

熊本大学医学部保健学科 紀 要

第14号 (2018)

目 次

総説

B細胞におけるTRAF3の機能	田邊香野 他	1
子宮内膜症関連卵巣腫瘍の発生機序	徳田 葵 他	11
卵巣癌の起源と発癌	吉本賢史 他	22

原著

全身性アミロイドイメージングプローブ ¹⁸ F-EFSBの臨床応用に向けた基礎研究	鈴木涼馬 他	33
全身性アミロイドーシス検索薬 ¹²⁵ I-EISBの研究～最適反応時間および安定性の検討～	柏 昂希 他	42

資料

補助化学療法／放射線療法を受ける乳がん患者の倦怠感に対する		
運動の効果に関する文献レビュー	村上美華 他	48

熊本大学医学部保健学科

総 説

B 細胞における TRAF3 の機能

田邊香野*, 乾誠治**

Function of TRAF3 in B cells

Kano Tanabe*, Seiji Inui**

Key words: TRAF3, B cell, NF- κ B, CD40, class switch recombination

受付日 2017 年 11 月 10 日 採択日 2017 年 12 月 11 日

*熊本保健科学大学保健科学部医学検査学科 **熊本大学大学院生命科学研究部生体情報解析学

投稿責任者: 乾誠治 inui@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

TRAF3 は TNF 受容体関連因子 (TRAF) ファミリーに属するシグナル伝達分子の一つで、もっとも謎に包まれた TRAF 分子とも言われている。発見は今から約 20 年前に遡り、CD40 の細胞内領域に結合し、そのシグナル伝達に重要な分子として同定された。現在 CD40 の細胞内領域には TRAF3 以外にも TRAF2, 5, 6 と様々な TRAF 分子が結合することが明らかとなっている。しかし他の TRAF 分子と異なり、TRAF3 は CD40 刺激で活性化する NF- κ B alternative 経路の抑制分子として機能する。これは TRAF3 を B 細胞特異的にノックアウトすると NF- κ B alternative 経路の活性化が亢進することからも明らかである。

TRAF3 は K48 ユビキチン化および K63 ユビキチン化のいずれも受けることが知られているが、CD40 や BAFF 受容体のような TNF 受容体ファミリーでの下流では K48 ユビキチン化による分解がシグナル伝達に重要となる。

B 細胞では生存や抗体産生に影響を与えることが報告されており、B 細胞にとって特に重要な分子である。

本稿では TRAF 分子について概説した後、B 細胞における TRAF3 の機能と役割を中心に論じた後、疾患とのかかわりについて言及する。

II. TRAF 分子の種類と構造

腫瘍壊死因子受容体関連因子 (Tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factor : TRAF) とは、TNF 受容体ファミリーの細胞内領域に直接結合し、シグナル伝達に機能する必須の細胞質内分子である¹⁾。現在では Toll like receptor (TLR) や IL-1 受容体、RIG-1-like receptor (RLR)、T 細胞受容体など実に様々な受容体の下流でも機能していることが分かっている (表 1)。

このことから分かるように TRAF 分子は獲得免疫や自然免疫のみならず、組織のホメオスタシスやストレス応答、胎児期の分化に至るまで幅広いシグナル伝達の制御に関わる重要な分子であることが明らかとなっている。

TRAF 分子にはスーパーファミリーが存在し、これまでに哺乳類では TRAF1 から TRAF7 が同定されている。しかし、TRAF7 に関しては、TRAF 分子に共通して有するドメインを一部欠くため TRAF ファミリーとして考えるのか議論の余地がある²⁾。

TRAF 分子は非常によく保存された共通のドメイン構造を有する。これは C 末端側に位置しており、C 領域 TRAF ドメインと呼ばれる。さらにその TRAF ドメインの中でも N 末端側に存在するコイルドコイル (CC) 領域 (TRAF-N) と C 末端側に存在する β サンドイッチ構造の TRAF-C に分けられる (TRAF7 は TRAF-C を欠く)。(図 1)

表 1 各受容体において機能する TRAF 分子

CD40 や BAFF-R などの TNF 受容体ファミリーの細胞内領域に結合する分子として発見された TRAF 分子は 1 つの受容体に対して多くの場合、複数の TRAF 分子が関与する。現在、TLR などの自然免疫系の受容体にも TRAF 分子が重要であることが分かっている。

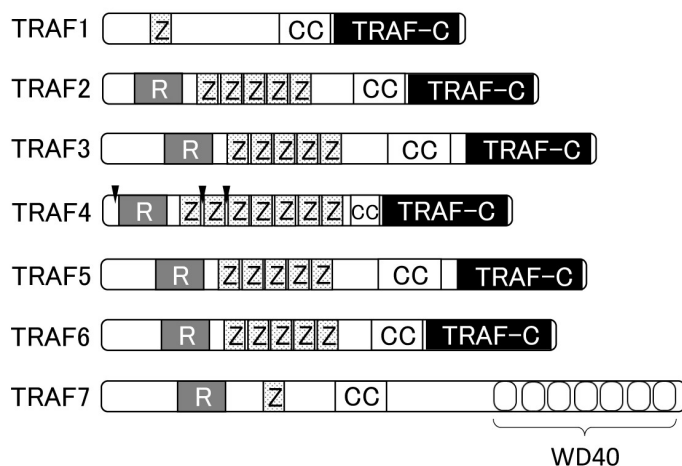
(BAFF-R : BAFF 受容体、TNFR2 : 腫瘍壊死因子受容体 2、LT β R : ロイコトリエン β 受容体、TLR4 : Toll 様受容体 4、IL-1 : インターロイキン 1、RLR : RIG-1 様受容体、TCR ; T 細胞受容体)

受容体	TRAF分子
CD40	TRAF1, 2, 3, 5, 6
BAFF-R	TRAF3, 6
TNFR2	TRAF2
LT β R	TRAF2, 3, 4, 5
TLR4	TRAF3, 6
IL-1	TRAF6
RLR	TRAF2, 3, 6
TCR	TRAF6

これらの配列は非常によく保存されており、2 量体や 3 量体のオリゴマーを作るようなタンパク結合に重要である。特に TRAF-C は TRAF 分子が受容体の細胞内領域への結合に重要な働きを示す。また TRAF-N と TRAF-C はいずれも下流の分子との結合に関与することが分かっている。例えば TRAF2 の TRAF-N は cIAP と、TRAF3 の TRAF-C は NIK と結合することが知られている。

さらに TRAF 分子は TRAF ドメインの上流に 1 つの really interesting new gene (RING) フィンガー領域と複数の Zinc フィンガー領域を持つ (TRAF1 は RING フィンガー領域を持たない)。RING ドメインには多くの場合 E3 ユビキチンリゲ活性を有しており、TRAF 分子も E3 活性を有する^{1),3)}。

つまり TRAF 分子はアダプター分子として他の分子をリクルートする役割とともに、E3 ユビキチンリゲゼとしての役割を持つ。ただし TRAF 分子の RING フィンガーが有する E3 活性は K63 ユビキチン化活性のみである。



Z: Zn fingers domain	CC: coiled-coil (TRAF-N) domain	WD40: WD40 repeats
R: Zn RING domain	TRAF-C: TRAF-C domain	↓: Nuclear localization signals

図 1 TRAF 分子と構造: TRAF 分子は現在 TRAF1 から TRAF7 ままで同定されている。TRAF 分子は共通の TRAF ドメインを有し、この中でも N 末端側に存在するコイルドコイル (CC) 領域 (TRAF-N) と C 末端側に存在する TRAF-C に分けられる。ただし TRAF7 は TRAF-C を欠く。また TRAF ドメインの上流には通常一つの Zn-RING 領域と複数の Zinc フィンガー領域を持つ。ただし TRAF1 は RING 領域を持たない。

一方で TRAF 分子自身は活性化に伴い K48 ユビキチン化、K63 ユビキチン化ともに受けることがあり、これらのユビキチン化は下流へのシグナル伝達において重要となる。つまり TRAF 分子は他の E3 によりユビキチン化を受ける基質としての側面も持っている。

これら TRAF 分子の多くは細胞質に局在しており、それらは刺激により膜へとリクルートされてから機能することが多い。ただし TRAF4 のみ、核へと局在することが分かっている。しかし近年、TRAF3 が核でも存在することが確認されている⁴⁾。

多くの場合、TRAF 分子は細胞活性化の誘導に重要だが TRAF3 は抑制的に機能する。このように TRAF3 は他の TRAF 分子と異なる点が多く認められる。

ここまで一般的な TRAF 分子の構造について概説した。本稿では未だ不明な点が多く、かつ特徴的な機能を示す TRAF3 に注目し、B 細胞における機能と役割を中心に論じる。

III. B 細胞における TRAF3 が関与する活性化経路

B 細胞における TRAF3 が関与するシグナル伝達は TNF 受容体スーパーファミリーである CD40 や BAFF レセプター下流における機能がもっともよく知られている。これらは最終的に転写因子の NF- κ B や AP-1 の活性化を誘導することで免疫応答の制御に関わる。

1994 年、TRAF1, 2 の発見に引き続き、TRAF3 が CD40 の細胞質内領域に結合する分子として発見された^{5), 6)}。TRAF3 はユビキタスに発現するタンパクであり、マウスでは脳を始め心臓や肺、肝臓、脾臓、胸腺など多くの組織で発現が確認されている⁷⁾。またヒトの細胞では単球や形質細胞、骨髄系前駆細胞で発現が確認されている。

ヒトとマウスでは 96% のアミノ酸が保存されており、種にかかわらず重要な分子であることが示唆される。これは TRAF3 のノックアウトマウスでは生後 10 日程で死亡してしまうことから伺える⁷⁾。

ここではまず B 細胞における TRAF3 が関与する

シグナル伝達を示したのち、B 細胞以外での活性化経路についても簡潔に説明する。

1. CD40

CD40 は TNF 受容体スーパーファミリーの一つで B 細胞表面に発現している受容体である。CD40 への刺激は B 細胞に増殖や抗体産生、クラススイッチなどを誘導し、B 細胞の生存や活性化などの誘導を行う。特にクラススイッチには必須の刺激であり CD40 を欠損させるとすべてのクラススイッチが起こらず、高 IgM 血症の原因となる⁸⁾。

T 細胞表面に発現する CD40L (CD154) が B 細胞の CD40 に結合すると CD40 は 3 量体を形成し、下流へとシグナルが伝わるようになる。CD40 の活性化は NF- κ B classical 経路や alternative 経路などの活性化を誘導する。

転写因子である NF- κ B には p50、p52、p65 (RelA)、RelB、c-Rel の 5 種類があり、不活性化の状態では細胞質に局在する⁹⁾ (図 2)。これらは単独ではなくホモダイマーまたはヘテロダイマーを形成し 2 量体となり、核へ移行することで転写因子として機能する。これらはすべての組み合わせが可能ではあるが 5 種類のうち RelA、RelB、c-Rel の C 末端にのみ転写活性化ドメイン (Transcriptional activation domain; TAD) が存在する。そのため p50 もしくは p52 では RelA、RelB、c-Rel のいずれかとヘテロダイマーを作った際にのみ、標的分子の転写を活性化できる。これら p50 および p52 は各々 p105、p100 と前駆体の状態で合成される。前駆体はプロテアソームにより部分分解を受けることにより成熟型となる。一般的に NF- κ B classical 経路では p50/RelA 複合体が、NF- κ B alternative 経路では p52/RelB 複合体が最終的に核に移行し、転写因子として機能する。

Classical 経路の活性化は自然免疫および獲得免疫の反応に重要で、炎症や細胞の生存にも寄与する。一方で、alternative 経路は主に B 細胞の生存や獲得免疫に重要で、さらにリンパ器官の発達にも重要である。これらの活性化にはいずれもさまざまな TRAF 分子が関与する。これらのうち、TRAF3 が重要となるのは NF- κ B alternative 経路である。

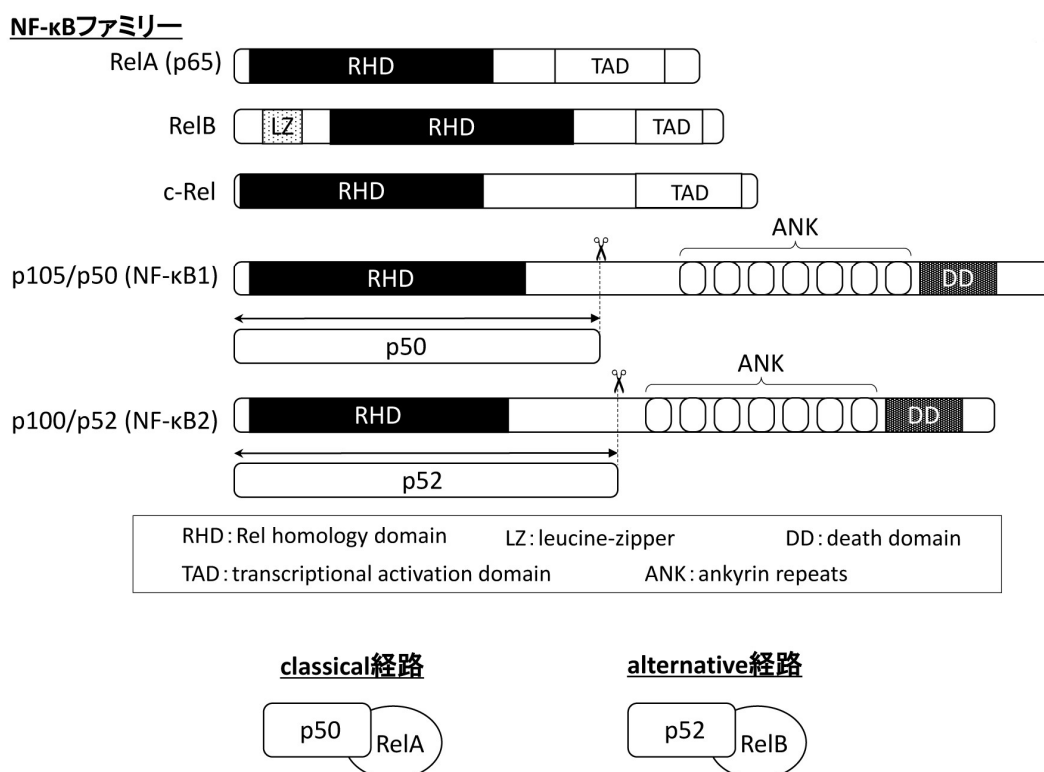


図 2 NF- κ B ファミリー : NF- κ B ファミリーには RelA (p65), RelB, c-Rel, p105/p50, p100/p52 の 5 種類があり、これらがホモダイマーもしくはヘテロダイマーを形成し、転写因子として機能する。特徴としてすべてに共通し Rel ホモロジードメイン (RHD) を有している。RelA, RelB, c-Rel には転写活性ドメイン (TAD) があるが p105/p50 と p100/p52 には存在しないためそれらのホモダイマーは転写活性を有さない。また p105 と p100 は前駆体で、部分分解を受けると p50 および p52 の成熟型となる。一般的に classical 経路では p50/RelA、alternative 経路では p52/RelB のヘテロダイマーが核へと移行し転写因子として機能する。

NF- κ B alternative 経路では TRAF2 や 6 が活性化を誘導するのに対し、TRAF3 は負の制御分子として機能している。一方で、CD40 刺激により活性化される NF- κ B classical 経路や MAPK の下流にある p38 や ERK、PI3K の活性化を TRAF3 は抑制しない¹⁰⁾。

これは TRAF3 を特異的に欠損させた B 細胞を用いた実験により示されている。TRAF3 欠損 B 細胞では野生型の B 細胞と比較し、CD40 刺激による NF- κ B classical 経路の活性化及びその活性化に伴い産生される TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカインの合成に影響がない¹¹⁾。

一方で、マウスの B 細胞特異的 TRAF3 欠損体を作成 (TRAF3^{flx/flx}, CD19-Cre) すると、B 細胞での NF- κ B alternative 経路の最終転写因子とし

て機能する p52/RelB の核移行が増加する^{12),13)}。このマウスでは B 細胞は全体的に生存に傾き、リンパ節や脾臓が肥大している。また B 細胞特異的に TRAF3 を欠損させると T 細胞依存的な抗体反応や自己抗体の産生も増加しており、TRAF3 は B 細胞のホメオスタシス制御に重要であることが分かる¹²⁾。

さらに TRAF3 の過剰発現では他の TRAF 分子と異なり NF- κ B の活性化を誘導しないことから TRAF3 が抑制因子として機能していることが伺える¹⁴⁾。

NF- κ B alternative 経路は未刺激の状態では TRAF2 と E3 ユビキチンリガーゼである cellular inhibitor of apoptosis 1/2 (cIAP1/2) が、TRAF3 と NF- κ B-inducing kinase (NIK) がそれぞれ結合し、

さらに TRAF2 と TRAF3 が結合することにより複合体を作っている (図 3)。NF- κ B alternative 経路において NIK の蓄積が活性化に必須であるため、恒常的な NIK の分解が活性化の抑制になっている。NIK は新しく合成されると速やかに TRAF3 に捕捉される。すると TRAF3 が TRAF2 と結合することで cIAP と NIK が近傍まで近づけられる。これにより cIAP が NIK を K48 ユビキチン化することが可能となる。すなわち TRAF3 が存在する限り、NIK の蓄積は起こらず、結果 TRAF3 は NF- κ B alternative 経路の抑制分子として働くこととなる。これは TRAF3 のノックアウトもしくはノックダウ

ンを行うと NIK が増加し、p100 の部分分解が誘導されることから明らかである^{15), 16)}。さらに TRAF3 との結合領域を欠損した NIK でも TRAF3 欠損の場合と同様に NIK は分解から免れ、細胞内濃度は上昇し、NF- κ B alternative 経路は活性化状態になる¹⁷⁾。ひとたび CD40L が B 細胞の CD40 へと結合すると、TRAF2 および TRAF3 が CD40 の細胞内結合領域の PVQET モチーフに結合し活性化する^{18), 19), 20)}。これに伴い、TRAF2 は cIAP を K63 ユビキチン化する。すると cIAP の基質が NIK から TRAF3 へと変更され、K48 ユビキチン化された TRAF3 はプロテアソーム系により分解される。

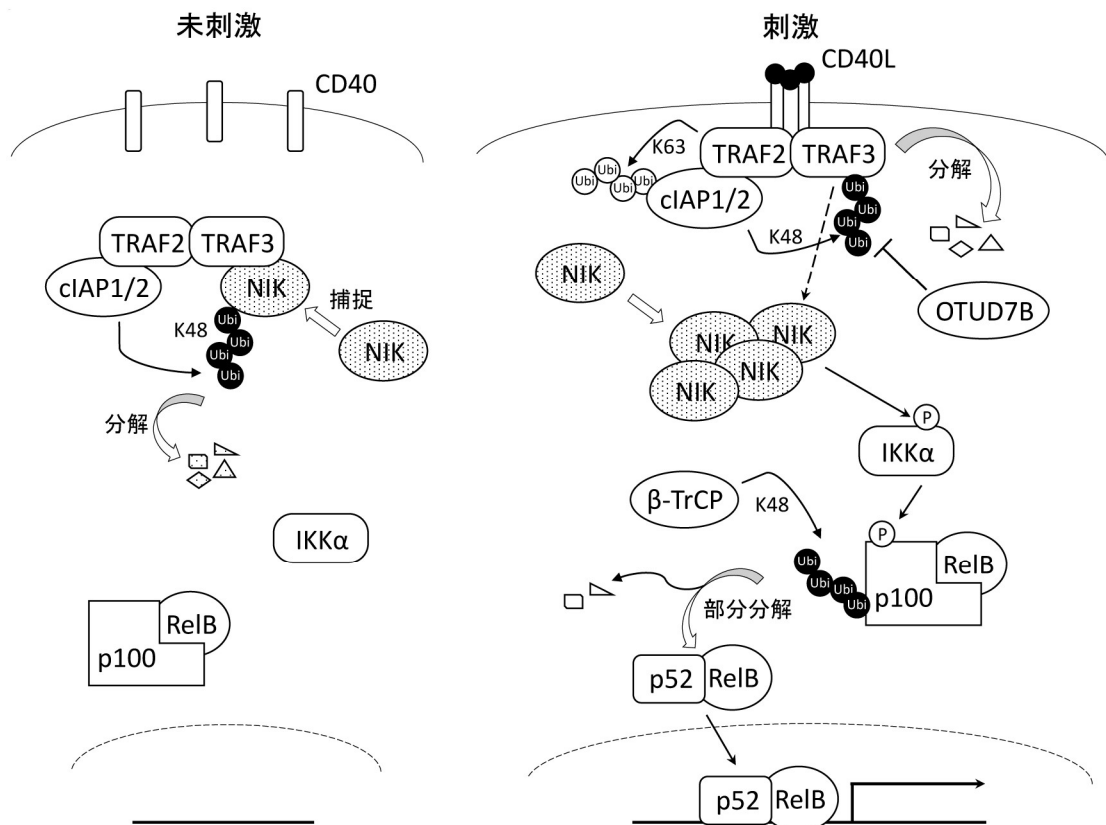


図 3 NF- κ B alternative 経路の活性化とシグナル伝達 : NF- κ B alternative 経路は未刺激では TRAF2 に結合した cIAP1/2 が TRAF3 に結合した NIK を標的とし、K48 ユビキチン化している。これにより NIK の分解が促進され、NIK を低濃度に抑えることで活性化を抑制している。刺激が入ると CD40 は三量体を形成し、TRAF2, 3 が CD40 の細胞内領域に結合する。すると TRAF2 が cIAP1/2 を K63 ユビキチン化することで cIAP1/2 の標的が NIK から TRAF3 へと変更される。TRAF3 は cIAP1/2 に K48 ユビキチン化されるとプロテアソーム系により分解される。これに伴い NIK が蓄積してくることで NIK が活性化し、下流の IKK α をリン酸化する。活性化した IKK α は p52 の前駆体である p100 をリン酸化させることで β -TrCP が p100 を K48 ユビキチン化するようになる。部分分解を受けた p100 は p52 となり、転写因子として p52/RelB 複合体が核へ移行し、機能する。

その結果 NIK を捕捉する TRAF3 がなくなり、遊離することになる。また遊離した NIK に加え、新しく合成された NIK も蓄積してくると NIK は活性化し、次の反応に必要な $I\kappa B$ kinase α (IKK α) をリン酸化する。

リン酸化された IKK α は活性化し、p100/RelB の p100 をリン酸化する。するとこのリン酸化を目印に β -TrCP が p100 のユビキチン化をすることで、プロテアソーム系による部分分解が行われる。これにより生じた p52 は核へと移行し、転写因子として機能する。このように NF- κ B の活性化にはリン酸化とユビキチン化が重要となりカスケード状に反応が進む。

NF- κ B alternative 経路における TRAF3 の重要性は TRAF3 欠損マウスの実験からも示されている。TRAF3 欠損マウスは出生後、早期致死であるがこれは NF- κ B alternative 経路にて活性化される p100 を欠損させることでレスキューすることが出来る¹⁶⁾。

通常、刺激が入るまでは NF- κ B alternative 経路の活性化は TRAF3 により抑制されている。一方で活性化された後の制御には脱ユビキチン化酵素 OTUD7B により制御される^{21), 22)}。OTUD7B は N 末端ユビキチン関連ドメインを有し、TRAF3 と結合する。すると TRAF3 の K48 ユビキチン化が外れ、TRAF3 を分解から保護する。

2. BAFF レセプター

B-cell activating factor (BAFF) レセプターは CD40 同様に TNFR スーパーファミリーに属する受容体である。その活性化に伴うシグナル伝達は CD40 と類似しており、TRAF3 の減少を伴う NF- κ B alternative 経路の活性化が誘導される。

BAFF-R にも CD40 同様、TRAF3 結合モチーフが存在する。発見当初、CD40 とは異なり TRAF 分子の中で TRAF3 のみが結合すると考えられていたが現在は TRAF2, 6 も結合することが分かっている。

BAFF レセプター下流で活性化する NF- κ B alternative 経路は未熟 B 細胞を成熟した B 細胞に分化させる²³⁾。

BAFF や BAFF-R を欠損させたマウスでは実際

に成熟 B 細胞が減少する。一方、BAFF のトランスジェニックマウスでは成熟 B 細胞が増加する。

BAFF-R は NF- κ B alternative 経路や PI3-Akt を活性化することで生存シグナルを B 細胞に伝えている。

3. B 細胞以外における活性化経路の制御

B 細胞における TRAF3 は先に示したように CD40 および BAFF-R での機能が最もよく知られている。

しかし現在、TRAF3 は獲得免疫のみならず自然免疫にも関与することが分かっている。ただしこの反応が確認されているのは B 細胞ではなくマクロファージや線維芽細胞などにおいてである。初期のころ TLR のような自然免疫系のレセプター下流には TRAF ファミリーのなかで唯一 TRAF6 のみが関与していると考えられていた²⁴⁾。しかし近年 TRAF3 の重要性が明らかとなっている²⁵⁾。

現在では TLR3, 4, 7, 9 の下流に TRAF3 が存在し、TBK1 などを紹介し、IFN α/β の産生に重要であることが明らかとされている。これらの TLR は dsRNA や ssRNA、LPS などを検出するレセプターであるため TRAF3 の欠損ではウイルス感染に対する防御に問題が生じる²⁶⁾。

TLR4 下流の場合、cIAP による TRAF3 の K48 ユビキチン化とそれに引き続き起きる分解はシグナル伝達に必須の MyD88 複合体が細胞膜から細胞質へ移動するのに必要な反応である。MyD88 の活性化は JNK や p38 の活性化を誘導し、最終的に炎症性サイトカインの産生へと続いていく²⁷⁾。この反応は CD40 下流での MEKK1 複合体を介した JNK と p38 の活性化に似る。

TRAF3 と TLR の関係についてほかにも興味深い知見がある。ヒト TRAF3 のリンパ球特異的トランスジェニックマウスでは形質細胞が増加し、TLR4 と TLR9 の刺激により IgG1 および IgG2b の産生が上昇することで高 IgG 血症を示した。これは TRAF3 と TLR が自己免疫疾患に関与することを示唆する結果である²⁸⁾。また最近の研究では B 細胞特異的 TRAF3 欠損マウスでは TLR3, 4, 7, 9 の刺激により NF- κ B classical 経路の活性化に伴いサイトカイン

の産生とクラススイッチが亢進していることも示されている²⁹⁾。

このように TRAF3 は B 細胞における機能以外にも自然免疫をはじめとした様々なシグナル伝達経路に関与しているという報告がなされている³⁰⁾。

IV. TRAF3 と疾患

TRAF 分子が関与する疾患は特にがんと自己免疫疾患が重要である³¹⁾。B 細胞特異的 TRAF3 欠損マウスでは B 細胞の生存が著しく伸び、やがて自己反応性 B 細胞が現れ、そして B リンパ腫が出現するようになる^{12), 32)}。

これは近年、ヒトの B 細胞悪性腫瘍における TRAF1, 2, 3 の関連性を示した論文が増加していることからもうかがえる。

TRAF3 においては多発性骨髄腫 (MM) の報告が多く、欠損や変異によるものが認められている^{33), 34), 35)}。その他、IgM 型の M タンパク血症を呈するワルデンストレームマクログロブリン血症³⁶⁾、ホジキンリンパ腫、ノンホジキンリンパ腫、B 細胞性慢性リンパ性白血病、マントル細胞リンパ腫など実に様々な悪性腫瘍に TRAF3 が関与することが報告されている。このことから TRAF3 は悪性腫瘍の抑制分子として重要であることが分かる。

先にも述べたが TRAF3 の欠損はウイルス感染に脆弱となる。

ヒトにおいては TRAF3 のドミナントネガティブの患者が報告されている³⁷⁾。この患者は TLR3 誘導のタイプ 1 IFN 反応が減少しており、珍しい単純ヘルペスウイルス 1 (HSV-1) による脳炎を起こしていた。

TRAF3 の変異アレルは発現が欠損するか、機能を失う、もしくはドミナントネガティブとして作用したり、TNF 受容体や TLR からのシグナルを損なうことになる。

V. TRAF3 は IgE クラススイッチに関与する

近年ますます罹患率が増加している I 型アレルギーでは B 細胞が産生する抗体の一種である Immunoglobulin E (IgE) が重要である³⁸⁾。B 細胞が産生する IgE はマスト細胞などの細胞表面に発現する Fc ϵ レセプターに結合し、アレルゲンで架橋されることでマスト細胞からの炎症性メディエータの脱顆粒を誘導する。

この IgE 産生にはまずクラススイッチと呼ばれる不可逆的な DNA 再編成反応が起きることが必須である。IgE クラススイッチにはサイトカインの IL-4 と T 細胞が発現する CD40L (CD154) による共刺激が必須となる³⁹⁾。特に CD40 の刺激はすべてのクラススイッチ反応に必須であり CD40 の欠損はクラススイッチが抑制され、高 IgM 血症の原因となる^{40), 41)}。

刺激を受けた B 細胞では転写因子 STAT6 および NF- κ B の活性化を生じる。この転写因子のうち STAT6 のノックアウトマウスでは IgE クラススイッチが生じないことが明らかとなっている⁴²⁾。一方で NF- κ B の活性化は STAT6 と協調し、IgE クラススイッチを誘導することが知られているが詳細な制御機構などはよく分かっていない。特に CD40 により活性化されることがよく知られている NF- κ B alternative 経路に関してはクラススイッチへの関与の報告はこれまで明確なものはほとんどなかった。

ところが 2012 年、IgA のクラススイッチを NF- κ B alternative 経路が負に制御しているという報告がなされた⁴³⁾。この報告では B 細胞特異的 TBK1 ノックアウトマウスを作製し解析を行ったところ、IgA 産生の抑制と CD40 および BAFF 刺激による NF- κ B alternative 経路の活性化が亢進していた。つまり NF- κ B alternative 経路が IgA クラススイッチを抑制しているということが示された。

筆者はこれまでに B 細胞受容体下流に存在するシグナル伝達分子 $\alpha 4$ の B 細胞特異的ノックアウトマウスにおける抗体産生の抑制、および IL-4 および CD40 刺激による反応性の低下が認められるという報告^{44), 45)}より、 $\alpha 4$ と IgE クラススイッチとの関係

性に注目してきた。筆者はこの $\alpha 4$ と TRAF3 が結合することを明らかにしたこと、IgE クラススイッチにおいて NF- κ B alternative 経路が重要であるのではないかと考え解析を行った。

すると NF- κ B alternative 経路が IgE クラススイッチを正に制御することを明らかにした⁴⁶⁾。これは筆者が樹立した細胞株 M12-TRAF3⁴⁷⁾を用いた実験より示された。この細胞株は Tet-Off[®]システムを用いて TRAF3 を過剰発現させたもので NF- κ B alternative 経路を特異的に抑制することができる。

この反応は IgA クラススイッチを NF- κ B alternative 経路が抑制するというこれまでの報告とは矛盾しない。クラススイッチ反応は B 細胞がどのクラスに DNA 再編成するかはサイトカインの刺激に依存する。この刺激は時に他のクラスへのクラススイッチを抑制することもある。例えば IgG1 へのクラススイッチを誘導する IFN γ は IgE クラススイッチを抑制することが知られている⁴⁸⁾。これまでに IgA クラススイッチを誘導する刺激は IgE クラススイッチを抑制するという報告がいくつかある⁴⁹⁾。

さらに筆者はこの NF- κ B alternative 経路を介した IgE クラススイッチをリン酸化酵素 カルシウム/カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMKII) が TRAF3 の K48 ユビキチン化を亢進することにより正に制御していることを明らかにした⁴⁶⁾。

HEK293T 細胞を用いた実験では CaMKII 遺伝子の濃度依存的に TRAF3 ユビキチン化が増加した。さらにこの反応をシグナル伝達分子 $\alpha 4$ が増強していることを明らかにしたがその増強はあまり強いものではなかった。これは内在性の $\alpha 4$ がすでに多く存在していたため、過剰発現では大きな変化が認められなかったためと考えられる。

VI. おわりに

TRAF3 は他の TRAF 分子と異なる反応を示し、これまで謎に包まれた分子であった。しかし近年 TRAF3 が関与する活性化経路の新たな役割や重要性が次々と報告されている。

ユビキタスに発現する分子であり、まだ機能が解

明されていない点も多々あるが特に B 細胞では生存や増殖の制御に重要である。筆者たちの樹立した細胞株 M12-TRAF3 でも培養液からドキシサイクリンを除去し、TRAF3 の発現を誘導すると増殖が緩やかになる。従来からよく研究されていた CD40 や BAFF 受容体の下流での役割や制御にも進展が認められる。2016 年に筆者たちが明らかにした TRAF3 の IgE クラススイッチへの制御も新しい知見である。

本稿では B 細胞における TRAF3 が関与する活性化経路を中心に論じたが、免疫系における自然免疫への制御や T 細胞受容体の下流での役割などでも注目が高まっている分子である。今後、新たな制御機構への関与と機能解明がますます進むことが期待される。

参考文献

- 1) Hacker, H., et al: Expanding TRAF function: TRAF3 as tri-faced immune regulator. *Nature Reviews Immunology*. 11: 457-468, 2011.
- 2) Zotti, T., et al: The seventh ring: exploring TRAF7 functions. *Journal of Cellular Physiology*. 227: 1280-1284, 2012.
- 3) Ha, H., et al: UNIT 11.9D TRAF-mediated TNFR-family signaling. *Current Protocols in Immunology*. 2009.
- 4) Mambetsariev, N., et al: Nuclear TRAF3 is a negative regulator of CREB in B cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113: 1032-1037, 2016.
- 5) Hu, H. M., et al: A novel RING finger protein interacts with the cytoplasmic domain of CD40. *Journal of Biological Chemistry*. 269: 30069-30072, 1994.
- 6) Cheng, G., et al: Involvement of CRAF1, a relative of TRAF, in CD40 signaling. *Science*. 267: 1494-1498, 1995.
- 7) Xu, Y., et al: Targeted disruption of TRAF3 leads to postnatal lethality and defective T-dependent immune responses. *Immunity*. 5: 407-415, 1996.

- 8) Conley, M. E., et al: Hyper IgM syndrome associated with defective CD40-mediated B cell activation. *Journal of Clinical Investigation*. 94: 1404-1409, 1994.
- 9) Moynagh, P. N.: The NF- κ B pathway. *Journal of Cell Science*. 118: 4389-4392, 2005.
- 10) Lin, W. W., et al: TRAF3, ubiquitination, and B-lymphocyte regulation. *Immunological Reviews*. 266: 46-55, 2015.
- 11) Xie, P., et al: Requirement for TRAF3 in signaling by LMP1, but not CD40, in B lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine*. 199: 661-671, 2004.
- 12) Xie, P., et al: Tumor necrosis factor receptor associated factor 3 is a critical regulator of B cell homeostasis in secondary lymphoid organs. *Immunity*. 27: 253-267, 2007.
- 13) Gardam, S., et al: TRAF2 and TRAF3 signal adapters act cooperatively to control the maturation and survival signals delivered to B cells by the BAFF receptor. *Immunity*. 28: 391-401, 2008.
- 14) He, J. Q., et al: TRAF3 and its biological function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 597: 48-59, 2007.
- 15) Liao, G., et al: Regulation of the NF- κ B-inducing kinase by tumor necrosis factor receptor-associated factor 3-induced degradation. *Journal of Biological Chemistry*. 279: 26243-26250, 2004.
- 16) He, J. Q., et al: Rescue of TRAF3-null mice by p100 NF- κ B deficiency. *Journal of Experimental Medicine*. 203: 2413-2418, 2006.
- 17) Sasaki, Y. et al: NIK overexpression amplifies, whereas ablation of its TRAF3-binding domain replaces BAFF:BAFF-R-mediated survival signals in B cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105: 10883-10888, 2008.
- 18) Ni, C. Z., et al: Molecular basis for CD40 signaling mediated by TRAF3. *Cell Biology*. 97: 10395-10399, 2000.
- 19) Leo, E., et al: Differential Requirements for Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factor Family Proteins in CD40-mediated Induction of NF- κ B and Jun N-terminal Kinase Activation. *Journal of Biological Chemistry*. 274: 22414-22422, 1999.
- 20) Jabara, H., et al: The binding site for TRAF2 and TRAF3 but not for TRAF6 is essential for CD40-mediated immunoglobulin class switching. *Immunity*. 17: 265-276, 2002.
- 21) Hu, H., et al: OTUD7B controls non-canonical NF- κ B activation through deubiquitination of TRAF3. *Nature*. 494: 371-374, 2013.
- 22) Sun, S. C.: The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nature reviews Immunology*. 17: 545-558, 2017.
- 23) Mackay, F., et al: Cracking the BAFF code. *Nature reviews Immunology*. 9: 491-502, 2009.
- 24) Kirschning, C. J., et al: Human Toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *Journal of Experimental Medicine*. 188: 2091-2097, 1998.
- 25) Oganessian, G., et al: Critical role of TRAF3 in the TLR-dependent and independent antiviral response. *Nature*, 439: 208-211, 2006.
- 26) Hoebe, K., et al: TRAF3: a new component of the TLR-signaling apparatus. *TRENDS in Molecular Medicine*. 12: 187-189, 2006.
- 27) Tseng, P. H., et al: Different modes of ubiquitination of the adaptor TRAF3 selectively activate the expression of type I interferons and proinflammatory cytokines. *Nature Immunology*. 11: 70-75, 2010.
- 28) Zapata, J. M., et al: Lymphocyte-specific TRAF3 transgenic mice have enhanced humoral responses and develop plasmacytosis, autoimmunity, inflammation, and cancer. *Blood*. 113: 4595-4603, 2009.
- 29) Xie, P., et al: Enhanced TLR responses of TRAF3-deficient B lymphocytes. *Journal of Leukocyte Biology*. 90: 1149-1157, 2011.
- 30) Hildebrand, J. M., et al: Roles of tumor necrosis factor receptor associated factor 3 (TRAF3) and TRAF5 in immune cell functions. *Immunological Reviews*. 244: 55-74, 2011.

- 31) Xie, P.: TRAF molecules in cell signaling and in human disease. *Journal of Molecular Signaling*. 8: 7, 2013.
- 32) Moore, C. R., et al: Specific deletion of TRAF3 in B lymphocytes leads to B lymphoma development in mice. *Leukemia*. 26: 1122-1127, 2012.
- 33) Keats, J. J., et al: Promiscuous mutations activate the noncanonical NF-kappaB pathway in multiple myeloma. *Cancer Cell*. 12: 131-144, 2007.
- 34) Annunziata, C. M., et al: Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappaB pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. *Cancer Cell*. 12: 115-130, 2007.
- 35) Demchenko, Y. N., et al: Classical and/or alternative NF-kappaB pathway activation in multiple myeloma. *Blood*. 115: 3541-3552, 2010.
- 36) Braggio, E., et al: Identification of copy number abnormalities and inactivating mutations in two negative regulators of nuclear factor-kappaB signaling pathways in Waldenstrom's macroglobulinemia. *Cancer Research*. 69: 3579-3588, 2009.
- 37) Perez, D. R., et al: Human TRAF3 adaptor molecule deficiency leads to impaired TLR3 response and susceptibility to Herpes simplex encephalitis. *Immunity*. 33: 400-411, 2010.
- 38) Maverakis, E., et al: Glycans in the immune system and the altered glycan theory of autoimmunity: a critical review. *Journal of Autoimmunity*. 57: 1-13, 2015.)
- 39) Geha, R. S., et al: The regulation of immunoglobulin E Class-switch recombination. *Nature Reviews Immunology*. 3: 721-732, 2003.
- 40) Kawabe, T., et al: The Immune Responses in CD40-deficient mice: impaired immunoglobulin class switching and germinal center formation. *Immunity*. 1: 167-178, 1994.
- 41) Jain, A., et al: Partial immune reconstitution of X-linked hyper IgM syndrome with recombinant CD40 ligand. *Blood*. 118: 3811-3817, 2011.
- 42) Goenka, S., et al: Transcriptional regulation by STAT6. *Immunologic Research*. 50: 87-96, 2011.
- 43) Jin, J., et al: The kinase TBK1 controls IgA class switching by negatively regulating noncanonical NF-kB signaling. *Nature of Immunology*. 13: 1101-1109, 2012.
- 44) Inui, S., et al: Molecular cloning of a cDNA clone encoding a phosphoprotein component related to the Ig receptor-mediated signal transduction. *Journal of Immunology*. 154: 2714-2723, 1995.
- 45) Inui, S., et al: BCR signal through alpha4 is involved in S6 kinase activation and required for B cell maturation including isotype switching and V region somatic hypermutation. *International Immunology*. 14: 177-187, 2002.
- 46) Tanabe, K., et al: IgE class switch recombination is regulated by CaMKII via NF-kB alternative pathway. *Integrative Molecular Medicine*. 3: 1-8, 2016.
- 47) 田邊 香野 et al: M12-Tet-Off pTRE2pur FLAG mTRAF3 細胞株の樹立. 熊本大学医学部保健学科 紀要. 第 9 号: 27-38, 2013.
- 48) Pene, J., et al: IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons γ and α and prostaglandin E2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 85: 6880-6884, 1988.
- 49) Xu, Z.: Immunoglobulin class-switch DNA recombination: induction, targeting and beyond. *Nature Reviews Immunology*. 12: 512-531, 2012.

総説

子宮内膜症関連卵巣腫瘍の発生機序

徳田葵*, 吉本賢史*, 柳沼裕二**

Carcinogenesis of endometriosis-related ovarian neoplasm

Aoi Tokuda*, Masafumi Yoshimoto*, Yuji Yaginuma**

Key words: ovarian cancer, endometriosis, carcinogenesis

受付日 2017 年 11 月 10 日 採択日 2017 年 12 月 11 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: 柳沼裕二 yaginuma@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

子宮内膜症はエストロゲン依存性に増殖し、子宮以外の臓器の間質や筋組織に発生する疾患と定義されている^{1,2)}。子宮内膜症の発症機序については、1927 年に Sampson らが提唱した、子宮内膜症は月経血の逆流を介して、子宮内膜細胞が異所性に着床し発症するという考え方や³⁾、卵巣表層上皮が排卵後の修復過程で陥入して生じた封入嚢胞が、子宮内膜化生を経て発症するという考え方が知られている(図 1)⁴⁾。

従来、子宮内膜症は良性の病変と考えられてきたが、1925 年に子宮内膜症が悪性転換するという報告がなされて⁵⁾、現在では、子宮内膜症の患者は卵巣癌の罹患率が 1.92 倍に上昇することが明らかとなっている⁶⁾。子宮内膜症は異型子宮内膜症を経て、卵巣癌へと進行すると考えられており、子宮内膜症が関係する卵巣癌を子宮内膜症関連卵巣癌(endometriosis-associated ovarian cancer; EAOC)と称し、主に類内膜癌、明細胞癌が関連する。また、子宮内膜症が関係する類内膜癌や明細胞癌に漿液粘液性境界性悪性腫瘍、扁平上皮癌、癌肉腫、腺肉腫、類内膜間質肉腫を含めて、子宮内膜症関連卵巣腫瘍(endometriosis-related ovarian neoplasm; ERON)とし、一般的に認知されるに至った⁷⁾。本稿では、子宮内膜症が関連して発症する ERON の病理組織学的知

見と、分子生物学的およびホルモン学的発生機序について概説する。

II. ERON の病理

卵巣腫瘍は、上皮性腫瘍、性索間質性腫瘍、胚細胞性腫瘍などに分類され⁸⁾、さらに Kurman らは卵巣癌を組織型別に I 型と II 型に分類した発癌モデルを提唱した⁹⁾。I 型腫瘍は前癌病変から段階的に発生し、低異型度漿液性癌、低異型度類内膜癌、明細胞癌、粘液性癌、Brenner 腫瘍が含まれ^{9,10)}、子宮内膜症は、主に低異型度類内膜癌や明細胞癌に関与している(図 1)。II 型腫瘍は *de novo* 発生によるもので、高異型度漿液性癌、高異型度類内膜癌、悪性中胚葉性混合腫瘍、未分化癌などを含む^{9,10)}。

1. 卵巣類内膜癌

1925 年、Sampson は、卵巣子宮内膜症を発生母地として類内膜癌が発生することを初めて報告し⁵⁾、その後の研究によると、類内膜癌の約 42%が同側卵巣や骨盤内の子宮内膜症を合併し¹¹⁾、さらに卵巣の子宮内膜症性嚢胞のある女性では類内膜癌の発症率が 35%増加する¹²⁾。

日本での卵巣癌に占める類内膜癌の頻度は 17%である¹³⁾。類内膜癌は組織学的に、子宮内膜腺上皮に類似し、組織学的異型度が低い類内膜癌では、円

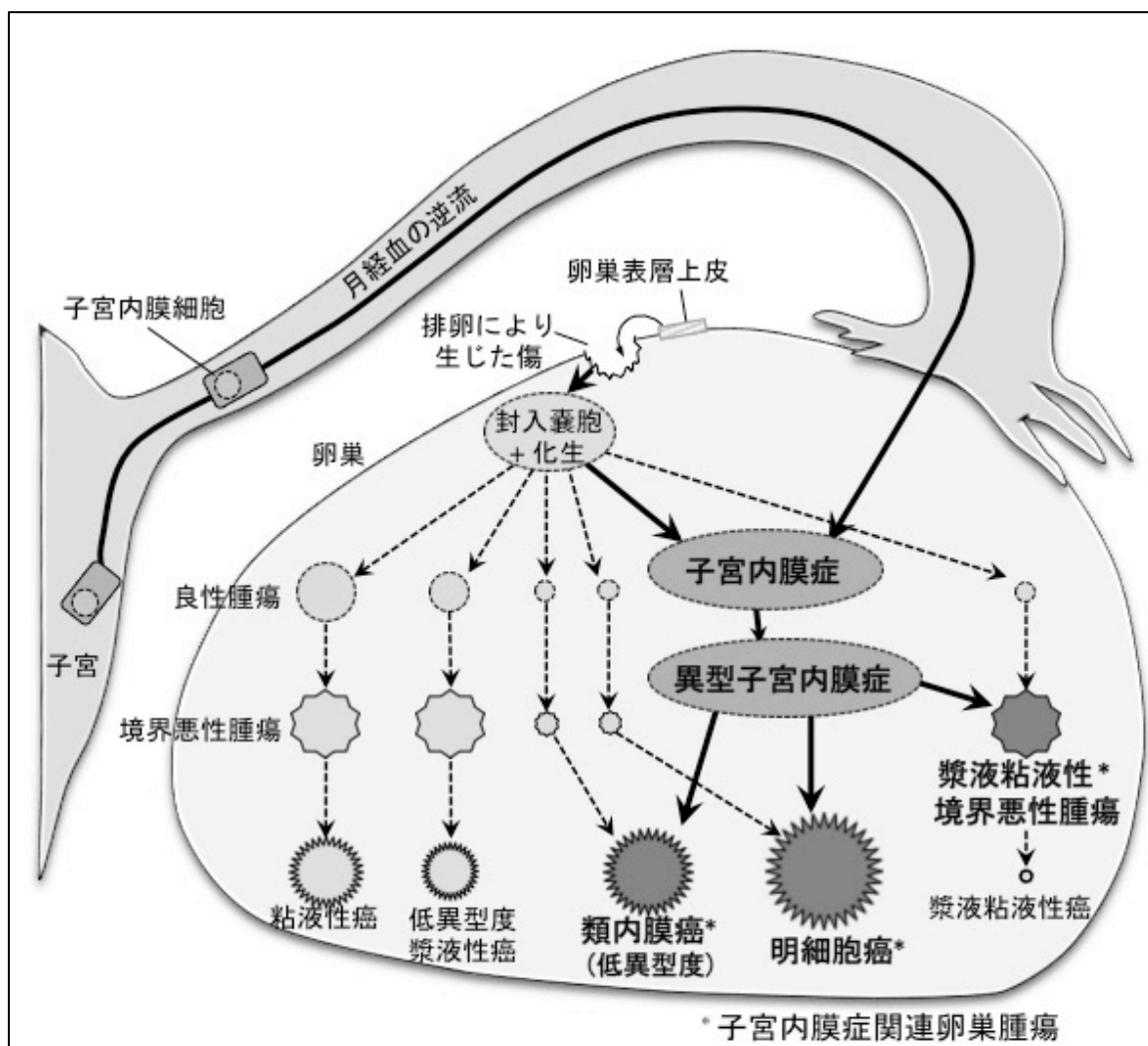


図 1. 子宮内膜症関連卵巣腫瘍の病理組織学的発癌メカニズム

子宮内膜症は子宮内膜細胞が月経血の逆流を介して異所性に着床して³⁾、または、卵巣表層上皮から封入嚢胞ができて、そこに化生が生じ発症すると考えられている⁴⁾。I型の卵巣腫瘍は封入嚢胞を介して、良性腫瘍、境界悪性腫瘍を経て悪性腫瘍へと進行する。その中でも特に類内膜癌、明細胞癌、漿液粘液性境界悪性腫瘍は子宮内膜症から異型子宮内膜症を経て発生する⁷⁾。

柱状の腫瘍細胞が管状ないし乳頭状/絨毛状構造を形成する。異型度が高くなるに従い、充実性の部分が優勢になり、細胞異型や構造異型が目立つようになる。粘液産生のみられる細胞や分泌期子宮内膜腺上皮細胞に類似する像などを示すこともある。免疫組織化学的には、EMA や cytokeratin 陽性、inhibin- α 陰性を示す⁸⁾。

2. 卵巣明細胞癌

明細胞癌の発症には、類内膜癌同様に子宮内膜症と強い関連性があり、明細胞癌の約 50-70%が卵巣

や骨盤内、腹腔内に存在する子宮内膜症と関係する⁸⁾。日本人を対象とした研究によると、卵巣の子宮内膜症性嚢胞を持つ女性は卵巣明細胞癌の発症率が 39%増加する¹²⁾。

日本での明細胞癌が卵巣癌に占める割合は 23.8%であり¹³⁾、卵巣癌の中でも特に予後が悪い。また、卵巣明細胞癌の発症率には人種差があり、日本人の卵巣癌に占める明細胞癌の割合 23.8%に対し¹³⁾、アメリカ人の卵巣癌に占める明細胞癌の割合は約 5-10%と差異がみられる¹⁴⁻¹⁶⁾。さらに、アメリカでの人種別の卵巣癌の発症頻度を調べた結果、卵

巣癌の中で明細胞癌の割合は White-American で 3.4-4.8%、African-American で 2.1-3.1%、Hispanic-American で 2.6%なのに対し、Asian-American では 11.8%と明細胞癌の割合が高く、アジア系の中でも、Chinese-American では 5.8%、Filipina-American では 8.5%であるのに比べ、Japanese-American では 9.0%と高い^{14,16)}。つまり、人種差による遺伝的背景の違いが、明細胞癌の発症頻度に関連していると考えられている。

明細胞癌の組織学的特徴は、グリコーゲン貯留を特徴とする淡明細胞や hobnail 状細胞、好酸性細胞が認められ、管状、管状・嚢胞状、嚢胞状、乳頭状などの構造が相互に移行、混合し増殖している像が見られる⁸⁾。免疫組織学的には、HNF-1 β が陽性になる¹⁷⁾。

3. 漿液粘液性境界悪性腫瘍

卵巣の粘液性境界悪性腫瘍は、従来、腸型(intestinal type)と内頸部様(endocervical-like)に分けられていたが、現在、内頸部様粘液性境界悪性腫瘍は漿液粘液性腫瘍として独立し、良性、境界悪性、悪性に分類されている⁸⁾。漿液粘液性境界悪性腫瘍は 30-40 代に発症し、約 40%が両側性に生じる腫瘍で⁸⁾、子宮内膜症と関連し、30-70%で子宮内膜症との合併が認められる¹⁸⁻²⁰⁾。

組織学的には、しばしば好中球の浸潤が見られ、線毛細胞や粘液を持つ上皮が混在し、樹枝状・乳頭状構築を特徴とした漿液性境界腫瘍に類似する⁸⁾。免疫組織化学染色では、大部分の漿液粘液性境界悪性腫瘍ではエストロゲンレセプター(ER)やプロゲステロンレセプター(PR)、CA-125、ビメンチン陽性だが、腸型の粘液性境界悪性腫瘍ではこれらのマーカーは陰性で、このことから漿液粘液性境界悪性腫瘍が腸型粘液性境界悪性腫瘍とは異なる独立した腫瘍であることが分かる^{21,22)}。

4. その他の ERON

子宮内膜症は明細胞癌、類内膜癌、漿液粘液性境界悪性腫瘍の他にも、扁平上皮癌、癌肉腫、腺肉腫、低異型度類内膜間質肉腫などの腫瘍とも関係する²³⁾。卵巣の扁平上皮癌は多くの場合、成熟奇形腫が

悪性転化することにより発生するが、稀ではあるが子宮内膜症性嚢胞から発生する場合もある。癌肉腫は悪性の間葉系成分と上皮成分からなる腫瘍で、比較的高齢者に発症し、卵巣悪性腫瘍の約 2%を占めるにすぎない。腺肉腫は悪性の間葉系成分と種々の細胞異型を示す上皮成分からなり、30-80 歳代と幅広い年齢層に発症するが非常に稀である。低異型度類内膜間質肉腫は 50-60 歳代に発症するが、卵巣原発は極めて稀である。子宮内膜症から発生する卵巣悪性腫瘍の組織型の割合は、類内膜癌が最も多く 69.1%、次に明細胞腺癌 13.5%、肉腫 11.6%、漿液性癌 2.9%、扁平上皮癌 1.4%、その他の組織型 1.5%である²³⁾。

III. ERON のホルモン学的発生機序

高エストロゲン状態は子宮内膜症の増殖を促進し、悪性転換に関係している^{23,24)}。エストロゲンにはエストロゲン活性の弱いエストロン(E1)、エストリオール(E3)とエストロゲン活性の強いエストラジオール(E2)が存在する。アロマターゼは、卵巣や副腎から産生されたアンドロステンジオンとテストステロンをそれぞれ E1 と E2 に変換する酵素である。この酵素は正常の子宮内膜の間質細胞には発現していないが、子宮内膜症病変の間質細胞ではアロマターゼ活性が増加し、その結果アンドロゲンからエストロゲンへの変換が増加している(図 2)²⁵⁾。また、E2 はシクロオキシゲナーゼ 2(COX2)を刺激してアラキドン酸からプロスタグランジン E2(PGE2)合成を増加する²⁵⁾。PGE2 が結合した膜受容体は血管新生、細胞増殖を促し、またアポトーシスを抑制することで腫瘍促進的に働く²⁶⁾。さらに、PGE2 はアロマターゼを活性化し、ポジティブフィードバックによってエストロゲン産生を促進する(図 2)²⁵⁾。また、正常子宮内膜細胞では、2 型 17 β ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(17 β -HSD2; E2 を E1 に変換する酵素)が発現しているが、子宮内膜症病変では発現していない²⁷⁾。一方、1 型 17 β -HSD(17 β -HSD1; E1 から E2 へ変換する酵素)は正常子宮内膜、子宮内膜症病変ともに発現している(図 2)²⁷⁾。つまり、子宮内膜症では 17 β -HSD2

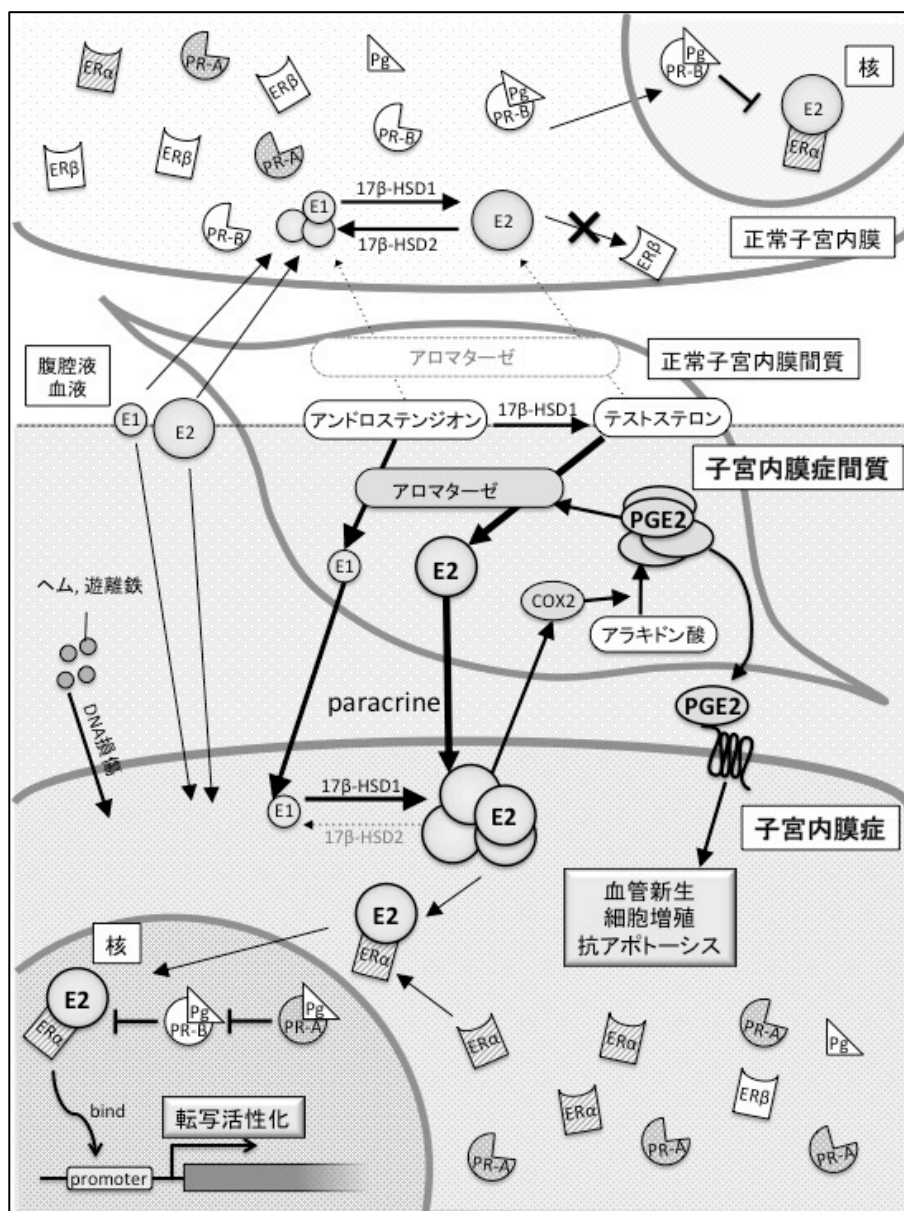


図 2. 正常子宮内膜組織と子宮内膜症組織でのホルモン調節

正常子宮内膜の間質細胞には、アロマトラーゼは存在せず、細胞は腹腔液や血液によって運ばれる E1、E2 によって制御されているが、子宮内膜症の間質細胞ではアロマトラーゼによってアンドロステジオンやテストステロンから E1、E2 が合成される²⁵⁾。E1、E2 は 17β-HSD2 と 17β-HSD1 によって変換されているが、子宮内膜症細胞では 17β-HSD2 が発現していないため E2 濃度が増加している²⁷⁾。E2 は COX2 を刺激し、PGE2 合成を増加させる²⁵⁾。PGE2 は細胞増殖や血管新生、抗アポトーシスを引き起こす経路に関与しており、PGE2 が増加することにより腫瘍促進的に働く²⁶⁾。さらに PGE2 はアロマトラーゼ活性を刺激し、ポジティブフィードバックにより断続的にエストロゲンを産生する²⁵⁾。

子宮内膜症では ERβ に比べて ERα が増加している³⁰⁾。ERβ は E2 に対して非応答性であるが、ERα は E2 と結合し核へ移行し標的遺伝子の転写を活性化し、細胞増殖を促進する²⁹⁾。プロゲステロンは PR-B と結合し、核内へ移行し、ERα と結合して ERα の作用を抑制することで細胞増殖を抑制する³¹⁾。PR-B より長さの短いアイソフォームである PR-A は PR-B を抑制するが、子宮内膜症では PR-B は発現せず、PR-A のみ発現している³²⁾。

これらのホルモン調節異常により、子宮内膜症ではエストロゲン刺激が増加し、子宮内膜症、子宮内膜症関連卵巣腫瘍の発達、進行が促進している。

の発現が消失することで、エストロゲン活性の強い E2 の合成が増加し、子宮内膜症の進展および腫瘍化を促進している。以上のように子宮内膜症の進展には子宮内膜症の細胞自体のみならず子宮内膜症の間質細胞も重要な役割を果たし、各々の細胞間での相互作用がその発生、進展に密接に関係している。

正常組織に比べて、卵巣癌組織では ER α の発現量が増加、ER β の発現量が減少し、卵巣癌の発癌・腫瘍の進展に関係している²⁸⁾。ER α は E2 に反応して細胞増殖や種々の遺伝子発現調節機能を持っている。一方、ER β は E2 に対して非応答性で、卵巣癌細胞株では細胞増殖や運動能を阻害し、アポトーシスを促進する²⁹⁾。また、子宮内膜症は、赤色病変、黒色病変、白色病変と段階的に変化するが、赤色病変では黒色病変に比べて ER β よりも ER α が増加しており³⁰⁾、ER α が子宮内膜症の初期の段階から発現し、子宮内膜症の発生、進展に関与する。

プロゲステロンは一般的に ER α と結合し、エストロゲンの細胞増殖作用を阻害するため、人工的に合成したプロゲステロンであるプロゲスチンが子宮内膜症の治療に用いられている³¹⁾。しかし、一部の子宮内膜症患者は、プロゲスチン療法の効果が認められず、またプロゲステロン誘導分子の発現が減少しており、「プロゲステロン抵抗性」が見られる^{1, 31, 32)}。正常子宮内膜組織では、プロゲステロンと結合して ER α を抑制する PR isoform B (PR-B) と、PR-B を抑制する PR-A の両方が発現しているが、子宮内膜症組織では PR-A のみ発現している(図 2)³²⁾。また、PR には、イントロン G (エクソン 7-8 間) への Alu 配列(トランスポゾン的一种)の挿入や、エクソン 4、5 の SNP を含む遺伝子多型 (PROGINS) が存在し、正常子宮内膜に比べて、子宮内膜症組織では PROGINS の多型の頻度が 2.6 倍に増加している³³⁾。野生型と比較して、PROGINS を保有した PR-A は安定化・増加するため、効率的に PR-B の発現を抑制し、プロゲステロンに対する反応性を減少させる³⁴⁾。以上より、子宮内膜症ではプロゲステロンに対する応答性が抑制されるため、プロゲステロン抵抗性が生じ、また相対的にエストロゲンの活性が増大し、子宮内膜症の進展及び腫瘍化を促進している。

IV. ERON の分子生物学的発生機序

1. 遺伝子異常

子宮内膜症の単クローン性

単クローン性増殖はヒトの悪性腫瘍の基本的な特徴である。子宮内膜症はかつて、良性の病変であると考えられていたが、現在では子宮内膜症の 60-100% が単クローン性に増殖していることが証明されており³⁵⁻³⁷⁾、子宮内膜症自体が腫瘍性の性格を有している(図 3)。

LOH (Loss of Heterozygosity)

LOH は一般的に、癌抑制遺伝子の不活化に関与する。子宮内膜症検体の 27.5% で染色体 9p、11q、22q に卵巣類内膜癌と同様の LOH がみられ³⁵⁾、さらに類内膜癌、明細胞癌に隣接する子宮内膜症にも 5q、6p、9p、11q、13q、17q、22q の領域に癌と共通する LOH が見られる³⁸⁻⁴¹⁾。また、子宮内膜症の 36.4% で p16^{Ink4} や p53 などの遺伝子の局在する部位 (9p21、17p13.1、1q21) での LOH が見出され、これらの遺伝子座の LOH は子宮内膜症のステージ II に比べて、III や IV では 3 倍に増加している⁴²⁾。さらに 6q や 10q の LOH は異型子宮内膜症での頻度が特に高く⁴³⁾、これは LOH が子宮内膜症の進行の過程で生じていることを示している。

PTEN

PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) は染色体 10q23.3 に位置し、Cowden 病の原因遺伝子としてクローニングされた。現在では広く癌抑制遺伝子として知られ、多くの癌で機能の不活化が高頻度で認められる。PTEN はホスファチジルイノシトールを脱リン酸化し、PI3K-AKT/PKB シグナル経路を阻害し、細胞周期や細胞の生存を調節している。PTEN の LOH と遺伝子変異は、子宮内膜症と卵巣癌の双方で頻繁に認められる。子宮内膜症性嚢胞の 56.5%、卵巣の類内膜癌の 42.1%、明細胞癌の 27.3% で PTEN の存在する 10q23.3 での LOH が同定されている⁴⁴⁾(図 3)。また、PTEN の体細胞性変異は子宮内膜症性嚢胞の 20.6%、類内膜癌の 20.0%、明細胞癌の 8.3% で認められる⁴⁴⁾(図 3)。さらに免疫組織化学染色に

より、子宮内膜症の 15%、類内膜癌の 30%⁴⁵⁾、明細胞癌の 38%⁴⁶⁾で PTEN 蛋白質の発現量が減少している⁴⁷⁾(図 3)。また、マウスモデルを用いた研究では、卵巣表層上皮での活性化 KRAS の発現もしくは PTEN の欠損があると子宮内膜腺構造を伴う前癌病変を形成し、活性化 KRAS の発現と PTEN の欠損のどちらも存在すると侵襲性、広範な転移性をもつ卵巣類内膜癌を引き起こした⁴⁸⁾。

CTNNB1

CTNNB1(Catenin Beta 1)は染色体 3p22.1 上に位置し、Wnt/ β カテニンシグナル経路の重要な下流の構成因子である β カテニンをコードしている。 β カテニンはカドヘリンや α カテニンとともに細胞間接着に関与し、また転写因子 TCF/LEF と複合体を形成し、細胞周期関連因子などの転写活性を促進する。CTNNB1 の遺伝子変異は卵巣類内膜癌の 16-54%で認められるが⁴⁹⁻⁵²⁾(図 3)、この変異は類内膜癌特異的であり、他の組織型では認められない。CTNNB1 の遺伝子異常はエクソン 3 に集中しているが、この領域は β カテニンの分解制御に重要なため、分解されずに細胞内に蓄積した β カテニンは、種々の癌遺伝子の転写を促進し、細胞の増殖を誘導する。子宮内膜症を伴う卵巣癌における CTNNB1 の変異解析では、卵巣類内膜癌の 60%、またこの癌に共存する子宮内膜症の 52.4%、異型子宮内膜症 73.3%でも CTNNB1 変異が認められる。つまり、CTNNB1 の変異は子宮内膜症関連類内膜癌の早期の段階で起こる⁵³⁾(図 3)。

p53

核蛋白質 p53 をコードする遺伝子 p53(染色体 17p13.1)は、低酸素状態、DNA 損傷などの細胞ストレスに反応して、細胞周期の停止、アポトーシス、老化、DNA 修復、代謝の変化などを引き起こすことで癌抑制遺伝子として働く。p53 は、Li-Fraumeni 症候群の原因遺伝子で、その異常は卵巣癌を含む様々な癌に関係している。子宮内膜症においても、その重症例で p53 の遺伝子欠損が子宮内膜症の検体の 14 例中 12 例で生じている⁵⁴⁾(図 3)。また、p53 変異によって生じた機能不活化型 p53 蛋白質は、核

内に蓄積する^{55,56)}。癌を伴わない子宮内膜症と比較して、明細胞癌と隣接する子宮内膜症の 9%、類内膜癌と隣接する子宮内膜症の 25%で p53 の蓄積が認められる^{35, 57, 58)}(図 3)。さらに、異型のない子宮内膜症から異型子宮内膜症や ERON へ進行する際の p53 過剰発現の有無を解析すると、正常子宮内膜(0%)、子宮内膜症(11.8%)、異型子宮内膜症(100%)、癌を伴う子宮内膜症(82.4%)で p53 過剰発現がみられ、さらに p53 陽性細胞数は癌を伴う子宮内膜症で最も高く⁵⁹⁾(図 3)、p53 異常は子宮内膜症の悪性化に深く関与する。

ARID1A

ARID1A(AT-Rich Interaction Domain 1A)は染色体 1p36.11 に位置し、SWI/SNF クロマチンリモデリングファミリーに属する BAF250a をコードしている。BAF250a は転写や DNA メチル化、DNA 合成と DNA 損傷の修復などに関係し、核に局在している。BAF250a は Brg1 や ATPase と相互作用し、クロマチン構造を変化させて特定の遺伝子の転写を調節する。ARID1A の変異は、卵巣の明細胞癌で約 50%、卵巣の類内膜癌で約 30%、子宮の類内膜癌の約 40%で認められる^{60,61)}。免疫染色による解析で、明細胞癌 41-61%、類内膜癌 31-48%で BAF250a の発現消失が認められる⁶¹⁻⁶⁴⁾。さらに癌と隣接する子宮内膜症では BAF250a の発現消失は 54%に認められるが、癌から離れた子宮内膜症では認められず⁶²⁻⁶⁴⁾(図 3)、ARID1A の変異、BAF250a の発現消失は ERON の発症の比較的早期に起こる分子生物学的異常である。卵巣の境界悪性腫瘍の様々な組織型での ARID1A の発現について免疫染色と変異解析を行うと、ARID1A の染色性の消失は漿液粘液性境界悪性腫瘍の 33%で見られたが、漿液性境界悪性腫瘍、腸型粘液性境界悪性腫瘍では染色性は保持され、さらに ARID1A の染色性が消失していた漿液粘液性境界悪性腫瘍のうち、8%で ARID1A の体細胞性変異が認められる⁶⁵⁾(図 3)。

HNF-1 β

HNF-1 β (Hepatocyte Nuclear Factor-1 β)は、染色体 17q12 に位置する。HNF-1 β は肝臓特異的に発現す

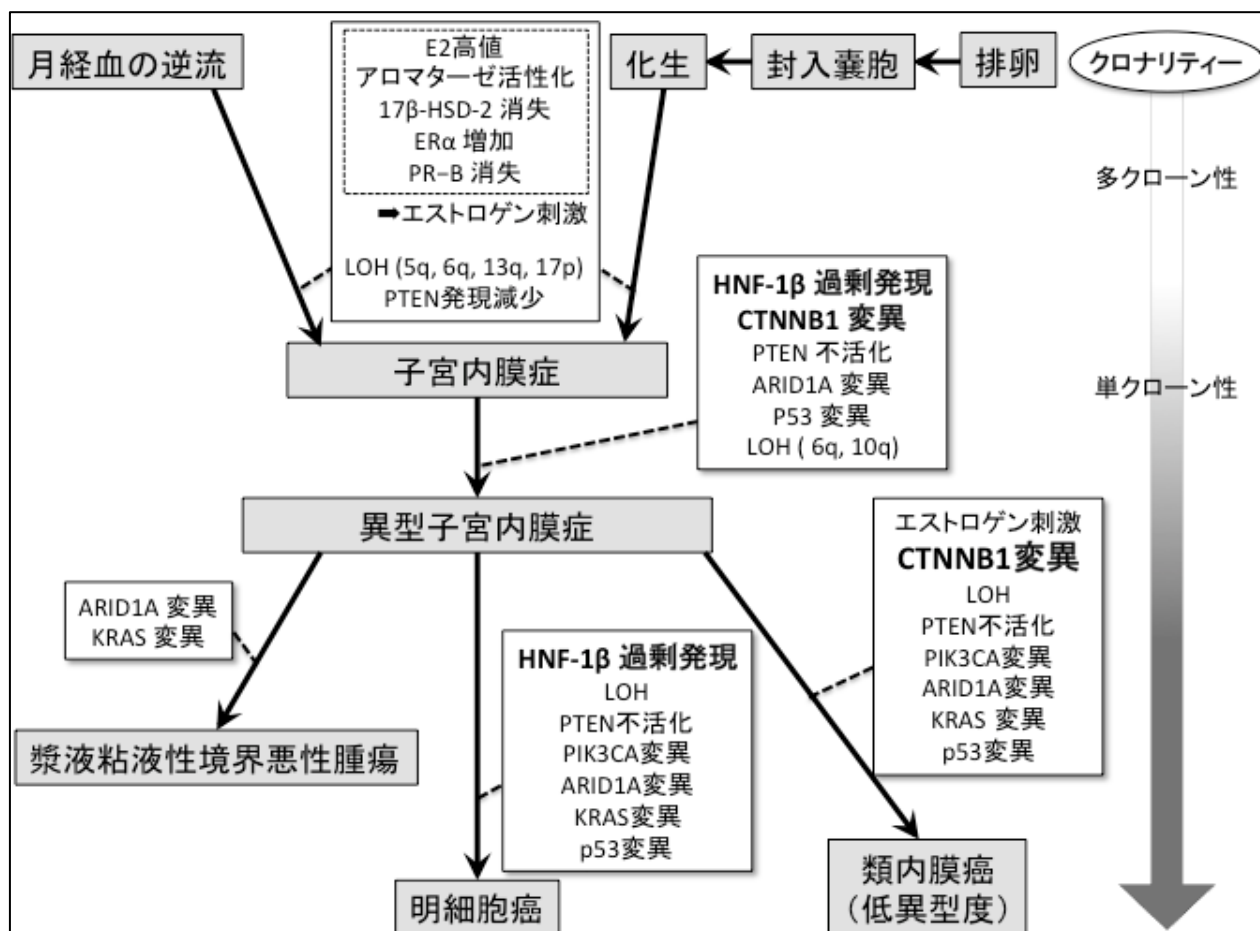


図 3. 子宮内膜症関連卵巣腫瘍での分子生物学的異常

正常の組織は多クローン性に増殖するが、子宮内膜症では悪性腫瘍のように単クローン性増殖が見られる³⁵⁻³⁷⁾。明細胞癌、類内膜癌、漿液粘液性境界悪性腫瘍の発生には、HNF-1βの過剰発現、CTNNB1、PTEN、ARID1A、KRASなどの変異やエストロゲンの刺激などが関係している。子宮内膜症や異型子宮内膜症においてもLOHやエストロゲンを活性化する変化、PTEN、ARID1Aの変異などが認められ、これらの異常が子宮内膜症関連卵巣腫瘍の発生において早期の段階から生じており、さらにこれらが蓄積することで発癌に至ると考えられる。

る遺伝子の転写因子としてクローニングされたが、肝臓以外にも、腎臓、肺、腸、分泌期後期や妊娠時の子宮内膜腺の上皮細胞などでも発現している。HNF-1βは主に器官形成、発生や糖代謝に関連する遺伝子の発現制御に関係している⁶⁶⁾。卵巣明細胞癌におけるHNF-1βの発現解析の結果、mRNA、蛋白質レベルともに発現が増加している⁶⁷⁾。また、全ゲノム発現解析の結果、明細胞癌、子宮内膜症ではHNF-1βは発現増加が見られたが、類内膜癌では発現していない⁶⁸⁾(図3)。HNF-1βはアポトーシスや細胞周期、グリコーゲンの蓄積などの調節に関与しており、HNF-1βが明細胞癌の発癌に重要で、しかも発癌における早期の段階から影響している⁶⁹⁾。

2. ヘムと遊離鉄

ヘムと遊離鉄は酸化促進物質であり、酸化ストレスやDNAダメージを誘発し、発癌リスクを増加させる⁶⁸⁻⁷⁰⁾。月経血の腹腔内への逆流や性成熟期におけるチョコレート嚢胞での出血の繰り返しの結果、子宮内膜症病変部位でヘムや遊離鉄が過剰に蓄積し、発癌に関与している^{69, 70)}。

3. 炎症

種々の悪性腫瘍の発生に炎症が関連している。子宮内膜症は局所の炎症反応に関係し、炎症細胞が子宮内膜症の病変部位に集簇し、子宮内膜症を持つ女

性の腹水中でサイトカインや成長因子の増加が見られる^{71,72)}。また、子宮内膜症では血清の TNF- α の量が卵巣癌患者と同程度で、一方、血清中の IL-6 量や囊胞内液の IL-8 量は良性と悪性卵巣腫瘍の中間の値を示す⁷³⁾。他にも IL-1 が子宮内膜症を持つ女性の腹水中で増加すること⁷²⁾や、COX2 の発現を増加させ、PGE2 の合成を促進する IL-1 β に対する感受性が、異所性の子宮内膜で増加する⁷⁴⁾。これらのサイトカインや成長因子により、血管新生や増殖の促進、アポトーシスの抑制など腫瘍の進展に好条件な環境が生じることにより、子宮内膜症の進展や腫瘍の発生に至る。

V. 終わりに

長年にわたる卵巣悪性腫瘍の研究により、その発生メカニズムが、病理学的、内分泌学的、分子生物学的に次第に明らかになるに従い、新たな卵巣腫瘍の分類もなされている現状である。その中で、近年、子宮内膜症を発生母地とする子宮内膜症関連腫瘍(ERON)という疾患概念が認知されつつある。卵巣悪性腫瘍の病理組織型は非常に多彩で、その生物学的悪性度も大きく異なり、治療成績も決して満足出来る現状ではない。そこで新たな病理学的、分子生物学的知見に伴う、より詳細な卵巣腫瘍の分類がなされれば、よりその組織型に適切かつ個々の患者背景に見合った治療が可能となり、予後の改善も期待できる。従って、今後は子宮内膜症を含めた ERON の発症メカニズムを分子生物学的にさらに詳細に解析することが、新たな診断、治療法の開発につながり、最終的にはそれらの予後の改善に寄与すると考えられる。

参考文献

- Giudice, L.C., et al: Endometriosis. *Lancet*. 364(9447): 1789-99, 2004.
- Olive, D.L., et al: Endometriosis. *N Engl J Med*. 328(24): 1759-69, 1993
- Sampson, J.: Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. : *American journal of obstetrics and gynecology*. 422-469, 1927.
- Lauchlan, S.C.: The secondary Müllerian system. *Obstet Gynecol Surv*. 27(3): 133-46, 1972.
- Sampson, J.: Endometrial carcinoma of the ovary, arising in endometrial tissue in that organ. *Arch Surg*. 422-469, 1925.
- Brinton, L.A., et al.: Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 176(3): 572-9, 1997.
- Maeda, D., et al: Pathogenesis and the role of ARID1A mutation in endometriosis-related ovarian neoplasms. *Adv Anat Pathol*. 20(1): 45-52, 2013.
- 日本産婦人科学会・日本病理学会編: 卵巣腫瘍・卵管癌・腹膜癌取扱い規約 病理編 第 1 版, 金原出版株式会社, 東京, 2016.
- Shih, I.M., et al: Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol*. 164(5): 1511-8, 2004.
- Kurman, R.J., et al: The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. 34(3): 433-43, 2010.
- Fukunaga, M., et al: Ovarian atypical endometriosis: its close association with malignant epithelial tumours. *Histopathology*. 30(3): 249-55, 1997.
- Kobayashi, H., et al: Ovarian endometrioma--risks factors of ovarian cancer development. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 138(2): 187-93, 2008.
- 青木大輔: 婦人科腫瘍委員会報告 2012 年度患者年報, 日本産婦人科学会, 995-1038, 2014.
- Chan, J.K., et al: Do clear cell ovarian carcinomas have poorer prognosis compared to other epithelial cell types? A study of 1411 clear cell ovarian cancers. *Gynecol Oncol*. 109(3): 370-6, 2008.
- Crozier, M.A., et al: Clear cell carcinoma of the ovary: a study of 59 cases. *Gynecol Oncol*. 35(2): 199-203, 1989.

- 16) McGuire, V., et al: Survival among U.S. women with invasive epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 84(3): 399-403, 2002.
- 17) Köbel, M., et al: A limited panel of immunomarkers can reliably distinguish between clear cell and high-grade serous carcinoma of the ovary. *Am J Surg Pathol.* 33(1): 14-21, 2009.
- 18) Kim, K.R., et al: Endocervical-like (Müllerian) mucinous borderline tumours of the ovary are frequently associated with the KRAS mutation. *Histopathology.* 57(4): 587-96, 2010.
- 19) Rutgers, J.L., et al: Ovarian mullerian mucinous papillary cystadenomas of borderline malignancy. A clinicopathologic analysis. *Cancer.* 61(2): 340-8, 1988.
- 20) Fukunaga, M., et al: Epithelial metaplastic changes in ovarian endometriosis. *Mod Pathol.* 11(8): 784-8, 1998.
- 21) Vang, R., et al: Ovarian atypical proliferative (borderline) mucinous tumors: gastrointestinal and seromucinous (endocervical-like) types are immunophenotypically distinctive. *Int J Gynecol Pathol.* 25(1): 83-9, 2006.
- 22) Yasunaga, M., et al: Immunohistochemical characterization of mullerian mucinous borderline tumors: possible histogenetic link with serous borderline tumors and low-grade endometrioid tumors. *Hum Pathol.* 40(7): 965-74, 2009.
- 23) Heaps, J.M., et al: Malignant neoplasms arising in endometriosis. *Obstet Gynecol.* 75(6): 1023-8, 1990.
- 24) Oxholm, D., et al: Postmenopausal endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 86(10): 1158-64, 2007.
- 25) Zeitoun, K.M., et al: Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril.* 72(6): 961-9, 1999.
- 26) Wang, D., et al: Prostaglandins and cancer. *Gut.* 55(1): 115-22, 2006.
- 27) Zeitoun, K., et al: Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab.* 83(12): 4474-80, 1998.
- 28) O'Donnell, A.J., et al: Estrogen receptor-alpha mediates gene expression changes and growth response in ovarian cancer cells exposed to estrogen. *Endocr Relat Cancer.* 2005. 12(4): 851-66, 1998.
- 29) Bardin, A., et al: Involvement of estrogen receptor beta in ovarian carcinogenesis. *Cancer Res.* 64(16): 5861-9, 2004.
- 30) Matsuzaki, S., et al: Expression of estrogen receptor alpha and beta in peritoneal and ovarian endometriosis. *Fertil Steril.* 75(6): 1198-205, 2001.
- 31) Bulun, S.E., et al: Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol.* 248(1-2): 94-103, 2006.
- 32) Attia, G.R., et al: Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 85(8): 2897-902, 2000.
- 33) Wieser, F., et al: PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril.* 77(2): 309-12, 2002.
- 34) Romano, A., et al: The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone. *J Mol Endocrinol.* 38(1-2): 331-50, 2007.
- 35) Jiang, X., et al: Microsatellite analysis of endometriosis reveals loss of heterozygosity at candidate ovarian tumor suppressor gene loci. *Cancer Res.* 56(15): 3534-9, 1996.
- 36) Jimbo, H., et al: Evidence for monoclonal expansion of epithelial cells in ovarian endometrial cysts. *Am J Pathol.* 150(4): 1173-8, 1997.
- 37) Nilbert, M., et al: Monoclonal origin of endometriotic cysts. *Int J Gynecol Cancer.* 5(1): 61-63, 1995.
- 38) Cliby, W., et al: Human epithelial ovarian cancer allelotype. *Cancer Res.* 53(10 Suppl): 2393-8, 1993.
- 39) Jiang, X., et al: Allelotyping of endometriosis with

- adjacent ovarian carcinoma reveals evidence of a common lineage. *Cancer Res.* 58(8): 1707-12, 1998.
- 40) Osborne, R.J., et al: Polymerase chain reaction allelotyping of human ovarian cancer. *Br J Cancer.* 69(3): 429-38, 1994.
 - 41) Prowse, A.H., et al: Molecular genetic evidence that endometriosis is a precursor of ovarian cancer. *Int J Cancer.* 119(3): 556-62, 2006.
 - 42) Goumenou, A.G., et al: Microsatellite DNA assays reveal an allelic imbalance in p16(Ink4), GALT, p53, and APOA2 loci in patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 75(1): 160-5, 2001.
 - 43) Obata, K., et al: Common genetic changes between endometriosis and ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest.* 50 Suppl 1: 39-43, 2000.
 - 44) Sato, N., et al: Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. *Cancer Res.* 60(24): 7052-6, 2000.
 - 45) Madore, J., et al: Characterization of the molecular differences between ovarian endometrioid carcinoma and ovarian serous carcinoma. *J Pathol.* 220(3): 392-400, 2010.
 - 46) Hashiguchi, Y., et al: PTEN expression in clear cell adenocarcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol.* 101(1): 71-5, 2006.
 - 47) Martini, M., et al., Possible involvement of hMLH1, p16(INK4a) and PTEN in the malignant transformation of endometriosis. *Int J Cancer.* 102(4): 398-406, 2002.
 - 48) Dinulescu, D.M., et al: Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer. *Nat Med.* 11(1): 63-70, 2005.
 - 49) McConechy, M.K., et al: Ovarian and endometrial endometrioid carcinomas have distinct CTNNB1 and PTEN mutation profiles. *Mod Pathol.* 27(1): 128-34, 2014.
 - 50) Palacios, J., et al: Mutations in the beta-catenin gene (CTNNB1) in endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res.* 58(7): 1344-7, 1998.
 - 51) Wright, K., et al: beta-catenin mutation and expression analysis in ovarian cancer: exon 3 mutations and nuclear translocation in 16% of endometrioid tumours. *Int J Cancer.* 82(5): 625-9, 1999.
 - 52) Saegusa, M., et al: Frequent nuclear beta-catenin accumulation and associated mutations in endometrioid-type endometrial and ovarian carcinomas with squamous differentiation. *J Pathol.* 194(1): 59-67, 2001.
 - 53) Matsumoto, T., et al: Distinct β -catenin and PIK3CA mutation profiles in endometriosis-associated ovarian endometrioid and clear cell carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 144(3): 452-63, 2015.
 - 54) Bischoff, F.Z., et al: Somatic DNA alterations in endometriosis: high frequency of chromosome 17 and p53 loss in late-stage endometriosis. *J Reprod Immunol.* 55(1-2): 49-64, 2002.
 - 55) Høgdall, E.V., et al: Distribution of p53 expression in tissue from 774 Danish ovarian tumour patients and its prognostic significance in ovarian carcinomas. *APMIS.* 116(5): 400-9, 2008.
 - 56) Schuijjer, M., et al: TP53 and ovarian cancer. *Hum Mutat.* 21(3): 285-91, 2003.
 - 57) Nezhat, F., et al: Comparative immunohistochemical studies of bcl-2 and p53 proteins in benign and malignant ovarian endometriotic cysts. *Cancer.* 94(11): 2935-40, 2002.
 - 58) Bayramoğlu, H., et al: Atypical epithelial changes and mutant p53 gene expression in ovarian endometriosis. *Pathol Oncol Res.* 7(1): 33-8, 2001.
 - 59) Sáinz de la Cuesta, R., et al: Increased prevalence of p53 overexpression from typical endometriosis to atypical endometriosis and ovarian cancer associated with endometriosis. *Eur J Obstet*

- Gynecol Reprod Biol. 113(1): 87-93, 2004.
- 60) Guan, B., et al: Mutation and loss of expression of ARID1A in uterine low-grade endometrioid carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 35(5): 625-32, 2011.
 - 61) Wiegand, K.C., et al: ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. *N Engl J Med.* 363(16): 1532-43, 2010.
 - 62) Lowery, W.J., et al: Loss of ARID1A-associated protein expression is a frequent event in clear cell and endometrioid ovarian cancers. *Int J Gynecol Cancer.* 22(1): 9-14, 2012.
 - 63) Yamamoto, S., et al: PIK3CA mutations and loss of ARID1A protein expression are early events in the development of cystic ovarian clear cell adenocarcinoma. *Virchows Arch.* 460(1): 77-87, 2012.
 - 64) Yamamoto, S., et al: Loss of ARID1A protein expression occurs as an early event in ovarian clear-cell carcinoma development and frequently coexists with PIK3CA mutations. *Mod Pathol.* 25(4): 615-24, 2012.
 - 65) Wu, C.H., et al: Endocervical-type mucinous borderline tumors are related to endometrioid tumors based on mutation and loss of expression of ARID1A. *Int J Gynecol Pathol.* 31(4): 297-303, 2012.
 - 66) Kobayashi, H., et al: The role of hepatocyte nuclear factor-1beta in the pathogenesis of clear cell carcinoma of the ovary. *Int J Gynecol Cancer.* 19(3): 471-9, 2009.
 - 67) Tsuchiya, A., et al: Expression profiling in ovarian clear cell carcinoma: identification of hepatocyte nuclear factor-1 beta as a molecular marker and a possible molecular target for therapy of ovarian clear cell carcinoma. *Am J Pathol.* 163(6): 2503-12, 2003.
 - 68) Vercellini, P., et al: The 'incessant menstruation' hypothesis: a mechanistic ovarian cancer model with implications for prevention. *Hum Reprod.* 26(9): 2262-73, 2011.
 - 69) 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. *Clin Cancer Res.* 14(1): 32-40, 2008.
 - 70) Kobayashi, H., et al: The role of iron in the pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Endocrinol.* 25(1): 39-52, 2009.
 - 71) Lebovic, D.I., et al: Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 75(1): 1-10, 2001.
 - 72) Wu, M.Y., et al: The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 49(5): 285-96, 2003.
 - 73) Daraï, E., et al: Serum and cyst fluid levels of interleukin (IL) -6, IL-8 and tumour necrosis factor-alpha in women with endometriomas and benign and malignant cystic ovarian tumours. *Hum Reprod.* 18(8): 1681-5, 2003.
 - 74) Wu, M.H., et al: Distinct regulation of cyclooxygenase-2 by interleukin-1beta in normal and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 90(1): 286-95, 2005.

総説

卵巣癌の起源と発癌

吉本賢史*, 徳田葵*, 柳沼裕二**

The origin and carcinogenesis of ovarian carcinoma

Masafumi Yoshimoto*, Aoi Tokuda*, Yuji Yaginuma**

Key words: ovarian cancer, cancer origins, carcinogenesis, genetics

受付日 2017 年 11 月 10 日 採択日 2017 年 12 月 14 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: 柳沼裕二 yaginuma@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

近年、我が国では生活様式の欧米化に伴って卵巣癌の患者数は増加し、毎年約 1 万人が罹患している。正常な卵巣は 2~3 cm の臓器で骨盤腔の奥に位置するので、卵巣腫瘍は発症に伴う自覚症状に乏しく、そのため早期の発見が困難であり、卵巣癌患者の約 70%が進行癌で発見される。国立がん研究センターがん対策情報センターによれば、卵巣癌の 5 年生存率は過去 20 年間で改善がみられず、2015 年には 4,676 人が死亡している (http://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/summary.html)。卵巣癌は極めて多様な組織型をもつ悪性腫瘍で、各々の組織型で大きく異なる発生起源と発癌に至る分子生物学的機序は、卵巣癌の正確な理解を困難にしている。また卵巣癌の生物学的態度や病理学的特性や臨床像は、組織型に大きく依存するため、卵巣癌の解明が未だなされていない現状では、卵巣癌の治療、特に進行癌症例に対する根治的治療が十分に効果を発揮していない。このような現状を改善するためには、卵巣癌の正確な分子生物学的発癌機序の理解に基づいた新薬の開発や早期発見を可能とするバイオマーカーの同定が必須である。そこで本稿では、卵巣癌の新たな分類と現在までに解明されている発癌機序について概説する。

II. 卵巣腫瘍および卵巣癌の分類の変遷

卵巣は解剖学的、組織学的な構造に多様性がみられ、これを反映して他の臓器よりも多種多様な腫瘍が発生する。卵巣腫瘍の分類は、腫瘍の起源となる組織の同定によってなされるため、非常に複雑かつ多岐にわたる。卵巣腫瘍の病理分類は、組織発生を重視した国際分類 (WHO 分類)が広く用いられ、我が国でも WHO 分類と変換可能な組織分類 (卵巣腫瘍取扱い規約)が用いられている。従来の卵巣腫瘍取扱い規約では WHO 分類 (2003)に基づいて、卵巣腫瘍を表層上皮性・間質性腫瘍、性索間質性腫瘍、胚細胞腫瘍の 3 群に大別していた¹⁾。なお、卵巣腫瘍の発生頻度は表層上皮性・間質性腫瘍が 70%、性索間質性腫瘍が 10%、胚細胞腫瘍が 20%を占めている。

最近、表層上皮性・間質性腫瘍の大部分を占める漿液性癌のうち高異型度を示すものが、卵管采の卵管上皮細胞由来であることが明らかになった²⁾。このように卵巣腫瘍の発生に関して多くの病理学的・臨床的知見が蓄積されてきたことから、2014 年に主に上皮性腫瘍のカテゴリーに大きな変遷を加えた WHO 分類 (2014)に改訂され、従来の卵巣腫瘍取扱い規約は WHO 分類 (2014)に準拠した「卵巣腫瘍・卵管癌・腹膜癌取扱い規約」に改訂された。従来の規約では表層上皮性・間質性腫瘍の定義は、「卵巣表

表 1 上皮性卵巣癌の分類、発生起源、発癌機序

旧規約	漿液性腺癌		類内膜腺癌	明細胞腺癌	粘液性腺癌
新規規約	高異型度 漿液性癌	低異型度 漿液性癌	類内膜癌	明細胞癌	粘液性癌
頻度	34%	5%	16%	23%	12%
組織起源	卵管上皮 卵巣表層上皮	卵管上皮 卵巣表層上皮	子宮内膜細胞 卵巣表層上皮	子宮内膜細胞 卵巣表層上皮	卵巣表層上皮 ブレンナー腫瘍?
前癌病変	STIC	境界悪性腫瘍	異型 子宮内膜症	異型 子宮内膜症	境界悪性腫瘍
分子生物学的 異常	<i>p53</i> 変異 <i>BRCA1/2</i> 異常 染色体不安定性	<i>KRAS</i> 変異 <i>BRAF</i> 変異	<i>ERα</i> 過剰発現 <i>PI3KCA</i> 変異 <i>PTEN</i> 変異 <i>CTNNB1</i> 変異 <i>ARID1A</i> 変異 マイクロサテライト 不安定性	<i>HNF-1β</i> 過剰発現 <i>PI3KCA</i> 変異 <i>PTEN</i> 変異 <i>ARID1A</i> 変異	<i>KRAS</i> 変異 <i>HER2</i> 過剰発現
化学療法への感受性	高い	中間	高い	低い	低い
Type I/II	Type II	Type I			

層上皮およびそれに由来する上皮から発生する腫瘍で、種々の割合の間質性成分とで構成される。」と記載されていたが、漿液性癌の一部が卵管上皮細胞由来であるという知見から、「表層上皮性・間質性」が「上皮性」のみの名称となり、間質性腫瘍は別項目に分類された。また改訂版の規約では、漿液性癌は低異型度と高異型度の2つに分けられ、組織発生の点から両者は基本的に別個の悪性腫瘍として位置づけられている³⁾(表1)。

このように卵巣癌の分類は過去 10 年間で大きく変化した。特に癌細胞の性格と遺伝子異常の特徴に基づいて、Kurman らは卵巣癌を組織別に type I と type II に分類した発癌モデルを提唱した⁴⁾(表1)。Type I 腫瘍には、低異型度漿液性癌、低異型度類内膜癌、粘液性癌、明細胞癌、悪性ブレンナー腫瘍が含まれる。この type の腫瘍は、良性の嚢胞腺腫や境界悪性腫瘍、あるいは子宮内膜症を前癌病変に、「adenoma-carcinoma sequence」に沿って発癌に至る。分子生物学的な特徴として、癌遺伝子 *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *HER2/neu*, *CTNNB1* 等の活性化変異と、癌抑制遺伝子 *PTEN*, *ARID1A* 等の異常を高率に認めるが、*p53* 変異は稀であることが挙げられる。一般的に type I 腫瘍の臨床的特徴は、細胞増殖が比較的緩やかで、診断時に腫瘍は卵巣内に限局し、早期のステージで発見される点である。しかし明細胞癌と粘液性癌に関しては早期発見が困難なため、現状では type II 腫瘍より予後が悪い⁵⁾。

Type II 腫瘍は、大部分の卵巣癌による死亡原因となっており、高異型度漿液性癌、高異型度類内膜癌、癌肉腫、未分化癌を含んでいる。これらの癌は、細胞増殖が旺盛で、進行したステージで発見されるため予後が悪い。Type II 腫瘍は、前癌病変を経ない「*de novo* 癌」と考えられてきたが、高異型度漿液性癌は卵管上皮細胞から生じた secretory cell out-growth (SCOUT), serous tubal intraepithelial neoplasia (STIN), 漿液性卵管上皮内癌 (STIC; serous tubal intraepithelial carcinoma) を経て発生することが明らかになった。分子生物学的特徴はほぼ全ての症例で *p53* 変異を認める点で、その結果、高率にゲノム不安定性・染色体不安定性が発癌過程で生じている。

III. 卵巣癌の発生起源と分子生物学的異常

卵巣癌が種々の組織型を示す理由は、胎児期の卵巣の発生過程に見出すことができる。胎児期に体腔は中皮細胞によって覆われ、その中のある部分が漿膜上皮を形成し、卵巣の表層上皮となる。同様に中皮細胞はミュラー管 (中腎傍管) を生じさせ、そこから卵管、子宮、膣が発生する。つまり卵巣表層上皮とミュラー管由来の臓器の発生起源は同一であるという概念 (secondary Müllerian system) が提唱されている⁶⁾。そのため、卵巣癌の発生起源は、排卵の際に生じた傷から卵巣表層上皮が卵巣間質内へ陥入して形成される表層上皮性封入嚢胞 (inclusion cyst)、

つまり「卵巣自身」であると従来から考えられてきた。細胞ストレスを受けた封入嚢胞細胞は遺伝子変異を蓄積し、やがて同一の発生源であるミュラー管由来の組織型 (卵管上皮、子宮内膜、子宮頸管腺等) に化生 (metaplasia) を起こすことで、多様な組織型を示す上皮性卵巣癌が形成されるとされてきた。実際、卵巣癌のうち、漿液性癌は卵管上皮に、粘液性癌は子宮頸管粘膜に、類内膜癌は子宮内膜腺に、明細胞癌は妊娠時の子宮内膜腺に、各々類似することが知られている。このように卵巣癌は、卵巣自体から発生すると従来から考えられてきたが、最近、一部の卵巣癌の発生源が、卵巣以外の組織、例えば卵管を構成する卵管采や卵巣子宮内膜症から発生し、二次性に卵巣と関係しているというパラダイムシフト的な説が提唱された^{7,8)}。本稿では次に、大部分の卵巣癌を占める高異型度漿液性癌、低異型度漿液性癌、類内膜癌、明細胞癌、粘液性癌の発生源と分子生物学的異常について概説する。

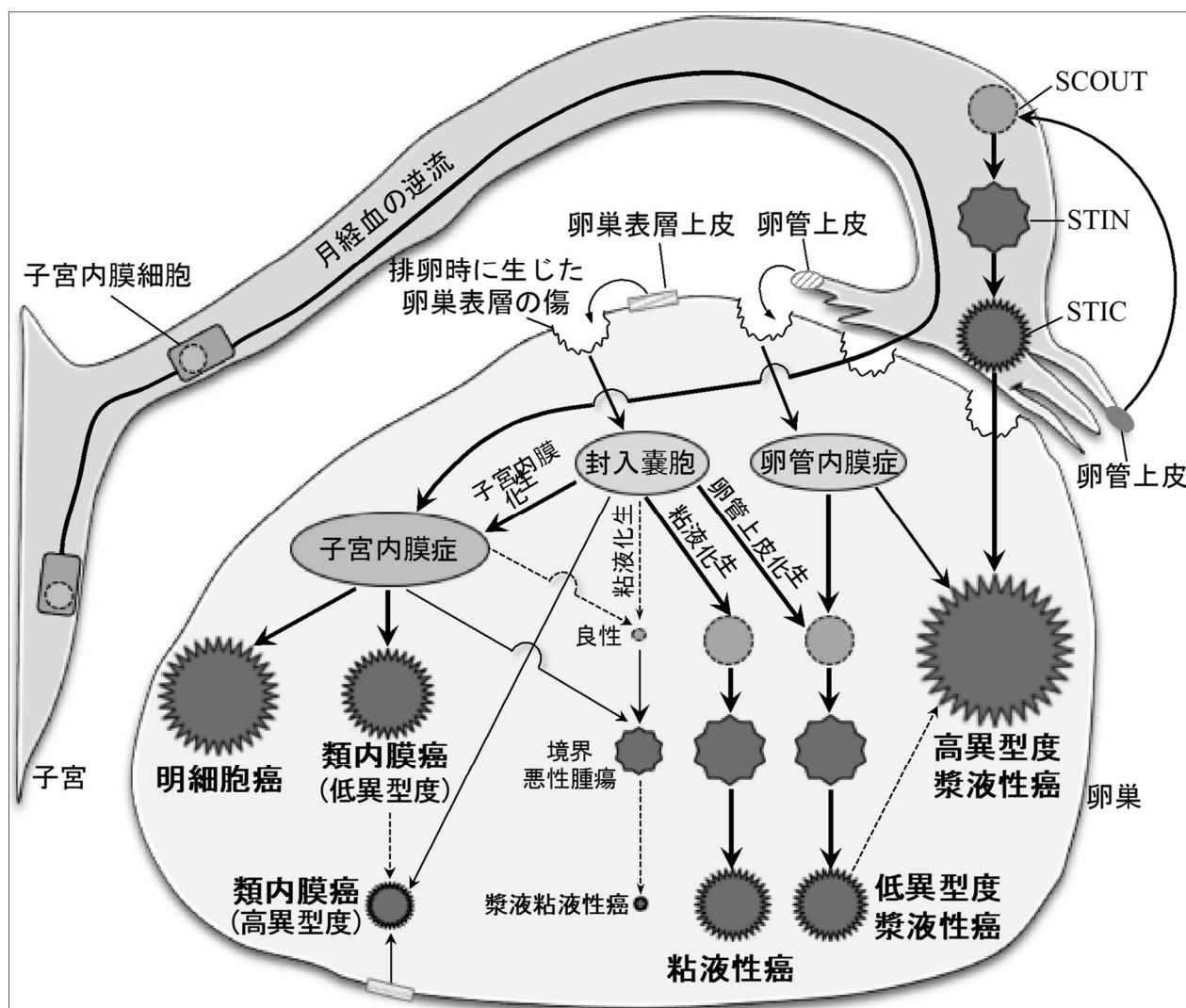
1. 高異型度漿液性癌の起源と発癌機序

高異型度漿液性癌は上皮性卵巣癌の約 34% を占める。癌細胞は乳頭状かつ充実性の腺腔を伴って増殖し、その大部分が診断時に腫瘍が卵巣を超えて進展している。この組織型は、奇怪な核を持つ巨大な腫瘍細胞や旺盛な細胞分裂が特徴で、低異型度漿液性癌との鑑別に利用される⁹⁾。

高異型度漿液性癌の発生源は、卵巣表層上皮に由来する封入嚢胞、つまり「卵巣自身」であると従来から考えられてきた。しかし 2001 年、*BRCA1/2* 胚細胞性変異を保有した女性の卵管采に生じた STIC の組織型が、高異型度漿液性癌のそれに類似すると報告された^{10,11)}。その後、この所見を支持する複数の報告から、現在では 50~60% の散発性に発生する高異型度漿液性癌は、卵管に生じた STIC が二次性に卵巣に浸潤・転移することに由来すると考えられている¹²⁾ (図 1)。また最近、不死化した卵管上皮細胞にいくつかの遺伝子を過剰発現することで高異型度漿液性癌を作り出すことに成功し、高異型度漿液性癌が卵管上皮由来であることが実験的にも証明された¹³⁾。

現在、高異型度漿液性癌の主な発癌過程は次のよ

うに考えられている (図 2)。卵管は卵巣から排卵される卵子を取り込むために、ラッパの口のように開いた卵管采が卵巣を包み込んでいる。卵管采は無数の小指状突起を有し、線毛細胞と非線毛細胞 (分泌細胞・釘細胞からなる) で構成されている。この卵管采の分泌細胞から、最初の変化として SCOUT が生じる。SCOUT は、*PAX2* や *PTEN* 発現減少等の異常が報告されているが、細胞増殖は盛んではなく、遺伝子不安定性もほとんど見られない^{14,15)}。次に、SCOUT に *p53* 変異が生じると、*p53* タンパク質の分解が阻害されることで機能不活化 *p53* が細胞内に蓄積し、免疫染色で *p53* の過剰発現がみられる *p53* signature という段階になる²⁾。*P53* signature は、最低でも 12 個の細胞が *p53* 陽性で、かつ細胞増殖能が低い (*MIB-1* <10%) 状態と定義される²⁾。*P53* signature を示す SCOUT は、次第に細胞増殖能が亢進し、細胞・構造異型がみられる STIN (proliferative *p53* signature; 細胞増殖能が亢進した *p53* signature) へ進行する¹⁶⁾。STIN では、DNA 損傷時に損傷した DNA に集積する γ -H2AX の発現が特徴だが、これは *p53* 変異による DNA 損傷の蓄積を示している。STIN から進行した STIC は卵管上皮の分泌細胞のマーカー (*PAX-8*, *mucin 1*, *Stathmin 1*) が陽性を示し、*p53*, *MIB-1*, *H2AX* の高発現に加え、*p16* と *WT-1* 陽性所見が特徴である。また一部の STIC には *BRCA1/2* 異常が生じる (33~50%)¹⁷⁾。*BRCA1/2* は DNA 損傷時に *H2AX* によって DNA 損傷部位に集積し、細胞周期の S 期~G2 期に DNA 損傷を修復する。そのため *BRCA1/2* 異常は遺伝子変異の蓄積だけでなく、染色体不安定性や染色体異数性を招き、例えば *BRCA1/2* の胚性変異は家族性乳癌卵巣癌症候群の原因となり、乳癌発症リスクが 50~80%、卵巣癌発症リスクが 30~50% となる。通常、*BRCA1/2* 異常を生じた細胞は細胞死を起こすが、*p53* 変異を生じた STIC は細胞死を回避して生存・増殖を続ける。高異型度漿液性癌では、早期に *p53* 変異が生じ、その後 *BRCA1/2* 異常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き、癌細胞の多様性を生み出す¹⁸⁾。高異型度漿液性癌にみられるその他の遺伝子・シグナル経路の異常として The Cancer Genome Atlas (TCGA) は、67% に RB 経路異常、45% に *PI3K/Akt*,



PI3K/RAS 経路異常、51%に相同組換え修復経路異常、22%に Notch 経路異常を報告した¹⁹⁾。

2. 低異型度漿液性癌の起源と発癌機序

従来より、封入嚢胞が卵管上皮へ化生し、漿液性腺腫、漿液性境界悪性腫瘍と病変が進展して低異型度漿液性癌に至ると考えられてきた。漿液性境界悪性腫瘍は、大きな腺管から徐々に小さな腺管に階層的に分枝する秩序立った増生を示す乳頭状腺管が特

徴である。微小乳頭状漿液性癌は漿液性境界悪性腫瘍がさらに進展した病変で、秩序立った分枝腺管から微小な乳頭状腺管の増生に取って代わる。実際に同一腫瘍内に漿液性腺腫、漿液性境界悪性腫瘍、低異型度漿液性癌が共存する症例が報告されている²²⁾。

最近、低異型度漿液性癌の発生起源について様々な説が提唱されている (図 1)。一つは、卵巣表層上皮が、排卵の際に生じた傷から卵巣間質内へ陥入して形成された封入嚢胞が、卵管上皮化生を経る機序である。加えて最近、卵管内膜症から低異型度漿液性癌が発生する機序が提唱され、70%の漿液性癌が卵管内膜症と関係するという研究結果が報告されている^{12, 23)} (図 1)。卵管内膜症は、排卵時に卵巣表層上皮が欠損した際に、卵管采から卵管上皮細胞が卵巣内へこぼれ落ちることで生じるため、卵管上皮細胞によって裏打ちされた封入嚢胞となる。また卵管内膜症は、卵巣表層上皮由来の封入嚢胞 (22%)と比較して、発生頻度は高い (78%)²⁴⁾。これまでに、卵管内膜症が高頻度に漿液性境界悪性腫瘍に合併することや、悪性化した卵管内膜症が漿液性癌に合併することが報告されており、卵管内膜症は低異型度漿液性癌の発生に関与することが示唆されている^{25, 26)}。これら卵管上皮化生を起こした封入嚢胞や卵管内膜症は、漿液性腺腫・漿液性境界悪性腫瘍を経て癌へと至るが、境界悪性腫瘍の段階で *BRAF*, *KRAS* 活性化変異は各々28%と33%にみられ、低異型度漿液性癌では各々33%と35%にみられる²⁷⁾。また、*BRAF*, *KRAS* 活性化変異は漿液性腺腫の段階からみられるという報告もあり²⁸⁾、これらの異常は境界悪性腫瘍の発生・進行と低異型度漿液性癌の発癌に重要な異常である (図 2)。さらに最近、低異型度漿液性癌では *TANK*, *PARP1*, *CDK2*, *PEAI5* といった遺伝子の発現異常が報告され、これらは活性化した *BRAF*, *KRAS* と共に *ERK*-*MAPK* 経路を活性化し、低異型度漿液性癌の発癌過程で細胞増殖の促進やアポトーシスの抑制に関与する²⁹⁾。一方、*p53* 変異の頻度は、大部分の患者で検出される高異型度漿液性癌に対して、低異型度漿液性癌では8%にとどまり³⁰⁾、染色体不安定性や DNA コピー数の異常もほとんどみられない³¹⁾。

3. 類内膜癌および明細胞癌の起源と発癌機序

類内膜癌は上皮性卵巣癌の約16%を占め、形態学的に子宮体部の内膜腺に類似することや、約50%の症例に認められる扁平上皮への分化を示す部分が特徴である⁹⁾。明細胞癌は上皮性卵巣癌の約24%を占めるが、これは西欧諸国の頻度 (上皮性卵巣癌の約5%にとどまる)と比べて高頻度であり、年々患者数は増加している。明細胞癌は形態学的には細胞質にグリコーゲンを貯留した淡明な細胞が特徴で、化学療法に対して高い抵抗性を示すため特に予後が悪い。

子宮内膜症は、類内膜癌および明細胞癌、頻度は低いが一部の境界悪性腫瘍の発生起源と考えられており³²⁾ (図 1)、日本の卵巣子宮内膜症患者 6,398 人を対象にした最長 17 年間の前方視的な調査では、子宮内膜症患者の 0.72%が卵巣癌 (組織型別の頻度は、類内膜癌 39%, 明細胞癌 35%, 漿液性癌 11%, 粘液性癌 9%)へ進行したことが報告された³³⁾。子宮内膜症は、エストロゲン依存性に子宮内膜類似の組織が子宮腔内面以外の組織や臓器に異所性に現れ増生する疾患で、非不妊女性の過去 40 年間の発症率は2%から20%に、不妊女性の過去 20 年間の発症率は10%から45%へ、いずれも急激に増加している³⁴⁾。1925 年に子宮内膜症が悪性転化するという報告³⁵⁾がなされて以降、子宮内膜症が卵巣癌、特に類内膜癌と明細胞癌の発生起源であることを支持するエビデンスが報告されてきた^{33, 36)}。本邦では1986年から2005年までの卵巣癌 315 例の後方視的調査において18例 (5.7%)に卵巣子宮内膜症の合併を認め、このうち14例は2001年から2005年までの最近5年間に集中しており、内膜症由来の卵巣癌は増加傾向にある³⁷⁾。

子宮内膜症の発生機序は、封入嚢胞が子宮内膜へ化生を起こす「体腔上皮化生説」³⁸⁾や、約90%の女性で生じる月経時の月経血逆流の際に子宮内膜組織が卵管を通して卵巣へ逆流し、異所性に着床することで発生する「子宮内膜組織移植説」³⁹⁾が考えられている (図 1)。しかし、内膜症の発生に至る病態を1つの説では説明できないのが現状で、腹膜の内膜症は子宮内膜組織移植説によって発生し、卵巣の病巣は体腔上皮化生説や子宮内膜組織移植説によって発生するという発生臓器別に異なる機序を経て発生するという考えが提唱されている⁴⁰⁾。子宮内膜症の

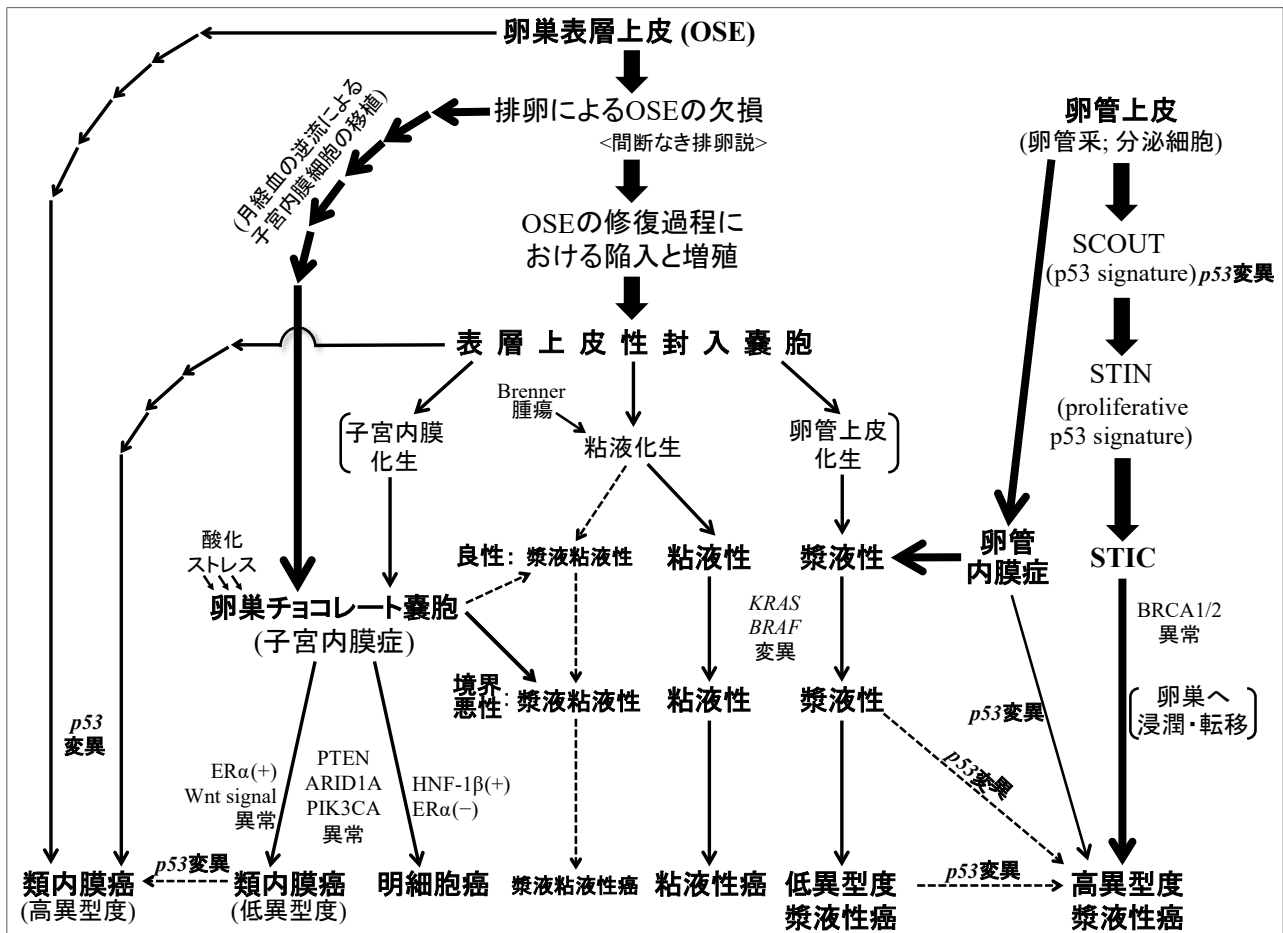


図2 上皮性卵巣腫瘍の発生機序：卵巣腫瘍は単一な疾患ではなく、様々な組織型が混在した複雑な疾患で、その組織型ごとに発生機序も異なる。腺腫から境界悪性腫瘍を経て生じる低異型度漿液性癌と粘液性癌は、*KRAS*, *BRAF* 活性化変異を中心とした MAPK 経路の活性化が発癌に重要である。子宮内膜症を起源として発生する類内膜癌と明細胞癌は共通して *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA* に異常がみられ、加えて類内膜癌ではエストロゲン受容体 (*ER*; estrogen receptor) の過剰発現と *Wnt* シグナルの活性化が、明細胞癌では *HNF-1β* の過剰発現が発癌に大きく関与する。また子宮内膜症からは、漿液粘液性境界悪性腫瘍を生じることもある。一方、これら type I 腫瘍とは異なり、高異型度漿液性癌や高異型度類内膜癌等の type II 腫瘍のほぼ全ての発癌過程で *p53* 変異が生じる。大部分の高異型度漿液性癌は、卵管上皮内癌 (STIC) が卵巣に浸潤・転移したものだが、一部は低異型度漿液性癌や境界悪性腫瘍、卵管内膜症から進行すると考えられている。高異型度類内膜癌は、主に卵巣表層上皮 (OSE) や封入嚢胞から *de novo* に発生するが、一部は低異型度類内膜癌から進行する。

悪性転化を誘導し発癌に至る原因として、まず持続的なエストロゲン曝露が挙げられる。子宮内膜症組織内でのエストラジオールの増加⁴¹⁾や、エストロゲン受容体の発現増加⁴²⁾、プロゲステロン作用の抑制(プロゲステロンはエストロゲン刺激を抑制する機能をもつ)⁴³⁾等が生じることで、子宮内膜症細胞が持続的にエストロゲンで刺激され、子宮内膜症の成長と悪性転化が引き起こされる。また、子宮内膜症が悪性転化を起こす原因として、月経血の逆流や子宮

内膜症組織内での出血の繰り返しの結果、子宮内膜症の内容液に蓄積した過剰な遊離鉄が挙げられる⁴⁴⁾。子宮内膜症内の遊離鉄は、子宮内膜症を構成する細胞に高度の酸化ストレスや細胞傷害、DNA 損傷を引き起こし、悪性転化の原因となる⁴⁵⁾。

これら子宮内膜症組織内の微小環境の影響に加え、様々な分子生物学的異常が子宮内膜症から類内膜癌・明細胞癌への悪性転化に関与する(図2)。癌に近接する子宮内膜症、類内膜癌、明細胞癌にみられ

る共通した異常として、*PTEN* が位置する 10q23.3 の loss of heterozygosity (LOH; 各々 56.5%, 42.1%, 27.3%) や、*PTEN* 体細胞変異 (各々 20.6%, 20.0%, 8.3%)⁴⁶⁾、*PTEN* の発現消失 (各々 60.0%, 38%, 37.5%)^{47, 48)} が報告されている。また、*ARID1A* 体細胞変異 (各々 100%, 30%, 46%) や *ARID1A* の発現消失 (各々 100%, 42%, 31%)⁴⁹⁻⁵¹⁾、*PIK3CA* 活性化変異 (各々 90%, 12%, 25%)^{52, 53)} も高頻度に認められる。これら *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA* の異常は、子宮内膜症から類内膜癌や明細胞癌へ発癌する過程の早期の段階で共通して生じる分子生物学的異常である。また低頻度だが、類内膜癌および明細胞癌に近接する子宮内膜症に *p53* タンパク質の蓄積、すなわち *p53* 変異 (各々 9%, 25%) が検出されるが、癌を伴わない子宮内膜症では *p53* 異常はみられないことが報告されている⁵⁴⁾。

さらに、子宮内膜症から類内膜癌や明細胞癌へと発癌する過程では、各々独自の分子生物学的異常を獲得する (図 2)。大部分の類内膜癌では、エストロゲン受容体の過剰発現を介したエストロゲンの長期的な刺激⁵³⁾ や、主に *CTNNB1* 活性化変異 (38%) を介した Wnt/ β -catenin 経路の異常 (85%) が報告されている⁵⁵⁾。一方、大部分の明細胞癌では *HNF-1 β* の過剰発現が認められ、この異常は癌細胞の細胞質へのグリコーゲンの蓄積や抗アポトーシス作用、化学療法への抵抗性等に関与している^{56, 57)}。加えて、癌遺伝子 *AKT2* 増幅 (14%)⁴⁸⁾ や *MET* 過剰発現 (22%)⁵⁸⁾ も報告されている。また、子宮内膜症や類内膜癌とは異なり、明細胞癌ではプロモーター領域の過剰メチル化等のエピジェネティックな変化によるエストロゲン受容体の発現消失がみられ、明細胞癌の発症はエストロゲン非依存性である⁵⁹⁾。

一方、type II 腫瘍に属する高異型度類内膜癌の発癌機序は、大部分の類内膜癌でみられる PI3K/*PTEN* 経路や Wnt/ β -catenin 経路の異常がみられない代わりに、*p53* 変異を被っていることから⁶⁰⁾、卵巣表層上皮または封入嚢胞から *de novo* に発生するとされている⁶¹⁾。また、稀に *CTNNB1* 変異と *p53* 変異を生じた高異型度類内膜癌がみられることから、一部の高異型度類内膜癌は低異型度類内膜癌から進行すると考えられている⁶⁰⁾。

このように、子宮内膜症から悪性転化する早期の段階では、*PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *p53* の異常や、持続的なエストロゲン刺激、遊離鉄が誘導する酸化ストレスや DNA 損傷の蓄積等の分子生物学的異常が生じる。ここに Wnt/ β -catenin 経路の異常が加わることで類内膜癌へ進行する。一方、子宮内膜症細胞の長期的な酸化ストレスへの曝露は、エストロゲン受容体の発現消失と、*HNF-1 β* の過剰発現を引き起こし、明細胞癌へ至ると考えられている⁶²⁾。

4. 粘液性癌の起源と発癌機序

粘液性癌は上皮性卵巣癌の約 12% を占め、形態学的には胃腸管上皮や子宮の内頸部に類似した構造を示す。粘液性癌は粘液性腺腫から粘液性境界悪性腫瘍を経て生じるが、内頸部型の境界悪性腫瘍が癌化する例は稀であり、99% 以上は胃腸管上皮に類似した構造である⁶³⁾。また現在、内頸部型の粘液性腫瘍は、漿液粘液性腫瘍として独立して分類されている。

内頸部型の粘液性腫瘍の発生起源は、封入嚢胞に生じた子宮頸管粘膜化生や子宮内膜症と従来から考えられてきた³²⁾。しかし粘液性癌の大部分を占める胃腸型粘液性癌の場合、胃腸管上皮は非ミューラ管由来であるため、その発生は化生説を用いて説明できない。現在も粘液性癌の正確な発生起源については未解明であるが、これまでに Brenner 腫瘍の 18% に粘液性腺腫が共存していること⁶⁴⁾、粘液性癌と近接する Brenner 腫瘍に共通して 12q14-21 領域の増幅が検出されたことが報告され⁶⁵⁾、胃腸型粘液性癌と Brenner 腫瘍は類似した組織発生を示す可能性が指摘されている。加えて、Brenner 腫瘍を構成する移行上皮細胞が化生を経て、粘液性腫瘍を生じることを示す研究報告もなされた⁶⁶⁾ (図 1)。粘液性癌の発癌機序としては、*KRAS* 活性化変異 (腺腫, 55.7%; 境界悪性腫瘍, 73%; 粘液性癌, 85%)⁶⁷⁾ や、*HER2/neu* の遺伝子増幅と過剰発現 (15%) が報告されている⁶⁸⁾ (図 2)。また最近、*p53* 変異の頻度が解析され、粘液性腺腫 (9.1%) と粘液性境界悪性腫瘍 (13.8%) の頻度と比較して、粘液性癌 (51.6%) では有意に *p53* 変異の頻度が高く、粘液性癌の発癌過程の比較的後期の段階で *p53* 変異の獲得が関与することが示唆された⁶⁹⁾。

IV. 終わりに

長年の卵巣癌の基礎・臨床研究により、卵巣癌の発癌機序や発生起源が次第に明らかになるに従い、その新知見に基づいた新たな卵巣腫瘍の分類もなされている。しかし、非常に多彩な卵巣癌の組織型に応じた正確な発癌機序は解明され始めた段階であり、そのため治療成績も決して満足出来る現状ではない。今後、新たな病理学的、分子生物学的研究によって得られた発生起源や発癌機序の知見に沿って、卵巣癌の正確かつ詳細な分類を行うことが必要不可欠である。さらに個々の組織型や患者背景に見合った治療を行うことで、最終的には卵巣癌の予後の改善に寄与するものと期待される。

V. 略語一覧

KRAS, Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog; BRAF, V-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B; PIK3CA, Phosphoinositide-3-Kinase Catalytic Subunit Alpha; HER2/neu, V-Erb-B2 Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2, Neuro/Glioblastoma Derived Oncogene Homolog; CTNNB1, Catenin Beta 1; PTEN, Phosphatase And Tensin Homolog; ARID1A, AT-Rich Interaction Domain 1A; BRCA1/2, Breast Cancer 1/2; SCOUT, secretory cell out-growth; STIN, serous tubal intraepithelial neoplasia; STIC, serous tubal intraepithelial carcinoma; PAX2, Paired Box 2; MIB1, Mindbomb E3 Ubiquitin Protein Ligase 1; H2AX, H2A Histone Family Member X; WT-1, Wilms Tumor 1; TCGA, The Cancer Genome Atlas; RB, Retinoblastoma; TANK, TRAF Family Member Associated NFkB Activator; PARP1, Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1; CDK2, Cyclin Dependent Kinase 2; PEA15, Proliferation And Apoptosis Adaptor Protein 15; ERK, Extracellular Signal-Regulated Kinase; MAPK, Mitogen-Activated Protein Kinase; LOH, loss of heterozygosity; HNF-1 β , Hepatocyte Nuclear Factor 1-Beta

参考文献

- 1) 日本産科婦人科学会・日本病理学会編: 卵巣腫瘍取扱い規約-組織分類ならびにカラーアトラス 2009 年改訂第 2 版. 2009, 金原出版, 東京, 2009.
- 2) Lee, Y., et al: A candidate precursor to serous carcinoma that originates in the distal fallopian tube. *J Pathol*, 211: 26-35, 2007.
- 3) 日本産科婦人科学会・日本病理学会編: 卵巣腫瘍・卵管癌・腹膜癌取扱い規約病理編 2016 年第 1 版. 2016, 金原出版, 東京, 2016.
- 4) Shih, I.M., et al: Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol*, 164: 1511-1518, 2004.
- 5) Cobb, L.P., et al: Adenocarcinoma of Mullerian origin: review of pathogenesis, molecular biology, and emerging treatment paradigms. *Gynecol Oncol Res Pract*, 2: 1, 2015.
- 6) Lauchlan, S.C. : The secondary Müllerian system. *Obstet Gynecol Surv*, 27: 133-146, 1972.
- 7) Kurman, R.J., et al: Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm. *Hum Pathol*, 42: 918-931, 2011.
- 8) Kurman, R.J., et al: The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*, 34: 433-443, 2010.
- 9) Prat, J. : New insights into ovarian cancer pathology. *Ann Oncol*, 23: 111-117, 2012.
- 10) Piek, J.M., et al: Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer. *J Pathol*, 195: 451-456, 2001.
- 11) Piek, J.M., et al: Tubal ligation and risk of ovarian cancer. *Lancet*, 358: 844, 2001.
- 12) Kindelberger, D.W., et al: Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship. *Am J Surg Pathol*, 31: 161-169, 2007.
- 13) Yamamoto, Y., et al: In vitro and in vivo correlates

- of physiological and neoplastic human Fallopian tube stem cells. *J Pathol*, 238: 519-530, 2016.
- 14) Roh, M.H., et al: High-grade fimbrial-ovarian carcinomas are unified by altered p53, PTEN and PAX2 expression. *Mod Pathol*, 23: 1316-1324, 2010.
 - 15) Chen, E.Y., et al: Secretory cell outgrowth, PAX2 and serous carcinogenesis in the Fallopian tube. *J Pathol*, 222: 110-116, 2010.
 - 16) Meserve, E.E.K., et al: Serous tubal intraepithelial neoplasia: the concept and its application. *Mod Pathol*, 30: 710-721, 2017.
 - 17) Shaw, P.A., et al: Candidate serous cancer precursors in fallopian tube epithelium of BRCA1/2 mutation carriers. *Mod Pathol*, 22: 1133-1138, 2009.
 - 18) Bowtell, D.D. : The genesis and evolution of high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer*, 10: 803-808, 2010.
 - 19) Network, C.G.A.R. : Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*, 474: 609-615, 2011.
 - 20) Dehari, R., et al: The development of high-grade serous carcinoma from atypical proliferative (borderline) serous tumors and low-grade micropapillary serous carcinoma: a morphologic and molecular genetic analysis. *Am J Surg Pathol*, 31: 1007-1012, 2007.
 - 21) Vang, R., et al: Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Adv Anat Pathol*, 16: 267-282, 2009.
 - 22) Nakamura, K., et al: KRAS/BRAF Analysis in Ovarian Low-Grade Serous Carcinoma Having Synchronous All Pathological Precursor Regions. *Int J Mol Sci*, 17: 625-631, 2016.
 - 23) Kurman, R.J., et al: Papillary tubal hyperplasia: the putative precursor of ovarian atypical proliferative (borderline) serous tumors, noninvasive implants, and endosalpingiosis. *Am J Surg Pathol*, 35: 1605-1614, 2011.
 - 24) Li, J., et al: Tubal origin of 'ovarian' low-grade serous carcinoma. *Mod Pathol*, 24: 1488-1499, 2011.
 - 25) 九島巳樹: 卵管内膜症, 昭医会誌, 57: 419-422, 1997.
 - 26) Esselen, K.M., et al: Endosalpingiosis: More than just an incidental finding at the time of gynecologic surgery? *Gynecol Oncol*, 142: 255-260, 2016.
 - 27) Singer, G., et al: Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 95: 484-486, 2003.
 - 28) Ho, C.L., et al: Mutations of BRAF and KRAS precede the development of ovarian serous borderline tumors. *Cancer Res*, 64: 6915-6918, 2004.
 - 29) Liu, X., et al: The MAP kinase pathway is required for entry into mitosis and cell survival. *Oncogene*, 23: 763-776, 2004.
 - 30) Singer, G., et al: Patterns of p53 mutations separate ovarian serous borderline tumors and low- and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis: a mutational analysis with immunohistochemical correlation. *Am J Surg Pathol*, 29: 218-224, 2005.
 - 31) Diaz-Padilla, I., et al: Ovarian low-grade serous carcinoma: a comprehensive update. *Gynecol Oncol*, 126: 279-285, 2012.
 - 32) Wei, J.J., et al: Endometriosis and ovarian cancer: a review of clinical, pathologic, and molecular aspects. *Int J Gynecol Pathol*, 30: 553-568, 2011.
 - 33) Kobayashi, H., et al: Ovarian endometrioma--risks factors of ovarian cancer development. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 138: 187-193, 2008.
 - 34) Guo, S.W., et al: Sources of heterogeneities in estimating the prevalence of endometriosis in infertile and previously fertile women. *Fertil Steril*, 86: 1584-1595, 2006.
 - 35) SAMPSON, J., et al: ENDOMETRIAL CARCINOMA OF THE OVARY, ARISING IN ENDOMETRIAL TISSUE IN THAT ORGAN. *ARCHIVES OF SURGERY*, 1-72, 1925.
 - 36) Fukunaga, M., et al: Ovarian atypical endometriosis: its close association with malignant epithelial tumours. *Histopathology*, 30: 249-255, 1997.
 - 37) Tomoko, M. : Clinicopathological study of epithelial

- ovarian cancer accompanying chocolate cysts. The journal of the Japan Society of Gynecologic Oncology, 45-53, 2001.
- 38) Meyer, R. : Uber den stand der frage der adenomyositis und adenomyome im allgemeinen undins besondere uber adenomyositis seroepithelialis und adenomyometritis sarcomatosa. Zentralbl Gynakol, 36: 745-750, 1919.
 - 39) Sampson, J. : Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into peritoneal cavity. Am J Obstet Gynecol, 14: 422-469, 1927.
 - 40) Baranov, V.S., et al: Systems genetics view of endometriosis: a common complex disorder. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 185: 59-65, 2015.
 - 41) Zeitoun, K., et al: Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. J Clin Endocrinol Metab, 83: 4474-4480, 1998.
 - 42) O'Donnell, A.J., et al: Estrogen receptor-alpha mediates gene expression changes and growth response in ovarian cancer cells exposed to estrogen. Endocr Relat Cancer, 12: 851-866, 2005.
 - 43) Bulun, S.E., et al: Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. Mol Cell Endocrinol, 248: 94-103, 2006.
 - 44) 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. Clin Cancer Res, 14: 32-40, 2008.
 - 45) Kobayashi, H., et al: The role of iron in the pathogenesis of endometriosis. Gynecol Endocrinol, 25: 39-52, 2009.
 - 46) Sato, N., et al: Loss of heterozygosity on 10q23.3 and mutation of the tumor suppressor gene PTEN in benign endometrial cyst of the ovary: possible sequence progression from benign endometrial cyst to endometrioid carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary. Cancer Res, 60: 7052-7056, 2000.
 - 47) Castiblanco G, A., et al: [Pathogenic role of PTEN tumor suppressor gene in ovarian cancer associated to endometriosis]. Rev Med Chil, 134: 271-278, 2006.
 - 48) Hashiguchi, Y., et al: PTEN expression in clear cell adenocarcinoma of the ovary. Gynecol Oncol, 101: 71-75, 2006.
 - 49) Wiegand, K.C., et al: ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. N Engl J Med, 363: 1532-1543, 2010.
 - 50) Samartzis, E.P., et al: ARID1A mutations and PI3K/AKT pathway alterations in endometriosis and endometriosis-associated ovarian carcinomas. Int J Mol Sci, 14: 18824-18849, 2013.
 - 51) Huang, H.N., et al: Ovarian and endometrial endometrioid adenocarcinomas have distinct profiles of microsatellite instability, PTEN expression, and ARID1A expression. Histopathology, 66: 517-528, 2015.
 - 52) Campbell, I.G., et al: Mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancer. Cancer Res, 64: 7678-76781, 2004.
 - 53) Köbel, M., et al: A limited panel of immunomarkers can reliably distinguish between clear cell and high-grade serous carcinoma of the ovary. Am J Surg Pathol, 33: 14-21, 2009.
 - 54) Nezhat, F., et al: Comparative immunohistochemical studies of bcl-2 and p53 proteins in benign and malignant ovarian endometriotic cysts. Cancer, 94: 2935-2940, 2002.
 - 55) Moreno-Bueno, G., et al: beta-Catenin expression pattern, beta-catenin gene mutations, and microsatellite instability in endometrioid ovarian carcinomas and synchronous endometrial carcinomas. Diagn Mol Pathol, 10: 116-122, 2001.
 - 56) Kato, N., et al: Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF-1beta) in clear cell tumors and endometriosis of the ovary. Mod Pathol, 19: 83-89, 2006.
 - 57) Kobayashi, H., et al: The role of hepatocyte nuclear factor-1beta in the pathogenesis of clear cell carcinoma of the ovary. Int J Gynecol Cancer, 19:

- 471-479, 2009.
- 58) Yamamoto, S., et al: Gene amplification and protein overexpression of MET are common events in ovarian clear-cell adenocarcinoma: their roles in tumor progression and prognostication of the patient. *Mod Pathol*, 24: 1146-1155, 2011.
 - 59) Tanase, Y., et al., Modulation of estrogenic action in clear cell carcinoma of the ovary (Review). *Exp Ther Med*, 3: 18-24, 2012.
 - 60) Geyer, J.T., et al: Pathogenetic pathways in ovarian endometrioid adenocarcinoma: a molecular study of 29 cases. *Am J Surg Pathol*, 33: 1157-1163, 2009.
 - 61) Lim, D., et al: Precursors and pathogenesis of ovarian carcinoma. *Pathology*, 45: 229-242, 2013.
 - 62) 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*, 310: 129-133, 2011.
 - 63) Gurung, A., et al: Molecular abnormalities in ovarian carcinoma: clinical, morphological and therapeutic correlates. *Histopathology*, 62: 59-70, 2013.
 - 64) Seidman, J.D., et al: Exploring the histogenesis of ovarian mucinous and transitional cell (Brenner) neoplasms and their relationship with Walthard cell nests: a study of 120 tumors. *Arch Pathol Lab Med*, 132: 1753-1760, 2008.
 - 65) Pejovic, T., et al: Well-differentiated mucinous carcinoma of the ovary and a coexisting Brenner tumor both exhibit amplification of 12q14-21 by comparative genomic hybridization. *Gynecol Oncol*, 74: 134-137, 1999.
 - 66) Wang, Y., et al: Clonality analysis of combined Brenner and mucinous tumours of the ovary reveals their monoclonal origin. *J Pathol*, 237: 146-151, 2015.
 - 67) Cuatrecasas, M., et al: K-ras mutations in mucinous ovarian tumors: a clinicopathologic and molecular study of 95 cases. *Cancer*, 79: 1581-1586, 1997.
 - 68) Anglesio, M.S., et al: Molecular characterization of mucinous ovarian tumours supports a stratified treatment approach with HER2 targeting in 19% of carcinomas. *J Pathol*, 229: 111-120, 2013.
 - 69) Ryland, G.L., et al: Mutational landscape of mucinous ovarian carcinoma and its neoplastic precursors. *Genome Med*, 7: 87, 2015.

原 著

全身性アミロイドイメージングプローブ ^{18}F -EFSB の臨床応用に向けた基礎研究鈴木涼馬^{*}、盛島由貴^{**}、松永浩文^{***}、山下太郎^{****}、富吉勝美^{*****}Fundamental Study for Clinical Application of Systemic Amyloid Imaging Probe ^{18}F -EFSBRyoma Suzuki^{*}, Yoshiyuki Morishima^{**}, Hirofumi Matsunaga^{***}, Taro Yamashita^{****}, Katsumi Tomiyoshi^{*****}

Abstract: Early detection and quantitative evaluation of deposited amyloid is extremely important in treating patients with amyloidosis. we made a precursor EMSB and ^{19}F -EFSB labeled stable isotope fluorine on EMSB to develop a new imaging probe ^{18}F -EFSB that detects systemic amyloidosis by PET examination. In this study, the following three were carried out as basic research for clinical application of ^{18}F -EFSB for diagnosis (1)histochemical analysis to amyloid using ^{19}F -EFSB, (2)investigation of optimal synthesis condition of ^{18}F -EFSB, (3)quality control of ^{18}F -EFSB. As a result of histochemical analysis, ^{19}F -EFSB specifically accumulated in all disease type amyloid. Therefore, it was shown that ^{18}F -EFSB also accumulates in amyloid. ^{18}F -EFSB was efficiently labeled with a radiochemical purity of $81.7 \pm 5.1\%$ ($n=3$) by reaction at 200 degree for 5 minutes. Quality control (radiochemical purity test, pH measurement, endotoxin test, sterility test) performed was no problem. By clearing some quality control in the future, ^{18}F -EFSB may be a clinically applicable tracer capable of detecting amyloid in the whole body.

Key word: Systemic amyloidosis, Amyloid PET, Histochemical analysis, Radiosynthesis, Quality control

受付日

*熊本大学大学院 保健学教育部 **熊本赤十字病院 ***熊本大学大学院薬学教育部 先端生命医療科学部門

****熊本大学大学院生命科学研究部 脳神経科学講座神経内科学分野

*****熊本大学大学院生命科学研究部 医用理工学分野

投稿責任者：富吉勝美 ktomiyo@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

アミロイドーシスは不要性タンパク質であるアミロイドが種々の臓器に沈着することにより進行性の機能障害を引き起こす難病である^{1,2)}。進行した疾患に対しての治療は未だ大きな問題があるため、患者が十分な治療効果を得るためには早期診断が重要となる³⁾。しかしアミロイドーシスの一般的な組織診断方法であるコンゴーレッド染色は、生検が必要であり侵襲的で限局的な情報しか提供されない検査であるため、早期診断は依然として困難である³⁻⁵⁾。これらの問題を解決する方法として、アミロイドイメージング用 positron emission tomography(PET)プローブを用いて in vivo でアミロイドを画像化する診断法が注目されている⁶⁾。

これまでにアミロイドを画像化する標識薬剤として、限局性のアミロイドーシスであるアルツハイマー型認知症の原因物質とされるアミロイド β に特異的に集積する Pittsburgh compound-B(^{11}C -PiB)、 ^{11}C 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole(^{11}C -BF227)、 ^{18}F -Florbetapirなどが開発され臨床で研究されている⁷⁻⁹⁾。さらに近年の研究で ^{11}C -BF227、 ^{18}F -Florbetapir は心アミロイドーシスの沈着アミロイドを検出するプローブとして有用であると報告されている^{10,11)}。一方、全身性のアミロイドーシスを PET で診断した報告はほとんどない。

以前、安東らはコンゴーレッド誘導体で生体内に投与可能な診断試薬(trans,trans)-1-bromo-2,5-bis-(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy)styrylbenzene (BSB)を開

発し、毒性・発がん性などの問題が少ないことから、シンチグラフィーで使用可能であることを示唆した¹²⁾。さらに中園らは BSB の誘導体として 1-Methoxy-2,5-bis-styrylbenzene (MSB)を開発し、組織化学的検査のみならず全身のアミロイドを検出する有用な PET 薬剤となることを示唆した¹³⁾。今回松永は MSB に放射性フッ素を標識するために、前駆体 1(2-mesyloxy)-2,5-bis-styrylbenzene(EMSB) と、EMSB に安定同位体フッ素を標識した 1(2-[¹⁹F]fluorine-ethoxy)-2,5-bis-styrylbenzene(¹⁹F-EFSB)を開発した。EMSB に ¹⁸F をラベリングした標識薬剤 1(2-[¹⁸F]fluorine-ethoxy)-2,5-bis-styrylbenzene(¹⁸F-EFSB)は、全身のアミロイド沈着を PET で検出する新たなアミロイドーシス用標識薬剤になると考えられる¹³⁾。

本研究の目的は、¹⁸F-EFSB を臨床で使用可能な標識薬剤にするための基礎研究として(1) ¹⁹F-EFSB のアミロイドへの反応性を組織化学的分析により検討すること、(2)EMSB に ¹⁸F を標識合成する際の最適な合成条件を検討すること、(3)¹⁸F-EFSB の品質管理を行うことである。

II. 使用機器および方法

2.1 様々な病型の沈着アミロイドに対する ¹⁹F-

EFSB の反応性の検討

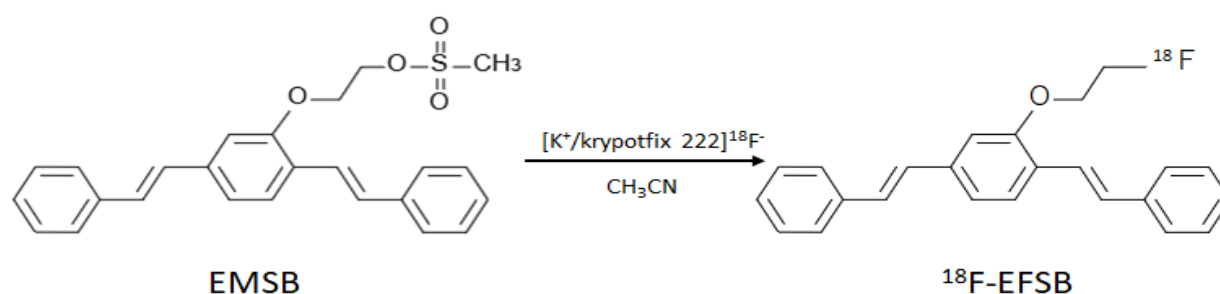
2.1.1 使用標本

実験で用いたすべての標本は、組織病理学検査においてコンゴレッド染色や遺伝子診断、免疫組織化学によって確定診断に至った厚さ 4 μ m の連続切片を使用した。病型別に、AL アミロイドーシス患者 6 名(男性 5 名、女性 1 名、70.0 $\pm$ 6.4 歳)、AA アミロイドーシス患者 2 名(男性 1 名、女性 1 名、50.0 $\pm$ 46.7 歳)、トランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP: Familial Amyloid Polyneuropathy)患者 3 名(男性 2 名、女性 1 名、52.7 $\pm$ 12.0 歳)、野生型トランスサイレチン由来老人性全身性アミロイドーシス(SSA: Senile Systemic Amyloidosis)患者 3 名(男性 2 名、女性 1 名、76.0 $\pm$ 2.6 歳)、アミロイド沈着無し患者 4 名(男性 1 名、女性 4 名、50.3 $\pm$ 7.1 歳)であった。生検部位は消化管 5 例、心筋 3 例、皮膚 2 例、腸管・腎臓・十二指腸・骨髄・骨格筋・気管支 1 例、不明 2 例であった。

2.1.2 組織染色方法

コンゴレッド染色には Congo red(Merck KgaA、ドイツ)、フェノール(ナカライテスク株式会社、京都)、酢酸(ナカライテスク株式会社、京都)、キシレン(ナカライテスク株式会社、京都)、エタノール(ナカライテスク株式会社、京都)、ワイゲルト鉄ヘマトキシリン液 2(武藤化学株式会社、東京)、IHC Wash Buffer 3(株式会社ファルマ、東京)、IHC Wash Buffer 2(株式会社ファルマ、東京)、マリノール(武藤化学株式会社、東京)を使用した。パラフィン切片は脱パラフィンするため、キシレン、100%エタノール、90%エタノール、80%エタノール、70%エタノールの順にそれぞれ 1 分間ずつ浸したあと、蒸留水で水洗した。組織をコンゴレッド溶液(Congo red: 1000 μ l、フェノール: 50 μ l、酢酸: 10 μ l)に浸し遮光下で 30 分間染色したあと、蒸留水で洗浄した。さらにヘマトキシリンで染色し、IHC Wash Buffer 3 で 3 回、IHC Wash Buffer 2 で 1 回洗浄した。組織を脱水するため 70%エタノール、80%エタノール、90%エタノール、100%エタノール、キシレンの順に浸したあと、マリノールを用いてカバーガラスで封入した。組織の観察には光学顕微鏡 Bx51(オリンパス株式会社、東京)、偏光レンズ(オリンパス株式会社、東京)を使用した。観察では、組織が橙赤色に染色されている、かつ偏光顕微鏡下の観察でアップルグリーンを呈した箇所をアミロイド陽性と判定した。

¹⁹F-EFSB 染色には ¹⁹F-EFSB(熊本大学薬学部、熊本)と Dimethyl sulfoxide(株式会社エムピーバイオジャパン、東京)、Glycerol Gelatin(SIGMA、アメリカ)を使用した。¹⁹F-EFSB はジスチルベンゼン誘導体であることから強い蛍光を示す。標本はコンゴレッド染色で使用した同一患者の連続切片を使用した。コンゴレッド染色時と同様に脱パラフィンを行ったあと、蒸留水で脱水した。組織を ¹⁹F-EFSB 溶液(¹⁹F-EFSB を Dimethyl sulfoxide で質量%濃度 0.01%に希釈)に浸し遮光下で 30 分間浸漬したあと、組織を蒸留水で洗浄した。自然乾燥したあと、Glycerol Gelatin を用いてカバーガラスで封入した。組織の観察には蛍光顕微鏡 Biozero(株式会社キーエンス、大阪)を使用した。

Fig. 1 EMSB の構造式および ¹⁸F-EFSB の反応式

2.1.3 組織染色の分析方法

同一患者の連続切片を用いてコンゴーレッド染色と ¹⁹F-EFSB 染色を行った。組織におけるコンゴーレッド陽性部位と ¹⁹F-EFSB 蛍光部位の相同性を目視で比較した。

2.2 ¹⁸F-EFSB の最適な合成条件の検討

2.2.1 標識合成に用いた使用薬品および機器

標識合成にはアセトニトリル(脱水)(関東化学株式会社、東京)、kryptofix 222 (Merck KgaA、ドイツ)、炭酸カリウム(和光純薬工業株式会社、大阪)を使用した。Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge は Waters(アメリカ)から購入した。EMSB は熊本大学薬学部で合成されたものを使用した。

標識合成に用いた ¹⁸F は日本赤十字社熊本健康管理センターPET-CT 診断センターで製造されたものを使用した。標識合成装置は標識化合物供給システム ¹⁴C-メチル合成装置 Ver 1.2.4(JFE エンジニアリング株式会社、東京)を使用した。

2.2.2 合成方法

kryptofix 222 と炭酸カリウムの混合溶液(kryptofix 222: k₂CO₃: acetonitrile: distilled water =220mg: 70mg: 3ml :3ml) 0.4ml を Sep-Pak QMA に通すことで ¹⁸F を反応容器に溶出した。溶媒を除去するために窒素ガス気流中で 150℃5 分間加熱乾固した。5 分間冷却した後、無水アセトニトリル(0.4ml)を加えて再度 150℃5 分間共沸蒸留することで水の残留痕跡を除去した。

共沸が終了した反応容器に、EMSB を無水アセトニトリルで質量%濃度 0.4%に希釈した溶液を加えてフッ素化を行った。本合成は EMSB のメシル基

を ¹⁸F に置換することで行われる(Fig. 1)。最適な合成条件を検討するため反応時間と温度をそれぞれ調べた。初めに反応温度 180℃で固定し 2.5 分間、5 分間、7.5 分間、10 分間、15 分間と変化した。最適な反応時間を決定した後、反応温度を 150℃、170℃、190℃、200℃、210℃と変化した。合成は各反応条件で 3 回ずつ行った。

2.2.3 HPLC 使用機器、分析条件および放射化学的純度の算出方法

High performance liquid chromatography(HPLC)装置は、高圧送液ポンプ uf-6050SZ2(ユニフローズ、東京)、カラム wakosil-ii 5c18ar Φ4.6mm×250mm(和光純薬工業株式会社、大阪)、放射線検出器は RI0704(JFE テクノス株式会社、神奈川県)、UV 検出器 EYELA UV-9000(東京理化工業株式会社、東京)を使用した。キュリーメーター井戸型 NaI シンチレーションカウンタは ICG-7(日立アロカメディカル株式会社、東京)を使用した。溶離液は、アセトニトリルと水の混合溶液(80:20)を用いた。流速は 2ml/min、UV は 254nm とした。

はじめにコントロールデータとして、HPLC を用いて ¹⁸F の放射能(RA: Radioactivity)スペクトルと ultraviolet(UV)スペクトル、EMSB の UV スペクトルを分析した。その後、合成後の溶液の RA スペクトルと UV スペクトルを分析した。合成後の反応液の HPLC 分析結果を画像解析ソフト ImageJ(NIH)¹⁴⁾で表示し、RA ピークの面積を求め、放射化学的純度を下記の式より求めた。

放射化学的純度 = ¹⁸F-EFSB の RA ピーク面積 / (¹⁸F の RA ピーク面積 + ¹⁸F-EFSB の RA ピーク面積)

2.3 ^{18}F -EFSB の品質管理

2.3.1 使用機器および薬品

本研究では品質管理として、放射化学的純度試験、pH 測定、無菌試験、エンドトキシン試験、以上の 4 つを実施した。

精製には Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge(Waters、アメリカ)を使用した。pH 測定ではリトマス試験紙(東洋工業株式会社、東京)を使用した。無菌試験では無菌性試験キット Oxoid Signal Blood Culture System Thermo Scientific 20pkg BC0100M BC0100 BC0102M(Thermo Fisher Scientific、アメリカ)を使用した。エンドトキシン試験ではエンドトキシン検出用試薬 Limulus ES-2 Single Test wako(和光純薬工業株式会社、大阪市)を使用した。インキュベートには IC100W(ヤマト科学株式会社、東京)を使用した。

2.3.2 品質管理の手順

合成後の溶液を Sep-Pak QMA に通過させ、フリーの ^{18}F を除去することで精製を行った。精製した溶液を使用して pH 測定、エンドトキシン試験、無菌試験をそれぞれ 5 回ずつ実施した。pH 測定はリトマス試験紙に対して、精製液を数滴滴下した。エンドトキシン試験はライセート試薬と精製液 0.2mL を試験管中に混合し、37℃のインキュベータに 60 分間安置するゲル化法で行った。無菌試験はブラッドカルチャーに精製液を 1ml 加えて、37℃のインキュベータに 1 週間安置した。

2.3.3 品質管理の分析方法

精製後の放射化学的純度試験は、2.2.3 に述べた使用機器と分析条件を用いて、同様に放射化学的純度を算出した。pH 測定はリトマス試験紙の pH 値を目視で判定した。エンドトキシン試験は加熱終了後、試験管を 180 度転倒しゲル形成が生じている場合は陽性、生じていない場合は陰性と判定した。無菌試験では、細菌が発生した二酸化炭素の量を測定器で計測し、体積増加が 2ml 以上の場合は陽性、それ以下の場合は陰性とした。

III. 結果

3.1 様々な病型の沈着アミロイドに対する ^{19}F -EFSB の反応性の検討

Fig. 2 に種々の全身性アミロドーシスに対するコンゴレッド染色と ^{19}F -EFSB の染色結果を示す。左の行からコンゴレッド染色(CR: Congo red)、コンゴレッド染色時偏光レンズ下観察(PL: polarized light)、 ^{19}F -EFSB 染色である。AL、FAP、アミロイド沈着無しは消化管生検、AA は腎生検、SSA は心筋生検である。矢印で示すように、すべての組織においてコンゴレッド染色により橙赤色を示す箇所があり、偏光顕微鏡下観察でアップルグリーンの複屈折を呈した。すべての病型のアミロイドにおいて、 ^{19}F -EFSB の集積部位はコンゴレッド陽性部位と一致していた。

3.2 ^{18}F -EFSB の最適な合成条件の検討

Sep-Pak QMA から抽出した ^{18}F の放射能は 70～250MBq であった。 ^{18}F 、EMSb、200℃5 分間で合成した反応液の HPLC 分析結果をそれぞれ Fig. 3、Fig. 4、Fig. 5 に示す。HPLC 分析の上段は RA スペクトル、下段は UV スペクトルである。縦軸は信号強度(mV)、横軸は保持時間(minute)である。ここで保持時間は、物質がカラムに流入してから溶出されるまでの時間を示している。なお UV スペクトルは機器の不良により上下反転して表示している。 ^{18}F の RA ピークは 1.8 分(peak 1)、UV ピークは 2 分(peak 2)と 2.5-2.8 分(peak 3)に出現した。EMSb の UV ピークは 1.9 分(peak 1)と 3.3-4.4 分(peak 2)に出現した。反応条件 200℃5 分間で合成した反応液の RA ピークは 2 分(peak 1)と 4-5.5 分(peak 2)、UV ピークは約 1.8-2.0 分(peak 3)、2.2-2.5 分(peak 4)、3-4.0 分(peak 5)、4.5-5.8 分(peak 6)、8.9-10.2 分(peak 7)に出現した。

Fig. 6 に反応時間の変動による放射化学的純度の結果を示す。放射化学的純度は 2.5 分間で $70.2 \pm 9.3\%$ 、5 分間で $74.8 \pm 5.8\%$ 、7.5 分間で $69.6 \pm 7.6\%$ 、10 分間で $68.2 \pm 5.0\%$ 、15 分間で $64.6 \pm 3.2\%$ であった。放射化学的純度は 5 分間の加熱でピークになり、その後緩やかな減少を示した。これより最適な反応時間は 5 分とした。Fig. 7 に反応温度の変動による放射化学的純度の結果を示す。放射化学的純度は

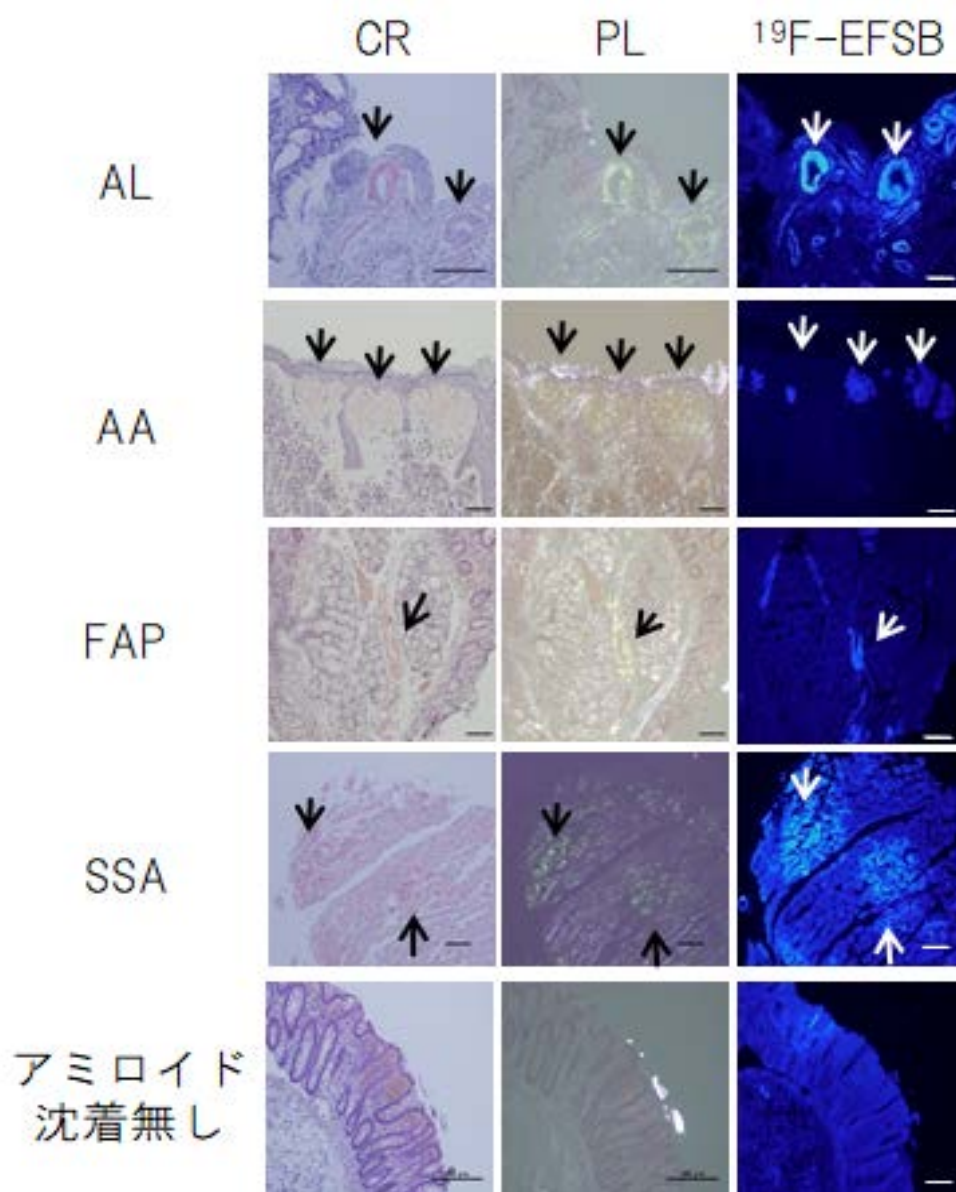


Fig. 2 様々な種類のアミロイドに対するコンゴレッド染色と ^{19}F -EFSB の相同性検討結果
(スケールバー: CR, PL=500 μm , ^{19}F -EFSB=100 μm)

150°Cで $56.7 \pm 9.6\%$ 、170°Cで $69.9 \pm 2.1\%$ 、190°Cで $75.8 \pm 1.5\%$ 、200°Cで $81.7 \pm 5.1\%$ 、210°Cで $84.9 \pm 1.6\%$ であった。反応温度が高くなるにつれて放射化学的純度は向上した。

3.3 ^{18}F -EFSB の品質管理

精製後の HPLC 分析の結果、RA ピークは 2.2 分 (peak 1) と 5.7 分 (peak 2) に、UV ピークは 2 分 (peak 3)、2.4-2.8 分 (peak 4)、3.8-4.5 分 (peak 5)、6 分 (peak

6)、10 分 (peak 7) に出現した (Fig. 8)。精製後の放射化学的純度は $95.1 \pm 3.4\%$ ($n=5$) であった (Table 1)。リトマス試験紙による pH 測定は全て 6.5-7.5 の範囲であった。エンドトキシン試験はゲル形成が生じなかったため陰性であった。無菌試験は体積増加が 0.5ml 程度であったため陰性であった。

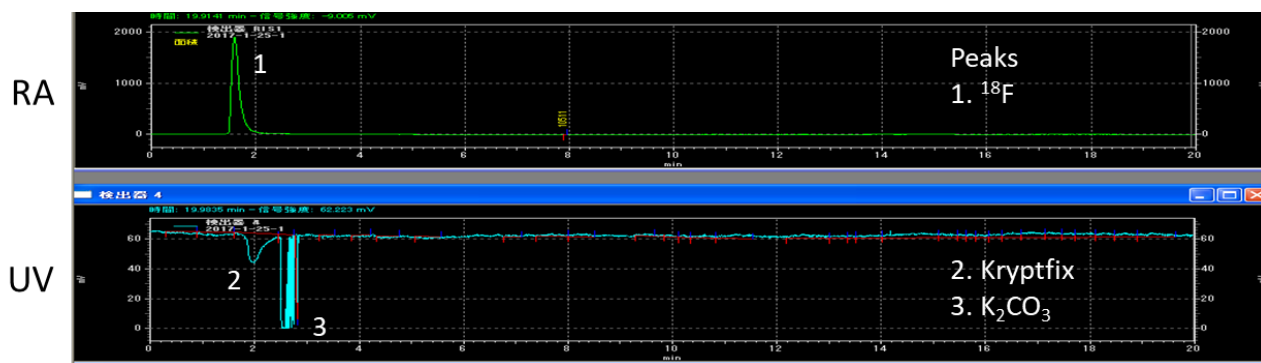
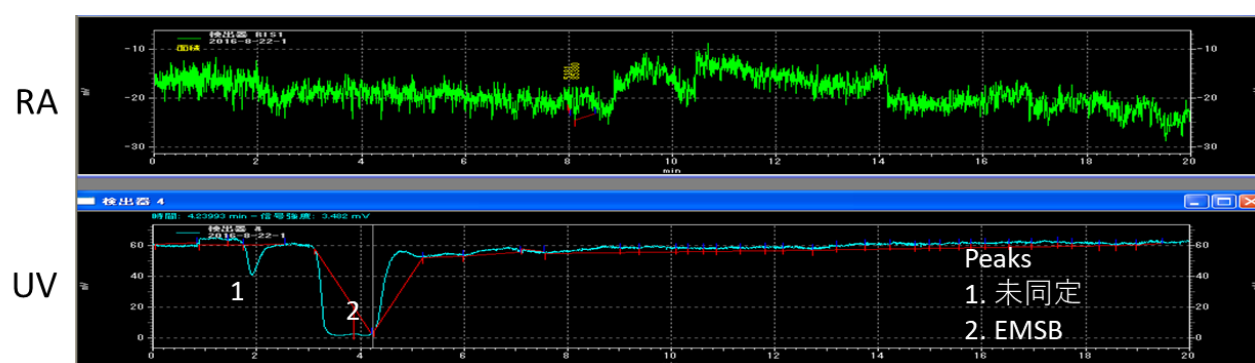
Fig. 3 ^{18}F の HPLC 分析結果

Fig. 4 EMSB の HPLC 分析結果

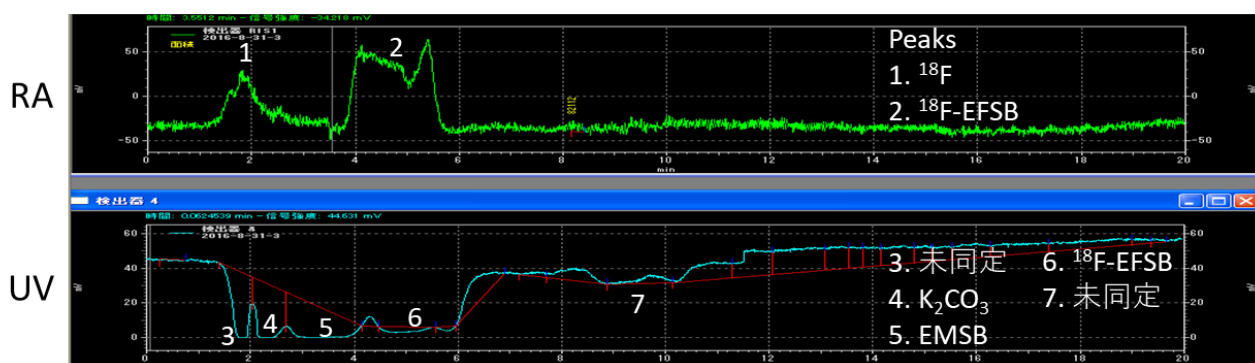


Fig. 5 200°C5 分間の反応条件で合成された反応液の HPLC 分析結果

IV. 考察

4.1 様々な病型の沈着アミロイドに対する ^{19}F -

EFSB の反応性の検討

^{18}F -EFSB の安定同位体である ^{19}F -EFSB を用いて、アミロイドへの反応性を検討した。Fig. 2 に示すように、全ての標本においてコンゴレッド染色により橙赤色を示し、偏光顕微鏡下観察で緑色の複屈折を呈する箇所が存在したため、アミロイドの沈着が

証明された^{3-5,12)}。各病型におけるコンゴレッド染色陽性部位と ^{19}F -EFSB の蛍光部位は完全に一致し、アミロイド沈着組織以外には反応性を示さなかった。よって ^{19}F -EFSB は全ての全身性アミロイドーシスの病型に対するアミロイドへ特異的に集積することが明らかとなった。現在まで主にアミロイド β を検出することを目的に、コンゴレッド誘導体でスチリルベンゼンを有する様々なアミロイド検出薬剤が開発されている¹³⁾。Fig. 1 に示すように ^{19}F -

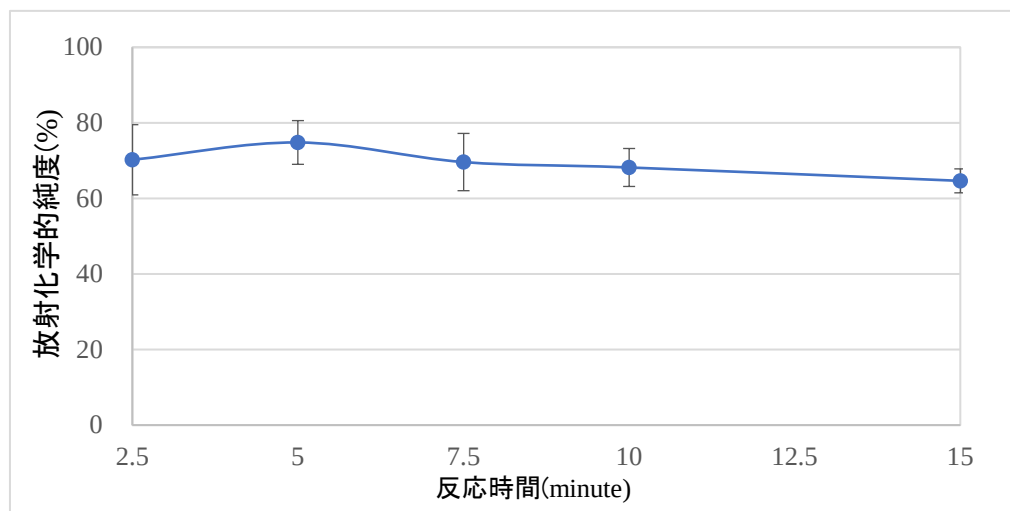


Fig. 6 反応時間による放射化学的純度の変化 (反応温度 180°C 固定)

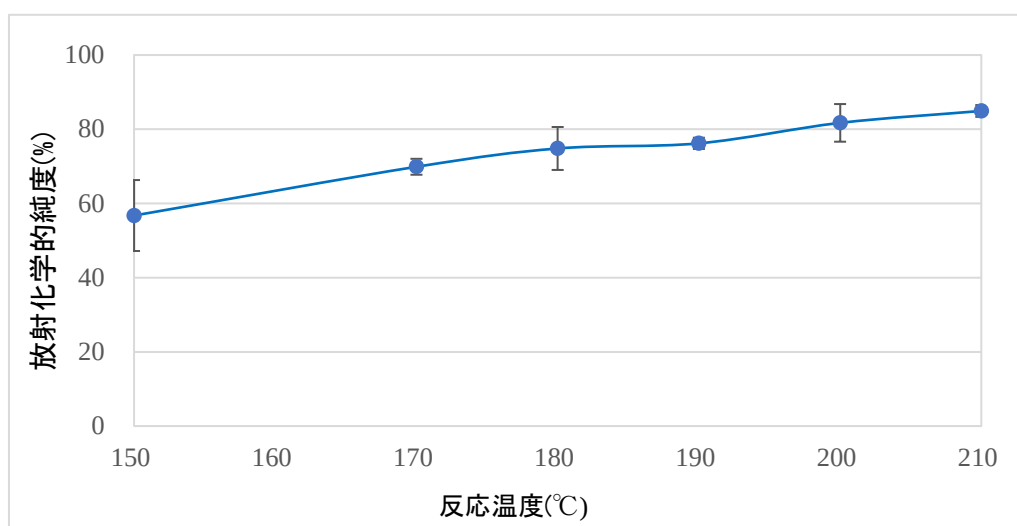


Fig. 7 反応温度による放射化学的純度の変化 (反応時間 5 分固定)

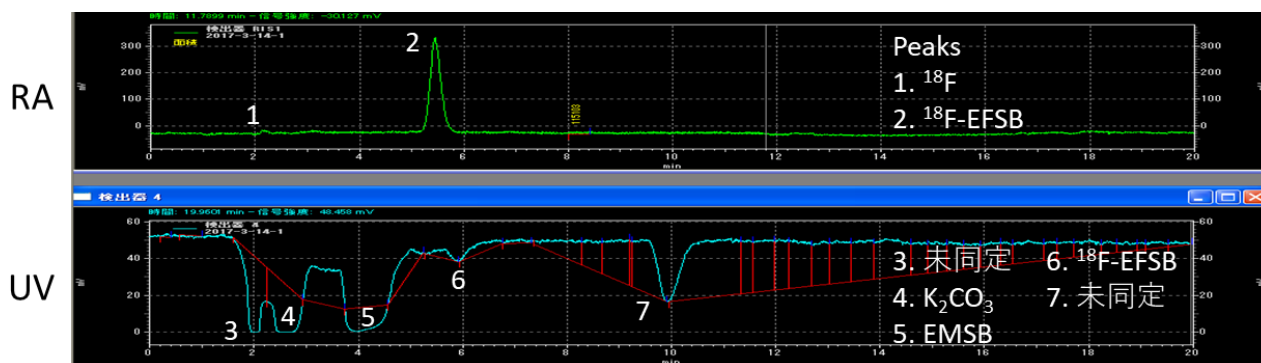
EFSB も前駆物質 EMSB と同様にスチリルベンゼン骨格を保持しているため、アミロイドへ集積したと考える。これより放射性フッ素で標識した ^{18}F -EFSB においても、アミロイドへ集積すると推察する。

4.2 ^{18}F -EFSB の最適な合成条件の検討

本研究では ^{18}F -EFSB の最適な合成方法を確立するため、最適な反応時間と温度を求めた。はじめにコントロールデータとして ^{18}F を分析したところ、RA ピークは peak 1、UV ピークは peak 2 と peak 3 が出現した(Fig. 3)。peak 2 と peak 3 は Sep-Pak QMA から ^{18}F を溶出する際に用いた混合溶液に含まれる

kryptofix 222 および炭酸カリウムのピークである。前駆体 EMSB の UV スペクトル peak 1 は未同定、peak 2 はメインピークである(Fig. 4)。Fig. 5 に示す通り、合成後の反応液の RA ピークは peak 1 と peak 2 が出現した。反応液の RA に出現した peak 2 は、合成された ^{18}F -EFSB のピークと考えられる。反応液の peak 3 は未同定である。peak 4 は炭酸カリウム、peak 5 は EMSB、peak 6 は ^{18}F -EFSB のピークであると考えられる。peak 7 に関しては EMSB の 2 量体であると推察する。

反応温度 180°C で固定し適切な反応時間を検討したところ、Fig. 6 に示す通り反応時間 5 分で放射化

Fig. 8 精製後の ^{18}F -EFSB の HPLC 分析結果

学的純度は $74.8 \pm 5.8\%$ とピークに達し、時間の延長に伴い放射化学的純度は緩やかに減少した。Kumar らは、反応時間の延長は放射線分解を誘発すると報告している¹⁵⁾。本研究において反応時間の延長により生じた放射化学的純度の低下は放射線分解の影響によるものと考えられる。次に適切な反応温度を検討した結果、Fig. 7 に示す通り反応温度の増加に伴い放射化学的純度は上昇した。しかし 210°C の加熱の際に反応容器が破損したことより、 200°C の加熱が最適であると決定した。以上より 200°C 5 分間の反応は、迅速かつ高い放射化学的純度を獲得できる有用な合成条件であると考えられる。

4.3 ^{18}F -EFSB の品質管理

放射化学的純度試験・pH 測定・エンドトキシン試験・無菌試験、以上 4 つの品質管理を実施することで ^{18}F -EFSB が臨床応用可能な標識薬剤であることが明らかにした。

合成後の ^{18}F -EFSB を Sep-Pak QMA に通し、フリーの ^{18}F を除去することで精製した。ポジトロン核医学利用専門委員会は目的物以外の放射能は総放射能の 5% 以下であることを推奨している¹⁶⁾。本研究の放射化学的純度試験は $95.1 \pm 3.4\%$ であった。Sep-Pak QMA は溶液の導入速度により ^{18}F の吸着力が異なる¹⁶⁾。本研究では精製を手動で行っていることから、放射化学的純度の変動は手技によるものであり、導入速度が速かったことが原因と考えられる。精製後の溶液は微黄色であり、粒子の存在は認められなかった。pH は中性であり、無菌試験、発熱性試験ともに陰性であった。以上より有害菌および異物の混入は無いと考える。

Table 1 精製後の放射化学的純度

回数	精製後の放射化学的純度(%)
1	97.8
2	96.8
3	88.7
4	97.3
5	94.1
平均	95.1 ± 3.4

本研究の精製方法は溶媒がアセトニトリルであるため、標識薬剤を生体に投与することはできない。今後は精製液をロータリエバポレーター等で加熱乾固したあと、残渣を生理食塩水で溶解することで、生体へ安全に投与可能な注射用薬剤になると考えられる¹⁷⁾。

V. 結語

新たな全身性アミロイドーシス用の標識薬剤 ^{18}F -EFSB の臨床応用に向けた基礎研究として(1) ^{19}F -EFSB のアミロイド集積性に関する検討、(2)EMSB に ^{18}F を標識合成する際の最適な合成条件の検討、(3) ^{18}F -EFSB の品質管理を行った。 ^{19}F -EFSB は様々な病型の全身性アミロイドーシス患者のアミロイドに集積したことから、放射性標識薬剤 ^{18}F -EFSB も同様にアミロイドへ集積することが示唆された。 ^{18}F -EFSB は 200°C 5 分間の反応により迅速かつ効率よく合成することができた。今回実施した品質管理である放射化学的純度試験、pH、無菌試験、発熱性

試験は問題なかった。今後は生体に投与可能な標識薬剤にするため、溶媒を生理食塩水にする必要がある。

謝辞

実験に協力いただきました、熊本赤十字病院の皆様、熊本大学医学部附属病院神経内科の皆様に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) 山田正仁: アミロイドーシス診療ガイドライン 2010, 5, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2011.
- 2) Bokhari S, et al: Nuclear imaging modalities for cardiac amyloidosis, J. Nucl. Cardiol., 21: 175-184, 2014.
- 3) Ashutosh, DW, et al: Systemic amyloidosis, Lancet, 387: 2641-2654, 2016.
- 4) 山田正仁: アミロイドーシス診療ガイドライン 2010, 10, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2011.
- 5) 大林光, 他: アミロイドーシスの新たな診断法の開発, Rinsho Byori, 56: 986-993, 2008.
- 6) 山田正仁: アミロイドーシス UPDATE, 128, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2010.
- 7) Klunk WE, et al: Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B, Ann. Neurol., 55: 306-319, 2004.
- 8) Kudo Y, et al: 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl] ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients, J. Nucl. Med., 48: 553-61, 2007.
- 9) Choi SR, et al: Preclinical properties of ^{18}F -AV-45: a PET agent for Abeta plaques in the brain, J. Nucl. Med., 50: 1887-1894, 2009.
- 10) Furukawa K, et al: Cardiac Positron-Emission Tomography Images With an Amyloid-Specific Tracer in Familial Transthyretin-Related Systemic Amyloidosis, Circulation, 125: 556-557, 2012.
- 11) Dorbala S, et al: Imaging cardiac amyloidosis: a pilot study using ^{18}F -florbetapir positron emission tomography, Eur J Nucl Med Mol Imaging, 41: 1652-1662, 2014.
- 12) Ando Y, et al: A Novel Tool for Detecting Amyloid Deposits in Systemic Amyloidosis In Vitro and In Vivo. Lab. Invest., 83: 1751-1759, 2003.
- 13) Nakazono M, et al: Novel styrylbenzene derivatives for detecting amyloid deposits, Clin. Chim. Acta, 436: 27-34, 2014.
- 14) Rasband WS. ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2012 (Accessed 2016.9.22).
- 15) Kumar P, et al: ^{18}F -FESB: synthesis and automated radiofluorination of a novel ^{18}F -labeled pet tracer for β -amyloid plaques, J. Label. Compd. Radiopharm., 48: 983-996, 2005.
- 16) 社団法人 日本アイソトープ協会 医学・薬学部会 ポジトロン核医学利用専門委員会: ポジトロン核医学利用専門が成熟技術として認定した放射性薬剤の基準(2009年改定), RADIOISOTOPES, 58: 221-245, 2009.
- 17) 高橋和弘, 他: PET 用放射性薬剤の製造および品質管理-合成と臨床使用へのてびき-, PET 化学ワークショップ, 5: 20, 47, 2015.

 原 著

全身性アミロイドーシス検索薬 ^{125}I -EISB の研究 ～最適反応時間および安定性の検討～

柏昂希*, 副島彩花**, 松永浩文***, 山下太郎****, 富吉勝美*****

Study of ^{125}I -EISB for Detecting Systematic Amyloidosis ～Evaluation for optimal synthesis time and stability of ^{125}I -EISB～

Koki Kashiwa*, Ayaka Soejima**, Yoshifumi Matsunaga***, Taro Yamashita****, Katsumi Tomiyoshi*****

Abstract: 1-(2-methyl-ethoxy) -2,5bis (styryl) benzene (EMSB) is newly synthesized and reacted with ^{125}I with Kripffix222 to obtain 1-(^{125}I -ethoxy) -2,5bis (styryl) benzene (^{125}I -EISB) which is a new amyloid imaging probe that can image amyloid by Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT). The purpose of study is to determine the optimal synthesis time and clarify stability of ^{125}I -EISB in saline and human serum, respectively. We synthesized ^{125}I -EISB and injected ^{125}I -EISB into saline and human serum. We used high performance liquid chromatography (HPLC) to acquire radiochemical purity of ^{125}I -EISB. We assess changes of radiochemical purity of ^{125}I -EISB over time. As a result, high radioactive purity $95.88 \pm 3.19\%$ was obtained in 10 minutes by our synthesis and the radiochemical purity was $97.83 \pm 1.40\%$ ($n=6$) applying our purification system. Radiochemical purity 24 hours later was $94.01 \pm 2.09\%$ after injecting in saline. That was $94.23 \pm 1.20\%$ after injecting in human serum. From these results, optimal synthesis time was determined 10 minutes and radiochemical purity of ^{125}I -EISB was stably maintained in saline and human serum, respectively.

Key words: systematic amyloidosis, radiochemical yield, stability, SPECT

受付日 2017 年 11 月 13 日 採択日 2018 年 2 月 2 日

*熊本大学大学院保健学教育部 **熊本大学医学部保健学科 ***熊本大学大学院薬学教育部

****熊本大学医学部付属病院 *****熊本大学大学院生命科学研究部

投稿責任者: 富吉勝美 ktomiyo@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

アミロイドーシスは繊維構造をもつ不溶性蛋白であるアミロイドが、臓器沈着することによって機能障害を引き起こす疾患の総称として定義される^{1,2)}。アミロイドーシスは、全身性諸臓器にアミロイドが沈着する全身性アミロイドーシスと、ある臓器に限局した沈着を示す限局性アミロイドーシスに大別される²⁾。

アルツハイマー病のような脳の限局性アミロイドーシスでは、脳生検自体の侵襲性が高く、出血などのリスクとなり得ることから生検による診断は

不適切である場合が多い³⁾。このため、アルツハイマー病の患者と健常者の鑑別だけでなく、認知機能障害が発現する前の早期診断が可能である ^{11}C -Pittsburgh compound B (^{11}C -PIB) に代表されるような核医学検査は、診療戦略を立てるうえで有用なエビデンスを提供する技術である^{4~6)}。一方、全身性アミロイドーシスの確定診断は生検による²⁾。全身性アミロイドーシスが疑われる場合、アミロイド沈着の検出感度と安全性を総合的に判断したうえで、生検部位を決定する²⁾。アミロイドは病理学的に congo red 染色で赤橙色に染まり、偏光顕微鏡下で緑色の偏光を呈する物質として同定される^{1,7)}。生

検部位としては、アミロイドが沈着している消化管、皮膚、腹壁脂肪があるが、侵襲性が高く生検をためらう腎や心臓にもアミロイドが存在することがある²⁾。さらに、congo red 染色は偏光顕微鏡下で検討しても、陽性なのか陰性なのか正確に判断しかねる場合があり、早期診断も困難である^{1,7)}。したがって、Positron Emission Tomography (PET) や Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) により全身性アミロイドーシスを画像化できれば、in vivo で非侵襲的にアミロイドの蓄積量およびその空間的分布を評価可能な客観的診断法となる可能性が高く²⁾、早期診断や治療経過のモニタリングが可能になると考える。

これまでに、安東らにより、Congored 誘導体で毒性・発がん性などの問題が少ない、アミロイド診断薬(trans,trans)-1-bromo-2,5-bis-(3-hydroxycarbonyl- 4-hydroxy) styrylbenzene (BSB) が開発され、シンチグラフィとしてアミロイド沈着の検出に有用である可能性を示した^{6,7)}。さらに、中園らにより、BSB の誘導体として 1-Methoxy-2,5-bis (styryl) benzene (MSB) が開発された⁸⁾。MSB は様々なアミロイドの検出に有用であることが示され、組織化学検査のみならず、全身のアミロイドを検出するのに有用な PET 薬剤になることが示唆された⁸⁾。また、MSB に放射性化合物を標識するための脱離基を付加した 1-(2-mestyl-ethoxy) -2,5-bis (styryl) benzene (EMSB) が合成された⁸⁾。

これまで congo red 誘導体でスチリルベンゼン骨格を有する様々なアミロイド検出薬が開発されており⁶⁻⁹⁾、EMSB の脱離基であるメシル基を放射性ヨウ素に置換した 1-(I-ethoxy)-2,5bis (styryl) benzene (EISB)も同様にスチリルベンゼン骨格を持つためアミロイドに対し親和性を有すると推測され、SPECT 検査によるアミロイド診断薬となると考えられる。

しかしながら、EISB を安定供給するための最適反応時間の検討は成されていない。さらに血液中的の EISB の安定性評価は今後の臨床試験のために重要な検討項目である。EISB に用いる放射性ヨウ素の候補には¹²³I(半減期 13 時間, γ 線 energy:159keV) , ¹²⁵I(半減期 60 日, 特性 X 線 energy: 27.5 keV k_{α} , 31keV k_{β}) が挙げられるが、¹²³I は半減期が短いため、

動物実験等には適していない。このため、これらの検討を行うには、¹²⁵I による EISB 合成が最適である。

本研究の目的は、EMSB に ¹²⁵I を標識合成する際の最適反応時間の決定すること、得られた 1-(2-¹²⁵I-ethoxy)-2,5bis (styryl) benzene (¹²⁵I-EISB)の血液中での化学的安定性の評価を行うことである。

II. 方法および材料

2-1 使用薬品

標識合成に使用した薬品はシアン化メチル(アセトニトリル, ナカライ), 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo [8.8.8] hexacosane (Kryptofix222, Sigma-Aldrich)とした。Kryptofix222 は使用容量が 0.25mg/mL となるようにアセトニトリルに溶解して用いた。分取精製で用いた薬品はアセトニトリル, 無水エタノール (ナカライ) および Tween80 (Wako) とした。

2-2 使用機器

合成には、ヒーター(Electrothermal)とオイルバス(OS-180 ADVANTEC)を用いた。

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 分析には Alliance HPLC system (e2695 Separations Module,Waters) , RI 検出器にはラジオ HPLC アナライザー-Model Ramona Star-(エムエス株式会社), フラクションコレクタには Waters Fraction Collector III(Waters)を用いた。

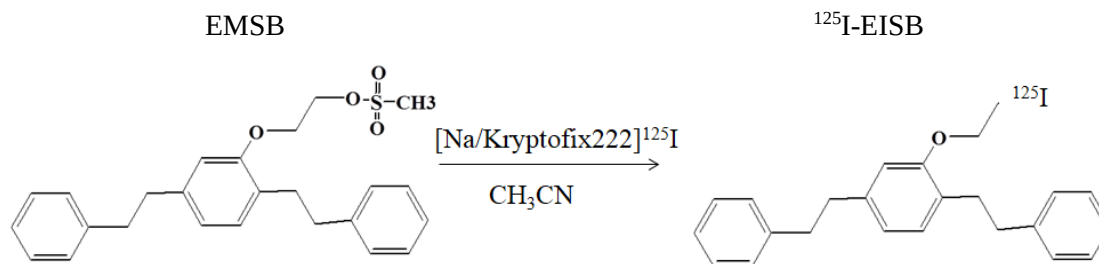
2-3 前駆物質

標識化合物 ¹²⁵I-EISB の前駆物質として用いた EMSB (分子式: C₂₅H₂₄O₄S, 分子量:420.52)は、熊本大学薬学部創薬基盤分子設計学教室で合成されたものを使用した。

2-4 標識合成

反応式を Fig. 1 に示すごとく、Kryptofix222 を用いて、EMSB のメシル基と ¹²⁵I の求核置換反応により ¹²⁵I-EISB を得た。

Na¹²⁵I (PerkinElmer,Inc.) に相間移動触媒である Kryptofix222 を 200 μ L 加え、ヒーターを用いて 100℃

Fig. 1 ^{125}I -EISB 標識合成の化学反応式

で加熱乾固させた。さらに無水アセトニトリルを 200 μL 加え、同様に 100 $^{\circ}\text{C}$ で加熱し、共沸乾燥させた。500 μL の EMSB を加え密封し、オイルバス内でシリコンオイル (Shin-Etsu Chemical Co, Ltd.) を 180 $^{\circ}\text{C}$ に加熱し、その中に浸すことで密封反応させた。密封反応の際の反応時間を 5 分, 10 分, 15 分, 20 分と変化させ、標識合成時の最適反応時間を求めた。

2-5 分取精製

分取精製には、簡便かつ短時間できるよう、Sep-Pak C18 (Waters) カートリッジを用いて固相抽出による分取精製を行った。

標識反応後の ^{125}I -EISB 溶液を流速 6mL/min で HPLC 分析し、フラクションコレクタである Waters Fraction Collector (Waters) を用いて 0~20 分まで 1 分間ごとに採取し、分析結果と照らし合わせ、 ^{125}I -EISB が含まれている溶液を Sep-Pak C18 に通し、 ^{125}I -EISB を保持した。その後、無水エタノール 2mL を Sep-pak C18 に通し ^{125}I -EISB を溶離させた。界面活性剤である Tween80(100 倍希釈) を 500 μL 加え、100 $^{\circ}\text{C}$ で加熱しエタノールを蒸発させ、生理食塩水を加えた。

その後、ラジオ HPLC アナライザー分析にて放射能を測定した。分析時の溶離液にはアセトニトリルと蒸留水を 80 : 20 の割合で混合したものを用い、流速は 1mL/min とした。また、カラムには Wakosil-II 5C18AR (内径 4.6mm×長さ 250mm) (Wako) を用いた (Table 1)。放射化学的純度は式(1)を用いて算出した。

Table 1 分取精製及び生理食塩水投与後の HPLC 分析条件

カラム	Wakosil-II 5C18AR (内径 4.6mm×長さ 250mm) (Wako)
溶離液	アセトニトリル/蒸留水 (80/20)
流速	1mL/min
検出器	ラジオ HPLC アナライザー (Model Ramona Star) (エムエス株式会社)
保持時間	20~22 分

放射化学的純度

$$= \frac{\text{目的の化合物の化学形の放射能}}{\text{全体の放射能}} \times 100[\%] \quad (1)$$

^{125}I -EISB がカラムに導入されてから溶出されるまでの時間 (保持時間) は、熊本大学薬学部創薬基盤分子設計学教室で合成及び核磁気共鳴により同定された ^{127}I -EISB と同条件で HPLC 分析することで同定した。

ヨウ化ナトリウム (^{123}I 及び ^{131}I) カプセルの純度試験¹⁰⁾を参考に ^{125}I -EISB 以外の放射能が総放射能の 5% 以下であることを品質管理基準として設定した。

2-6 安定度の測定

^{125}I -EISB の血中での安定度を評価するために in vitro で生理食塩水中和とヒト血清中における ^{125}I -EISB の放射化学的純度を経時的に測定した。

生理食塩水およびヒト血清に品質管理基準を満たした ^{125}I -EISB を加え、37 $^{\circ}\text{C}$ で 24 時間インキュベートし、経時的に HPLC 分析を行った。分取精製と同様に式(1)を用いて放射化学的純度の算出を行い、安定性を検討した。

生理食塩水における HPLC 分析条件は分取精製時と同様とした。また、ヒト血清における HPLC 分析条件は、溶離液は同じくアセトニトリルと蒸留水を 80:20 で混合したものを用いて、流速は 5mL/min とした。生理食塩水と比べて血液中では、ヒト血清中に含まれる蛋白により内圧上昇があるため、カラムには Wakosil-II 5C18HG (内径 10.0mm×長さ 300mm) (Wako)を用いた (Table2)。放射化学的純度計算は、分取精製後と同様とした。

Table2 ヒト血清投与後の HPLC 分析条件

カラム	Wakosil-II 5C18HG (内径 10.0mm×長さ 300mm) (Wako)
溶離液	アセトニトリル/蒸留水 (80/20)
流速	5mL/min
検出器	ラジオ HPLC アナライザー(Model Ramona Star) (エムエス株式会社)
保持時間	29~31 分

III. 結果

3-1 標識合成

Fig. 2 は、反応時間と放射化学的純度の関係を示しており、横軸が反応時間、縦軸が放射化学的純度である。Table3 は反応温度 180℃での各反応時間における放射化学的純度を示している。反応時間 10 分で 95.88±3.19%の最も高い放射化学的純度を示し、

その後 20 分までは緩やかに 93.78±2.51%に減少した。

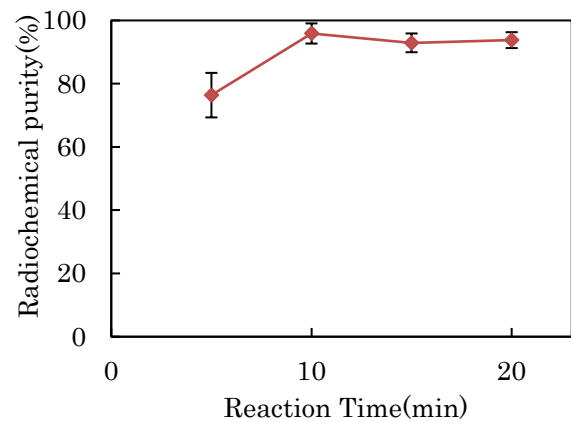
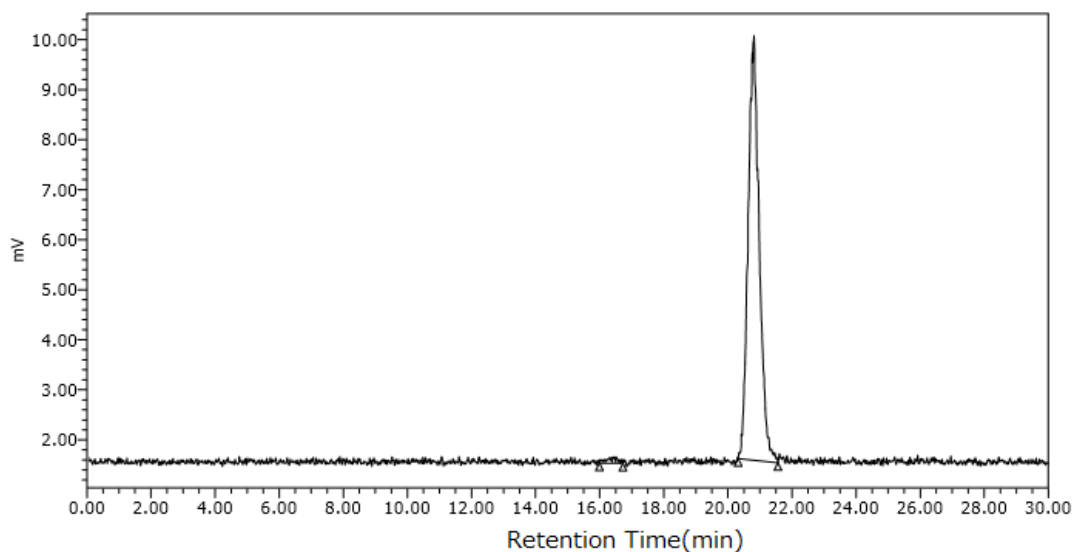
Fig. 2 反応時間と ^{125}I -EISB 放射化学的純度の関係 (n=3)

Table3 反応時間による放射化学的純度の比較

反応時間(分)	5	10	15	20
放射化学的純度(%)	76.38 ±7.04	95.88 ±3.19	92.92 ±2.97	93.78 ±2.51

3-2 分取精製

Fig. 3 は、分取精製後の HPLC 分析結果を示し、横軸が保持時間を表し、縦軸は RI 検出器の応答を表す。分取精製により ^{125}I -EISB の放射化学的純度は、97.83±1.40% (n=6) であった。 ^{125}I -EISB 以外の放射能は総放射能の 5%以下であり、品質管理基準を満たした。

Fig. 3 ^{125}I -EISB 分取精製後の HPLC 分析結果

3-3 生理食塩水中における安定度

Fig. 4 は生理食塩水中での時間経過による放射化学的純度の関係を示し、横軸が生理食塩水に ^{125}I -EISB を投与してからの経過時間を示す。 ^{125}I -EISB の放射化学的純度は、生理食塩水に投与直後 $96.13 \pm 2.31\%$ 、30 分後 $96.04 \pm 2.20\%$ 、1 時間後 $96.36 \pm 2.54\%$ 、2 時間後 $96.23 \pm 2.77\%$ 、6 時間後 $95.89 \pm 2.32\%$ 、12 時間後 $94.97 \pm 2.46\%$ 、24 時間後 $94.01 \pm 2.09\%$ であり、24 時間経過後でわずか 2% 程度の減少であった (各時間において $n=3$)。

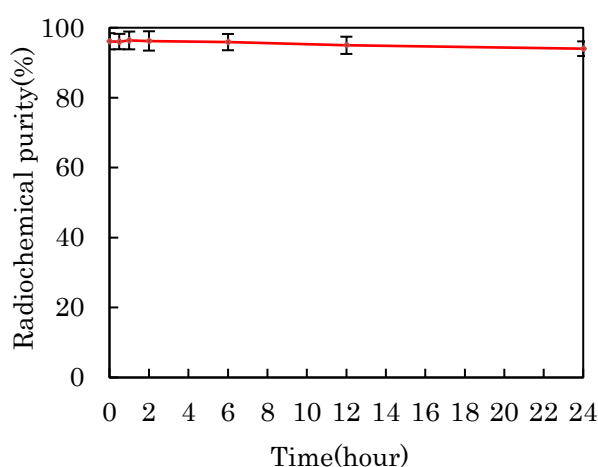


Fig. 4 生理食塩水中における ^{125}I -EISB の放射化学的純度の関係 ($n=3$)

3-4 ヒト血清中における安定度

Fig. 5 はヒト血清中での時間経過による放射化学的純度の関係を示し、横軸がヒト血清に ^{125}I -EISB を投与してからの経過時間、縦軸が ^{125}I -EISB の放射化学的純度を表す。 ^{125}I -EISB の放射化学的純度は、ヒト血清に投与直後 $96.34 \pm 0.41\%$ 、3 時間後 $95.91 \pm 0.59\%$ 、6 時間後 $95.85 \pm 0.72\%$ 、12 時間後 $95.05 \pm 0.63\%$ 、24 時間後 $94.23 \pm 1.20\%$ であり、生理食塩水と同等であった (各時間において $n=3$)。

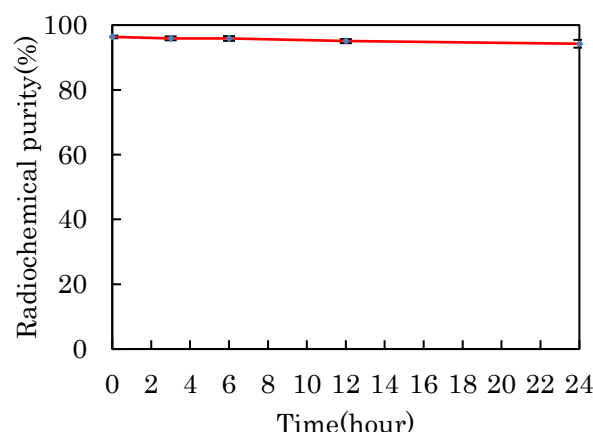


Fig. 5 ヒト血清中における ^{125}I -EISB の放射化学的純度の関係 ($n=3$)

IV. 考察

本研究では、EMS のメシル基と ^{125}I の求核置換反応により ^{125}I -EISB を得るための最適反応時間を実験的に決定した。反応時間 10 分で放射化学的純度は $95.88 \pm 3.19\%$ と最も高い値を示し、その後 20 分までは緩やかに $93.78 \pm 2.51\%$ に減少した (Fig. 2, table 3)。このことから、反応時間は 10 分が最適であると考えられた。

生理食塩水とヒト血清中での ^{125}I -EISB の化学的安定性評価では、いずれも良好な安定度を示した (Fig. 4, 5)。放射性標識化合物を有効に利用するためには、分解が起こる前に使用される必要がある。少なくとも、24 時間以内であれば、分解の少ない ^{125}I -EISB の使用が可能であると考えられる。

標識化合物の分解の原因には、壊変による分解やエネルギー吸収による分解、化学的原因による分解がある^{11,12)}。放射性標識化合物のエネルギーの吸収による分解は、吸収されやすい β 線が最も大きいとされる^{10,11)}。本研究では、軌道電子捕獲核種である ^{125}I を使用しており、 β 線放射がないことから、エネルギーの吸収による分解は極めて小さいと考える。一方、化学的原因による分解は光や酸素、温度、微生物などの原因により分解が促進されるが、体温を想定した 37°C でインキュベートした環境で生理食塩水やヒト血清中での分解が見られなかったこ

とから, ^{125}I -EISB は体内においても化学的に安定であることが予想される。

マウス等を用いて非臨床試験を行うには, 体内における代謝などによる生物学的安定性を評価する必要がある¹³⁾。さらに, 放射性ヨウ素の標識化合物の安定性を評価する上で重要となるのは, 標識化合物の放射化学的純度の低下よりは, 標識化合物から遊離されるヨウ化物の量である¹⁰⁾。本研究では, *in vitro* における生理食塩水中和とヒト血清中での化学的安定性しか評価しておらず, 代謝等による生物学的安定性については実施していない。代謝による分解を評価するためには, *in vivo* での評価が必要となるため, 今後はマウスなどを用いて投与後経時的に採血や採尿を行い, 化学分析等を行うことでさらに詳しい評価を行う必要がある。さらに, 臨床応用に向け, 生物学的安定性が確認された後, マウス等を用いた非臨床試験により ^{125}I -EISB の体内動態試験を行う必要がある。

V. 結語

EMS のメシル基と ^{125}I の求核置換反応により ^{125}I -EISB を得るための最適反応時間は 10 分であり, 生理食塩水とヒト血清中における ^{125}I -EISB は精製後 24 時間までは安定であったことから, 体内においても ^{125}I -EISB は化学的に安定であることが予想された。今後, *in vivo* で生物学的安定性の評価を行う必要がある。

参考文献

- 山田正仁: アミロイドーシス UPDATE, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2010.
- 山田正仁: アミロイドーシス診療のすべて, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2011.
- Y. Ando, et al: A novel tool for detecting amyloid deposits in systemic amyloidosis *in vitro* and *in vivo*. *Lab. Invest.* 83 (12): 1751-1759, 2003.
- Mathis CA, et al: Synthesis and evaluation of ^{11}C -labeled 6-substituted 2-arylbenzothiazoles as amyloid imaging agents. *J Med Chem.* 46: 2740-2754. 2003.
- Klunk WE, et al: Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh compound-B. *Ann Neurol.* 55:306-319, 2004.
- Serdons K, et al: Synthesis of ^{18}F -labelled 2-(4'-fluorophenyl) -1,3-benzothiazole and evaluation as amyloid imaging agent in comparison with [^{11}C]PIB. *Bioorg Med Chem Lett* 19:602-605, 2009.
- 安東由喜雄: 全身性アミロイドーシスの新たな診断法. 同仁ニュース. 104: 1-5, 2002.
- Nakazono M, et al: Novel styrylbenzen derivatives for detecting amyloid deposits. *Clinica Chimica Acta.* 436: 27-34, 2014.
- Z.P. Zhuang, et al. Radioiodinated Styrylbenzenes and Thioflavins as Probes for Amyloid Aggregates. *J. Med. Chem.* 44 (12), 1905-14, 2001.
- 日本放射性医薬品協会: 放射性医薬品基準解説書. 124-145. 日本放射性医薬品協会, 2016.
- 花田博之: 放射化学 (放射線技術学シリーズ). 101-102. オーム社, 東京, 2008.
- Bayly, R. J, et al: stability and storage of compounds labeled with radioisotopes. *Journal of Labelled Compounds*, Vol.2, No.1; 1966.
- 医薬品非臨床試験ガイドライン研究会: 医薬品非臨床試験ガイドライン解説 2010, 薬事日報社, 東京, 2010.

資 料

補助化学療法／放射線療法を受ける乳がん患者の倦怠感に対する
運動の効果に関する文献レビュー

村上美華*, 国府浩子**

A literature review of exercise for fatigue in breast cancer patients
undergoing adjuvant chemotherapy or radiotherapy

Mika Murakami*, Hiroko Kokufu**

Key words : breast cancer, fatigue, adjuvant therapy, exercise

キーワード : 乳がん, 倦怠感, 術後補助療法, 運動

受付日 2017 年 11 月 09 日 採択日 2017 年 12 月 14 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

投稿責任者 : 国府浩子 kokufu@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

日本において、乳がんは女性の罹患率 1 位のがんであり、日本における発症のピークは欧米に比して若く 40 代後半とされ、患者は家庭や社会で多様な役割を担う時期にがん治療を受けるという状況に直面する。乳がんは、その細胞学的性質から、治療は局所療法である手術療法、放射線療法に加え、がんの性質・進展の程度に応じて、全身療法である化学療法、ホルモン療法、分子標的治療が選択されるなど多岐、そして長期に渡るという特徴を持つ。そのため、治療に伴う症状マネジメントは患者の QOL (Quality of Life) を維持、向上する上で極めて重要といえる。

がんに関連した倦怠感 (Cancer-related fatigue) はがん患者に多くみられる症状のひとつであり、化学療法や放射線療法といったがん治療の副作用としても高頻度に出現する。それは通常の疲労よりも激しく、つらく、また通常の疲労とは異なり活動や労作と関係なく

経験され、休養しても緩和することが少ないという特徴を持つ^{1),2)}。実際に治療中のがん患者の多くが倦怠感を経験し、生活範囲の狭小化や活動制限など日常生活への影響を感じており³⁾⁻⁸⁾、治療が終了してもなお 1 年以上に渡り倦怠感を経験している患者も存在する⁹⁾など、長期に渡り患者の生活に影響を及ぼすことから、治療早期からのマネジメントが必要である。

倦怠感に対し患者がとる戦略で最も多いのは、休息や活動量を調整することによるエネルギー管理であるが^{1),6),10)-13)}、身体活動の減少による 2 次的な倦怠感の派生は、さらなる活動性の低下を引き起こし、患者の運動機能や生活機能を低下させ、QOL に否定的な影響を与える¹⁴⁾。一方で、日常的な運動習慣が倦怠感の軽減につながる可能性が指摘されているなど¹⁵⁾、活動量を維持・増加させることは、倦怠感を軽減する上で重要と考える。身体活動はがん患者の身体的安寧や QOL 向上に欠かせないものであるが、倦怠感は運動の主要な

障壁となっており^{16),17)}, 治療期にあるがん患者は診断前に比べて活動量の低下を自覚し, 運動の有益性を感じながらも思うようにできないという状況に直面しているとされる¹⁶⁾.

近年, 欧米では, 治療中のがん患者に対する運動介入の効果が検証されてきており, 身体活動の減少に焦点を当てた運動プログラムによる活動の強化は, 倦怠感を軽減する効果的な介入とされている¹⁸⁾. 国内でも, 術後補助療法を受ける乳がん患者の倦怠感に対するウォーキングエクササイズの有用性について検討されているが¹⁹⁾, 欧米に比して運動介入研究は少ない状況にある.

そこで, 本研究は, 補助化学療法／放射線療法を受ける乳がん患者の倦怠感に対する運動の効果を検証した海外論文を概観することで, 倦怠感に対する支援の方向性と課題を明確化することを目的とする. なお, 本研究では倦怠感を「がんとその治療に伴い生じる, 身体的, 情緒的, 認知的なエネルギー消耗の主観的な感覚であり, 日常生活に支障を来すほどのつらく持続する体のだるさ」と定義する.

II. 研究方法

補助化学療法／放射線療法を受ける乳がん患者の倦怠感に対する運動の効果に関連した論文の検索は, オンライン文献情報ベースの PubMed で行った. 1st Screening として, キーワード「Breast or Mammary」and「Cancer or Carcinoma or tumor or Malignant or Neoplasm」and「fatigue」and「exercise or physical activity」の検索式で得られた文献のうち, 対象年(2007年～2016年), 英語で公表された成人女性を主な対象とするものに限定し 227 件を抽出した(表 1). それらの文献をリスト化し, 以下の要件を満たす論文を選定した.

- 1) 運動(活動)に焦点を当てた介入を実施し, その方法が記述されている.
- 2) 乳がんの補助化学療法／放射線療法を受ける患者を対象としている.

- 3) 介入による倦怠感への効果を客観的指標により測定し, その結果が記述されている.
- なお, 対象に前立腺がんなど乳がん以外の患者を含むもの, 減量を主目的とした運動介入は除外した.

選定された論文は 21 件であり, それらを, 研究デザイン, 対象, 運動の種類・方法・期間・内容, 成果の視点で整理・分析した(表 2).

表 1 1st Screening

	キーワード	文献数
#1	“Breast” or “Mammary”	480,357
#2	“Cancer” or “Carcinoma” or “tumor” or “Malignant” or “Neoplasm”	3,970,758
#3	#1 and #2	377,154
#4	“fatigue”	87,439
#5	#3 and #4	2,759
#6	“exercise” or “physical activity”	456,410
#7	#5 and #6	467
#8	Decade 10 years (2007-2016)	367
#9	Published English	356
#10	Adult (≥ 19 years) & Female	227

III. 結果

1. 研究デザインと対象

研究デザインは 14 件がランダム化比較試験(RCT)で, その他は 1～3 群の事前事後テストによる比較であった. 対象者数は 14～242 人であり, 補助化学療法中の患者を対象とした研究 11 件, 補助放射線療法中の患者を対象とした研究 5 件, 両治療を対象とした研究が 5 件であった. また, 対照群には通常ケアや筋弛緩法によるリラクゼーションが設定されていた.

表 2 : 分析対象論文の概要

筆頭著者 (発表年)	研究デザインと対象	運動の種類・方法	期間・内容	倦怠感指標 評価時期(T)	主な結果
Comette, T 20) (2016)	RCT n=44 (運動 22, 通常ケア 22) 化学療法 (同一レジメン), 放射線療法	RE+AE home-based 個別	27 週間, 化学療法と放射線療法の期間中を含む RE : 週 1 回(バンド利用, 8-12 回反復を 2 セット) AE : 週 2 回以上(サイクルエルゴメーター or ウォー キング, 20 分から開始し 40 分まで 6w ごと 5 分ずつ 漸増)	MFI T1 : 介入後, T2 : 介入後 27w	倦怠感は運動群, 対象群ともに T1, T2 と低下し ていたが, グループ間の違いはなかった. 最大酸 素摂取量は, 運動群は運動後増加し対照群は減少 していた. 抑うつは, T1 の得点が運動群の方が改 善傾向を認めたが両群に有意差はなかった.
Travier, N 21) (2015)	RCT n =204 (運動 102, 通常ケア 102) 化学療法	RE+AE supervised +home-based 個別	18 週間 RE : 週 2 回(10 回反復を 2 セット, 強度を漸増) AE : 週 2 回(25 分間, インターバルトレーニング) home-based AE : 週 3 回以上 30 分以上	MFI FQL T1 : 介入後, T2 : 介入後 18w	身体的倦怠感は運動群の方が対照群に比べて増加 が少なかったが, 精神的倦怠感の増加や活動性の 減少が両群に認められ差はなかった. QOL, 不安, 抑うつも群間差はなかった.
van Waart, H 22) (2015)	RCT n =230 (運動: Onco-Move 76/ Onco- Track 77, 通常ケア 77) 化学療法	RE+AE or AE supervised or home-based 個別	化学療法 1 クール目から最終クルの 3 週間後まで RE+AE(Onco-Track) : 週 2 回, 筋力トレーニング 20 分(8 回反復 2 セット) + 有酸素運動 30 分(ボルグ指 数 12-16), さらに週 5 日 30 分以上の活動を推奨) AE(Onco-Move) : 週 5 日, ボルグ指数 12-14 の運動 を 30 分以上, 活動日誌を記録	MFI FQL T1 : 化学療法後, T2 : 化療終了 6 カ月後	倦怠感について, T1 では RE+AE(Onco-Track) 群 が AE(Onco-Move) 群と対照群に比べて増加が少 なかったが, T2 では 3 群ともにベースラインに 戻りグループ間の差はなかった. 耐久性の維持, 嘔気や痛みなどの症状の程度は, T1 では両運動群 ともに対照群に比べて良好だった.
Gokal, K 23) (2015)	RCT n=50 (運動 25, 通常ケア 25) 化学療法	AE home-based 個別	12 週間, 2 クール終了後より開始 週 5 日, 10 分から開始し 30 分まで漸増, 中強度のウ ォーキング, パンプレットを使用してゴール設定や セルフモニターなどを指導	FACT-F T1 : 介入後	運動群は対照群に比べ倦怠感が軽減, 自尊感情が 向上し, 気分障害の改善や身体活動レベルの向上 を認めた. 一方で HADS による不安・抑うつは両 群に差を認めなかった.
Leach, HJ 24) (2015)	1 群事前-事後デザイン n =80 化学療法, 放射線療法 (両方を受けた人 95.8%, 治 療中へ治療後 3 か月以内)	RE+AE supervised +home-based 個別+グループ	12 週間 RE : 週 1 回ダンベルなどを使用, 8-12 回反復を 2-3 セット AE : 週 2 回のエルゴメータ等を使用した有酸素運動, 20-60 分, 週 5-7 回のストレッチ/柔軟 グループ運動(週 1 回以上を推奨) : RE(サーキットト レーニング), AE(トレッドミル等), 教育セッション (ゴール設定, 運動の原理, 栄養等)	FACIT-F T1 : 介入後	プログラム開始時と終了時(12w)の倦怠感に差は なく, 得点が維持できていたことから, 化学療法 及び放射線療法による倦怠感の増強が予防でき ていた. QOL 評価では社会的健康感がわずかに悪 化, 精神的健康感が向上した. グループ運動への 参加は 24 回開催のうち平均 7.5 回.
Al-Majid, S 25) (2015)	RCT n =14 (運動 7, 通常ケア 7) 化学療法	AE supervised 個別	9~12 週, 化学療法 1 クール目から化学療法終了ま で, 平均 32 回(26-39 回) 週 2-3 回, トレッドミル運動, 20 分, 最大心拍数 50 -60%で開始し 70-80%まで漸増	PFS T1 : 化療 2 クール後, T2 : 介入後, T3 : 介入後 3-4w	倦怠感は運動群と通常ケア群で有意差を認めな かったが, 運動群の方がベースラインの得点を維 持する傾向にあった(母数の少なさと対照群の開 始時の倦怠感が低かったことが影響していると 考察している). 最大酸素摂取量は T2-T4 におい て運動群の方が高かった.
Schmidt, ME 26) (2015)	RCT n =101 (運動 52, 筋弛緩 49) 化学療法	RE supervised グループ	12 週間, 化学療法 1or2 クール目に開始 RE : 週 2 回, 60 分, 機器を使用した漸増抵抗運動, 8-12 回反復を 3 セット 筋弛緩 : 週 2 回, 60 分	FAQ T1 : 介入後	身体的倦怠感は筋弛緩群が悪化したのに対し運 動群は変化がなかったが, 情緒的倦怠感, 認知的 倦怠感は両群で差を認めなかった. QOL 評価で は, 役割機能, 社会機能において運動群の方が改 善を認めた.

筆頭著者 (発表年)	研究デザインと対象	運動の種類・方法	期間・内容	倦怠感指標 評価時期(T)	主な結果
Yang, T-Y 27) (2014)	不等価 2 群事前事後デザイン n =47 (運動 25, 通常ケア 22) 放射線療法	AE supervised 個別	6 週間 週 3 回, 20-30 分, 軽～中強度(最大心拍数 40～65%) のトレッドミル運動, 時間は漸増	BFI T1-6 (計 6 回: 介入中毎週)	倦怠感の強さと倦怠感による生活の支障は, 運動群は減少し, 対照群は増加した
Taso, CJ 28) (2014)	RCT n=60 (ヨガ 30, 通常ケア 30) 化学療法	ヨガ supervised グループ	8 週間 週 2 回, 60 分, アスラヨガ(ストレッチやリラクゼーションを含む)	BFI T1: 介入中 4w 目 T2: 介入後 T3: 介入後 4w	T1 はベースラインの倦怠感が低い対象者において(18.3%), T2 は 75% の対象者でヨガ群の方が対照群に比べて倦怠感が低かった. 生活の支障も同様の傾向を示した.
Stendorf K 29) (2014)"	RCT n =160 (運動 80, 筋弛緩 80) 放射線療法	RE supervised グループ	12 週間, 放射線療法初日に開始 RE: 週 2 回, 60 分, 機器を使用した漸増抵抗運動, 8-12 回反復を 3 セット 筋弛緩: 週 2 回, 60 分	FAQ T1: 介入後	運動群が筋弛緩群に比べて総合的倦怠感, 身体的倦怠感が有意に改善したが, 情緒的・認知的倦怠感に違いはなかった. QOL 評価では, 役割機能において運動群の方が改善を認めた.
Chandwani, KD 30) (2014)	RCT n=163 (ヨガ 53, ストレッチ 56, 待機 54) 放射線療法	ヨガ supervised(+home-based) グループ	6 週間 ヨガ群(インストラクターによる), ストレッチ群(理学療法士による)は週 3 回, 60 分 ヨガ群は CD と教本を用いて在宅でも実施し, 実施状況(頻度・時間)を記録する	BFI T1: 介入後, T2: 1 か月後, T3: 3 か月後 T4: 6 か月後	ヨガ群, ストレッチ群ともに待機群に比べ T1 の倦怠感が有意に減少していた. QOL 評価ではヨガ群は他の 2 群に比べ身体機能が T2～4 において有意に向上していた. 抑うつや睡眠状況については群間差を認めなかった.
Husebo, AML 31) (2014)	RCT n =67 (運動 33, 通常ケア 34) 化学療法	RE+AE home-based 個別	化学療法期間中 RE: 週 3 回バンドを使用した上肢・下肢筋力トレーニング AE: 1 日 30 分の早歩き(軽→とてもきついまで 4 段階の強度, 中程度の強度を推奨) *通常ケアは週 150 分の活動を維持するよう助言	SCFS T1: 介入後, T2: 介入後 6 か月	両群ともに倦怠感は T1 で上昇し, T2 は有意に低下しており, グループ間の有意差は認めなかった. 身体機能と活動レベルは T1 で減少, T2 で改善しており群間差はなかった(通常ケアで活動を推奨したことが影響したと考察している).
Reis, D 32) (2013)	RCT n =41 (運動 22, 通常ケア 19) 放射線療法	Nia exercise home-based 個別	12 週間 週 3 回, 20～60 分, DVD を使用しながら運動 *Nia は, 合気道など 3 つの武道, ジャズなど 3 つの音楽, ヨガなど 3 つのヒーリングを基盤とするムーブメントエクササイズ	FACIT-F T1: 介入 6w 目, T2: 介入後	ベースラインの倦怠感得点を補正したところ, T1 と T2 において運動群は倦怠感の総スコアが有意に低かった. QOL 評価や, 有酸素能力, 肩の柔軟性は有意差を認めなかった.
Vincent, F 33) (2013)	1 群事前・事後デザイン n =39 化学療法	AE home-based 個別	12 週間, 化学療法 3 クール目から開始 週 3 回, 最大心拍数の 50-60%, 時間を漸増(5 分×6 回, 10 分×3 回, 15 分×2 回, 20 分×2 回)	PFS T1: 介入後	最大酸素摂取量の増加, 6 分間歩行による歩行距離の増加など運動能の向上を認めたが, 倦怠感に変化は見られなかった.
Hayes, SC 34) (2013)	RCT n =194 (運動: 対面指導 67/電話指導 67, 通常ケア 60) 化学療法, 放射線療法	RE+AE home-based 個別	8 か月, 術後 6 週を過ぎて開始 運動群は週 4 回, 内容を変え運動強度と時間は漸増 1 ヶ月目: AE(ウォーキング) 低-中強度, 20-30 分, 指導は週 1 回 2 ヶ月目: AE+RE, 中強度, 30-40 分, 指導は週 1 回 3-4 ヶ月目: AE+RE, 中-高強度, 45 分以上, 指導は 2 週間に 1 回 5-8 ヶ月目: AE+RE, 中-高強度, 45 分以上, 指導は月 1 回	FACIT-F T1: 術後 6 か月, T2 介入後 8w	対面指導, 電話指導どちらの運動群も通常ケア群に比べ QOL が向上し倦怠感が軽減した.

筆頭著者 (発表年)	研究デザインと対象	運動の種類・方法	期間・内容	倦怠感指標 評価時期(T)	主な結果
Wang, YJ 35) (2011)	RCT n=72 (運動 35, 通常ケア 37) 化学療法	AE home-based 個別	6 週間, 化学療法 2 週間前から開始し初回ケールの 間継続 週 3-5 回のウォーキング, 運動時間と強度を漸増 (30→50 分, 最大心拍数の 40→60%) 電話指導と面談を週 1 回	FACIT-F T1: 治療 1 日前 T2: 治療後 7-10 日 の nadir 時期 T3: 6w の介入後	T2 と T3 において, 運動群の方が対照群に比べて 倦怠感が少なかった. 運動群の方が, QOL は良好 で, 睡眠障害が少なく, 運動の自己効力感が高く 活動量も多かった.
Ligibel, JA 36) (2010)	1 群事前-事後デザイン n=41 化学療法, 放射線療法	AE home-based 個別	12 週間 週 150 分, 最大心拍数 55-80% の中強度の運動, 近 隣のフィットネスクラブを期間中会員利用, 週 1 回 の電話指導	QLQ-C30 T1: 介入後	運動により倦怠感は低下傾向にあり, 心肺機能と QOL は有意に改善した.
Spord, LK 37) (2010)	不等価 3 群事前-事後デザイン n=114 (運動: 3 か月 29/6 か月 68, 通常ケア 17) 化学療法, 放射線療法	RE+AE supervised 個別	3 か月 or 6 か月 週 2-3 回, 60 分 AE: 最大心拍数 30-55% のトレッドミルや屋外ウォ ーキング等 RE: 主要筋群を意識した低強度の運動と柔軟運動	PFS T1: 介入後	倦怠感の総スコアは 3 か月, 6 か月の運動群におい て有意に減少していたが, 抑うつは 3 群ともに 低下しており対照群との違いを認めなかった.
Hsieh, CC 38) (2008)	1 群事前-事後デザイン n=96 (手術のみ 22, +化学療法 30, +放射線療法 17, +化学療法 & 放射線療法 27)	RE+AE supervised 個別	6 か月 週 2-3 回, 60 分 AE: 最大心拍数 40-75% のトレッドミルや屋外ウォ ーキング等 RE: 主要筋群を意識した運動と柔軟運動	PFS T1: 介入後	手術のみ群以外の治療群は介入後倦怠感が低下 していた. 心肺機能(最大酸素摂取量やトレッドミ ルによる評価) は全てのグループで介入後増加し ていた.
Hwang, JH 39) (2008)	RCT n=40 (運動 17, 通常ケア 23) 放射線療法	RE+AE supervised 個別	5 週間 週 3 回, 50 分, トレッドミルやエルゴメータ, 筋力 トレーニング, 肩関節のストレッチ, 最大心拍数の 50-70% の強度	BFI T1: 介入後	倦怠感は介入後, 運動群は低下し対照群は増加し ていた. 運動群は対照群に比べ介入後に QOL が 向上し, 肩関節の可動域が拡大, 痛みが減少して いた.
Coumeya, KS 40) (2007)	RCT n=242 (運動: RE82, AE78, 通常ケ ア 82) 化学療法	RE or AE supervised 個別	治療期間中 RE: 週 3 回, 8-12 回反復 2 セット, 強度漸増 AE: 週 3 日, エルゴメータ/トレッドミル, 最大酸素 消費量 60%→80% 強度漸増, 15 分→45 分時間漸増	FACT-An T1: 介入中, T2: 介入後	倦怠感は両運動群と対照群で差を認めなかった. 運動群の方が対照群に比べ介入後の自尊感情が 高く, AE 群は有酸素能, RE 群は筋力の向上を認 めた.

Abbreviations : AE, aerobic exercise; RE, resistance exercise; MFI, Multidimensional Fatigue Inventory; FQL, Fatigue Quality List; PFS, Piper Fatigue Scale; BFI, Brief Fatigue Inventory ;
 FACIT-F, Functional Assessment of Chronic Illness Therapy of Fatigue; FAQ, Fatigue Assessment Questionnaire; FACT-F, Functional Assessment of Cancer Therapy-Fatigue;
 SCFS, Schwartz Cancer Fatigue Scale; QLQ-C30, European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire;
 FACT-An, Fatigue Assessment Questionnaire-Anemia

2. 運動介入の実際

運動介入の理論的背景が記載されている論文は 5 件で、ロイ適応モデル³²⁾、バンデューラの社会的学習理論^{21),35)}、行動変容モデル²²⁾、計画的行動理論²³⁾であった。運動の種類は、有酸素運動 (AE: aerobic exercise)、筋抵抗運動 (RE: resistance exercise) およびそれらを組み合わせたもの、ヨガ、Nia exercise がみられた。方法は、グループ介入が 4 件、個別介入が 17 件(うち 1 件はグループ介入への参加を推奨)であり、在宅運動療法(home-based)が 8 件、監視下運動療法(supervised) 9 件、それらの複合(supervised+home-based)が 4 件であった。在宅運動療法では、介入期間中、運動内容の指導とともに運動に対する意欲の維持、有害事象(adverse event)の把握などを目的として電話によるカウンセリングも実施されていた^{20),31),34),36)}。

介入期間は 5 週間から 8 カ月であり、12 週間が最も多く、治療開始時や治療開始後 1~2 週間以内の早期に開始されていた。運動の頻度は、監視下運動療法では週 2~3 回、在宅運動療法は週 3 日以上に設定されていた。

筋抵抗運動は、複数のトレーニングマシンを使用した監視下運動療法が中心だが、トレーニングバンドを用いた在宅での筋力トレーニングも実施されていた。運動強度は中強度が多く、最大拳上重量(1RM: one repetition maximum)の 60~80%、10 回前後の反復運動 2~3 セットに設定されており、強度を漸増する研究も見られた。

有酸素運動は、トレッドミルやエルゴメータを使用した運動や、ウォーキングであった。運動強度は最大心拍数(Maximum heart rate)40~80%の間(低~中強度)に設定されており、強度を漸増するものもあった。また、主観的運動強度(RPE: Ratings of perceived exertion)は 12~16 であった。運動時間は主に 20~30 分であるが、強度と同様に段階的に延ばす研究も見られた。他に、グループを対象としたヨガ^{28),30)}、DVD を使用したムーブ

メントエクササイズの Nia exercise³²⁾があった。

3. 運動介入による成果

運動介入による倦怠感への影響を測定する指標には、Multidimensional Fatigue Inventory (MFI)、Piper Fatigue Scale (PFS)、Brief Fatigue Inventory (BFI)、Functional Assessment of Chronic Illness Therapy of Fatigue (FACIT-F) 等が使用されていた。評価の時期は、介入前をベースライン(T0)として、プログラム終了時のみが 9 研究、プログラム中と終了時が 5 研究、プログラム終了時と終了後のフォローアップが 5 研究、プログラム中と終了時及び終了後のフォローアップが 2 研究であった。フォローアップの時期は 6 か月が多かった。

運動介入後に倦怠感への効果を認めたのは、16 研究(監視下運動療法 8、在宅運動療法 5、複合 3)であり、対照群との差がないなど 5 つの研究では効果を認めなかったとしている。また、倦怠感のうち身体的倦怠感への効果はあったが精神的倦怠感や認知的倦怠感是对照群との差はないとする報告^{21),26),29)}も見られた。運動介入後に倦怠感への効果を認めた研究のうち、プログラム終了後にフォローアップ評価を実施しているものでは、運動群、対照群ともにベースラインの倦怠感に戻り群間差を認めないとする報告^{21),22),34)}、対照群と比較してプログラム終了後も効果を維持しているとする報告^{28),35)}があった。

また、運動介入の成果として、体力、QOL や抑うつ状態が倦怠感と合わせて評価されていた。

体力の評価には、有酸素持久力(最大酸素摂取量: VO_{2max})や筋力等が指標として用いられていた。補助化学療法期間中の中強度の有酸素運動、筋抵抗運動、通常ケアを比較した研究では、筋力は筋抵抗運動、有酸素持久力是有酸素運動が最も向上したと報告されている⁴⁰⁾。同一レジメン(3FEC100, 3Taxotere)の補助

化学療法を受ける患者を対象とした、有酸素運動と筋抵抗運動の組み合わせによる在宅運動療法では、通常ケア群に比べ運動群は最大酸素摂取量が向上したとされる²⁰⁾。しかしながら、体力への効果が認められる一方、倦怠感においては運動群と対象群の間で群間差はなかったと報告されている^{20),40)}。

QOL は、Functional Assessment of Cancer Therapy – Breast (FACT-B)、European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire C30 (QLQ-C30) 等を用いて評価されていた。補助化学療法、放射線療法を受ける患者を対象とした、有酸素運動と筋抵抗運動を組み合わせた 8 か月に渡る在宅運動療法では、対面での指導、電話による指導のどちらも、通常ケアに比べて倦怠感が軽減し、QOL の向上が認められている³⁴⁾。また、治療後早期の復職率が高い²²⁾、役割機能や社会機能が良好である^{26),29)}との報告もあった。

抑うつ状態への効果は、Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) や Hospital Anxiety and Depression (HADS) により評価されており、補助化学療法 2 クール目より 12 週間の在宅ウォーキングの効果を検証した研究では、通常ケアに比べて自尊感情および活動レベルの向上、倦怠感の軽減を認めたが、抑うつ状態に差はなかったと報告されている²³⁾。補助放射線療法中の患者に対する、グループ療法による筋抵抗運動と筋弛緩リラクゼーションの比較においても、両グループとも介入前後の CES-D 得点に変化はなかったとしている²⁹⁾。

介入による有害事象の報告はなかった。

IV. 考察

補助化学療法、補助放射線療法を受ける乳がん患者を対象に実施された運動介入において、多くは介入後に倦怠感の改善が見られており、有酸素持久力や筋力の向上に加えて、運

動による活動量の増加が身体機能の維持につながり、倦怠感の悪化を防いでいたと思われる。運動強度は、筋抵抗運動では中強度（最大拳上重量の 60–80%）、有酸素運動では低～中強度（最大心拍数の 40–80% 程度）で、患者の身体機能に合わせて個別に設定されており、負荷を段階的に増加させる研究も散見された。強度や時間といった運動負荷が強すぎると倦怠感が増強するといった U-sharp 現象についての報告もあり^{41),42)}、化学療法や放射線療法では時期により症状や体調の変化は大きい。そのため、運動中の心拍数のモニタリングや主観的運動強度を確認しながら強度を調整することが、倦怠感の改善を導く上で重要と考える。

一方で、通常ケアとの差がないなど、運動介入による倦怠感への効果が認められなかった研究もある。その要因として、研究対象者数が少ない、対照群に活動レベルが極めて高い人が含まれたなど群間の属性が同質ではないといった研究デザインの問題や、活動を推奨するといった通常ケア群への介入のバイアスが指摘されている。乳がん患者は健康に有益な療養法を取り入れたいとの思いがあり、介入群からの情報提供により対照群の運動量が増加するといった汚染の問題も報告されており⁴⁵⁾、それらを考慮した研究デザインの設計が課題といえる。

介入期間では、治療早期に介入を開始し、治療期間中（化学療法 12 週間～24 週間、放射線療法 5～6 週間）継続しているものが多かった。乳癌は、手術療法を軸に、放射線療法、分子病型に合わせた薬物療法（ホルモン療法、化学療法、分子標的治療）による集学的治療が行われ、補助療法期間が他の癌腫に比べて長いことが特徴である。治療後数年を経ても倦怠感が持続している患者が存在し^{43),44)}、治療中の倦怠感が強い患者ほどその傾向にあるとされることから⁴⁴⁾、治療期にある乳がん患者の倦怠感を早期からマネジメントする必要性は極めて高いといえる。また、運動プログラムの

長期的な効果については、有酸素運動と筋抵抗運動を組み合わせた介入を実施し、プログラム終了後 6 カ月に評価を行った研究^{20),22),31)}もあるが、対照群との群間差は認められておらず、長期的な効果については今後更なる検証が必要と考える。

運動の種類では、筋力および筋持久力効果が同時に得られることから、筋抵抗運動と有酸素運動を組み合わせたプログラムが多かった。一方、有酸素運動のみでも倦怠感への効果は認められており、通常ケアに比べて治療後早期の復職率が筋抵抗運動と同等に高いことが示されている²²⁾。筋抵抗運動に比べ、在宅で出来るウォーキングなどの有酸素運動は生活に取り入れやすいといった特徴を持つ。また、在宅ウォーキングプログラムにより自尊感情が高まり活動レベルが向上するといった結果が示されている²³⁾ように、患者のセルフケア能力を高める意味でも有用であると考えられる。同時に、在宅運動療法では、定期的な面接や電話によるサポートがアドヒアランスの維持において不可欠と思われる。

今回分析対象となった研究では、抑うつ状態への効果を認めなかったとするものが多かった。同様に、情緒的、認知的倦怠感通常ケアとの差を認めないとする報告もあり、心理・社会的側面に対する運動の効果は限定的であると解釈できる。乳がんの診断から手術、補助療法と、患者は短期間のうちに重大な決断を下したり、症状への対処など新たなセルフケアを獲得したりする必要性に直面し、そのストレスは多大である。加えて、乳がん患者は家庭や社会で多様な役割を担っていることから、ストレスマネジメントや生活調整を支援するようなプログラムが合わせて必要と考える。

本文献レビューは、対象年を直近 10 年間に限定していること、英語で公表された論文に限定していることが限界といえる。

V. おわりに

補助化学療法／放射線療法を受ける乳がん患者の倦怠感に対する運動の効果についての文献レビューを行った結果、運動による有酸素持久力や筋力の向上、活動量の増加が、身体機能を維持し倦怠感の改善につながっていた。そのため、治療開始早期からの筋力トレーニングを含めた運動プログラムが、身体的な倦怠感を緩和する上で有用と考える。また、精神的な倦怠感を緩和するために、ストレスマネジメントや生活調整を支援するようなプログラムが合わせて必要と考える。

本研究は、公益信託山路ふみ子専門看護教育研究助成基金より助成を受け行った研究の一部である。

参考文献

- 1) Holley, S.: Cancer-related fatigue: Suffering a different fatigue. *Cancer Practice*. 8(2): 87-95, 2000.
- 2) Glaus, A., et al: A qualitative study to explore the concept of fatigue/tiredness in cancer patients and in healthy individuals. *Supportive Care in Cancer*. 4(2): 82-96, 1996.
- 3) 楠葉洋子, 他: 外来化学療法を受けているがん患者の気がかりとそのサポート, *保健学研究*, 24(1): 19-25, 2012.
- 4) 齊田 菜穂子, 他: 外来で化学療法を受けるがん患者が知覚している苦痛, *日本がん看護学会誌*, 23(1): 53-60, 2009.
- 5) 武居明美, 他: 外来化学療法における副作用症状の特徴に基づく看護支援の検討～副作用症状の自己記録ノート分析, *群馬保健学紀要*, 29: 11-20, 2008.
- 6) Knobf, M. T., et al: A longitudinal study of symptoms and self-care activities in women treated with primary radiotherapy for breast

- cancer. *Cancer Nursing*. 28(3): 210-218, 2005.
- 7) 福田 敦子, 他: 外来がん化学療法患者の生活障害に関する研究 消化器がん患者の生活障害の実態調査, 神戸大学医学部保健学科紀要, 19: 41-57, 2004.
 - 8) Sitzia, J., et al: Side effect of cyclophosphamide, methotrexate, 5-fluorouracil (CMF) chemotherapy for breast cancer. *Cancer Practice*. 6(1): 13-21, 1998.
 - 9) Bower, J. E., et al: Fatigue in breast cancer survivors: Occurrence, correlates, and impact on quality of life. *Journal of Clinical Oncology*. 18(4): 743-753, 2000.
 - 10) 樺澤 三奈子: 術後補助化学療法を受ける肺がん患者の倦怠感のセルフマネジメントに関する研究 倦怠感のとらえ方, 取り組み, 支援ニーズの特徴, せいいい看護学会, 2(2): 10-18, 2012.
 - 11) Spichiger, E., et al: Fatigue in patients undergoing chemotherapy, their self-care and the role of health professionals: A qualitative study. *European Journal of Oncology Nursing*. 16(2): 165-171, 2012.
 - 12) Wu H. S., et al: Cancer-related fatigue: "It's so much more than just being tired". *European Journal of Oncology Nursing*. 11(2): 117-125, 2007.
 - 13) 平井 和恵, 他: 化学療法を受けたがん患者の倦怠感の特性, 日本がん看護学会誌, 20(2): 72-801, 2006.
 - 14) Winningham, M. L., et al: Fatigue and the cancer experience: the state of the knowledge. *Oncology Nursing Forum*. 21(1): 23-36, 1994.
 - 15) 堀理江, 他: 放射線療法を受ける乳がん患者の倦怠感の様相, ヒューマンケア研究学会誌, 6(1): 33-40, 2014.
 - 16) Midtgaard, J., et al: Self-reported physical activity behavior; exercise motivation and information among Danish adult cancer patients undergoing chemotherapy. *European Journal of Oncology Nursing*. 13(2): 116-121, 2009.
 - 17) Courneya, K. S., et al: Barriers to supervised exercise training in a randomized controlled trial of breast cancer patients receiving chemotherapy. *Annals of Behavioral Medicine*. 35(1): 116-122, 2008.
 - 18) Cramp, F., et al: Exercise for the management of cancer-related fatigue in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue 11. 2012.
 - 19) 宮脇 聡子, 他: 乳がん患者の倦怠感緩和のためのウォーキングエクササイズプログラムの開発 効果の検討, 高知女子大学看護学会誌, 37(1): 20-27, 2012.
 - 20) Cornette, T., et al: Effects of home-based exercise training on VO2 in breast cancer patients under adjuvant or neoadjuvant chemotherapy (SAPA): a randomized controlled trial. *European Journal of Physical Rehabilitation Medicine*. 52(2): 223-232, 2016.
 - 21) Travier, N., et al: Effects of an 18-week exercise programme started early during breast cancer treatment: a randomised controlled trial. *BMC Medicine*. 13: 121-122, 2015.
 - 22) van Waart, H., et al: Effect of Low Intensity Physical Activity and Moderate-to High-Intensity Physical Exercise during Adjuvant Chemotherapy on Physical Fitness, Fatigue, and Chemotherapy Completion Rates: Results of the PACES Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 33(17): 1918-1927, 2015.
 - 23) Gokal, K., et al: Effects of a self-managed home-based walking intervention on psychosocial health outcomes for breast cancer patients receiving chemotherapy: a randomized controlled trial. *Support Care*

- Cancer. 24(3): 1139-1166, 2015.
- 24) Leach, H. J., et al: Evaluation of a Community-Based Exercise Program for Breast Cancer Patients Undergoing Treatment. *Cancer Nursing*. 38(6): 417-425, 2014.
 - 25) Al-Majid, S., et al: Effects of exercise on biobehavioral outcomes of fatigue during cancer treatment: results of a feasibility study. *Biological Research for Nursing*. 17(1): 40-48, 2014.
 - 26) Schmidt, M. E., et al: Effects of resistance exercise on fatigue and quality of life in breast cancer patients undergoing adjuvant chemotherapy: A randomized controlled trial. *International Journal of Cancer*. 137(2): 471-480, 2014.
 - 27) Yang, T-Y., et al: Effects of an aerobic exercise programme on fatigue for patients with breast cancer undergoing radiotherapy. *Journal of Clinical Nursing*. 24(1-2): 202-211, 2014.
 - 28) Taso, C-J., et al: The effect of yoga exercise on improving depression, anxiety, and fatigue in women with breast cancer: a randomized controlled trial. *The Journal of Nursing Reseach*. 22(3): 155-164, 2014.
 - 29) Steindorf, K., et al: Randomized, controlled trial of resistance training in breast cancer patients receiving adjuvant radiotherapy: results on cancer-related fatigue and quality of life. *Annals of Oncology*. 25(11): 2237-2243, 2014.
 - 30) Chandwani, K. D., et al: Randomized, controlled trial of yoga in women with breast cancer undergoing radiotherapy. *Journal of Clinical Oncology*. 32(10): 1058-1065, 2014.
 - 31) Husebø, A. M. L., et al: Effects of scheduled exercise on cancer-related fatigue in women with early breast cancer. *The Scientific World Journal*. 19; 2014-2027, 2014.
 - 32) Reis, D., et al: Effects of Nia exercise in women receiving radiation therapy for breast cancer. *Oncology Nursing Forum*. 40(5): E374-382, 2013.
 - 33) Vincent, F., et al: Effects of a home-based walking training program on cardiorespiratory fitness in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a pilot study. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*. 49(3): 319-29, 2013.
 - 34) Hayes, S. C., et al: Exercise for health: a randomized, controlled trial evaluating the impact of a pragmatic, translational exercise intervention on the quality of life, function and treatment-related side effects following breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 137(1): 175-186, 2012.
 - 35) Wang, Y-J., et al: Effects of a 6-week walking program on Taiwanese women newly diagnosed with early-stage breast cancer. *Cancer Nursing*. 34(2): E1-13, 2010.
 - 36) Ligibel, J. A., et al: Physical and psychological outcomes among women in a telephone-based exercise intervention during adjuvant therapy for early stage breast cancer. *Journal of Women's Health*. 19(8): 1553-9, 2009.
 - 37) Sprod, L. K., et al: Three versus six months of exercise training in breast cancer survivors. *Breast Cancer Research and Treatment*. 121(2): 413-419, 2010.
 - 38) Hsieh, C. C., et al: Effect of a supervised intervention on recovery from treatment regimens in breast cancer survivors. *Oncology Nursing Forum*. 35(6): 909-915, 2008.
 - 39) Hwang, J. H., et al: Effects of supervised exercise therapy in patients receiving radiotherapy for breast cancer. *Yonsei*

- Medical Journal. 49(3): 443-450, 2008.
- 40) Courneya, K. S., et al: Effects of aerobic and resistance exercise in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a multicenter randomized controlled trial. Journal of Clinical Oncology. 25(28): 4396-4404, 2007.
- 41) Schwartz, A. L.: Fatigue mediates the effects of exercise on quality of life. Quality of Life Research. 8: 529-538, 1999.
- 42) Schwartz, A. L.: Dairy fatigue patterns and effect of exercise in women with breast cancer. Cancer Practice. 8(1): 16-24, 2000.
- 43) Goldstein, D., et al: Cancer-related fatigue in women with breast cancer: outcomes of a 5-year prospective cohort study. Journal of Clinical Oncology. 30(15): 1805-1812, 2012.
- 44) Schmidt, M. E., et al: Fatigue and quality of life in breast cancer survivors: temporal courses and long-term pattern. Journal of Cancer Survivors. 6(1): 11-19, 2012.
- 45) Mock, V., et al: Exercise manages fatigue during breast cancer treatment: A randomized controlled trial. Psycho-Oncology. 14: 464-477. 2005.

熊本大学医学部保健学科紀要 第14号

(通巻26号)

平成30年 3 月31日 発行

編集・発行

熊本大学医学部保健学科

広報・紀要委員会

発 行 所

熊本大学医学部保健学科

熊本市中央区九品寺 4 丁目24番 1 号

電話 (096) 344-2111

BULLETIN OF KUMAMOTO UNIVERSITY SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

THE 14th ISSUE (2018)

CONTENTS

Reviews

Function of TRAF3 in B cells	----- Kano Tanabe, et al.	---	1
Carcinogenesis of endometriosis-related ovarian neoplasm	----- Aoi Tokuda, et al.	---	11
The origin and carcinogenesis of ovarian carcinoma	----- Masafumi Yoshimoto, et al.	---	22

Original articles

Fundamental Study for Clinical Application of Systemic Amyloid Imaging Probe ^{18}F -EFSB	----- Ryoma Suzuki, et al.	---	33
Study of ^{125}I -EISB for Detecting Systematic Amyloidosis ~Evaluation for optimal synthesis time and stability of ^{125}I -EISB~	----- Koki Kashiwa, et al.	---	42

Material

A literature review of exercise for fatigue in breast cancer patients undergoing adjuvant chemotherapy or radiotherapy	----- Mika Murakami, et al.	---	48
---	-----------------------------	-----	----