

学位論文題名

子宮体部内膜型腺癌における
ステロイドスルファターゼ活性に関する研究

学位論文内容の要旨

緒言

子宮体癌において、天然あるいは合成エストロゲンによる発癌性やエストロゲンが腫瘍の増殖性を促進することはよく知られている。

このような全身的なかつ慢性的な高エストロゲン環境の他に、子宮体癌の発癌・増殖機構の一つとして、子宮内膜局所において何らかのメカニズムにより高エストロゲン環境が関与しているものと考えられている。

ステロイドスルファターゼ (E.C.3.1.6.2., 以下 STS と略す) は主に血中に多量に存在する硫酸化ステロイドホルモンを脱硫酸化し活性ステロイドホルモンへ変換する酵素である。本酵素 STS は広くヒト組織に分布し特に胎盤においては豊富に存在している。

子宮体癌組織において STS 酵素活性が高まっているとの報告があるが、正常子宮内膜組織における STS 活性の有無や月経周期による変動、子宮体癌における分化度による STS 活性の差異や正常内膜との活性の差などについての詳細な検討はなされていない。そこで、臨床検体を用いた STS の解析により子宮体癌の病理組織学的予後因子と局所のエストロゲン環境の形成との関係を明らかにすることを本研究の目的とした。

対象と方法

1. 対象および方法

用いられた検体に関しては、全てインフォームドコンセントを得たものである。新鮮凍結検体は正常子宮内膜組織 13 例 (35±1.5 歳, mean±S.E), 子宮体癌組織 14 例 (56.3±3.5 歳), 免疫組織学化学的検討は正常子宮内膜組織 39 例(40.3±10 歳), 子宮体癌 103 例 (55.1±1.0 歳) で 1988FIGO 分類, I 期 59 例, II 期 11 例, III 期 26 例, IV 期 7 例である。培養細胞株は子宮体部漿液性腺癌培養株 SPAC-L, 低分化型腺癌 HOUA, 低～高分化型腺癌 HEC-1, 高分化型腺癌 HHUA の 4 種類である。

STS 酵素活性は [7-³H] DHEA 硫酸を基質としてその活性を測定した。

Western blot 法にて STS タンパク質の解析を行った。免疫組織化学的染色では、検鏡は中拡大 (200×) で 10 視野以上検鏡し、腺組織の腺細胞全体のうち陽性細胞の割合に応じて 3 つのカテゴリーに分類した。腺細胞全体の 0～25% が染色された場合を negative staining とし、25～75% を positive staining, 75～100% を strongly positive staining として検討した。

さらに子宮体癌組織の免疫組織化学的染色では FIGO(1988)の進行期分類, および子宮体癌の病理組織学的予後因子 (組織分化度, 核異型度, 頸管浸潤, 筋層浸潤, 脈管侵襲, リンパ節転移) との比較検討をおこなった。

研究結果

1. 正常子宮内膜組織の STS 酵素活性は増殖期初期から増殖期中期 (73.2±12.8 pmol/mg/hr ,

means \pm S.E., n=4)と比較して増殖期後期から排卵期 (119.4 \pm 6.7 pmol/mg/hr, n=4)が有意に高値を認めた。正常子宮内膜組織の免疫組織化学的染色所見と月経周期との関連では、分泌期初期から分泌期中期にかけてもっとも染色性が增強しており、増殖期初期から中期および分泌期後期から月経期と有意(p<0.01, p<0.05)な差をみとめた。

2. 体癌培養細胞ではHOUA (6.1 \pm 5.8 pmol/mg/hr, means \pm S.E.)が最も活性が低く、高分化型腺癌培養株 HHUA(368.0 \pm 2.0 pmol/mg/hr)の活性がより分化度の低いHOUA, HEC-1(88.9 \pm 27.1 pmol/mg/hr)に比べて有意(p<0.01)に高かった。またHHUAは有意(p<0.01)にSPAC-LよりSTS活性が高かった。

Western blot法でもHHUAで最もバンドが強く、以下HEC-1, SPAC-L, HOUAの順に弱くなり、STS酵素活性の測定結果との関連を認めた。

3. 正常子宮内膜組織および子宮体癌のSTS酵素活性を比較すると、子宮体癌組織の酵素活性 (190.2 \pm 41.8 pmol/mg/hr, range: 71.4~544.8 pmol/mg/hr)は正常内膜 (92.6 \pm 9.2 pmol/mg/hr, 41.4~136.2 pmol/mg/hr)に比べて有意(p<0.05)に高値を示した。またWestern blot法の結果でも酵素活性の測定結果と一致していた。

4. 子宮体癌組織の免疫組織化学的染色による解析では、STSタンパクは腫瘍細胞に局在し、病理組織学的予後因子との関連では組織分化度と核異型度とに有意(p<0.05)な相関があった。また生存率の解析ではstrongly positive群の生存率が他の群と比べて高く、positive群との間に有意(p<0.05)な差を認めた。

考察

STS酵素活性の解析および免疫組織学的検討により、正常子宮内膜組織におけるSTSの発現は、増殖期後期、排卵期にかけて増加し、増殖期後期以降は再び活性が低下していることが明らかとなり、またSTS酵素タンパクが内膜腺細胞細胞質に集積していることが明らかとなった。

以上の様に正常子宮内膜組織中のSTSの発現は、月経周期において変動を示し、下垂体-卵巣の協調作用と一元的にとらえられやすいエストロゲンの月経周期による変動が、少なくとも標的臓器である子宮内膜においては腺細胞自身のSTSによってポジティブに修飾されることを示し、非常に興味深いと思われた。培養細胞の検討では、培養細胞株の分化度が高くなるとSTSの発現も高まり、またエストロゲンとその発癌との関係が報告されていない漿液性腺癌培養細胞株SPAC-Lに比べて、高分化型腺癌培養株HHUAのSTSの発現が有意に高く、高分化型腺癌のSTSを介するエストロゲンの関与が強く示唆されたものと考えた。

Western blot法にて培養細胞中の酵素タンパク量を解析すると、STS酵素活性と相関しており、活性の差が主として酵素タンパク量に依存し、STS酵素活性、酵素タンパク質量が遺伝子レベルでの調整に依存することが示唆される。

正常子宮内膜組織と比較すると子宮体癌のSTS酵素活性が高くなっており、さらにWestern blot法による検討でも、子宮体癌の場合、正常子宮内膜組織にくらべてSTS酵素タンパクの発現量が増加していた。したがって正常子宮内膜組織と比較して、STS酵素活性の上昇は、その酵素発現量の増加によるものと考えた。

子宮体癌の病理組織学的予後因子の中で組織学的分化度、核異型度の2つに、STSタンパクの発現との関連がみとめられたが、STSの発現が病理学的な分化度に相関する事が明らかになった。

また免疫組織化学的染色の程度により分類した3群の間には臨床進行期に差はないものの、予後に差があることが明らかとなり、子宮体癌におけるSTSの発現が新たに子宮体癌の予後因子の一つとなる可能性が示唆された。

結語

STSの免疫組織化学的染色およびタンパクレベルでの検討などにより、正常子宮内膜組織のSTSの局在や月経周期による変動、子宮体癌の病理組織学的予後因子および予後との関連において若干の新しい知見を今回得ることが出来た。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 石 橋 輝 雄

副 査 教 授 吉 木 敬

副 査 教 授 藤 本 征一郎

学 位 論 文 題 名

子宮体部内膜型腺癌における

ステロイドスルファターゼ活性に関する研究

子宮体癌組織においてステロイドスルファターゼ (E.C.3.1.6.2., 以下 STS と略す) 活性が高まっているとの報告があるが, 正常子宮内膜組織における STS 活性の有無や月経周期による変動, 子宮体癌における分化度による STS 活性の差異や正常内膜との活性の差などについての詳細な検討はなされていない. そこで, 臨床検体を用いた STS の解析により子宮体癌の病理組織学的予後因子と局所のエストロゲン環境の形成との関係を明らかにすることを本研究の目的とした.

STS 酵素活性は [^3H] DHEA(Dehydroepiandrosterone)硫酸を基質として活性を測定し, Western blot 法にて STS タンパク質の解析を行った. 免疫組織化学的染色では, 検鏡は中拡大 (200 \times) で 10 視野以上検鏡し, 腺組織の腺細胞全体のうち陽性細胞の割合に応じて 3 つのカテゴリーに分類した. 腺細胞全体の 0~25% が染色された場合を negative staining とし, 25~75% を positive staining, 75~100% を strongly positive staining として検討した. さらに子宮体癌組織の免疫組織化学的染色では FIGO(1988)の進行期分類, および子宮体癌の病理組織学的予後因子 (組織分化度, 核異型度, 頸管浸潤, 筋層浸潤, 脈管侵襲, リンパ節転移) との比較検討をおこなった.

1. 正常子宮内膜組織の STS 酵素活性は, 増殖期初期から増殖期中期 (73.2 ± 12.8 pmol/mg/hr, means \pm S.E, n=4) と比較して増殖期後期から排卵期 (119.4 ± 6.7 pmol/mg/hr, n=4) が有意に高値を示した. 正常子宮内膜組織の免疫組織化学的染色所見と月経周期との関連では, 分泌期初期から分泌期中期にかけてもっとも染色性が増強しており, 増殖期初期から中期および分泌期後期から月経期と有意 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) な差をみとめた.

2. 子宮体癌培養細胞では HOUA (6.1 ± 5.8 pmol/mg/hr, means \pm S.E.) が最も活性が低く, 高分化型腺癌培養株 HHUA (368.0 ± 2.0 pmol/mg/hr) の活性がより分化度の低い HOUA, HEC-1 (88.9 ± 27.1 pmol/mg/hr) に比べて有意 ($p < 0.01$) に高かった. また HHUA は有意 ($p < 0.01$) に SPAC-L より STS 活性が高かった. Western blot 法でも HHUA で最もバンドが強くなり, 以下 HEC-1, SPAC-L, HOUA の順に弱くなり, STS 酵素活性の測定結果との関連を認めた.

3. 正常子宮内膜組織および子宮体癌の STS 酵素活性を比較すると, 子宮体癌組織の酵素活性 (190.2 ± 41.8 pmol/mg/hr, range: 71.4~544.8 pmol/mg/hr) は正常内膜 (92.6 ± 9.2 pmol/mg/hr, 41.4~136.2 pmol/mg/hr) に比べて有意 ($p < 0.05$) に高値を示した. また Western blot 法の結果で

も酵素活性の測定結果と一致していた。

4. 子宮体癌組織の免疫組織化学的染色による解析では、STS タンパクは腫瘍細胞に局在し、病理組織学的予後因子との関連では組織分化度と核異型度とに有意($p < 0.05$)な相関があった。また生存率の解析では strongly positive 群の生存率が他の群と比べて高く、positive 群との間に有意($p < 0.05$)な差を認めた。

公開発表に際し、副査の吉木教授から、正常内膜組織と子宮体癌組織の免疫組織化学的染色に関して、nonspecific な反応 (cross reaction) をどのように排除したか、分化型腺癌のエストロゲンレセプターの発現に関しての検討、STS の発現と組織の分化との関係、抗 STS 製剤による体癌治療の可能性についての質問があった。また副査の藤本教授から、月経周期のある症例の免疫染色において、腫瘍部分とそこから離れた正常内膜部分との染色性の相違について、STS の分子変異による活性の変化の可能性についての質問があった。最後に主査の石橋教授から、正常子宮内膜の採取方法、血中のエストロゲンレベルの変動と STS 活性との関係について質問があった。

いずれの質問に対しても、申請者は、対象症例の統計学的解析結果、過去の文献情報、自身の研究経験をもとに概ね妥当な回答をなした。

審査員一同は、本研究の成果を高く評価し、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。