: low-grade serous carcinoma)、さらに類内膜腺癌 (EMC: endometrioid carcinoma)、明細胞腺癌 (CCC: clear cell carcinoma)、粘液性腺癌 (MC: mucinous carcinoma) である。このように卵巣癌は、発癌機序の分子生物学的違いにより、不均一で複雑な組織型を示す。加えて、同じ卵巣癌であっても各々の腫瘍細胞で前癌病変や分子生物学的異常、化学療法への反応性と治療効果が異なる (表1)^{7,8)}。

卵巣癌の起源は現在までに長く議論されている。従来の説では、多様な卵巣癌の腫瘍細胞は全て卵巣表面に由来し、その後、異形成変化を経ることで各々異なる細胞型に進行する。しかし、漿液性、類内膜性、明細胞性、粘液性の各腫瘍細胞は、各々

受付日 2013年11月15日 採択日 2014年1月17日

*熊本大学大学院保健学教育部 **熊本大学大学院生命科学研究部構造機能解析学

投稿責任者 (Corresponding author): 柳沼裕二 · yaginuma@kumamoto-u.ac.jp

表1 上皮性卵巣癌の組織形態別の臨床的・分子生物学的特徴⁷⁾

	HGSC	LGSC	EMC	CCC	MC
前癌病変	卵管上皮内癌	漿液性境界悪性腫瘍	異型子宮内膜症	異型子宮内膜症	粘液性境界悪性腫瘍
分子生物学的異常	BRCA1/2異常 p53異常 ゲノム不安定性	BRAF変異 KRAS変異	PI3KCA変異 PTEN変異 CTNNB1変異 ARID1A変異 マイクロサテライト不安定性	HNF-1β過剰発現 PI3KCA変異 PTEN変異 ARID1A変異	KRAS変異 HER2過剰発現
化学療法への感受性	高い	中間	高い	低い	低い
予後	不良	中間	良好	中間	良好

構造・形態学的に卵管上皮、子宮内膜、胃腸管または子宮頸部に類似するが、正常卵巣にこのような細胞は存在しない。また、卵管上皮、子宮内膜、子宮頸部はミューラー型細胞（有線毛円柱上皮）由来であるが、卵巣表層上皮は中胚葉由来であるという矛盾が生じる⁹⁾。そのため、この説に代わって2次性ミューラーシステムが提唱された。この説では、まず排卵時に卵巣表層上皮が卵巣の間質に陥入し、封入嚢胞を形成する。次に、様々な因子により連続的な異形成変化を経てミューラー型細胞になり、悪性転化を経て様々なタイプの卵巣癌を形成する。その後、腫瘍が増大することで、卵巣上の発生母地が圧縮・消失するというものである。また現在では、上皮性卵巣癌の多くはその起源が卵巣外にあり、卵巣へは2次性に波及するという説が提唱され、注目されている^{9,10)}。

最近、KurmanとShihは、卵巣癌を臨床病態および分子生物学的異常によってタイプ1とタイプ2に分類した^{4,11)}。

タイプ1にはLGSC、LG（low-grade：低異型）-EMC、CCC、MC、移行上皮癌が含まれる。このタイプの腫瘍は、無痛性で生存期間は長い、化学療法に対して比較的抵抗性を示す。また、前癌病変から段階的に発生し、診断時は腫瘍細胞が卵巣内に限局していることが多い。分子生物学的

には様々な癌遺伝子（KRAS、BRAF、PI3KCA、ERBB2）の体細胞変異を高頻度に認め、CTNNB1やPTENといった遺伝子にも変異が認められる。しかし、p53変異が認められることは稀である（表2）⁴⁾。

タイプ2にはHGSC、HG（high-grade：高異型）-EMC、CCCの一部、癌肉腫、未分化癌が含まれる。閉経後の女性に生じるEOCの大部分がタイプ2で、始めは化学療法に対して高い感受性を示す。しかし、前癌病変から臨床的に診断される癌まで急速に進行するので、前癌病変で診断することは困難である。そのため、大部分の患者で診断時には卵巣を超えて腫瘍が進展し、腹膜への急速な播種を伴い、EOCの中では最も死亡率が高い。分子生物学的にはタイプ1で認められる遺伝子変異を認めないが、p53変異が高頻度に認められる。また、DNAコピー数が大きく変化し、ゲノム不安定性、染色体不安定性が高頻度に認められる（表2）⁴⁾。

本稿では卵巣癌の起源・分子生物学的異常について概説する。

表2 卵巣癌のタイプ1とタイプ2分類の特徴⁵⁾

	タイプ1	タイプ2
含まれる細胞型	LGSC LG-EMC CCC MC 移行上皮癌	HGSC HG-EMC 癌肉腫 未分化癌
分子生物学的異常	<i>KRAS</i> 変異 <i>BRAF</i> 変異 <i>ERBB2 (HER2/neu)</i> 変異 <i>PI3KCA</i> 変異 <i>PTEN</i> 変異 <i>CTNNB1</i> 変異 <i>ARID1A</i> 変異	<i>p53</i> 変異 <i>BRCA1/2</i> 変異 染色体不安定性
前癌病変	境界悪性腫瘍 異型子宮内膜症	一部の漿液性卵管上皮内癌
進行	緩やかで大部分が早期ステージ	急速で大部分が進行期ステージ

II. 高異型漿液性腺癌

(HGSC : high-grade serous carcinoma)

HGSCは卵巣癌の約70%を占め、その死亡者の約90%を占める。HGSCの約80%が診断時に進行したステージで、腫瘍が卵巣を超えて進展している。腫瘍細胞は奇怪な核や分裂細胞が特徴的で、LGSCとの鑑別に利用される。組織学的には充実性の腺腔を伴った乳頭状構造を示し、HG-EMCや漿液性-明細胞性混在型と誤って診断されることが往々にしてある⁸⁾。

免疫染色の所見では、大部分のHGSCでp53、BRCA1、WT1、p16が陽性となる。WT1に関してはHGSCとLGSCの80%で陽性であるが、その他の卵巣癌ではその陽性率が5%未満である。また、2/3のHGSCやLGSC、EMCでエストロゲン受容体の発現が認められるが、CCCやMCでは認められない¹⁰⁾。

1. 高異型漿液性腺癌の起源

最近、漿液性卵管上皮内癌 (STICs : serous tubal intraepithelial carcinomas) とHGSCの関係が報告され、卵管末端はHGSCの起源に重要であることが明らかになった。これまで卵巣癌の

前癌病変は卵巣内に存在すると考えられていたため、卵管は注意深く調べられていなかった。しかし最近になり、散発性卵巣癌患者の卵管采において、50~60%の頻度でSTICsや初期の浸潤性卵管癌が認められ、これら腫瘍の大部分はHGSCに類似した分泌細胞であることが報告された。また、STICsとそれに伴うHGSCには同一の*p53*変異が存在し、様々な遺伝子異常も類似していた。これらの報告から現在では、STICsの細胞が卵管采の末端から卵巣表面へ剥離・侵入し、2次性に、あたかも卵巣が発生母地であるかのように、HGSCが形成されるという説が注目されている^{12,13)}。

また、STICsや異形成が認められる卵管、正常な卵管の分泌細胞で*p53*の強い発現 (*p53* signature) が報告された。*p53* signatureは、大部分が卵管采末端の分泌細胞に認められ、全*p53* signatureの57%に*p53*変異を含み、さらに同一変異がSTICsに認められた。そのため、*p53* signatureはSTICsの前癌病変であるという主張もある^{14,15)}。しかし、*p53* signatureとSTICsやHGSCとの関連性には以下の疑問点も存在する。例えば、*p53* signatureである*p53*変異が常にSTICsやHGSCで観察されるわけではないこと、ハイリスク (*BRCA* 胚性変異) の有無にかかわらず*p53* signatureの

頻度が一定であること、そしてp53 signatureの保有率と比較してHGSCの有病率が大幅に低いことが挙げられる⁹⁾。

上述したような卵管病変との関連性が認められないHGSCも見られる。この点については、微小なSTICsを見落としている、あるいは浸潤した癌が増大し、STICsが消失した可能性が考えられる^{4,13)}。また、以下の発癌機序も提唱されている。

1) 通常タイプ2経路によって形成されるHGSCの約2%は、SBTやLGSCから進展する場合がある。このようなHGSCは、p53変異を欠き、代わりにKRAS変異を保有している。

2) 卵巣の表層上皮が陥入して生じた封入嚢胞から進展したHGSCである。

3) 排卵時に卵巣表面が破れたときに、正常な卵管采から卵管上皮細胞が卵巣へこぼれ落ちて封入嚢胞を形成し、p53変異を経て一気にHGSCが生じる。封入嚢胞からHGSCが生じるという機序は、排卵の減少が卵巣癌のリスクを減少させるという疫学的に証明されている事実とも合致する^{4,9,16)}。

2. 高異型漿液性腺癌の分子生物学的異常

1) p53変異

HGSCの97%にp53変異が認められる^{2,4,8)}。p53は様々なストレスにより活性化され、細胞周期の停止やアポトーシス誘導に関連した様々な遺伝子発現の活性化やDNA修復を行う癌抑制遺伝子である。そのため、大部分の悪性腫瘍で認められるp53の異常は、DNA損傷の蓄積や染色体不安定性、細胞の異常増殖を招く。

2) BRCA1/2異常

HGSCにおけるBRCA1/BRCA2胚性変異は15%以上、BRCA1/2体細胞変異またはBRCA1プロモーター領域の過剰メチル化は14~22%に認められる。その結果、BRCA1/2の不活化は40~50%のHGSCで生じる^{4,8)}。BRCA1/2は、二本鎖DNAの切断時にヒストン蛋白H2AXなどの作用でDNA損傷部位に集合し、RAD51とともに

細胞周期のS期~G2期の間にDNA損傷を相同組換えにより修復する¹¹⁾。そのため、BRCA1/2機能異常は、損傷DNAの不完全修復や遺伝子変異の蓄積だけでなく、染色体不安定性や染色体数の異常、DNAコピー数の異常を招く¹⁸⁾。例えば、BRCA1またはBRCA2の胚性変異は、家族性乳癌卵巣癌症候群の原因となり、生涯の乳癌発症リスクが50~80%、卵巣癌(大部分がHGSC)発症リスクが30~50%となる^{16,19)}。その原因として、①ホルモンによる乳腺上皮細胞や卵巣上皮細胞の成長促進による酸化的なDNA損傷が二本鎖DNAの切断を引き起こすが、その損傷DNAをうまく修復できないこと、②BRCA1/2が機能喪失した細胞は、相同組換え修復の代わりに修復ミスの起きやすい末端結合修復を行うため、染色体不安定性やDNAコピー数の異常を招くことなどが考えられる^{17,19)}。

通常、BRCA1/2機能喪失は細胞死を誘導するが、HGSCの大部分はp53変異を有しているため細胞死を回避して生存できる。そのため、腫瘍形成早期にp53変異が生じ、その後BRCA1/2変異が生じることで染色体不安定性やDNAコピー数の異常を招くと考えられる(図1)^{2,4)}。

また、HGSCにおける相同組換え修復の破綻は、BRCA1/2の不活化以外にもEMSY増幅(8%)、PTEN欠失(7%)、RAD51C過剰メチル化(2%)などの機序でも起きる。このような機序も含めるとHGSCの50%以上で相同組換え修復は破綻している^{2,8)}。

3) その他の遺伝子およびシグナル経路異常

The Cancer Genome Atlas (TCGA)は489例のHGSCの分子生物学的変化を調査・報告した。この報告によるとp53やBRCA1/2変異を除く、重要な遺伝子変化は6遺伝子(RB1, NF1, FAT3, CSMD3, GABRA6, CDK12)のみであり、そのいずれもが10%未満と低頻度であった²⁾。

また、TCGAはHGSCで認められるシグナル経路の異常も報告している(表3)。

表3 HGSCに認められるシグナル経路異常²⁾

シグナル経路 (異常の割合)	シグナル経路の構成遺伝子とその異常	シグナル経路の機能
Rb (67%)	<i>CDKN2A</i> : 32% (発現減少30%、欠失2%) <i>Rb</i> : 10% (欠失8%、変異2%) <i>CCNE1</i> : 20% (増幅) <i>CCND1</i> : 4% (増幅) <i>CCND2</i> : 15% (発現増加)	<ul style="list-style-type: none"> • Rbおよび<i>CDKN2A</i> (p16) は、G1期で細胞周期を停止する。 • <i>CCND</i> (サイクリンD)-CDK4複合体は、Rbをリン酸化し、細胞周期をG1期からS期へと進める。
PI3K/Akt および PI3K/Ras (45%)	<i>EGFR</i> : 卵巣癌の70%で発現 <i>PTEN</i> : 7% (欠失、変異<1%) <i>NF1</i> : 12% (欠失8%、変異4%) <i>PI3KCA</i> : 18% (増幅、変異<1%) <i>KRAS</i> : 11% (増幅、変異<1%) <i>BRAF</i> : 0.5% (変異) <i>AKT1</i> : 3% (増幅) <i>AKT2</i> : 6% (増幅)	<ul style="list-style-type: none"> • PI3Kは、RasやAktを活性化する。 • Rasは、下流標的蛋白質 (Raf→MEK→ERK) をリン酸化により活性化し、最終的に細胞の増殖・分化を引き起こす。 • Aktは、様々な基質をリン酸化し、細胞の生存・増殖・蛋白質合成・糖代謝亢進を引き起こす。 • PTENは、PI3K/Akt経路を阻害する。
NOTCH (22%)	<i>JAG1</i> : 2% (増幅) <i>JAG2</i> : 3% (増幅) <i>MAML1</i> : 2% (増幅、変異) <i>MAML2</i> : 4% (増幅、変異) <i>MAML3</i> : 2% (変異) <i>NOTCH3</i> : 11% (増幅、変異)	<ul style="list-style-type: none"> • 隣接する細胞表面の<i>JAG1/2</i>がNotch受容体と結合すると、Notch細胞内ドメインが切断され、核へ移行し、MAMLと複合体を形成する。この複合体は下流標的遺伝子の発現を活性化し、細胞増殖を促進する。
相同組換え 修復経路 (51%)	<i>ATM</i> : 1% (変異) <i>ATR</i> < 1% (変異) <i>FA core complex</i> : 5% (変異) <i>FANCD2</i> < 1% (変異) <i>BRCA1</i> : 23% (変異、過剰メチル化) <i>BRCA2</i> : 11% (変異) <i>EMSY</i> : 8% (増幅、変異) <i>RAD51C</i> : 3% (過剰メチル化)	<ul style="list-style-type: none"> • ATM/ATRは、DNA損傷を認識しシグナルを発する。 • <i>BRCA1/2</i>、<i>RAD51</i>などは、相同組換え修復の初期に機能する。
FOXM1 (84%)	<i>FOXM1</i> とその標的遺伝子 (<i>AURKB</i> , <i>CCNB1</i> , <i>BIRC5</i> , <i>CDC25</i> , <i>PLK1</i>) は一貫した過剰発現が認められる。	<ul style="list-style-type: none"> • FOXM1経路は、腫瘍が近接する上皮組織へ進行するときに活性化する。

4) DNAコピー数解析

DNAコピー数変化は遺伝子の増幅や欠失を含み、腫瘍細胞で認められる重要な特徴である。遺伝子増幅は癌遺伝子の活性化や治療抵抗性の機序の1つであり、欠失は癌抑制遺伝子不活化の機序の1つである。

これまでの研究報告からHGSCのDNAコピー数は、LGSCやSBTのそれよりもさらに複雑であることが分かっている。HGSCのDNAコピー数をFISH法で解析した結果、*CCNE1*、*NOTCH3*、*Rsf-1*、*AKT2*、*PI3KCA*が増幅していた(各々36.1%、32.1%、15.7%、13.6%、10.8%)。また、47例のHGSCのDNAコピー数を解析した結果、*Rb* (13q4.2)、*CDKN2A/2B* (9p21.3)、*CSMD1*

(8q23.1~23.3)、*DOCK4* (7q31.1)を含む領域に欠失が認められた(各々10.6%、6.4%、6.4%、4.3%)^{15,16)}。さらに*myc*と関係する8q24がHGSCの80%以上で増幅している¹⁴⁾。

3. 高異型漿液性腺癌の腫瘍形成機序

HGSCの腫瘍形成は次のような機序が考えられる(図1)。つまり、*p53*変異(*p53* signature)はHGSC形成における最初の現象で、これがSTICs形成の早期段階で生じ、次に、*BRCA1/2*などの相同組換え修復の遺伝子に変異が生じ、二本鎖DNA損傷の修復機能が失われる。その結果、染色体不安定性やDNAコピー数変化などが生じ、腫瘍形成は進行する。

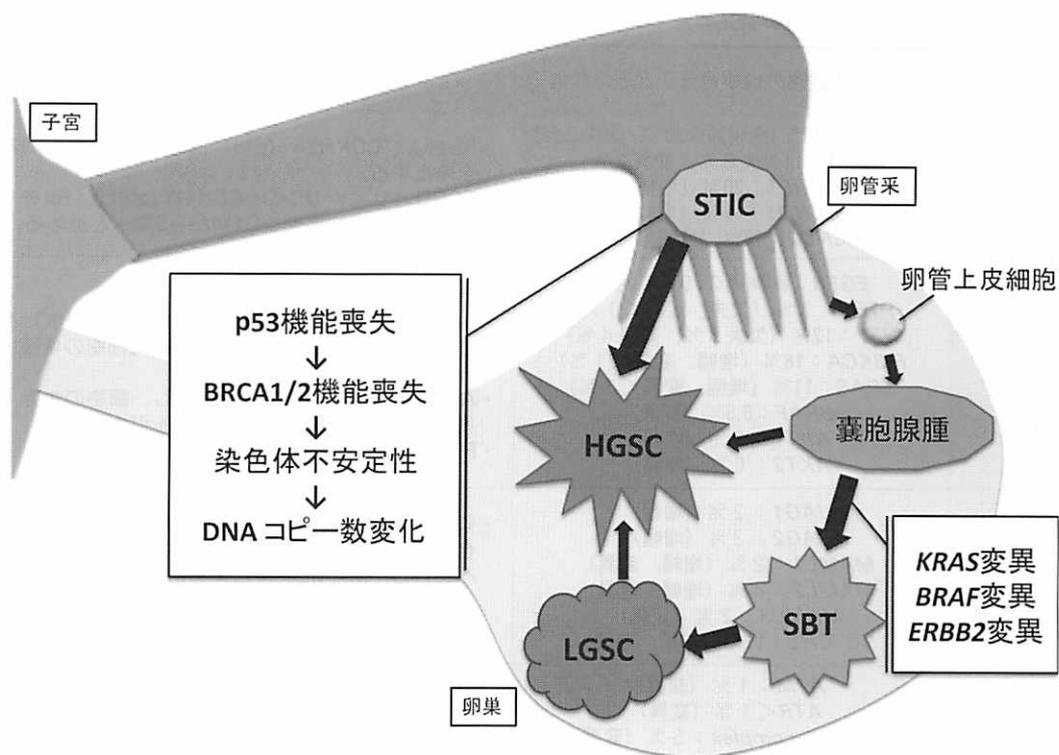


図1 HGSCおよびLGSCにおける起源と発癌機序⁹⁾

III. 低異型漿液性腺癌

(LGSC : low-grade serous carcinoma)

LGSCは漿液性境界悪性腫瘍 (SBT : serous borderline tumor) から生じる腫瘍で、卵巣癌の2%を占める。LGSCの大部分が診断時に卵巣内に限局し、HGSCよりも予後が良い¹³⁾。腫瘍細胞は核サイズが多様 (3倍以上の違いがある) で、砂粒体が認められ、乳頭状構造を示す⁸⁾。

1. 低異型漿液性腺癌の起源

LGSCの前癌病変であるSBTは、異型増殖漿液性腫瘍 (APST : atypical proliferative serous tumors) と微小乳頭状漿液性腺癌 (MPSC : micropapillary serous carcinomas) の2つに分けられる⁴⁾。現在までに、LGSCの60%にMPSCが関係すること、APSTやMPSCが浸潤性のLGSCに伴うこと、そして後述するような遺伝子異常が、

APSTとそれに近接する腺腫でも認められるという報告がある。したがって、腺腫からAPST、MPSC、LGSCへと段階的に進展すると考えられる^{4,23)}。

2. 低異型漿液性腺癌の分子生物学的異常

1) Rasシグナル経路の異常活性化

LGSCの分子生物学的異常で重要なのは、KRAS-BRAF-MEK-MAPKシグナル経路の活性化で、この経路の一連の活性化はSBTとLGSCの60~70%に認められる。LGSCとSBTの38%にKRAS (特にコドン12) 活性化変異が、19%にBRAF活性化変異が認められる。さらに、APSTに伴った漿液性嚢胞腺腫でもこれらの変異が認められる。すなわち、KRASおよびBRAF活性化変異は、漿液性嚢胞腺腫からAPSTに至る過程で生じる。KRASおよびBRAF活性化変異は、恒常的なMAPK/ERKシグナル経路の活性化を招

き、活性化ERKが下流の蛋白質キナーゼや転写因子(例えば、mycやelk-1)を活性化し、制御不能な細胞増殖を誘導することで腫瘍形成とその進展に参与する^{6,13)}。また、LGSCとSBTの9%には*ERBB2*(*HER2/neu*)の12塩基挿入変異と、この変異によるKRAS上流の制御因子の活性化が認められる。興味深いことに*ERBB2*の12塩基挿入変異を伴う腫瘍は、*KRAS*及び*BRAF*変異が認められないという報告もある^{13,20)}。

一方で、HGSCで認められた*p53*変異や*BRCA1/2*変異、染色不安定性などは通常認められない¹⁶⁾。

2) DNAコピー数解析

LGSCでは染色体1p、5q、8p、18q、22q、Xpなどが不安定で、その染色体不安定性はAPST、MPSC、LGSCへと進展するにつれて増大する。特に重要なのは、染色体1p36欠失と染色体9p21.3欠失である。染色体1p36のLOH (loss of heterozygosity) はLGSCに共通して生じるが、SBTでは稀である。この領域には*CHD5*、*miR-34a*などの癌抑制遺伝子候補が存在する。*miR-34a*は神経芽腫、大腸癌、膵癌、非小細胞肺癌で癌抑制能を示す蛋白質で、MPSCやLGSCでは*miR-34a*の欠失・発現レベル減少が認められる。染色体9p21.3領域には*p15*、*p16*、*Arf*をコードする*CDKN2A/2B*が存在している。つまり、SBTからLGSCへの進展には染色体1pや9p領域の癌抑制遺伝子の不活化が重要であると考えられる^{13,21)}。

3. 低異型漿液性腺癌の腫瘍形成機序

LGSCの腫瘍形成は次のような機序が考えられる(図1)。つまり、排卵時に卵巣表面が破れたときに卵管采から卵管上皮細胞が卵巣へこぼれ落ちて封入嚢胞を形成し、漿液性嚢胞腺腫または線維腺腫から*KRAS*変異、*BRAF*変異、*ERBB2*変異などを蓄積することでSBT(APSTからMPSCへ)を経て、LGSCへ進展する。

IV. 類内膜腺癌

(EMC: endometrioid carcinoma)

EMCは卵巣癌の約10%を占め、大部分が閉経後の女性に発症する。HGSCと比較して大部分が低悪性度であり、EMCの50%以上が診断時に卵巣内に限局している¹⁶⁾。そのため予後は良い。

LG-EMCの腫瘍細胞は核異型が弱く、形態学的には子宮体部の内膜腺に類似し、著明な腺形成を示す。また、約50%の症例で扁平上皮への分化が認められる¹⁶⁾。一方、HG-EMCは形態学的にHGSCとの鑑別が困難である。そのため、HG-EMCはHGSCの亜種あるいはHGSCとHG-EMCの混在やEMC様のHGSCと考えられている^{4,10)}。

1. 類内膜腺癌の起源と子宮内膜症の悪性転化のメカニズム

EMCやCCCと子宮内膜症の関係は長年注目され、その他の卵巣癌とは異なる独自の腫瘍形成機序が考えられてきた。子宮内膜症は子宮内膜組織が子宮外に生じる疾患で、生殖年齢の5~10%が罹患している。卵巣に生じる子宮内膜症は、子宮内膜組織が月経時に卵管を通して逆流し、異所性部位に着床することで発生するという説が主流で、他にも遺伝学的要因、ホルモン要因、免疫学的要因を含む多彩な病因が報告されている^{23,24)}。子宮内膜症の60%が卵巣に生じ、反復する出血により子宮内膜症の病巣が嚢胞(チョコレート嚢胞)を形成する。子宮内膜症は良性であるが、悪性腫瘍と似た性質、例えば癌のように浸潤、波及する性質を示す。また、卵巣表面や体腔に影響し慢性的痛みや不妊の原因となるだけでなく、EMCやCCCのリスクを約3~9倍増加させる。日本人を対象とした無作為試験では、子宮内膜症患者の0.72%が卵巣癌へ進行したとの報告もある²⁵⁾。

最近、子宮内膜症からの卵巣腫瘍発生機序が徐々に明らかになり、チョコレート嚢胞内の微小環境の影響や遺伝子変異の蓄積が重要であることが分かってきた。以下にその概要を述べる。

1) ヘム鉄および遊離鉄による酸化ストレスの誘導
酸化ストレスは ROS (reactive oxygen species) を産生し、過剰な ROS は様々な疾患、例えばアテローム性動脈硬化、糖尿病、心血管系疾患、神経変性疾患、肺線維症、肝疾患、老化そして癌を引き起こすことが知られている²⁶⁾。卵巣では繰り返す出血により子宮内膜症の病巣がチョコレート嚢胞を形成し、その中に高濃度の古い血液を含むようになる。古い血液はヘム鉄や遊離鉄を含むため酸化ストレスが誘導され、過剰な ROS が生じる。また、遊離鉄の蓄積以外にも嚢胞内は低酸素といった異常な微小環境にあり、ROS を誘導する一因であることが考えられる。過剰な ROS や異常な微小環境は、チョコレート嚢胞の上皮細胞に対して細胞障害や DNA 損傷、LOH を引き起こし、悪性転化の原因となる^{27,28)}。

2) 炎症

炎症と子宮内膜症の関係についてはいくつかの報告がある。例えば、子宮内膜症の周囲に誘導された炎症細胞は、異所性子宮内膜組織の成長と浸潤を促進する。また、サイトカイン IL-6 は子宮内膜症や EMC で増加し、腫瘍形成に関係している。さらに、異所性子宮内膜組織は IL-1 β に高感受性である。IL-1 β は COX-2 の発現を上昇させることで腫瘍形成を促進する PGE₂ の合成を誘導し、腫瘍形成や血管新生、アポトーシス抑制などに関係する²⁹⁾。

3) エストロゲン

過剰エストロゲン状態は乳癌、子宮体癌、卵巣癌の悪性転化に関与することが知られている^{23,24)}。加えて子宮内膜症と過剰エストロゲン状態について次のように報告されている。

例えば、正常な子宮内膜組織には存在しないアロマターゼ（アンドロゲンをエストロゲンへ変換する酵素）が、子宮内膜症病変部で活性化している。また、子宮内膜症病変部では 17 β -HSD タイプ 1 の発現増加および 17 β -HSD タイプ 2 の発現

減少が認められ、エストロンより活性の強いエストラジオールが増加している。エストラジオールは COX-2 を刺激することで PGE₂ を誘導する。このように、エストロゲンは子宮内膜症から EOC への悪性転化に関与している^{22,24)}。

エストロゲン受容体の発現については、特に子宮内膜症や EMC で過剰発現していることから、“unopposed estrogen” 状態が腫瘍形成に重要であることが分かっている^{24,29)}。一方、後述するように CCC はエストロゲン受容体の発現が減少し、エストロゲン非依存性である。

4) 遺伝子変異

EMC に近接する子宮内膜症で、EMC と同一の染色体領域の LOH や同一の遺伝子変異が報告されている。例えば、Jiang は、子宮内膜症 40 症例中 29 例 (72%) で p53 や KRAS 変異が起こり、他にも染色体 6q、9p、11q、17q、17p、22q の LOH を報告している。さらに、子宮内膜症や EMC、CCC において、PTEN が存在する 10q23.3 の LOH (各々 42.1%、27.3%、56.5%) や PTEN 体細胞変異 (各々 8.3%、20.6%、20%) が高頻度に認められるという報告もある²⁹⁾。

最近、ARID1A 変異が EMC や CCC、それらに近接する異型子宮内膜症に認められることが報告された。Wiegend は、119 例の CCC と 33 例の EMC を解析し、各々 55 例 (46%) と 10 例 (30%) に ARID1A 変異を認めた。Yamamoto は、ARID1A 変異は悪性病変部と近接する異型子宮内膜症に認められるが、悪性病変部から離れた子宮内膜症には認められないことを報告した。また、PI3KCA 変異は近接する子宮内膜症の 90% に同一の変異が認められ、この内 60% が異型のない子宮内膜症であった。これらの報告から、ARID1A 変異と PI3KCA 変異は腫瘍形成の初期の現象であると考えられる^{23,24)}。

p53 変異による機能不全 p53 蛋白質の過剰発現も子宮内膜症の悪性転化に重要である。Nezhat は、EMC や CCC に接する子宮内膜症に p53 蛋白質

の蓄積（各々9%と25%）が認められ、癌を伴わない子宮内膜症にはp53蛋白質の蓄積が認められないことを報告した。つまり、子宮内膜症から異型子宮内膜症や卵巣癌への進展に機能不全p53蛋白質の過剰発現が重要であると考えられる²⁹⁾。

マイクロサテライト不安定性が子宮内膜症の80%以上、EMCの12.5~19%に認められ、これは腫瘍形成の早期の現象である。マイクロサテライト不安定性は、ミスマッチ修復系の遺伝子（*MLS1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2*）が不活化している慢性炎症部位に認められる。これらの報告から、慢性炎症を伴う子宮内膜症や癌は酸化ストレスを生じ、これがミスマッチ修復蛋白質の機能を不活化することでマイクロサテライト不安定性を引き起こすと考えられる^{10,30)}。

2. 類内膜腺癌の分子生物学的異常

1) PI3K/PTEN経路の異常

PI3K/PTEN経路の脱制御は、*PTEN*不活化変異と*PI3KCA*活性化変異によって生じる。*PTEN*機能の不活化はEMCの20%に認められ、その内の46%が染色体10q23のLOHが原因である。*PTEN*不活化変異はエクソン3と8に集中している。*PI3KCA*活性化変異はEMCの20%に認められ、エクソン9と20に集中しているが、頻度はCCCより低い^{4,5)}。*PI3KCA*は、PI3Kのサブユニットであるp110 α をコードする遺伝子で、*PI3KCA*活性化変異はPI3Kの活性化を招く。活性化PI3Kは、下流の標的蛋白質を活性化することで細胞の生存、増殖、糖代謝亢進、蛋白質合成などを引き起こす。さらに、PI3KはRasシグナルと相互に活性化し合うことも知られている。その他、*KRAS*変異や*BRAF*変異がEMCの10%に認められる³¹⁾。

2) Wnt/ β -catenin経路の異常

Wnt/ β -catenin経路の脱制御は、EMCの40%以上で認められる。その大部分が β -cateninをコードする*CTNNB1*の活性化変異による。*CTNNB1*

変異はエクソン3のコドン32、33、37、41に集中し、この変異を被った β -cateninはAPCによる分解に対して抵抗性となり、 β -cateninが腫瘍細胞の核へ蓄積する。核へ蓄積した β -cateninは、TCF/LEFと複合体を形成し、標的遺伝子（例えば、*cyclinD*や*c-myc*など）の転写を活性化する。また、稀に*APC*、*AXIN1*、*AXIN2*など β -cateninの分解に必要な蛋白質の不活化変異が認められる^{4,10)}。

3) *ARID1A*変異

腫瘍に近接する子宮内膜症やEMC、CCCで*ARID1A*変異が報告された。*ARID1A*がコードするBAF250はSWI/SNFとクロマチンリモデリング複合体を形成する。この複合体はいくつかのサイトカインや低酸素応答転写因子（例えば、HIF1やSTAT3）と相互作用することでシグナルを調節するため、癌抑制遺伝子であると考えられる^{11,16)}。

4) *p53*変異

LG-EMCにおいて、*p53*変異は通常認められない。一方、HG-EMCではWnt/ β -catenin経路やPI3K/PTEN経路の異常が認められない代わりに、*p53*変異や*BRCA1/2*機能喪失が認められる^{4,30)}。

5) DNAコピー数解析

EMCには、染色体4q、5q13-14、6q14-15、9p21、10p23.3、11q23、22q13を含む領域で共通したLOHが認められる³⁰⁾。

3. 類内膜腺癌の腫瘍形成機序

EMCの腫瘍形成は次のような機序が考えられる（図2）。つまり、月経血の逆流などにより卵巣に到達した子宮内膜組織から子宮内膜症が生じ、過剰エストロゲン状態などの微小環境の影響や遺伝子変異の蓄積によって異型子宮内膜症から悪性転化を起し、類内膜性境界悪性腫瘍

(endometrioid-borderline tumor) を経て EMC が生じる。

また、一部の HG-EMC は、*p53* 変異に加えて LG-EMC に認められる遺伝子変異も伴っているため、稀ではあるが LG-EMC から HG-EMC へ進展することも考えられる⁴⁾。

V. 明細胞腺癌

(CCC: clear cell carcinoma)

CCC は卵巣癌の約 4~12% を占めるが、日本人では 20% 以上と増加傾向にある。患者の 60% 以上がステージ 1~2 であるが、化学療法に抵抗性を示すため一般的に予後は悪い。また、大部分の CCC 患者は骨盤内あるいは腹腔に腫瘍塊があり、さらに患者の 40% が血栓塞栓症を併発するという特徴がある^{11,26,30)}。

CCC の腫瘍細胞はグリコーゲンを貯留した淡明細胞で複雑な乳頭状構造を示す。また、管腔や嚢胞を裏打ちする釘状細胞 (hobnail 細胞) や他

の卵巣癌と比較して細胞分裂が低頻度であるという特徴がある。

免疫染色の所見では、CCC の 90% 以上が HNF-1 β 陽性、95% 以上がエストロゲン受容体と WT1 陰性である^{10,11,16)}。

1. 明細胞腺癌の起源

CCC も EMC と同様に、大部分が異型子宮内膜症を前癌病変として発生する。EMC および CCC は、*PTEN* 欠失や *ARID1A* 変異などが共通して認められるが、腫瘍形成には異なる分子生物学的機序が関係している。例えば、EMC では Wnt シグナル経路の異常やマイクロサテライト不安定性が認められるが、CCC では稀である。一方、CCC ではテロメアが他の EOC より長く、予後不良の一因となっている⁴⁾。また、EMC は “unopposed estrogen” 状態であるのに対し、CCC はエストロゲン非依存性である³⁰⁾。

子宮内膜症は異所性に生じた子宮内膜組織なので、そこから EMC が生じることは理にかなって

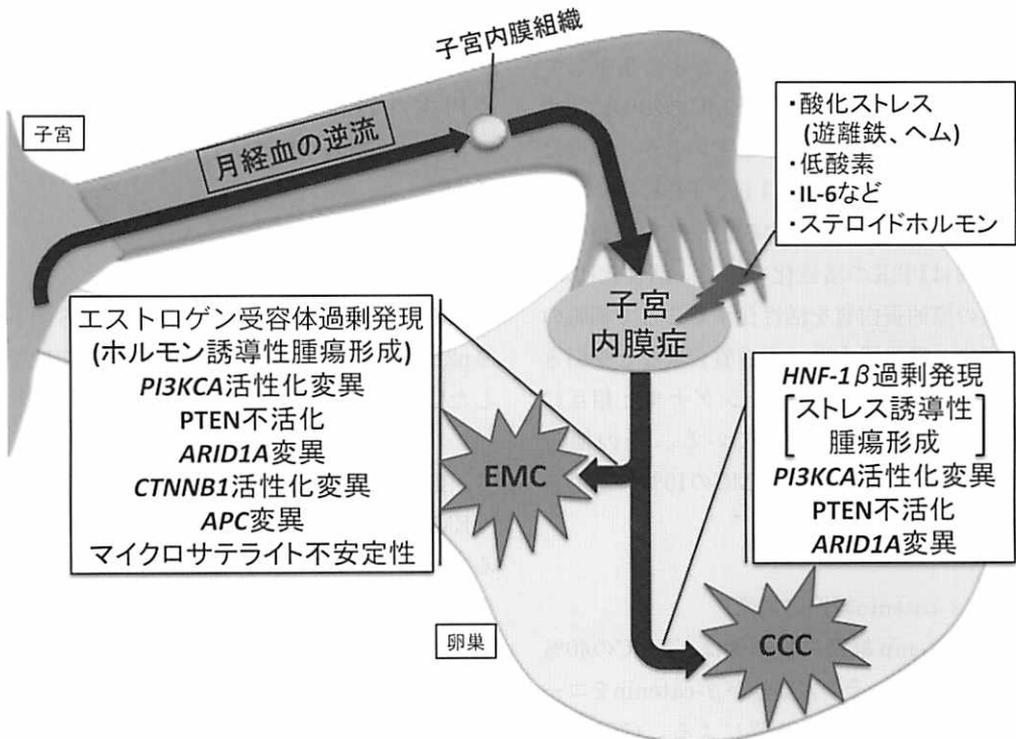


図2 EMCおよびCCCにおける発癌機序⁹⁾

いるが、CCCが高頻度に生じる機序については依然として不明な点が多い。しかし最近、CCCの腫瘍形成機序が少しずつ明らかになってきた。以下にその概要を述べる。

1) 酸化ストレスの蓄積

月経血の逆流や排卵時の卵巣からの出血によりヘム鉄や遊離鉄がチョコレート嚢胞内に蓄積し、その酸化ストレスに対して生じたROSがDNA損傷やLOHを引き起こすという腫瘍形成機序が考えられている (図3)。

2009年Kajiharaは、CCCにおいて他の卵巣癌と比較して過剰発現している遺伝子54個を報告した。その内の47 (87%) の遺伝子が酸化ストレス応答遺伝子、22 (40.7%) の遺伝子が*HNF-1β*の下流に位置する標的遺伝子であった²⁶⁾。また、Yamaguchiらはマイクロアレイ解析によりCCCに特徴的に発現している遺伝子を同定し、これをOCCC (ovarian clear cell carcinoma) signatureとして報告した。OCCC signatureは、CCCの発

癌機序において重要である *HNF-1β* や *HIF-1α* を含み、ストレス反応性、糖代謝、凝固の3つのグループに分類できる。特に、ストレス反応性経路を構成する遺伝子がOCCC signatureの重要な部分を占め、ストレス関連遺伝子である *HNF-1β*、*p21*、*HIF-1α*、*IL-6*、*STAT3* といった遺伝子を含む大規模なシグナルネットワークが、CCCにおいて活性化している。さらに、チョコレート嚢胞の上皮細胞を嚢胞内液 (つまり高濃度の遊離鉄やヘム鉄など) に暴露し続けることで、時間依存性にエピジェネティックなメカニズムによってOCCC signatureが誘導されるという報告がある^{25,31)}。

2) *HNF-1β* の過剰発現

HNF-1β は胚発生時に重要な働きをする転写因子で、標的遺伝子の転写を活性化することで抗アポトーシス作用、グリコーゲン蓄積、解毒作用などを行う。上述したように、子宮内膜症やCCCに *HNF-1β* とその下流の標的遺伝子が過剰発現していることから、CCCの腫瘍形成の早期にHNF-

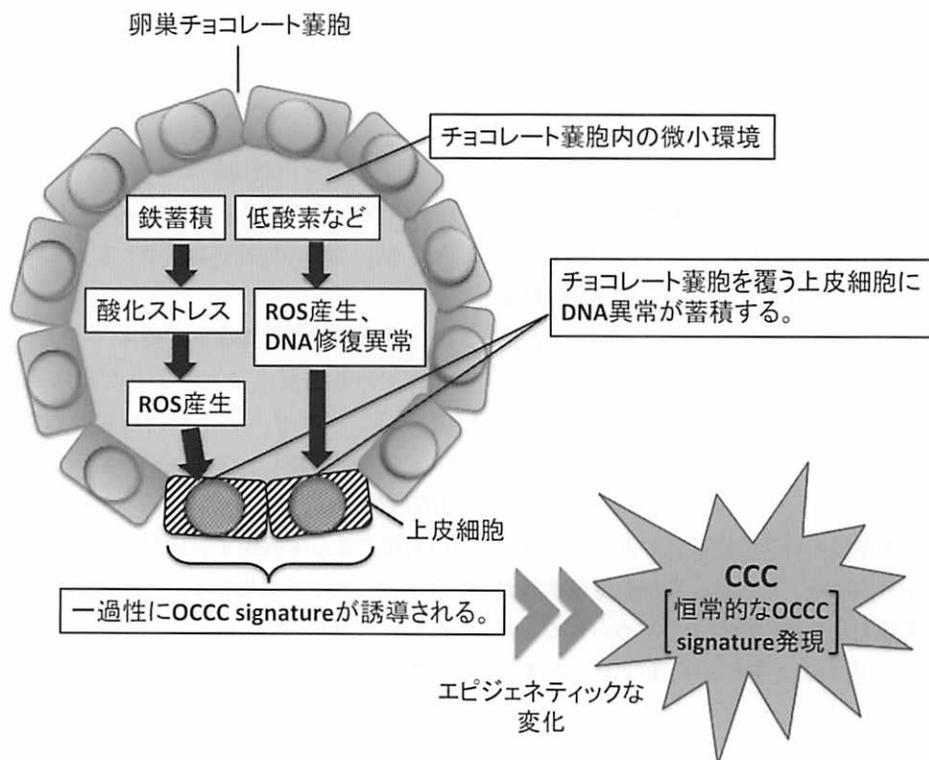


図3 チョコレート嚢胞の悪性転化とCCCの発生機序²⁵⁾

1 β が重要な役割を担っていると考えられる²⁹⁾ (図3)。

また、*HNF-1 β* 過剰発現は酸化ストレスと関係し、さらにエストロゲン受容体の発現減少や細胞内へのグリコーゲン蓄積、強力な抗アポトーシス作用、化学療法への抵抗性といったCCCの特徴とも関係する³⁰⁾。

3) エストロゲン受容体の発現減少

大部分のCCCにおいて、エストロゲン受容体- α のプロモーター領域の過剰メチル化によりその発現が減少あるいは喪失している。その機序についてはいくつかの報告がある。例えば、CCC形成時に酸化ストレスに長時間曝露し続けることで、DNAメチル基転移酵素が阻害され、エストロゲン受容体のプロモーター領域が過剰メチル化状態になる。また、蓄積した鉄はエストロゲン受容体と結合し、フェンロン反応によってROSを生じ、エストロゲン受容体の損傷を招く。さらに興味深いことに、CCCで過剰発現している*HNF-1 β* がその下流の標的蛋白質を介してエストロゲン受容体発現やエストロゲン反応を抑制するという報告もある。エストロゲン受容体の発現減少はホルモン療法への抵抗性を招く²⁹⁾。

2. 明細胞腺癌の分子生物学的異常

1) PI3K/PTEN経路の異常

CCCではEMCと同様に、PI3K/PTEN経路を脱制御する*PI3KCA*活性化変異(約50%)、*PTEN*欠失(約20%)が共通して認められる³¹⁾。

2) *ARID1A*変異

*ARID1A*変異はCCCの50%に認められ、さらに近接する異型のない子宮内膜症の86%、ほぼ全ての異型子宮内膜症、その他、明細胞腺線維腫および境界悪性明細胞腺線維腫でも認められることから、CCC形成のごく初期の現象であると考えられる^{11,16)}。

3) その他の遺伝子異常

SNP (single nucleotide polymorphism) 解析によって*ZNF217*の増幅と*CDKN2A/2B*の欠失が高頻度に認められ、CCCの腫瘍形成に重要であることが示唆されている²²⁾。

細胞周期においてG2期停止を誘導する*PP2A*は過剰発現した*HNF-1 β* により転写が抑制されている。また、*PP2A*のA- α サブユニットである*PPP2R1A*変異がEMCと同様にCCCの7%で報告されている^{11,29)}。

PLKはEmi1をリン酸化することで細胞周期をS期に進め、腫瘍形成やゲノム不安定性を引き起こす蛋白質で、酸化ストレスにより急速に活性化されるが、異所性子宮内膜組織で過剰発現しているという報告がある³⁰⁾。

mTORは、PI3K/Akt経路の下流に位置する蛋白質で、様々な腫瘍で異常が認められているが、CCCでも*mTOR*過剰発現の報告がある。また、子宮内膜症やCCCにおいて、mTORのリン酸化とその活性化も報告されている³⁰⁾。

その他、ミスマッチ修復蛋白質の*MLS1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2*がCCCの10%で発現減少している³¹⁾。

4) DNAコピー数解析

CCCでは染色体1p、9p、9q、10q、11qの欠失と8q、20qの増幅が報告されている⁵⁾。

3. 明細胞腺癌の腫瘍形成機序

CCCの腫瘍形成は次のような機序が考えられる(図2)。つまり、子宮内膜症の病変部に酸化ストレスが蓄積し、ストレス応答遺伝子の発現と*HNF-1 β* 過剰発現が起こり、さらに遺伝子変異の蓄積によって異型子宮内膜症から悪性転化を起こすことでCCCは生じる。

最近の研究で、稀だが一部のCCCは明細胞腺線維腫から生じるという報告もある。さらに、明細胞腺線維腫にも子宮内膜症のように染色体5q(*APC*が存在する)や10q(*PTEN*が存在する)、

22qのLOHが認められる。この明細胞腺線維腫から生じるCCCでは、APC変異やPTEN変異は腫瘍形成における早期の現象で、染色体1pや13qのLOHは後期の現象と考えられている³⁰⁾。

VI. 粘液性腺癌

(MC : mucinous carcinoma)

MCは卵巣癌の約10~15%を占めるが、胃の腫瘍から卵巣への転移を除いたMCは約3%と稀である⁴⁾。診断時、卵巣原発のMCは一側性で腫瘍塊が13cmより大きく、転移性のMCは両側性で腫瘍塊が小さいという特徴がある。また、大部分のMCが境界悪性腫瘍やステージ1であるため予後は良いが、転移や再発症例のMCは予後不良である。腫瘍細胞は胃腸管または子宮頸部の細胞に類似するが、その大部分は胃腸分化を示す^{8,10)}。

免疫染色の所見では、卵巣原発MCの80%以上でサイトケラチン(CK)7が陽性である(一方、大腸腺癌の場合陰性)。CK20やCDX-2免疫染色では、卵巣原発MCの65%において陽性だが、その反応性は弱い(一方、大腸腺癌の場合強陽性)。また、大部分の卵巣原発MCでDpc4は強陽性である(一方、転移性膵癌の50%で陰性)。さらに、HPV DNAやp16発現によって卵巣原発MCと子宮頸癌からの転移性MCを鑑別する。

MCは浸潤の形態から拡大性浸潤と侵入性浸潤の2つに分けられる。拡大性浸潤は高度の異型を示す腺管が間質の介在を伴わないで浸潤する。侵入性浸潤は癌細胞が間質内に不規則に浸潤する。拡大性浸潤を示すMCの方が予後は良い¹⁰⁾。

1. 粘液性腺癌の起源および腫瘍形成機序

MCの起源については未だ解明されていないが、傍卵巣や傍卵管に位置する正常な移行上皮と関係していることから、卵管-腹膜境界の移行上皮が起源であると考えられている^{4,8)}。

MCは不均一であることが多く、良性腫瘍、境界悪性腫瘍、非浸潤性MC、浸潤性MCが1つの

腫瘍に共存している。加えて、同一のKRAS変異が、MCとそれに近接した粘液性嚢胞腺腫や境界悪性腫瘍でも認められるため、粘液性嚢胞腺腫から境界悪性腫瘍、さらにMCへ進展すると考えられる^{6,8,10)}。

2. 粘液性腺癌の分子生物学的異常

MCで頻繁に認められる遺伝子変異はKRAS変異(75%)である。また、HER2増幅や過剰発現が15~20%に認められる^{4,5)}。

VII. 終わりに

卵巣癌には多種多様な組織型が存在し、発癌機序に関しても不明な点が数多く残っている。さらに、治療成績に関しても満足できる状況にないのが現状である。しかし、これまで述べたように遺伝子レベルでその実態は徐々に解明されてきている。今後、発癌機序を含めた卵巣癌の生物学的特性に対する理解を深めることで、新たな腫瘍マーカーによる腫瘍の早期発見や新たな分子標的治療薬の開発などを通して卵巣癌の治療成績を向上させることが望まれる。

文 献

- 1) Haruta S, et al : Molecular genetics and epidemiology of epithelial ovarian cancer (Review). *Oncol Rep.* 2011; 26 : 1347-56.
- 2) The Cancer Genome Atlas Research Network : Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature.* 2011; 474 : 609-15.
- 3) Bast Jr, et al : The biology of ovarian cancer : new opportunities for translation. *Nat Rev Cancer.* 2009; 9 : 415-28.
- 4) Kurman RJ, et al : Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer-shifting the paradigm. *Hum Pathol.* 2011; 42 : 918-31.
- 5) Cho KR, et al : Ovarian cancer. *Annu Rev Pathol.* 2009; 4 : 287-313.
- 6) Smolle E, et al : Targeting signaling pathways in epithelial ovarian cancer. *Int J Mol Sci.* 2013; 14 : 9536-55.

- 7) Gilks CB, et al : Ovariancarcinomopathology and genetics : recent advances. *Hum Pathol.* 2009; 40 : 1213-23.
- 8) Gurung A, et al : Molecular abnormalities in ovarian carcinoma : clinical, morphological and therapeutic correlates. *Histopathology.* 2013; 62 : 59-70.
- 9) Kurman RJ, et al : The Origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer : a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol.* 2010; 34 : 433-43.
- 10) Prat J : Ovarian carcinomas : five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch.* 2012; 460 : 237-49.
- 11) del Carmen MG, et al : Clear cell carcinoma of the ovary : a review of the literature. *Gynecol Oncol.* 2012; 126 : 481-90.
- 12) Vang R, et al : Fallopian tube precursors of ovarian low-and high-grade serous neoplasms. *Histopathology.* 2013; 62 : 44-58.
- 13) Vang R, et al : Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma : pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Adv Anat Pathol.* 2009; 16 : 267-82.
- 14) Bowtell D D : The genesis and evolution of high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer.* 2010; 10 : 803-8.
- 15) Lee Y, et al : A candidate precursor to serous carcinoma that originates in the distal fallopian tube. *J Pathol.* 2007; 211 : 26-35.
- 16) Prat J : New insights into ovarian cancer pathology. *Ann Oncol.* 2012; 23 : 111-7.
- 17) Weberpals J I, et al : Targeting genetic and epigenetic alterations in the treatment of serous ovarian cancer. *Cancer Genet.* 2011; 204 : 525-35.
- 18) 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. *Cli Cancer Res.* 2008; 14 : 32-40.
- 19) Roy R, et al : BRCA1 and BRCA2 : different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer.* 2011; 12 : 68-78.
- 20) Berns E M, et al : The changing view of high-grade serous ovarian cancer. *Cancer Res.* 2012; 72 : 2701-4.
- 21) Kuo K T, et al : Analysis of DNA copy number alterations in ovarian serous tumors identifies new molecular genetic changes in low-grade and high-grade carcinomas. *Cancer res.* 2009; 69 : 4036-42.
- 22) Schüler S, et al : Ovarian epithelial tumors and reproductive factors : a systematic review. *Arch Gynecol Obstet.* 2013; 287 : 1187-204.
- 23) Worley M J, et al : Endometriosis-associated ovarian cancer : a review of pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2013; 14 : 5367-79.
- 24) Munksgaard PS, et al : The association between endometriosis and ovarian cancer : a review of histological, genetic and molecular alterations. *Gynecol Oncol.* 2012; 124 : 164-9.
- 25) Mandai M, et al : Ovarian clear cell carcinoma as a stress-responsive cancer : influence of the microenvironment on the carcinogenesis and cancer phenotype. *Cancer Lett.* 2011; 310 : 129-33.
- 26) Kajihara H, et al : Clear cell carcinoma of the ovary : potential pathogenic mechanisms (Review). *Oncol Rep.* 2010; 23 : 1193-203.
- 27) Mandai M, et al : Ovarian cancer in endometriosis : molecular biology, pathology, and clinical management. *Int J Clin Oncol.* 2009; 14 : 383-91.
- 28) Kobayashi H : Ovarian cancer in endometriosis : epidemiology, natural history, and clinical diagnosis. *Int J Clin Oncol.* 2009; 14 : 378-82.
- 29) Tanase Y, et al : Modulation of estrogenic action in clear cell carcinoma of the ovary (Review). *Exp Ther Med.* 2012; 3 : 18-24.
- 30) Kobayashi H, et al : Molecular pathogenesis of endometriosis-associated clear cell carcinoma of the ovary (Review). *Oncol Rep.* 2009; 22 : 233-40.
- 31) Yamaguchi K, et al : Identification of an ovarian clear cell carcinoma gene signature that reflects inherent disease biology and the carcinogenic processes. *Oncogene.* 2010; 29 : 1741-52.