



卵巣子宮内膜症と正常子宮内膜における 遺伝子変異を解明

- 子宮内膜症、正常子宮内膜に多くの癌関連遺伝子変異が存在 -

新潟大学大学院医歯学総合研究科の榎本隆之教授、吉原弘祐助教、須田一暁特任助教、国立遺伝学研究所の井ノ上逸朗教授、中岡博史助教らの共同研究グループは、卵巣子宮内膜症と正常子宮内膜の網羅的な遺伝子解析を行い、癌に関連する遺伝子変異がすでに良性腫瘍や正常組織に起きていることを明らかにしました。本研究結果は平成 30 年 8 月 15 日午前 1 時（日本時間）の *Cell Press* 社の科学雑誌 *Cell Reports* に掲載されました。

【本研究成果のポイント】

- 癌関連遺伝子の異常は従来、発癌過程の中で生じると考えられていたが、本研究では良性病変と考えられている卵巣子宮内膜症だけでなく正常の子宮内膜でも癌関連遺伝子変異が高頻度に行っていることをはじめて明らかにした。
- 正常子宮内膜は腺管という最小構造単位から構成されるが、腺管毎に様々な癌関連遺伝子変異を持っていることを明らかにした。

I. 研究の背景

子宮内膜症は生殖年齢女性のおよそ 10% 程度が罹患する病気であり、本来子宮内に存在するはずの子宮内膜組織が子宮の外に存在し、月経周期に合わせて子宮の外で出血をきたす病気です。これが月経困難症、骨盤痛や不妊症の原因となります。子宮内膜症が発生する理由については、子宮内膜細胞を含む月経血が卵管内を逆流し、腹腔内で生着するという説（月経逆流説）が有力ですが、この仮説が科学的に証明されたわけではありませんでした。

また疫学研究より、子宮内膜症が一部の組織型の卵巣癌（明細胞癌、類内膜癌）の発症に関連することが知られています。これらの卵巣癌は「子宮内膜症関連卵巣癌」と呼ばれ、これまでの研究で癌の原因と考えられる遺伝子の異常（遺伝子変異）が報告されて来ましたが、これらの卵巣癌の発生母地とされる卵巣子宮内膜症で、どのような遺伝子の異常が起きているのかについては、まったくわかっておりませんでした。

II. 研究の概要

術前に研究参加の同意を頂き、卵巣子宮内膜症や子宮筋腫などの良性疾患を理由に手術を受けた患者さんから摘出された検体を用いて遺伝子解析を行いました。本研究における大きな特徴として、子宮内膜症は顕微鏡下で確認できる組織であるため、レーザーマイクロダイセクション

ヨン*¹ という手法を使い、正確な組織（上皮と呼ばれる組織）採取を行っています。正常子宮内膜についても同様の方法で組織採取を行っています（図1）。採取した組織から DNA を抽出し、その塩基配列を次世代シーケンサー*² で網羅的に読み取り、正常組織（血液）との違いを見ることで、子宮内膜症組織や正常子宮内膜組織で起きている遺伝子変異を観察しています。さらに正常子宮内膜を構成する最小構造単位である腺管を一つ一つ分離して解析を行うことで、正常子宮内膜における遺伝子変異の特徴を明らかにしています。

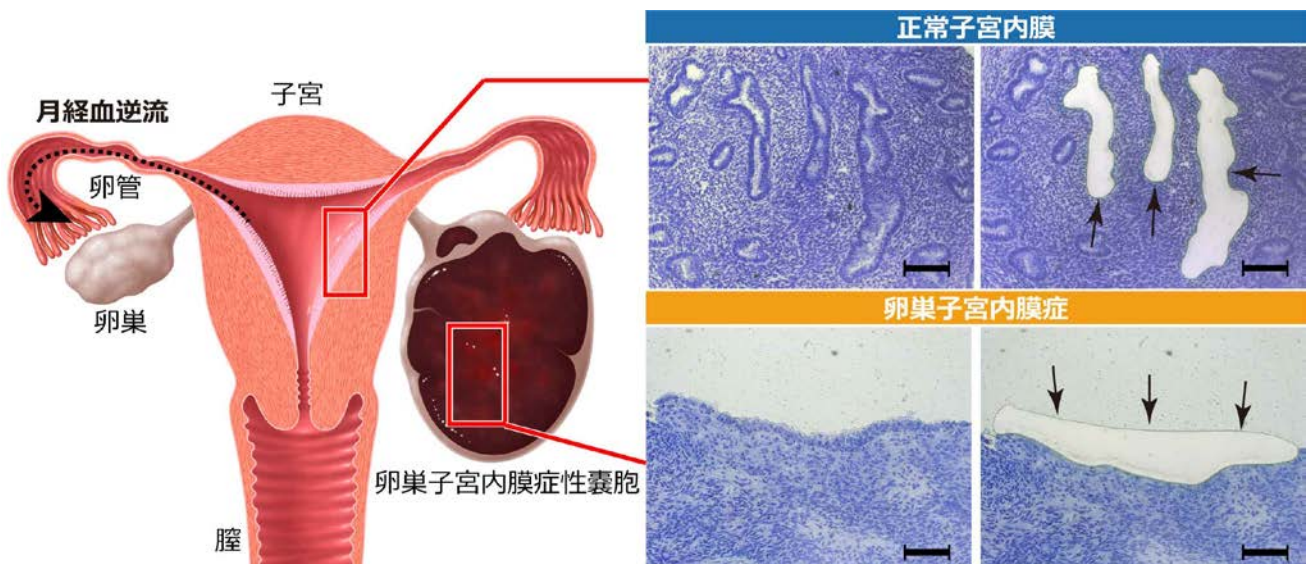


図1. レーザーマイクロダイセクションを用いて卵巣子宮内膜症および正常子宮内膜の上皮組織のみを採取

Ⅲ. 研究の成果

癌の増殖や維持に関係する遺伝子を「癌関連遺伝子」といいます。今回の研究では、良性腫瘍である卵巣子宮内膜症と正常子宮内膜のいずれにも高頻度で癌関連遺伝子に遺伝子変異が起きていることが明らかとなりました（図2）。特に *KRAS* や *PIK3CA* などの発がんに必要な役割を果たすことが知られている癌遺伝子が多くの症例で変異をきたしており、癌遺伝子の変異が子宮内膜症の発生にも深く関わっていることが推察されました。

一方、正常子宮内膜を腺管単位で観察すると、腺管一本ずつに多種多様の遺伝子変異が認められ、子宮内膜という組織は分子生物学的に多様性をもった組織であることが明らかとなりました（図3）。また卵巣子宮内膜症と正常子宮内膜で認められた遺伝子変異の特徴は非常によく似ており、月経血の逆流により子宮内膜症が発生するという月経逆流説を支持する結果となりました（図4）。

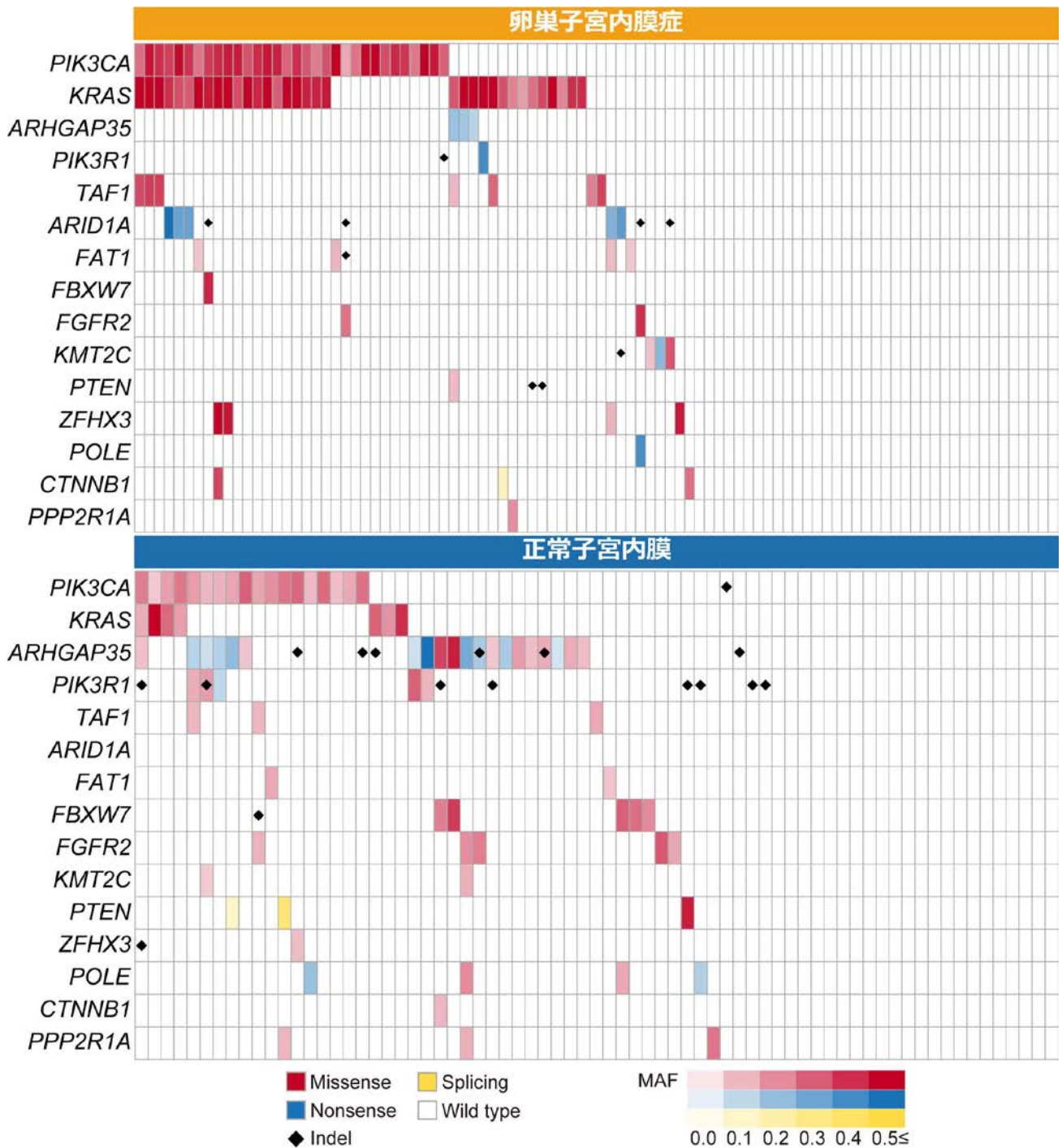


図2. 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析で明らかとなった変異を表示した図。縦軸が個々のサンプルを示し、変異を認められた遺伝子に該当する部位が色塗りされています。色の種類が遺伝子変異の種類を示し、色の濃さが変異アレル頻度 (MAF)^{*3} を示しており遺伝子変異を持った細胞割合の指標となります。卵巣子宮内膜症では高頻度で癌遺伝子である *PIK3CA* と *KRAS* に遺伝子変異が認められ、また変異アレル頻度も高い結果となっています。正常子宮内膜でも上記遺伝子に比較的高頻度で変異が見られ、両者で遺伝子変異プロファイルが似通った結果となっています。



図3. 正常子宮内膜から単離した腺管組織像と遺伝子変異の抜粋例。写真の下にそれぞれ変異を認めたと遺伝子と変異アレル頻度が併記されており、変異アレル頻度はいずれも高い値を示しています。このことは一本の腺管を構成する細胞が一つの細胞に由来することを示しています。

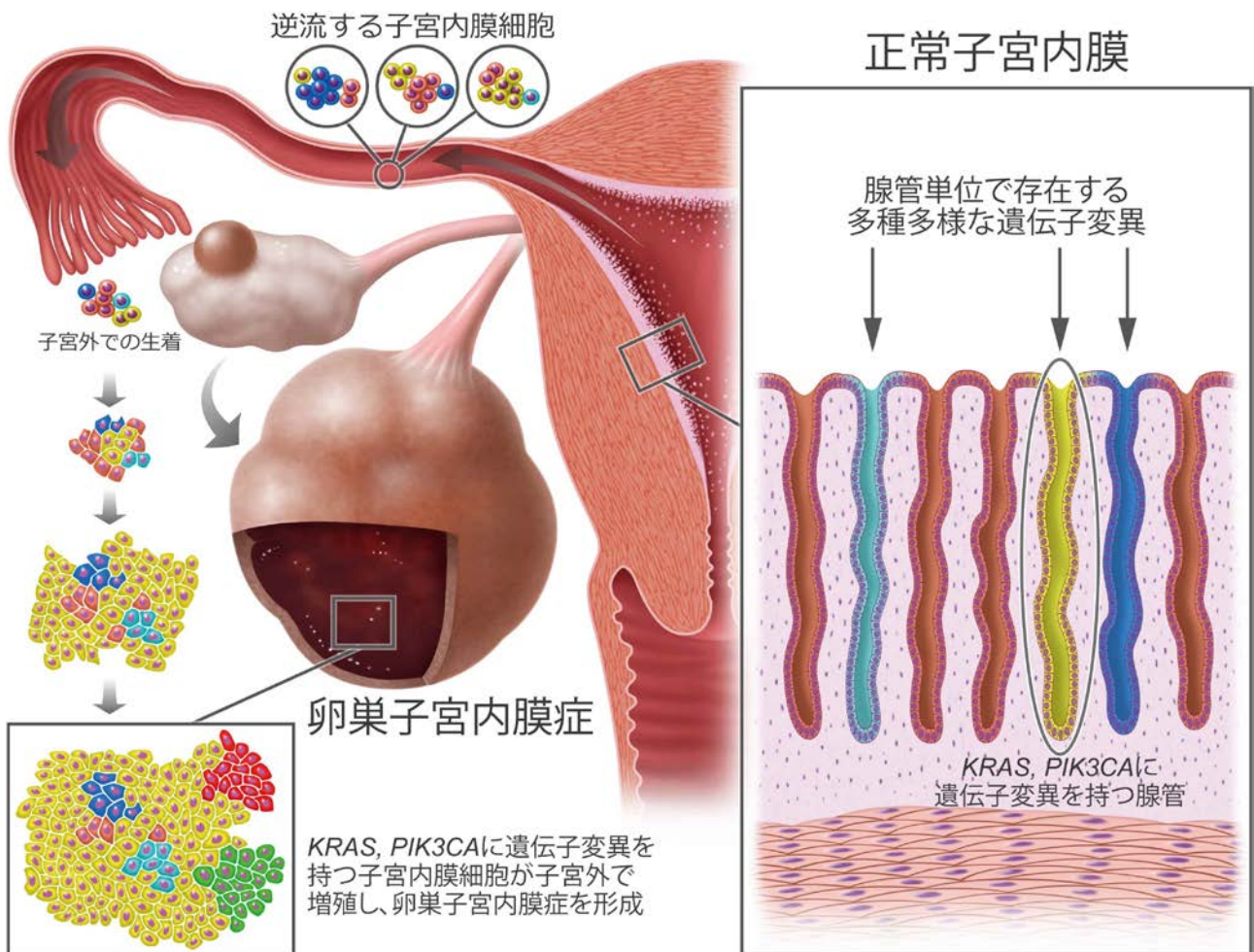


図4. 本研究結果に基づいて、子宮内膜症における月経血逆流説を表した図。正常子宮内膜に由来する癌関連遺伝子（KRAS、PIK3CAが代表的）をもった子宮内膜細胞が月経時に卵管を逆流して腹腔内に到達します。卵巣表面に生着した子宮内膜細胞が増殖し、卵巣子宮内膜症を



形成します。

IV. 今後の展開

今回の研究で明らかとなった遺伝子変異は婦人科領域のみならず、人体の多くの癌において発牛原因とも考えられているものが含まれています。癌が存在しない良性・正常組織においてどうして癌関連遺伝子に変異が多くみられるのか、正常組織における癌遺伝子の変異の意義を解明していくことが今後の課題の一つです。同時に既存の癌発牛メカニズムを見直すことにもつながる可能性があります。子宮内膜は、卵巣からのホルモンの影響で毎月増殖・脱落を繰り返すという人体の中でも極めて個性的な特徴をもつ組織です。こうした月経という現象に対応し、生存に有利な環境を得るために遺伝子変異が獲得されているのかもしれない。

V. 研究成果の公表

これらの研究成果は、平成 30 年 8 月 15 日午前 1 時（日本時間）の *Cell Reports* 誌（IMPACT FACTOR 8.282）に掲載されました。

論文タイトル：Clonal expansion and diversification of cancer-associated mutations in endometriosis and normal endometrium

著者：Kazuaki Suda*, Hirofumi Nakaoka*, Kosuke Yoshihara, Tatsuya Ishiguro, Ryo Tamura, Yutaro Mori, Kaoru Yamawaki, Sosuke Adachi, Tomoko Takahashi, Hiroaki Kase, Kenichi Tanaka, Tadashi Yamamoto, Teiichi Motoyama, Ituro Inoue, Takayuki Enomoto

* These authors contributed equally to this work.

doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.037

本件に関するお問い合わせ先

新潟大学大学院医歯学総合研究科 産科婦人科学教室

教授 榎本 隆之

E-mail: enomoto@med.niigata-u.ac.jp

助教 吉原 弘佑

E-mail: yosikou@med.niigata-u.ac.jp

新潟大学大学院医歯学総合研究科 家族性・遺伝性腫瘍学講座

特任助教 須田 一暁

E-mail: sudakazuaki@med.niigata-u.ac.jp

注)

*1. レーザーマイクロダイセクション

顕微鏡を観察しながら、組織標本にレーザーを照射して必要な部位を切り取り、回収する方法です。この手法を用いることで、手術で摘出された標本から子宮内膜症病変や正



常子宮内膜だけを切り出し、回収することができます。

*2. 次世代シーケンサー

遺伝子の塩基配列を高速に調べることができる装置で、ハイスループットシーケンサーとも呼ばれています。次世代シーケンサーを用いることで多数の遺伝子を一度に解析することができるようになりました。

*3. 変異アリル頻度

遺伝子変異解析においては、一つの遺伝子座(locus)に位置するアリル(allele)のうち野生型アリルと異なる塩基配列を持つものを変異アリルと呼び、解析対象における変異アリルの割合を変異アリル頻度といいます。

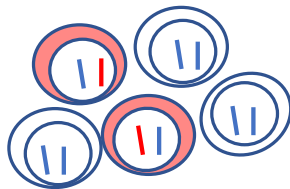
変異アリル頻度 (MAF)

コピー数変化を来していない細胞集団の場合

— 野生型アリル

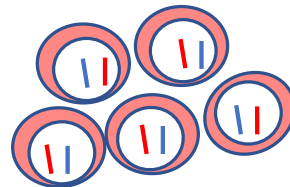
— 変異アリル

MAF: 0.20



40%の細胞が同じ遺伝子変異を持っている

MAF: 0.50



100%の細胞が同じ遺伝子変異を持っている