

## 子宮内膜症の類腫瘍的变化

— DNA マイクロアレイを用いた子宮内膜症の遺伝子発現解析 —

西川 伸道

新潟大学大学院医歯学総合研究科

生殖器官制御分野 (産科婦人科)

(主任: 田中憲一教授)

### Neoplastic Change of Endometriosis

Nobumichi NISHIKAWA

*Division of Obstetrics and Gynecology,*

*Graduate School of Medical and Dental Sciences,*

*Niigata University*

*(Director: Prof. Kenichi TANAKA)*

#### 要 旨

子宮内膜症は婦人科疾患でも多く見られる疾患の一つであるが、その病因、進展機序などは未だに統一した見解が得られていない。そこで、今回は DNA マイクロアレイを用いて子宮内膜症組織と正常子宮内膜を比較し、遺伝子の発現レベルがどのように変化しているかを検討した。対象サンプルは患者より同意を得られた子宮内膜症の増殖期 5 例、分泌期 4 例、正常子宮内膜の増殖期 5 例、分泌期 4 例の手術摘出組織とした。方法は、各組織より mRNA を抽出・精製し、cDNA 合成、cRNA 合成を経た後、DNA マイクロアレイにハイブリダイズさせた。そして、マイクロアレイ上の既知の約 12000 遺伝子について、月経周期別に子宮内膜症と正常子宮内膜間について比較した。統計解析は、T 検定で群間差が  $P < 0.05$  かつ両者の発現レベル比が 3 倍以上のものを有意とした。解析の結果、正常子宮内膜の月経周期間 (増殖期、分泌期) の比較では、月経周期に依存して 123 遺伝子が有意な発現差を示した。一方子宮内膜症では月経周期に依存して 37 遺伝子が有意に変化を示し、著明にその数が減少していた。そして正常子宮内膜群と子宮内膜症群に共通して月経周期間で発現差を認めた遺伝子は、そのうち 1 遺伝子のみであった。さらに、正常子宮内膜と子宮内膜症の比較では、294 遺伝子が有意な発現差を示した。これらの遺伝子を機能別に分類すると、細胞増殖因子やアポトーシス関連因子、癌関連因子など癌化に関係する因子の発現が 38 遺伝子 (12.9%) 認められていた。今回の結果、子宮内膜症では、月経周期に依存する遺伝子発現変化がほとんどなく、また正常子宮内膜とは全く異なる遺伝子

Reprint requests to: Nobumichi NISHIKAWA  
Division of Obstetrics and Gynecology  
Graduate School of Medical and Dental Sciences  
Niigata University  
1-754 Asahimachi-dori,  
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通り 1-754  
新潟大学大学院医歯学総合研究科産科婦人科  
西川 伸道

プロファイリングであった。加えて、発現変化した遺伝子には癌関連因子などの遺伝子が多く認められていたので、子宮内膜症は遺伝子レベルで見える限りにおいて腫瘍的变化を伴う組織である可能性が示唆された。

キーワード：子宮内膜症, DNA マイクロアレイ

## 緒 言

子宮内膜症とは、子宮内膜あるいはその類似組織が異所性に増殖、浸潤し、周囲組織と強固な癒着を形成することで発症する主要な産婦人科疾患である。その結果、月経痛、性交痛、慢性骨盤痛などの様々な疼痛の原因となり、さらには不妊症を合併する。結果、生殖能の低下の原因となりうるもので、社会的にも問題となっている疾患である。また、生殖年齢婦人の約10%に発症する極めて頻度の高い疾患であるにもかかわらず、その発症病因はいまだ明らかではない。子宮内膜症の発生と増殖、進展には卵巣ホルモンであるエストロゲンが大きく関与し、卵巣ホルモンの周期的分泌に反応して、内膜症病巣が増殖し、徐々に進行するものと考えられている。また、子宮内膜症は卵巣癌(特に明細胞腺癌と類内膜腺癌)との合併が多く、前癌病変を示唆する数多くの報告がなされている。そこで今回私は、DNA マイクロアレイを用いて子宮内膜症組織と正常子宮内膜を比較し、遺伝子発現レベルでの変化について検討した。

## 対象と方法

### 対 象

インフォームドコンセントにより同意を得た子宮内膜症患者9例の卵巣チョコレート嚢胞組織と、9例の正常子宮内膜組織を対象とした。子宮内膜症患者の進行期はrAFS分類(revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis)<sup>1)</sup>でⅢ、Ⅳ期であり、手術前6ヶ月以内にホルモン療法をしていない症例を対象とした。また性周期は増殖期5例、分泌期4例であった。一方正常子宮内膜は、子宮筋腫により子宮全摘術を施行した増殖期5例、分泌期4例をコン

トロール群とした。

### 方 法

#### mRNAの抽出

total RNAは、 $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した組織をグアニジンフェノール法(ISOGEN, NipponGene, Tokyo, Japan)にて抽出した。単離したtotal RNAはBioAnalyzer 2100(Agilent Technologies, CA, US)により28S rRNAと18S rRNAの比を測定し、この値をもとにtotal RNAの分解が起こっていないことを確認した。さらに、オリゴdTラテックス(Oligotex<sup>TM</sup>-dT30, Takara Shuzo, Shiga, Japan)により、ポリ(A)<sup>+</sup>RNAを精製した。

#### mRNAからcDNAの合成

これ以降の実験はAffymetrix GeneChip Expression Analysis Technical Manual(Affymetrix, CA, US)に記載されているプロトコールに従って行った。まずポリ(A)<sup>+</sup>RNA  $1.5\mu\text{g}$ にT7-(dT)<sub>24</sub> primer(100pmol/20 $\mu\text{l}$ ; Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, US)を $1\mu\text{l}$ 加え、 $70^{\circ}\text{C}$ で10分間加熱し、氷上で急冷した。1本鎖cDNA合成にはGibco BRL SUPERScript Choice System(Invitrogen Life Technologies, CA, US)を用いた。5 $\times$ First Strand Buffer  $4\mu\text{l}$ , 0.1 M DTT  $2\mu\text{l}$ , 10mM dNTP Mix  $1\mu\text{g}$ を加えて $42^{\circ}\text{C}$ で2分間インキュベートし、SUPERScript II RTを $1.5\mu\text{l}$ 加えた後、 $42^{\circ}\text{C}$ で1時間インキュベートして逆転写反応を行った。続いて、1本鎖cDNAにDEPC処理水  $91\mu\text{l}$ , 5 $\times$ Second Strand Buffer  $30\mu\text{l}$ , 10mM dNTP Mix  $3\mu\text{l}$ , *E.coli* DNA Ligase  $1\mu\text{l}$ , *E.coli* DNA polymerase I  $4\mu\text{l}$ , *E.coli* RNase H  $1\mu\text{l}$ を加えて $16^{\circ}\text{C}$ で2時間インキュベートした後、T4 DNA polymerase  $2\mu\text{l}$ を加えてさらに5分間インキュベートし、2本鎖cDNAを合成した。そ

の後 0.5 M EDTA を 10  $\mu$ l 加えて反応をストップさせた。その後フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール抽出により 2 本鎖 cDNA を精製した。

#### ビオチン化 cRNA の合成および精製

80 % エタノールを加えて -20 °C で保存していた cDNA は、エタノールを除去した後乾燥させ、DEPC 処理水 22  $\mu$ l に溶かしてビオチン化 complementary RNA (cRNA) 合成に使用した。ビオチン化 cRNA 合成には BioArray Highyield RNA Transcript Labeling Kit (Enzo Diagnostics, Farmingdale, NY, US) を用いた。2 本鎖 cDNA に 10 $\times$ HY Reaction Buffer 4  $\mu$ l, 10 $\times$ Biotin Labeled Ribonucleotides 4  $\mu$ l, 10 $\times$ DTT 4  $\mu$ l, 10 $\times$ RNase Inhibitor Mix 4  $\mu$ l, 20 $\times$ T7 RNA Polymerase 2  $\mu$ l を加えて 37 °C で 4 時間インキュベートした。この間 30 分毎に穏やかに混ぜ合わせながら反応させた。続いて、RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, US) を用いてビオチン化 cRNA を精製した。

#### ビオチン化 cRNA の断片化およびターゲットの調整

Milli Q 水に溶かしたビオチン化 cRNA 50  $\mu$ g に 5 $\times$ Fragmentation Buffer (4.0ml 1 M Tris-acetate (pH8.1), 0.64g MgOAc, 0.98g KOAc, 20ml DEPC 処理水) を 20  $\mu$ l 加え、94 °C で 35 分間加熱し、約 35-200 塩基の断片にした。ここから 10  $\mu$ l のビオチン化 cRNA を採取して Hybridization Cocktail を作成し、これをハイブリダイゼーションターゲットとした。ターゲット 80  $\mu$ l を Test 3 Array に注入し、GeneChip Hybridization Oven 640 (Affymetrix) 内にて 45 °C で 16 時間ハイブリダイゼーションを行い、ハウスキーピング遺伝子である  $\beta$ -actin と GAPDH の 3' / 5' のシグナル比が 3 以下のものを採用した。Human Genome U95A Array へのハイブリダイゼーションには 30  $\mu$ l のビオチン化 cRNA を使用して Hybridization Cocktail を作成し、ターゲット 200  $\mu$ l を 45 °C で 16 時間ハイブリダイズさせた。

#### GeneChip の洗浄と染色およびスキャンニング

GeneChip の洗浄と染色は、Affymetrix が推奨する Antibody Amplification Washing and Staining Procedure に従い、GeneChip Fluidics Station 400 (Affymetrix) により行った。洗浄と染色をした GeneChip を GeneArray Scanner (Hewlett-Packard, CA, US) に移してスキャンニングを行った。

#### シグナルの補正およびデータ解析

スキャンニングによって得られたシグナルは、Microarray Suite 4.0 (Affymetrix) により Average Difference (Avg Diff) として計算した。Avg Diff とは、各遺伝子の発現量を相対的に示す値であり、配列特異的なパーフェクトマッチオリゴヌクレオチドプローブのシグナル (PM) の総和から、プローブ中に 1 塩基のミスマッチを持つミスマッチオリゴヌクレオチドプローブのシグナル (MM) の総和を引き、それをプローブペアの数で割って各遺伝子に対して算出するものである。シグナルの信頼性は、Affymetrix の測定基準によって、高い順に Present, Marginal, Absent と設定され、解析は信頼性の高い Present のプローブセットの遺伝子に対してのみ行った。

続いて、Microarray Suite から得られたデータをもとに、GeneSpring 4.2 software (Silicon Genetics, CA, US) を用いてシグナルの補正 (Per Chip Normalization と Per Gene Normalization) を行った。補正後のシグナルは、子宮内膜症群と正常子宮内膜群で Welch の T 検定により統計比較し、2 群間でシグナル強度の変化率が 3 倍以上であり、さらに群間差が  $p < 0.05$  である場合に生物学的に有意差があるとした。

## 結 果

子宮内膜症の増殖期 5 例、分泌期 4 例、正常子宮内膜組織の増殖期 5 例、分泌期 4 例の発現パターンを GeneChip 上の計 12625 遺伝子を対象に比較をした。正常子宮内膜の増殖期と分泌期の比較では、123 遺伝子で有意な発現差を認めた。その内 47 遺伝子が増殖期で、76 遺伝子が分泌期で

表1-1 正常子宮内膜の月経周期による変化率

遺伝子名	遺伝子座	変化率(倍)	p値
<b>増殖期&gt;分泌期</b>			
serine proteinase inhibitor, clade A member 5	14q32.1	16.3	0.018
calpain 6	Xq23	14.5	0.004
secreted frizzled-related protein 4	7p14.1	14.3	0.029
leucine rich repeat containing 17	7q22.1	11.5	0.008
matrilin 2	8q22	10.4	0.019
secretoglobin, family 1D, member 2	11q13	9.3	0.038
integrin, alpha 7	12q13	8.4	0.010
butyrylcholinesterase	3q26.1-q26.2	8.0	0.028
Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 2	20pter-p12.1	7.2	0.001
G protein-coupled receptor 37	7q31	6.8	0.015
Rho guanine nucleotide exchange factor 4	2q22	4.8	0.021
carboxyl ester lipase	9q34.3	4.8	0.029
GREB1	2p25.1	4.5	0.001
collagen, type XVI, alpha 1	1p35-p34	4.4	0.007
TBP-interacting protein	3p25.1	4.4	0.016
glioma-associated oncogene homolog	12q13.3	4.1	0.033
Meis1, myeloid ecotropic viral integration site 1 homolog 2	15q13.3	4.1	0.034
collagen, type IV, alpha 6	Xq22	4.1	0.043
sarcoglycan, delta	5q31-q33	4.0	0.032
serine proteinase inhibitor, clade A member 4	14q31-q32.1	3.9	0.019
latent transforming growth factor beta binding protein 1	2p12-q22	3.6	0.019
glycogenin 2	Xp22.3	3.6	0.038
neuronal pentraxin II	7q21.3-q22.1	3.6	0.021
ryanodine receptor 3	15q14-q15	3.6	0.007
fumarylacetoacetate hydrolase	15q23-q25	3.6	0.014
dystrophin	Xp21.2	3.5	0.038
monooxygenase, DBH-like 1	6q23.1-23.3	3.4	0.001
neuronal Shc adaptor homolog	19p13.3	3.4	0.008
calcium channel, voltage-dependent, alpha 1H	16p13.3	3.3	0.021
phosphodiesterase 8B	5q14.1	3.3	0.050
LOC340924	10p12.1	3.2	0.023
BTG family, member 3	21q21.1	3.2	0.030
oral-facial-digital syndrome 1	Xp22	3.2	0.039
aminomethyltransferase	3p21.2-p21.1	3.0	0.002
brain cell membrane protein 1	Xp11.4	3.0	0.036
zinc finger protein 185	Xq28	2.9	0.041
Insulin-Like Growth Factor Ib*	12q22-q24.1	2.9	0.005
KIAA1053	14q22.2	2.9	0.019
protein tyrosine phosphatase, receptor type, f polypeptide	19q13.33	2.9	0.010
EST		2.8	0.006
collapsin response mediator protein 1	4p16.1-p15	2.8	0.001
insulin-like growth factor 1*	12q22-q23	2.8	0.003
creatine kinase, B*	14q32	2.7	0.041
sex comb on midleg-like 2	Xp22	2.7	0.022
hypothetical protein DKFZp586M1120	17p11.2	2.6	0.015
F-box and leucine-rich repeat protein 7	5p15.1	2.5	0.033
LIM	4q22	2.3	0.042

表 1-2 正常子宮内膜の月経周期による変化率

遺伝子名	遺伝子座	変化率 (倍)	p値
<b>増殖期&lt;分泌期</b>			
tumor necrosis factor superfamily, member 6	1q23	30.4	0.039
chemokine receptor 1	3p21	15.0	0.046
protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	1q31-q32	14.1	0.040
glutathione peroxidase 3	5q23	13.0	0.038
ATP-binding cassette, sub-family C member 3	17q22	12.0	0.007
Ras and Rab interactor 2	20p11.22	11.9	0.017
PR domain containing 1	6q21-q22.1	10.3	0.036
thromboxane A synthase 1	7q34-q35	10.1	0.042
dual specificity phosphatase 10	1q41	10.1	0.020
Src-like-adaptor	8q24	10.0	0.042
chemokine ligand 4	17q21	9.3	0.017
solute carrier family 7 member 7	14q11.2	9.1	0.040
latrophilin 2	1p31.1	9.1	0.004
membrane-associated protein 17	1p33	8.7	0.021
zeta-chain associated protein kinase 70kDa	2q12	8.5	0.043
inhibitor of DNA binding 4	6p22-p21	7.6	0.020
hyaluronan binding protein 2	10q26.11	7.4	0.005
decay accelerating factor	1q32	7.4	0.025
retinoic acid receptor responder 1	3q25.32	7.4	0.027
neuron navigator 3	12q14.3	6.8	0.003
insulin-like growth factor 2*	11p15.5	6.6	0.024
homeodomain-only protein	4q11-q12	6.1	0.019
pleckstrin	2p13.3	6.1	0.045
capping protein, gelsolin-like	2cen-q24	6.0	0.022
toll-like receptor 1	4p14	6.0	0.009
ceruloplasmin	3q23-q25	5.6	0.001
integrin, alpha L	16p11.2	5.5	0.036
prominin 1	4p15.33	5.4	0.036
runt-related transcription factor 1	21q22.3	5.4	0.002
integrin, beta 3	17q21.32	5.1	0.001
chemokine ligand 3	17q11-q21	5.0	0.020
short-chain dehydrogenase/reductase 1	1p36.1	5.0	0.000
guanine nucleotide binding protein alpha 15	19p13.3	4.9	0.047
growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha	1p31.2-p31.1	4.8	0.001
TXK tyrosine kinase	4p12	4.7	0.013
chromosome 1 open reading frame 38	1p35.3	4.7	0.015
pyrrole 2,3 dioxygenase	8p12-p11	4.7	0.006
kinesin family member 1B	1p36.2	4.6	0.023
GLI pathogenesis-related 1	12q21.1	4.6	0.041
RAB33A, member RAS oncogene family	Xq26.1	4.6	0.023
coronin, actin binding protein, 2A	9q22.3	4.6	0.007
3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 2	10q23-q24	4.6	0.030
platelet-derived growth factor receptor, alpha	4q11-q13	4.5	0.014
sialyltransferase 9	2p11.2	4.5	0.029
serine/threonine kinase 17a	7p12-p14	4.5	0.003
CD2	1p13	4.5	0.031
core promoter element binding protein	10p15	4.4	0.000

表1-3 正常子宮内膜の月経周期による変化率

遺伝子名	遺伝子座	変化率(倍)	p値
<b>増殖期&lt;分泌期</b>			
carbohydrate sulfotransferase 1	11p11.2-p11.1	4.4	0.021
Cas-Br-M (murine) ecotropic retroviral transforming sequence b	3q13.12	4.4	0.006
Fc fragment of IgG, low affinity IIa	1q23	4.4	0.013
regulator of G-protein signalling 1	1q31	4.3	0.028
phosphodiesterase 4B	1p31	4.1	0.002
G protein-coupled receptor, family C, group 5, member B	16p12	4.0	0.023
EST		4.0	0.004
apolipoprotein C-I	19q13.2	4.0	0.001
hypothetical protein	1q32	3.9	0.048
zinc finger protein, subfamily 1A, 1	7p13-p11.1	3.9	0.047
inhibitor of growth family, member 1**	13q34	3.9	0.046
transcription factor 2	17cen-q21.3	3.9	0.046
RAS guanyl releasing protein 1	15q15	3.8	0.038
engulfment and cell motility 1	7p14.1	3.8	0.045
interleukin 1, beta*	2q14	3.8	0.023
v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog	8q13	3.7	0.024
src family associated phosphoprotein 2	7p21-p15	3.5	0.002
epidermodysplasia verruciformis 1	17q25	3.5	0.002
signal transducer and activator of transcription 4	2q32.2-q32.3	3.5	0.044
zinc finger protein	3p22.3-p21.1	3.5	0.024
interferon regulatory factor 1	5q31.1	3.4	0.032
complement component 4A	6p21	3.4	0.048
spleen tyrosine kinase	9q22	3.4	0.008
solute carrier family 16, member 3	17q25	3.4	0.038
interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 4	10q24	3.4	0.027
chondroitin sulfate proteoglycan 2	5q14.3	3.3	0.001
IP-30 IP30 GILT	19p13.1	3.3	0.044
butyrophilin, subfamily 3, member A2	6p22.1	3.3	0.001
CD53	1p13	3.1	0.037

\*\* 子宮内膜症と共通して有意な発現差を認めた遺伝子

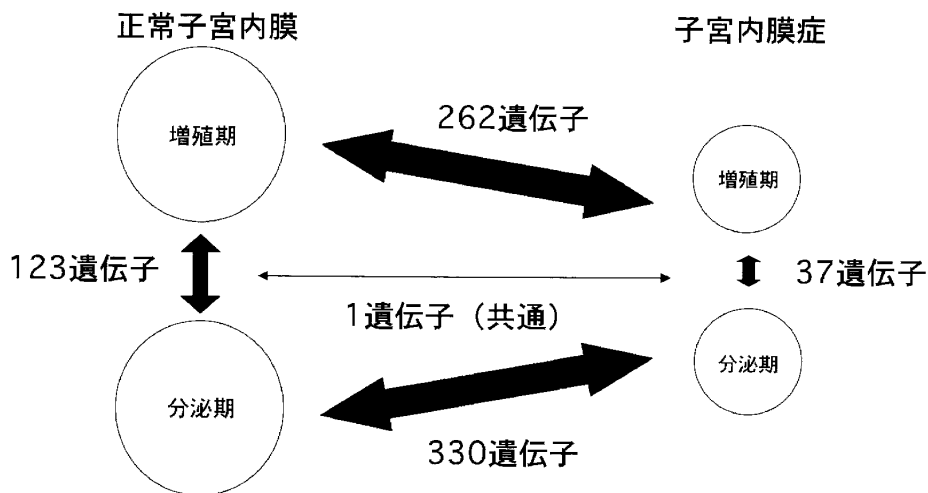


図2 子宮内膜症と正常内膜で発現が異なる遺伝子群

表 2 子宮内膜症の月経周期による変化率

遺伝子名	遺伝子座	変化率 (倍)	p値
<b>増殖期&gt;分泌期</b>			
tryptophan 2,3-dioxygenase	4q31-q32	6.4	0.033
LOC151996	3q29	5.1	0.033
flavoprotein oxidoreductase	11p15.3	4.1	0.009
IP gene for prostacyclin receptor	19q13.3	3.9	0.031
chemokine receptor 2	3p21	3.8	0.040
lymphotoxin beta	6p21.3	3.5	0.025
signal transducer and activator of transcription 2	12q13.13	3.4	0.008
vitamin D receptor	12q12-q14	3.3	0.033
interferon alpha receptor 2	21q22.11	3.3	0.004
arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein	13q12	3.0	0.033
toll-like receptor 6	4p14	3.0	0.038
<b>増殖期&lt;分泌期</b>			
paternally expressed 10	7q21	6.6	0.004
endometrial bleeding associated factor	1q42.1	6.5	0.037
less homeo box 5	7q22	6.1	0.026
nuclear receptor subfamily 1, group H, member 4	12q23.3	5.2	0.008
plastin 1	3q23	4.9	0.025
leucine rich repeat containing 17	7q22.1	4.6	0.004
KIAA0534	10q26	4.4	0.041
cysteine dioxygenase, type I	5q22-q23	4.3	0.003
cyclin-dependent kinase inhibitor 1C	11p15.5	4.0	0.018
EST		3.9	0.007
inhibitor of growth family, member 1**	13q34	3.9	0.034
cyclin-dependent kinase inhibitor 1C	11p15.5	3.6	0.040
OLF-1/EBF	16q12	3.5	0.020
apolipoprotein B	22q13.2	3.5	0.009
insulin receptor substrate 1	2q36	3.4	0.024
epidermal growth factor receptor	7p12	3.3	0.027
Norrie disease	Xp11.4	3.3	0.000
PDZ domain containing 3	5p13.3	3.2	0.004
apolipoprotein A-I	11q23-q24	3.1	0.026
thymosin, beta	Xq21.33-q22.	3.1	0.010
matrilin 3	2p24-p23	3.1	0.028
thyroid hormone receptor, alpha	17q11.2	3.1	0.004
GREB1	2p25.1	3.1	0.015
adrenergic, beta-3-, receptor	8p12-p11.2	3.0	0.005
androgen receptor	Xq11.2-q12	3.0	0.034
heparan sulfate 3-O-sulfotransferase 1	4p16	3.0	0.027

\*\* 正常子宮内膜症と共通して有意な発現差を認めた遺伝子

それぞれ発現が上昇していた (表 1) (図 1)。一方、子宮内膜症の増殖期と分泌期の発現の比較では、37 遺伝子で有意な発現差を認めた。その内 11 遺伝子が増殖期で、28 遺伝子が分泌期でそれぞれ発現が上昇していた (表 2)。正常子宮内膜と子宮内

膜症組織で共通して月経周期による発現差を認めるものは、1 遺伝子 (inhibitor of growth family, member 1) のみであった。次に月経周期別に正常子宮内膜と子宮内膜症を比較した。増殖期ごとの比較では 262 遺伝子で、分泌期ごとの比較では

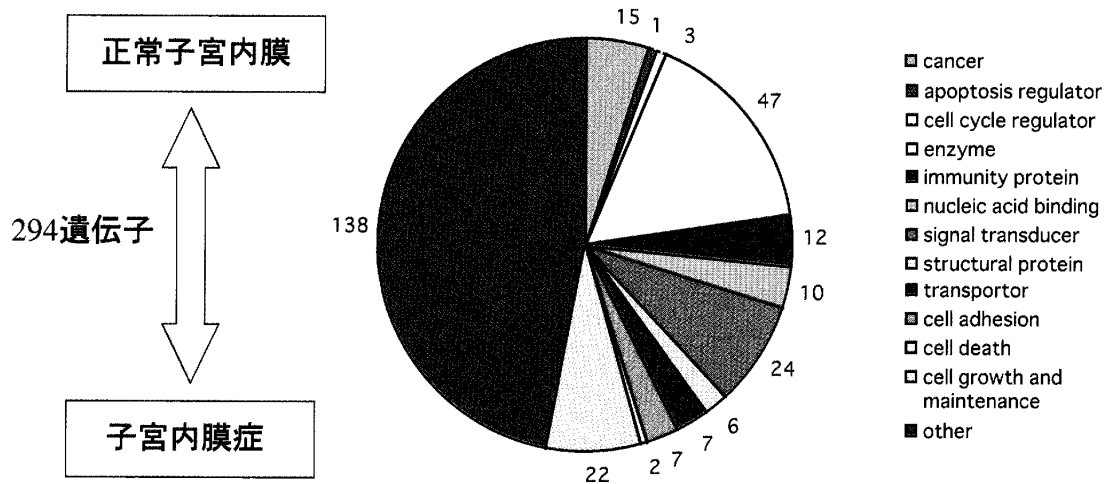


図2 子宮内膜症と正常内膜で発現が異なる遺伝子群

330 遺伝子でそれぞれ有意な発現差を認めた。また月経周期の影響を無視して比較したところ、正常子宮内膜と子宮内膜症組織間で 294 遺伝子が有意な発現差を示した (図 2)。これらの遺伝子を機能別に分類すると、細胞増殖因子やアポトーシス関連因子、癌関連因子など癌化に関係する因子の発現が 38 遺伝子 (12.9%) 認められた。

## 考 察

正常子宮内膜は、性ステロイドに対する受容体を有し、その増殖・分化は主としてエストロゲン・プロゲステロンによって調節されている。また月経周期によって特徴的な組織学的変化を呈する。一方、子宮内膜症の組織所見は、子宮内膜と同様に子宮内膜腺とその周囲を取り囲む間質組織からなっている。しかし、形態学的には正所性子宮内膜と同様であっても、子宮内膜症組織の生物学的性格は性ステロイド受容体の発現からみるとそれと同様でないと報告されている<sup>2)3)</sup>。子宮内膜症の増殖・進展も、主に性ステロイド、特にエストロゲンに依存する。通常の月経周期のある女性では、子宮内膜症は次第に進行することが多く、閉経後や GnRH アナログまたはダナゾール投与による低エストロゲン状態では子宮内膜症病巣は一般に退縮する<sup>4)5)</sup>。しかし、子宮内膜症におけ

る性ステロイド依存性や増殖能、およびそれらの月経周期による変化は、正常内膜とは異なることも多い。子宮内膜症患者の月経周期からみた正所性子宮内膜と異所性子宮内膜組織を比較分析したところ、前者では増殖期、分泌期像をそれぞれ 40%、33%に認めたものの、後者ではそれぞれ 78%、9%であり、分泌期像を示す例が著明に減少していると報告されている<sup>6)</sup>。つまり異所性子宮内膜は、同一症例の正所性子宮内膜と組織学的に差異があり、このことは、ホルモン感受性の違いを示唆している。

今回の検討において、正常子宮内膜では、123 遺伝子で有意な発現差を認め、増殖期では 47 遺伝子で発現が上昇していた。123 遺伝子のうち insulin-like growth factor-I (IGF-I)、IGF-Ib、creatine kinase-B はエストロゲンにより発現が調節されていることが知られているが、特に IGF-I、IGF-Ib は子宮内膜の増殖に関連していると考えられている<sup>7)8)</sup> (表 1\*)。分泌期子宮内膜では、76 遺伝子で有意に発現が上昇していた。そのうち、IGF-II や、interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) はプロゲステロンの作用に拮抗して子宮内膜の分化 (脱落膜化) を制御していると報告されている<sup>9)</sup>。

一方、子宮内膜症では、月経周期依存的に 37 遺伝子の発現差を認め、正常子宮内膜群に比べ、月経周期による影響が、著明に少なくなっていた。



また正常子宮内膜でみられた月経周期を調節する成長因子などは含まれていなかった。このことより、子宮内膜症の発現は正常子宮内膜と同調した変化を認めず、また月経周期による変化も少ないと思われる。

そもそも子宮内膜症は、病理組織学的には良性疾患にもかかわらず、その細胞は増殖、浸潤し、周囲組織と強固な癒着を形成するといった、類腫瘍的性格を有する。また子宮内膜症の個々の病巣が単一クローンからなる細胞で構成されており、腫瘍的性格を有するという報告もなされている<sup>10)</sup>。今回、正常子宮内膜と子宮内膜症を比較し、増殖期では262遺伝子で、分泌期では330遺伝子で、両期ともに有意な発現差を数多く認めている。この有意な発現差を示す遺伝子数は、正常組織と悪性腫瘍を同様にDNAマイクロアレイで比較したものと、ほぼ同等の頻度(約3%)であった<sup>11)</sup>。性周期の影響を除外して子宮内膜症と子宮内膜との比較をしたところ、子宮内膜症組織には癌関連因子などの遺伝子の発現が多く認められていた。これらの結果より、子宮内膜症は病理組織学的だけではなく、遺伝子レベルでも腫瘍性の変化をしていると考えられる。

## 結 語

今回の結果、子宮内膜症は、発現レベルで月経周期による変化がほとんどなく、正常子宮内膜とは全く異なる遺伝子プロファイリングであった。加えて、発現変化した遺伝子には癌関連因子などの遺伝子が多く認められていたことから、子宮内膜症は遺伝子レベルで見ると限りにおいて腫瘍的变化を伴う組織である可能性が示唆された。

## 謝 辞

最後に、この研究を行うにあたり御指導賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科脳研究所分子神経生物学分野の那波宏之教授、新潟大学大学院医歯学総合研究科生殖器官制御分野の田中憲一教授に心から御礼を申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) The American Fertility Society: Revised American Fertility Society classification of endometriosis: 1985. *Fertil Steril* 43: 351-352, 1985.
- 2) Lyndrup J, Thorpe S, Glenthoj A, Obel E and Sele V: Altered progesterone/estrogen ratio in endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 66: 625, 1987.
- 3) Lessey BA, Metzger DA, Haney AF and McCarty KS Jr: Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors in endometriosis: comparison with normal endometrium during the menstrual cycle and the effect of medical therapy. *Fertil Steril* 51: 409-415, 1989.
- 4) Dmowski WP, Radwanska E, Binor Z, Tummon I and Pepping P: Ovarian suppression induced with Buserelin or danazol in the management of endometriosis: a randomized, comparative study. *Fertil Steril* 51: 395-400, 1989.
- 5) Shaw RW: An open randomized comparative study of the effect of goserelin depot and danazol in the treatment of endometriosis. *Zoladex Endometriosis Study Team. Fertil Steril* 58: 265-272, 1992.
- 6) Mathur S, Peress MR, Williamson HO, Youmans CD, Maney SA, Garvin AJ, Rust PF and Fudenberg HH: Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Clin Exp Immunol* 50: 259-266, 1982.
- 7) Giudice LC, Dsupin BA, Jin IH and Hoffman AR: Differential expression of messenger ribonucleic acids encoding insulin-like growth factors and their receptors in human uterine endometrium and decidua. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 1115-1122, 1993.
- 8) Bergen HT, Pentecost BT, Dickerman HW and Pfaff DW: In situ hybridization for creatine kinase-B messenger RNA in rat uterus and brain. *Mol Cell Endocrinol* 92: 111-119, 1993.

- 9) Tabibzadeh S: Cytokine regulation of human endometrial function. *Ann N Y Acad Sci* 622: 89-98, 1991.
- 10) Jimbo H, Hitomi Y, Yoshikawa H, Yano T, Momoeda M, Sakamoto A, Tsutsumi O, Taketani Y and Esumi H: Evidence for monoclonal expansion of epithelial cells in ovarian endometrial cysts. *Am J Pathol* 150: 1173-1178, 1997.
- 11) Lenburg ME, Liou LS, Gerry NP, Frampton GM, Cohen HT and Christman MF: Previously unidentified changes in renal cell carcinoma gene expression identified by parametric analysis of microarray data. *BMC Cancer* 3: 31, 2003.
- (平成16年1月8日受付)
-