

原 著

# ヒト正常子宮内膜, 子宮内膜増殖症, 子宮内膜癌における 性ステロイドホルモンレセプター, サイクリン, MIB-1, 及び Bcl-2 蛋白の免疫組織学的研究

岩手医科大学医学部産科婦人科学教室

鈴木 浩 基 井 筒 俊 彦

## Immunohistochemical Expression of Sex Steroid Hormone Receptor, Cyclin, MIB-1 and Bcl-2 Monoclonal Antibodies in Normal Endometrium, Hyperplasia and Endometrial Carcinoma

Hiroki SUZUKI and Toshihiko IZUTSU

*Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine*

*Iwate Medical University, Morioka*

**概要** 我々は子宮内膜の癌性質獲得過程における, 1) 性ステロイドホルモン受容体(Sex Steroid Hormone Receptor: SSHR), 2) 細胞周期調節因子(Cyclin B, D1, E), 3) 細胞増殖関連因子(MIB-1), 4) 細胞死関連因子(Bcl-2)の役割とそれらの相関性を解明目的に, 上述因子の動向を検討した。

正常子宮内膜149例, 子宮内膜増殖症65例, 子宮内膜癌52例を対象に1) SSHR(ER, PgR), 2) Cyclin B, D1, E, 3) MIB-1, 4) Bcl-2モノクローナル抗体を用いた免疫組織染色を施行し, その発現を解析した。

1) 増殖期内膜における ER あるいは PgR 陽性率は, 分泌期内膜あるいは萎縮内膜に比し有意に高値であり, 子宮内膜増殖症におけるそれも分泌期内膜あるいは萎縮内膜に対し有意に高い陽性率を示した。

2) Cyclin と MIB-1陽性率は, 増殖期内膜, 子宮内膜増殖症, 類内膜腺癌において分泌期内膜のそれより有意に高い陽性率を示した。

3) Bcl-2陽性率は, 増殖期内膜, 増殖症内膜で分泌期内膜より有意に高い陽性率を示した。しかし, 類内膜腺癌では増殖期内膜と増殖症内膜に比し有意に低い陽性率を示した。

4) 正常子宮内膜, 増殖症内膜及び類内膜腺癌症例の同検体における SSHR, Cyclin, MIB-1, Bcl-2それぞれの陽性率間における関連性について検討した。正常子宮内膜及び単純型増殖症内膜では ER と PgR 間, Cyclin D1, E, B 間及び Cyclin D1, E, B と Bcl-2 間の陽性率に有意な正の相関がみられたが, 複雑型増殖症内膜, 異型増殖症内膜, 類内膜腺癌では各因子間に有意な相関はなかった。

以上より, 1) 性ステロイド受容体, 2) 細胞周期調節因子, 3) 細胞増殖関連因子, 4) 細胞死関連因子発現の変調は, 複雑型子宮内膜増殖症以上の病変で不可逆性となり癌化への過程へと導かれる可能性が考えられた。

**Abstract** Objective: In order to identify the roles of 1) sex steroid hormone receptor (SSHR), 2) cell cycle controllable factor (Cyclin B, D1, E), 3) cell growth factor (MIB-1) and 4) cell death-related factor (Bcl-2) and their correlation, was examined.

Methods: Immunohistochemical staining was performed on 149 cases of normal endometrium, 65 cases of endometrial hyperplasia and 52 cases of endometrial carcinoma by using 1) SSHR (ER, PgR), 2) Cyclin B, D1, E, 3) MIB-1 and 4) Bcl-2 monoclonal antibodies, to analyze manifestation.

Results: 1) The ER and PgR positive ratios in proliferative phase endometrium were significantly higher

than those in the secretory phase endometrium or atrophic endometrium. This endometrial hyperplasia value was also found to be significantly higher than that in secretory phase endometrium or atrophic endometrium.

2) Cyclin and the MIB-1 positive ratio in proliferative phase endometrium, endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma were observed to be significantly higher than those in secretory phase endometrium.

3) The Bcl-2 positive ratio in proliferative phase endometrium and endometrial hyperplasia was found to be significantly higher than that in secretory phase endometrium, but this value for endometrial carcinoma was significantly lower than that for proliferative phase endometrium and endometrial hyperplasia.

4) We examined the relationship among the positive ratio SSHR, Cyclin, MIB-1, Bcl-2 in normal endometrium, endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma cases. For normal endometrium and simple hyperplasia, the positive ratio of ER to PgR, that among Cyclin B, D1, and E and that among Cyclin B, D1, and E and Bcl-2 showed significant positive correlation but, these factors indicated no significant correlation among complex hyperplasia, atypical hyperplasia, and endometrial carcinoma.

Conclusions : From the above discussion it seemed that the altered manifestation of 1) sex steroid hormone receptor, 2) cell cycle controllable factor, 3) cell growth factor and 4) cell death-related factor may become irreversible due to a lesion other than the complex hyperplasia, leading to the process of carcinoma.

**Key words :** Sex Steroid Hormone Receptor · Cyclin · MIB-1 · Bcl-2 · Uterine endometrium

## 緒 言

子宮内膜は、性ステロイドホルモン(Sex Steroid Hormone : SSH)の標的臓器であり、SSHの影響下に増殖期から分泌期、そして月経期へと再生と剥脱の周期的に変化する。しかし、SSHの分泌異常が惹起されると機能異常内膜へ、さらに unopposed estrogen 刺激が持続すると周期的変化を失った増殖症や内膜癌へと変化する<sup>1)</sup>。この正常子宮内膜より増殖症、さらに内膜癌へ至る過程において、1) 性ステロイドホルモン受容体(Sex Steroid Hormone Receptor : SSHR)、2) 細胞周期調節因子(Cyclin B, D1, E)、3) 細胞増殖関連因子(MIB-1)、あるいは4) 細胞死関連因子(Bcl-2)の発現とそれらの特徴についての知見はこれまでもわずかに散見される。しかし、これらの知見からは子宮内膜の周期性の異常がいかなる子宮内膜病変時期に惹起されるかについて十分に検討されたとはいえない。そこで本研究ではこの一連の変化過程を示す子宮内膜検体に対し、1) SSHR(ER, PgR)、2) Cyclin B, D1, E、3) Ki-67、4) Bcl-2それぞれのモノクローナル抗体を用いて免疫組織学的にて検討することにより、それぞれの因子の役割及びそれぞれの因子の相関を解明する

ことを目的として研究を行った。

## 研究対象と研究方法

### 1. 研究対象

1990年より1997年までの8年間に岩手医科大学附属病院及びその関連病院にて子宮内膜部分または、全面搔爬生検あるいは手術摘出標本から得られた検体を対象とした。すべての検体の採取に対しては患者へのインフォームドコンセントを行い同意を得た。採取された子宮内膜検体は、正常子宮内膜は増殖期前期(Ep)26例(平均年齢±SD = 35.8 ± 7.6)、増殖期後期(Lp)15例(平均年齢±SD = 38.7 ± 3.9)、分泌期前期(Es)23例(平均年齢±SD = 38.6 ± 6.0)、分泌期中期(Ms)36例(平均年齢±SD = 37.9 ± 5.3)、分泌期後期(Ls)34例(平均年齢±SD = 37.9 ± 4.5)、さらに閉経後婦人における萎縮内膜(At)15例(平均年齢±SD = 64.5 ± 4.8)、であった。子宮内膜増殖症(Hy)では単純型(SH)29例(平均年齢±SD = 44.9 ± 11.9)、複雑型(CH)20例(平均年齢±SD = 44.7 ± 7.8)、子宮内膜異型増殖症(AH)16例(平均年齢±SD = 45.2 ± 10.6)より検体とした。類内膜腺癌では、Grade 1(G1)22例(平均年齢±SD = 50.3 ± 11.5)、Grade 2(G2)20例(平均年齢±SD = 55.7 ± 6.4)、Grade 3(G3)10例(平均年齢±SD

=62.0±21.2)を対象とした。

## 2. 染色方法

採取された組織検体は、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定後、パラフィンブロック包埋し4μmに薄切した。APES(3-aminopropyltriethoxysilane)処理スライドガラス上にのせ、脱パラ水洗後、microwave処理を5分間5回行った。3% hydrogen peroxideによる内因性ペルオキシターゼブロッキング2分3回さらに、Phosphate buffered saline (PBS)による洗浄、10% normal rabbit serumにてプロテインブロッキング10分後、以下の特異一次抗体を使用した。特異一次抗体は、Estrogen receptor monoclonal 抗体(ER)及び Progesterone receptor monoclonal 抗体(PgR)(Immunotech社)であり、それぞれ20倍希釈にて使用した。さらにKi-67 monoclonal 抗体(MIB-1:Immunotech社)、Bcl-2 monoclonal 抗体(Bcl-2:DAKO社)は、200倍希釈にて、Cyclin B monoclonal 抗体(Cyclin B:SANTA CRUZ社)、Cyclin D1 monoclonal 抗体(Cyclin D1:MBL社)は50倍希釈にて、Cyclin E monoclonal 抗体(Cyclin E:SANTA CRUZ社)は200倍希釈にて使用した。二次抗体反応以降は、Streptavidin-Biotin法の市販キットであるヒストファインキット(NICHIREI社)を使用し、DAB発色後検鏡した。

## 3. 評価法

### 1) ER, PgR 及び MIB-1抗体陽性率の評価法

ER, PgR, MIB-1抗体陽性率の評価では、一検体につき1,000個以上の腺細胞核を検鏡し、各検体における腺細胞核中におけるそれぞれの抗体陽性細胞核の割合を算出した。

### 2) Bcl-2 抗体陽性率の評価法

Bcl-2 抗体陽性率の評価では、各検体における腺細胞を観察し全腺細胞中の陽性腺細胞の染色強度を算出した。陽性細胞の染色強度の評価には、間質内浸潤リンパ球の染色強度を+3とし、全く染色されない細胞を0、陽性に染色された細胞をその染色強度によって3段階(+1, +2, +3)のように Tabibzaden et al.<sup>2)</sup>の方法に準じて分類し、+2以上の細胞を陽性と判定し陽性細胞の割合を算出した。

### 3) Cyclin B, D1, E 抗体陽性率の評価法

Cyclin B, D1, E 抗体陽性率の評価では各検体の全腺細胞中において核または細胞質いずれかが染色を示す細胞を陽性とし、その陽性腺細胞の割合を算出した。

### 4) 各子宮内膜病変における SSHR, Cyclin, MIB-1, Bcl-2モノクローナル抗体陽性率間の相関

正常子宮内膜、子宮内膜増殖症、子宮内膜異型増殖症、子宮内膜癌類内膜腺癌の同一検体かつ同一病変においての1) ER, PgR, 2) Cyclin B, D1, E, 3) MIB-1, 4) Bcl-2各項目のモノクローナル抗体陽性率結果のうち任意の2項目間に正の相関性が存在するかについて解析した。

## 4. 解析法

正常子宮内膜、増殖症、異型増殖症、内膜癌におけるそれぞれのモノクローナル抗体陽性率の有意差検定には、Mann-Whitney U-testを用いた。

また同一子宮内膜病変内での任意の2つのモノクローナル抗体陽性率間の相関係数解析には、2変数間の単純直線回帰を用いた。

## 研究成績

### 1. 各内膜検体におけるモノクローナル抗体染色所見

#### 1) Sex Steroid Hormone Receptor (SSHR) 陽性率 (Table 1)

##### (1) ER 陽性率

ER 染色所見はいずれも腺細胞の核に陽性像がみられた。Ep 及び Lp の陽性像はすべての分泌期内膜各々、及び At に比し有意に高値であった ( $p < 0.005$ )。CH と AH がすべての分泌期内膜各々、及び At に対し有意に高い陽性率を示した ( $p < 0.005$ )。内膜癌において G3 で、Hy と AH に比し陽性率が有意に低値となったが、G1 及び G2 では CH と AH に比し有意に低値となった ( $p < 0.005$ )。

##### (2) PgR 陽性率

PgR 染色所見はいずれも腺細胞の核に陽性像がみられ、Ep 及び Lp の PgR 陽性率は、すべての分泌期内膜各々に、及び At に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。Hy において SH, CH とともに、Ms, Ls 及び At に比し有意に高値を示した ( $p <$

Table 1 Steroid hormone receptor expression in uterine endometrium and its disorders

endometrial histology	(Mean $\pm$ SD)	
	ER expression (%)	PgR expression (%)
early proliferative phase	73.1 $\pm$ 13.3	62.1 $\pm$ 12.1
late proliferative phase	47.7 $\pm$ 5.5	42.2 $\pm$ 11.8
early secretory phase	43.0 $\pm$ 18.3	38.9 $\pm$ 15.5
mid secretory phase	34.1 $\pm$ 14.4	38.5 $\pm$ 17.8
late secretory phase	25.1 $\pm$ 12.6	30.3 $\pm$ 16.0
diffuse atrophy	30.6 $\pm$ 11.3	28.1 $\pm$ 8.1
hyperplasia (simple)	36.7 $\pm$ 12.6	52.6 $\pm$ 10.3
hyperplasia (complex)	49.9 $\pm$ 16.3	40.4 $\pm$ 12.8
atypical hyperplasia	48.4 $\pm$ 12.7	31.4 $\pm$ 8.2
endometrial carcinoma (grade 1)	39.0 $\pm$ 7.0	21.6 $\pm$ 4.7
endometrial carcinoma (grade 2)	29.2 $\pm$ 7.8	17.4 $\pm$ 5.4
endometrial carcinoma (grade 3)	20.6 $\pm$ 3.4	10.2 $\pm$ 5.5

Table 2 Cyclins expression in uterine endometrium and its disorders

endometrial histology	(Mean $\pm$ SD)		
	Cyclin B expression (%)	Cyclin D1 expression (%)	Cyclin E expression (%)
early proliferative phase	77.6 $\pm$ 10.7	92.7 $\pm$ 3.1	80.9 $\pm$ 11.4
late proliferative phase	89.9 $\pm$ 6.7	92.5 $\pm$ 2.2	89.1 $\pm$ 7.4
early secretory phase	52.3 $\pm$ 10.2	54.3 $\pm$ 4.3	49.2 $\pm$ 10.3
mid secretory phase	42.4 $\pm$ 6.7	45.0 $\pm$ 3.1	43.5 $\pm$ 4.6
late secretory phase	13.6 $\pm$ 7.9	32.8 $\pm$ 2.6	13.4 $\pm$ 8.2
diffuse atrophy	6.6 $\pm$ 3.3	23.1 $\pm$ 5.9	5.5 $\pm$ 3.8
hyperplasia (simple)	43.8 $\pm$ 8.0	48.6 $\pm$ 5.8	49.2 $\pm$ 6.8
hyperplasia (complex)	56.7 $\pm$ 5.9	66.9 $\pm$ 4.7	56.4 $\pm$ 6.1
atypical hyperplasia	61.7 $\pm$ 6.2	62.5 $\pm$ 10.7	63 $\pm$ 7.8
endometrial carcinoma (grade 1)	61.0 $\pm$ 7.4	63.3 $\pm$ 7.7	64 $\pm$ 7.0
endometrial carcinoma (grade 2)	61.1 $\pm$ 6.7	52.3 $\pm$ 6.5	55.9 $\pm$ 5.1
endometrial carcinoma (grade 3)	63.0 $\pm$ 5.7	53 $\pm$ 8.4	56.6 $\pm$ 6.5

0.005). 内膜癌は, Hy と AH に比し有意に低値を示した ( $p < 0.005$ ).

## 2) Cyclin 陽性率 (Table 2)

すべての Cyclin 染色所見はいずれの検体上でも腺細胞の細胞質及び核に陽性像がみられた。

### (1) Cyclin B 陽性率

Cyclin B 陽性率は, Ep と Lp とはすべての分泌期内膜に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ ). さらに At はすべての分泌期内膜に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ ). Hy と AH とは, Ep 及び Lp に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ ). すべての

内膜癌は, Ep 及び Lp に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ ). Hy と AH との間に有意差はみられなかった。

### (2) Cyclin D1 陽性率 (Photo 1-a, b, c, d, 3-a)

Cyclin D1 陽性率は, Ep と Lp とはすべての分泌期内膜に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ ). さらに At はすべての分泌期内膜に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ ). Hy と AH とは, Ep 及び Lp に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ ). すべての内膜癌は, Ep と Lp に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ ). Hy と AH との間に有意差はみられな

Table 3 MIB-1 and Bcl-2 expression in uterine endometrium and its disorders  
(Mean  $\pm$  SD)

endometrial histology	MIB-1 expression (%)	Bcl-2 expression (%)
early proliferative phase	35.2 $\pm$ 9.3	61.3 $\pm$ 6.7
late proliferative phase	26.0 $\pm$ 4.4	91.7 $\pm$ 15.1
early secretory phase	1.7 $\pm$ 3.4	12.3 $\pm$ 7.9
mid secretory phase	0.3 $\pm$ 0.7	7.7 $\pm$ 6.3
late secretory phase	0.0 $\pm$ 0.0	4.7 $\pm$ 6.2
diffuse atrophy	4.3 $\pm$ 4.2	17.5 $\pm$ 4.2
hyperplasia (simple)	37.2 $\pm$ 4.0	63.6 $\pm$ 6.2
hyperplasia (complex)	39.1 $\pm$ 3.5	43.6 $\pm$ 3.8
atypical hyperplasia	41.3 $\pm$ 5.0	33.6 $\pm$ 6.4
endometrial carcinoma (grade 1)	35.4 $\pm$ 6.5	19.7 $\pm$ 7.8
endometrial carcinoma (grade 2)	44.6 $\pm$ 4.6	21.6 $\pm$ 8.4
endometrial carcinoma (grade 3)	43.1 $\pm$ 6.7	5.2 $\pm$ 4.4

Table 4 Correlation between cyclins expression and Bcl-2, each cyclins in uterine endometrium and its disorders (Correlation value)

endometrial histology	between Cyclin B and Cyclin D1	between Cyclin B and Cyclin E	between Cyclin D1 and Cyclin E	between Cyclin B and Bcl-2	between Cyclin D1 and Bcl-2	between Cyclin E and Bcl-2
proliferative phase and secretory phase	0.915	0.942	0.966	0.784	0.804	0.773
hyperplasia (simple)	0.822	0.959	0.905	0.601	0.352	0.689
Hyperplasia (complex)	0.492	0.700	0.595	0.273	0.103	0.170
atypical hyperplasia	0.055	0.472	0.111	0.080	0.339	0.118
endometrial carcinoma	0.155	0.305	0.285	0.021	0.077	0.040

かった。

### (3) Cyclin E 陽性率

Cyclin E 陽性率は、Ep 及び Lp ではすべての分泌期内膜に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。さらに At ではすべての分泌期内膜に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ )。Hy と AH とは Ep 及び Lp に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ )。すべての内膜癌は、Ep 及び Lp に比し有意に低値であった ( $p < 0.001$ )。Hy と AH との間有意差はみられなかった。

### 3) MIB-1陽性率 (Table 3)

MIB-1染色所見はいずれの検体上でも腺細胞の核に陽性像がみられ、その陽性率は、Ep 及び Lp

は、各々の分泌期内膜と At に比し有意に高値であった ( $p < 0.005$ )。Hy と AH とはすべての分泌期内膜各々と At に比し有意に高値であった ( $p < 0.005$ )。内膜癌はすべての分泌期内膜各々と At に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。

### 4) Bcl-2陽性率 (Table 3), (Photo 2-a, b, c, d, 3-b)

Bcl-2染色所見はいずれの検体上でも腺細胞の細胞質に陽性像がみられた。Bcl-2陽性率は Ep 及び Lp は、すべての分泌期内膜及び At に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。Hy と AH とは各々の分泌期内膜、及び At に比し有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。内膜癌は、Ep 及び Lp あるいは Hy,

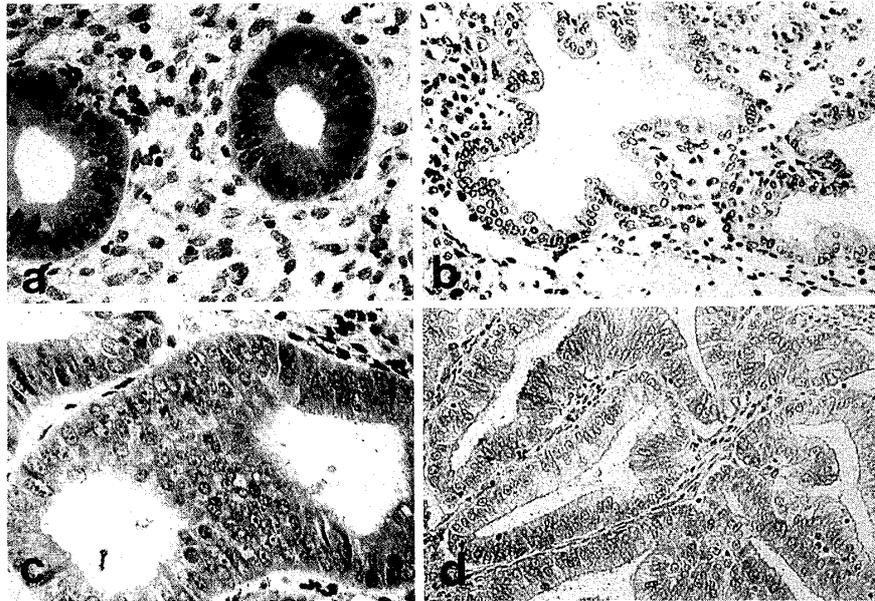


Photo 1

Photo 1-a Immunohistochemistry of cyclin D1 expression in late proliferative phase endometrium.  $\times 400$ .

Photo 1-b Immunohistochemistry of cyclin D1 expression in late secretory phase endometrium.  $\times 250$ .

Photo 1-c Immunohistochemistry of cyclin D1 expression in hyperplasia (complex).  $\times 400$ .

Photo 1-d Immunohistochemistry of cyclin D1 expression in adenocarcinoma (G1).  $\times 400$ .

AHに比し有意に低値であった( $p < 0.001$ ).

2. 同一子宮内膜病変内での任意の2つのモノクローナル抗体陽性率間の相関

1) SSHR(ERとPgR)陽性率との相関

正常子宮内膜(増殖期前期から分泌期後期まで)( $n=65$ )の同一検体におけるER陽性率とPgR陽性率間には、相関係数0.795と両者間に有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。また、SH( $n=21$ )でも相関係数0.785と有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。しかし、CH、AHでは両者間に有意な相関はみられなかったが、内膜癌では両者間に0.666の正の相関をみた。

2) 各子宮内膜病変におけるCyclin陽性率の相関(Table 4)

(1) Cyclin B陽性率とCyclin D1陽性率との相関

正常子宮内膜( $n=23$ )の同一検体におけるCyclin BとCyclin D1との陽性率間には、相関係数

0.915と両者間に有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。また、SH( $n=28$ )でも相関係数は0.540と有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。しかし、CH、AH、内膜癌では両者間に有意な相関はみられなかった。

(2) Cyclin B陽性率とCyclin E陽性率の相関

正常子宮内膜( $n=128$ )の同一検体におけるCyclin BとCyclin Eとの陽性率間には、相関係数は0.942と両者間に有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。また、SH( $n=143$ )及びCH( $n=20$ )それぞれ相関係数0.959及び0.700と有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。しかし、AH、内膜癌では両者間に有意な相関はみられなかった。

(3) Cyclin D1陽性率とCyclin E陽性率の相関

正常子宮内膜( $n=24$ )の同一検体におけるCyclin D1とCyclin Eとの陽性率間には、相関係数は0.966と両者間に有意な正の相関( $p < 0.0001$ )がみられた。また、SH( $n=29$ )でも相関係数は0.905

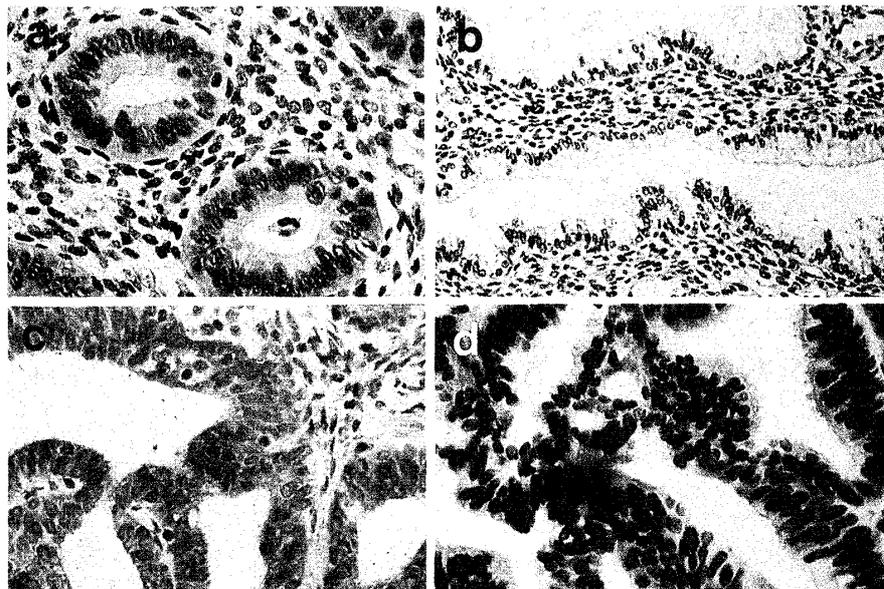


Photo 2

Photo 2-a Immunohistochemistry of Bcl-2 expression in late proliferative phase endometrium.  $\times 400$ .

Photo 2-b Immunohistochemistry of Bcl-2 expression in late secretory phase endometrium.  $\times 250$ .

Photo 2-c Immunohistochemistry of Bcl-2 expression in hyperplasia (complex).  $\times 400$ .

Photo 2-d Immunohistochemistry of Bcl-2 expression in adenocarcinoma (G1).  $\times 400$ .

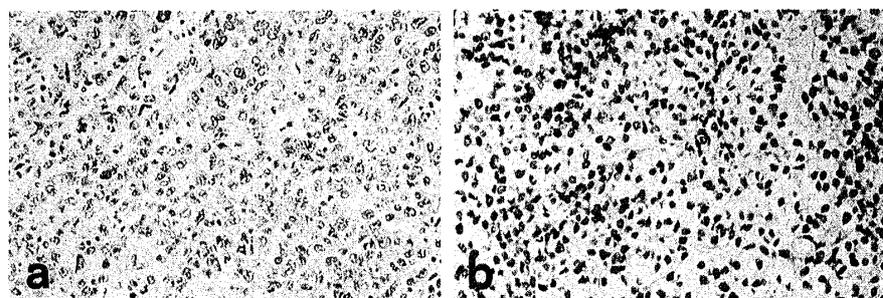


Photo 3

Photo 3-a Immunohistochemistry of cyclin D1 expression in adenocarcinoma (G3).  $\times 250$ .

Photo 3-b Immunohistochemistry of Bcl-2 expression in adenocarcinoma (G3).  $\times 250$ .

と有意な正の相関 ( $p < 0.0001$ ) がみられた。しかし、CH ( $n = 10$ ) では 0.595 と両者間に正の相関がみられたものの、AH、内膜癌では両者間に有意な相関はみられなかった。

3) 子宮内膜病変における Bcl-2 陽性率と Cyclin 陽性率の相関

正常子宮内膜の同一検体における Bcl-2 と Cy-

clin との陽性率の相関は、Cyclin B との相関係数は 0.784、Cyclin D1 との相関係数は 0.804、Cyclin E との相関係数は 0.773、といずれの両者間にも有意な正の相関 ( $p < 0.0001$ ) がみられた。また SH では Cyclin B では相関係数は 0.601、Cyclin E では相関係数は 0.689、と有意な正の相関 ( $p < 0.0001$ ) がみられたが、Cyclin D1 では有意な相関性

を認めない。CH, AH, 内膜癌ではいずれの Cyclin との間にて有意な相関はみられなかった。

#### 4) 子宮内膜病変における MIB-1陽性率と Cyclin 陽性率の相関

正常子宮内膜(n=123)の同一検体における MIB-1と Cyclin との陽性率の相関は, Cyclin Bにて相関係数は0.755, Cyclin D1にて相関係数は0.918, Cyclin Eにて相関係数は0.784といずれの両者間にも有意な正の相関(p<0.0001)がみられた。

しかし, いずれの Cyclin との間でも SH, CH, AH, 内膜癌では両者間に有意な相関はみられなかった。各子宮内膜病変における SSHR(ER, PgR)陽性率と Cyclin 陽性率あるいは SSHR 陽性率と Bcl-2 陽性率あるいは SSHR 陽性率と MIB-1 陽性率間にはすべて有意な相関はみられなかった。さらに同じく MIB-1 陽性率と Bcl-2 陽性率間にも有意な相関はみられなかった。

### 考 案

子宮内膜癌はその生物学的特性を獲得する過程で SSH による調節の乱れが生じる<sup>3)4)</sup>。さらに細胞周期, 細胞増殖あるいは細胞死動態が変化し, その結果正常子宮内膜のもつ周期的変化からの逸脱が生じている可能性がある。Lessey<sup>5)</sup>は正常子宮内膜腺細胞における ER, PgR の陽性率が増殖前期に上昇し, 分泌期で低下するという我々の検討と同様の結果を報告している。さらに増殖症あるいは内膜癌における ER の陽性率について Nyholm et al.<sup>6)7)</sup>, Bergeron et al.<sup>8)9)</sup>は病態進行に伴い陽性率が有意に低下することを報じ, ホルモン依存性の増殖動態が病態進行に伴いホルモン非依存性の自律性増殖へ変化していると述べている。我々の検討結果からも増殖症内膜ではその異型度が進むに従い, さらに類内膜腺癌では分化度が低下するに従い, ER, PgR 共に陽性率の低下がみられた。真核生物における細胞周期は Cyclin 依存性キナーゼ(CDK)と Cyclin の結合による細胞周期回転の促進と, CDK 阻害因子(CKI)による回転抑制にて調節を受けており, 細胞周期 G1期から S 期への進行には G1 Cyclin である Cyclin D あるいは Cyclin E が関与し, G2 期から M 期への進行に

は Cyclin B が関与する。さらに S 期から G2 期までの広い細胞周期の調節には Cyclin A が発現するといわれている<sup>10)</sup>。婦人科領域においては Nikaido et al.<sup>11)</sup>は正常内膜増殖期での Cyclin D1 の発現はわずかで分泌期内膜では皆無であるが, 内膜癌では発現が増強し, その発現頻度は臨床進行期及び組織分化度と関連があったと我々の検討結果と異なった結果を報告している。しかし我々の検討では Cyclin D1, Cyclin E さらには Cyclin B でも同様の結果が得られたことより, 正常内膜増殖期の中には細胞周期調節因子が重要な役割を演じている時期が含まれていることも考えられた。また Barbieri et al.<sup>12)</sup>は卵巣腫瘍におけるその悪性化と Cyclin D1 蛋白及びその mRNA との関連性について検討し, 悪性化に伴い双方の発現増強が認められたと述べている。一方他臓器癌でもそれぞれの正常組織に比し発現が増強することが確認されている<sup>13)14)</sup>。

次いで MIB-1 抗体は, Hodgkin 病由来の cell line L428 中の特異的核抗原を認識する抗体 Ki-67 の一部を認識し, G1 期後期から S 期に発現し増殖関連因子として種々の免疫組織学的研究に濫用され, 正常病変から増殖性病変さらには癌へ進行する過程における増殖能を表していると考えられている<sup>15)</sup>。正常子宮内膜における MIB-1 陽性率は, 増殖期内膜ではすべての分泌期内膜と萎縮内膜に比し有意に高値であり, 増殖症内膜におけるそれはすべての分泌期内膜と萎縮内膜に比し有意に高値であった。さらに類内膜腺癌でもすべての分泌期内膜と萎縮内膜に比し有意に高値であった。Bcl-2 (B cell lymphoma/leukemia-2) 遺伝子は, ヒト濾胞性 B 細胞リンパ腫における t(14; 18) の染色体転座から発見され Fas/TNF/P53 等のアポトーシスシグナル伝達経路の中で細胞死抑制を行っている<sup>16)</sup>。すなわち各種子宮内膜病変における Bcl-2 の発現は, 内膜細胞の細胞死を阻害していると考えられる。Bcl-2 蛋白の発現は, 消化器癌<sup>17)</sup>・乳癌<sup>18)</sup>等の多くの他臓器の悪性腫瘍にて検討されており消化器癌では前駆病変でも発現する。子宮内膜での Bcl-2 蛋白発現に関する報告<sup>19)</sup>もいくつかみられるが, 正常子宮内膜から異型増殖症内

膜までの病変では我々の結果とほぼ同様である。しかし、癌と組織分化度との関連については一定の見解が得られていない<sup>20)</sup>。しかし今回の我々の研究では各モノクローナル抗体陽性率は、子宮内膜病変の進行に必ずしも一致するものではなかった。相関性について着目すると、性ステロイドホルモンの受容体及び細胞増殖関連因子においては明らかな相関がみられなかった。一方1) 各細胞周期調節因子間と、2) 細胞周期調節因子と細胞死関連因子間において正常子宮内膜から単純型子宮内膜増殖症までの内膜病変で有意な正の相関を示した。しかし、複雑型子宮内膜増殖症、子宮内膜異型増殖症さらには類内膜腺癌では有意な相関がみられなかった。この結果から単純型子宮内膜増殖症までの内膜病変ではある一定の傾向をもって変動するが、複雑型子宮内膜増殖症、子宮内膜異型増殖症さらには類内膜腺癌ではその傾向が乱れ自立性増殖病変が不可逆性となり癌化の過程へと導かれる可能性が考えられた。

#### 文 献

1. Kurman KJ, Zaino RJ, Norris HJ. Endometrial carcinoma. Blaustein's pathology of the female genital tract. Forth Ed. New York: Springer Verlag, 1994; 439—486
2. Tabibzaden S, Zupi E, Babaknia A, Liu R, Marconi D, Romanini C. Site and menstrual cycle-dependent expression of proteins of the tumour necrosis factor (TNF) receptor family, and BCL-2 oncoprotein and phase-specific production of TNF $\alpha$  in human endometrium. Human Reproduction 1995; 10: 277—286
3. Dallenbach-Hellweg G. Histopathology of the Endometrium. 4th ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1987; 86—92
4. Bell CD, Ostrezega E. The significance of secretory features and coincident hyperplastic change in endometrial biopsy specimens. Hum Pathol 1987; 18: 830—838
5. Lessey BA. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1988; 67: 334—340
6. Nyholm HCJ, Neilsen AL, Lyndrup J, Norup P, Thorpe SM. Biochemical and immunohistochemical estrogen and progesterone receptors in adenomatous hyperplasia and endometrial carcinoma. Am J Obstet Gynecol 1992; 167: 1334—1342
7. Nyholm HCJ, Neilsen AL, Lyndrup J, Dreister A, Thorpe SM. Estrogen and Progesterone receptors in endometrial carcinoma, comparison of Immunohistochemical and biochemical analysis. Int J Gynecol Pathol 1993; 12: 245—252
8. Bergeron C, Ferenczy A, Toft DO, Shyamala G. Immunocytochemical study of progesterone receptors in hyperplastic and neoplastic endometrial tissue. Cancer Res 1988; 48: 6132—6136
9. Bergeron C, Ferenczy A, Shyamala G. Distribution of estrogen receptors in various cell types of normal, hyperplastic, and neoplastic human endometrial tissues. Laboratory Investigation 1988; 58: 338—345
10. 豊島秀男. 細胞周期を進化から考える. 実験医学 1997; 15: 45—49
11. Nikaido T, Li S, Shiozawa T, Fujii S. Coabnormal expression of cyclin D1 and p53 protein in human uterine endometrial carcinomas. Cancer 1996; 78: 1248—1253
12. Barbieri F, Cagnoli M, Ragni N, Pedulla F, Foglia G, Abd A Alama. Expression of cyclin D1 correlates with malignancy in human ovarian tumors. British Journal of Cancer 1997; 75: 1263—1268
13. 前田 清, 康 純明, 小川正文, 小野田尚佳, 仲田文造, 西口幸雄, 池原照幸, 奥野匡宥, 曾和融生. 大腸癌組織における Cyclin D1 遺伝子蛋白質の免疫組織化学的検討. 医学のあゆみ 1997; 177: 719—720
14. Lawrence RZ, Woo-Ick Y, Michele G, Ann DT, Frederick CK, Emmett VS, Andrew A. Cyclin D1 (PRAD1) protein expression in breast cancer: Approximately one-third of infiltrating mammary carcinomas show overexpression of the cyclin D1 oncogene. Modern Pathology 1995; 8: 560—567
15. McCormick D, Chong H, Hobbs C, Datta C, Hall PA. Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB-1. Histopathology 1993; 22: 355—360
16. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Coce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. Science 1985; 228: 1440—1443
17. Sinicrope FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens LC, Lee JJ, Levin B. Bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. Cancer Research 1995; 55: 237—241
18. Melora DB, Richard ME, Carl de M, Gary MC, Osborne CK, Craig A. Bcl-2 and apoptosis in Lymph Node Positive Breast Carcinoma. Cancer 1998; 82: 1296—1302

19. *Otsuki Y.* Cyclic Bcl-2 gene expression in human uterine endometrium during menstrual cycle. *Lancet* 1994 ; 344 : 28—29
  20. *Zheng W, Feng Y, Gandhi M.* Persistent Expression of Bcl-2 onco-protein in endometrial carcinoma correlates with hormone receptor. *Int J Gynecol Cancer* 1996 ; 6 : 235—240  
(No. 8159 平12・9・29受付, 平13・2・5採用)
-