

婦人科腫瘍におけるバイオマーカーと治療奏効度・予後との相関 —免疫組織化学的検討から

防衛医科大学校 産科婦人科

加藤雅史、高野政志、宮本守員、青山真、渋谷剛志、松浦寛子、佐々木直樹、
鈴木亜矢子、平田純子、後藤友子、笹秀典、古谷健一

緒言

近年、他癌腫と同様に婦人科腫瘍においても形態学的診断に加えて分子遺伝学的診断が行われつつあり、治療の個別化が模索されている。例えば Type I の子宮体癌ではホルモンレセプターの発現や DNA ミスマッチ修復 (DNA mismatch repair ; MMR) 遺伝子変異等が報告されており、Type II の子宮体癌では *TP53* 変異等が報告されている^{1), 2)}。一方上皮性卵巣癌は異質性に富んだ腫瘍であり、漿液性腺癌では *BRCA1/2* 変異や *TP53* 変異、粘液性腺癌では *KRAS* 変異、類内膜腺癌では *PTEN* 欠失や *CTNNB1* 変異、明細胞腺癌では *PTEN* 欠失や *PIK3CA* 変異、*ARID1A* 変異等が報告されている³⁾⁻¹³⁾。

Type I の子宮体癌 (高分化型類内膜腺癌) の IA 期やその前駆病変とされる複雑型異型子宮内膜増殖症にはホルモン治療として Medroxyprogesterone acetate (MPA ; ヒスロン) 大量療法が¹⁴⁾、*BRCA1/2* 変異を有する卵巣癌では Poly-ADP ribose polymerase (PARP) 阻害剤 (オラパリブ) が¹⁵⁾⁻¹⁷⁾、明細胞腺癌ではチロシンキナーゼ阻害剤 (スニチニブ) や Mammalian target of rapamycin (mTOR) 阻害剤 (エベロリムス、テムシロリムス) が^{18), 19)}それぞれ奏効することが知られている。また血管新生因子である Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) に対するヒト化モノクローナル抗体である Bevacizumab (アバスタチン) は大腸癌、非小細胞肺癌、悪性神経膠腫のみならず 2013 年 11 月より卵巣癌にも保険適応となり、単剤もしくは従来 of 殺細胞性抗癌剤 (プラチナ製剤、タキサン製剤等) と併用して生命予後を延長することが近年報告されている²⁰⁾⁻²²⁾。このように腫瘍の分子遺伝学的特徴に基づいたバイオマーカーの同定やそれを標的とした分子標的治療により難治性腫瘍の予後の更なる改善が期待されている。

MMR 遺伝子変異は子宮体癌の腫瘍形成に重要であることが示されており、およそ 20~30% の子宮体癌では MMR の機能が消失している。そのうちの 3~5% は生殖細胞系列変異 (Lynch 症候群として知られ大腸癌、子宮体癌等を合併する) であり、残りは *MLH1* 遺伝子のプロモーター領域のメチル化によって epigenetic に MMR の機能が消失しており、いずれの場合も結果としてマイクロサテライト不安定性 (Microsatellite instability ; MSI) を引き起こす²³⁾⁻²⁷⁾。MSI は癌原遺伝子、癌抑制遺伝子、アポトーシス関連遺伝子群 (例えば *K-ras*, *PTEN*, *TGFβRII*, *BAX* 等) の座位領域において DNA 複製エラーを引き起こし、結果として腫瘍を形成したり、治療効果を修飾したりする^{23), 28), 29)}。過去の報告では MSI-high の大腸癌はアルキル化剤、5-FU 製剤、白金製剤に抵抗性を有するものの、イリノテカンやドセタキセル、ジェムシタピンには感受性を有するとされている²⁹⁾⁻³²⁾。さらに MSI-high の大腸癌は MSI-low や MS stable の大腸癌と比較すると早期のみならず進行期においても予後良好であることが報告されている³³⁾。子宮体癌における MMR の機能消失が予後に及ぼす影響については諸説報告があり、一定した見解が得られていない³⁴⁾⁻³⁹⁾。

近年、血液腫瘍のみならず固形腫瘍においても癌幹細胞が存在することが見出され、培養細胞レベルにおいて癌幹細胞は分化能・腫瘍形成能を有し治療抵抗性と関わることを示されているが、腫瘍組織内における癌幹細胞の割合は極めて少ない (数%程度の side population である) ため、その臨床的意義については議論が分かれている^{40), 41)}。

上皮性卵巣癌における癌幹細胞マーカーとして CD44, CD133, アルデヒド脱水素酵素 (Aldehyde dehydrogenase ; ALDH) 1A 等が近年報告されている⁴¹⁾。ALDH はレチノイン酸シグナル伝達経路において重要な役割を果たす蛋白で、レチノールをレチノイン酸に変換する。レチノイン酸は細胞核内に移行しレチノイン酸受容体に結合することにより、分化誘導、細胞周期静止、アポトーシス誘導に関わっている⁴²⁾。これまで ALDH1A, ALDH1A3, ALDH2, ALDH4A1, ALDH7A1 といったアイソフォームについて蛋白発現と予後との相関についての報告がある⁴²⁾が、最も研究されている因子は ALDH1A1 である。上皮性卵巣癌における ALDH1A1 の発現と予後との相関について一定した見解が得られていない⁴³⁾⁻⁴⁵⁾。

子宮体癌における MMR 遺伝子関連蛋白である MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 の発現と、上皮性卵巣癌における癌幹細胞マーカーの一つである ALDH1A1 の蛋白発現を免疫組織化学的に評価し、臨床病理学的特徴・治療奏効度・予後との相関について解説する。

1) 症例

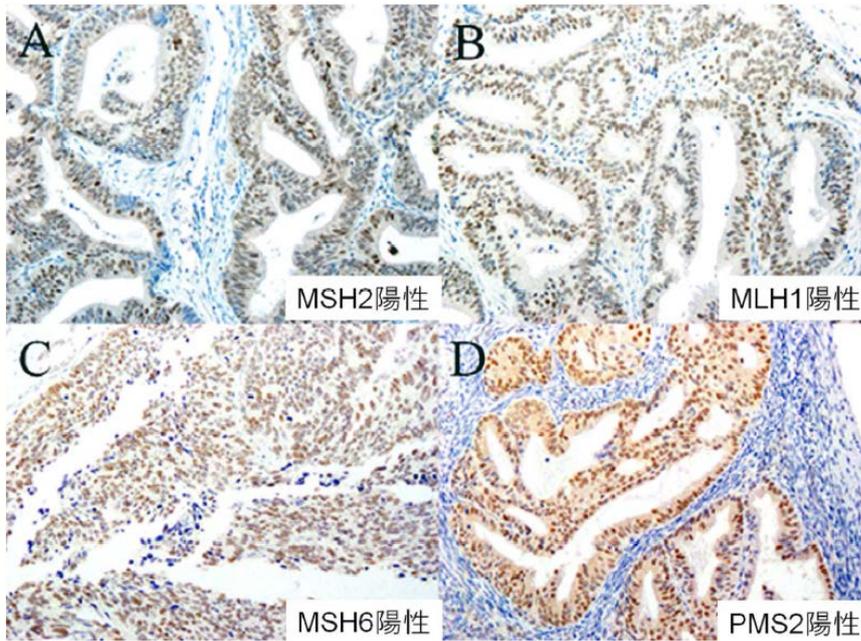
症例は、当施設の倫理委員会の承認を得るか、術前に書面により同意を取得した患者で 1986 年から 2011 年までの間に当施設で初回手術により摘出された子宮体癌 191 例と上皮性卵巣癌 258 例を対象とした。

2) 免疫染色のプロトコール

ホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いた。それぞれの腫瘍部位を同定し tissue microarray (TMA) を作成した。TMA のパラフィンブロックは 4 μm に薄切しスライドグラスに載せた。1 次抗体にはそれぞれ MSH2 に対する抗ヒトマウスモノクローナル抗体 (D219-1129; 1:80 希釈)、MLH1 に対する抗ヒトマウスモノクローナル抗体 (G168-15; 1:80 希釈)、MSH6 に対する抗ヒトマウスモノクローナル抗体 (44; 1:200 希釈)、PMS2 に対する抗ヒトマウスモノクローナル抗体 (A16-4; 1:50 希釈)、ALDH1A1 に対する抗ヒトラビットモノクローナル抗体 (D4R9V; 1:100 希釈) を用いた。パラフィン包埋された検体は脱パラフィン化し、内因性ペルオキシダーゼ反応は 5%過酸化水素水加メタノールを用いて停止させた。抗原賦活は MSH2, MLH1, PMS2, ALDH1A1 のスライドグラスについては 0.01 mol/L のクエン酸緩衝液 (pH 6.0) を用い 121°C のオートクレーブで 15 分行い、MSH6 のスライドグラスについては同緩衝液を用いて温浴 80°C で 1 時間行った。その後室温となるまで放置した。MSH2, MLH1, MSH6, PMS2, ALDH1A1 の 1 次抗体をスライドグラスに載せた後に 4°C の冷蔵庫に一晩置いて抗原抗体反応させた。2 次抗体の反応はポリマーベース HRP 標識 2 次抗体を用い、室温で 1 時間放置した。特異的抗原抗体反応の可視化は 0.2%ジアミノベンジジン四塩酸塩と 5%過酸化水素水を用い、対比染色としてマイヤーのヘマトキシリン液を用いた。検体内の線維芽細胞とリンパ球を内因性の陽性コントロールとし、陰性コントロールは 1 次抗体を使用せず上記過程を実施したのものを用いた。

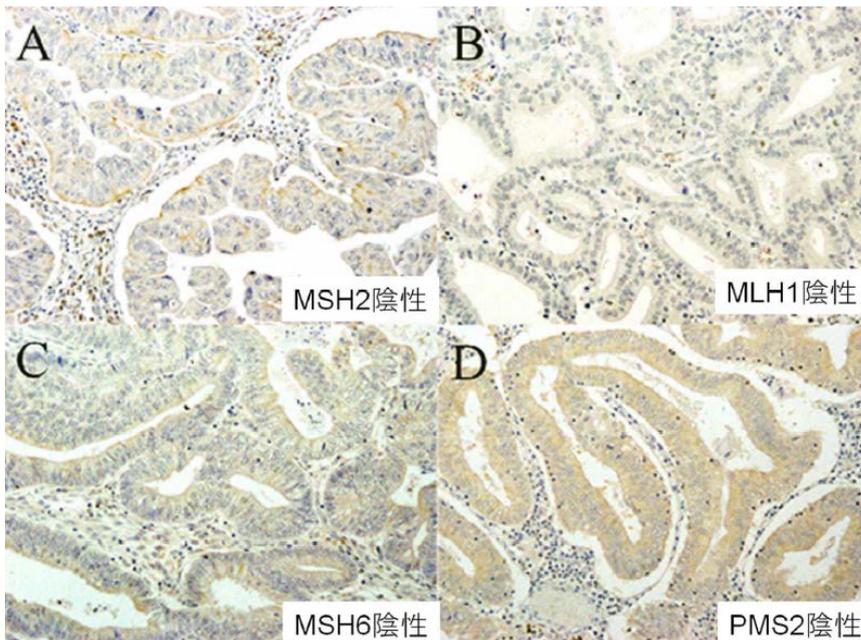
3) 免疫染色の評価方法

免疫染色による蛋白発現の評価は組織の形態が保たれ壊死やアーチファクトがない部分で行った。MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 については上皮成分の核内の免疫反応を評価した。それぞれのマーカーについて検体内の 50%以上の範囲の上皮成分において陽性コントロールと同等かそれ以上の強度の免疫反応を示したものを「発現陽性」とした (図 1)。それ以外のものを「発現陰性」とした (図 2)。4 つのマーカーのうち 1 つでも発現陰性であれば「MMR 消失群」とし、4 つのマーカーとも発現陽性のものを「MMR 正常群」と判定した。ALDH1A の免疫反応は上皮成分の細胞質、細胞膜、核内での免疫反応を評価した。10%以上の範囲の上皮成分において陽性コントロールと同等かそれ以上の強度の免疫反応を認めるものを「発現陽性」とした (図 3)。それ以外のものを「発現陰性」とした (図 4)。免疫反応の割り付けは 2 名の独立した観察者により実施し、不一致例については再度 2 名で鏡検して最終的な結論を得た。



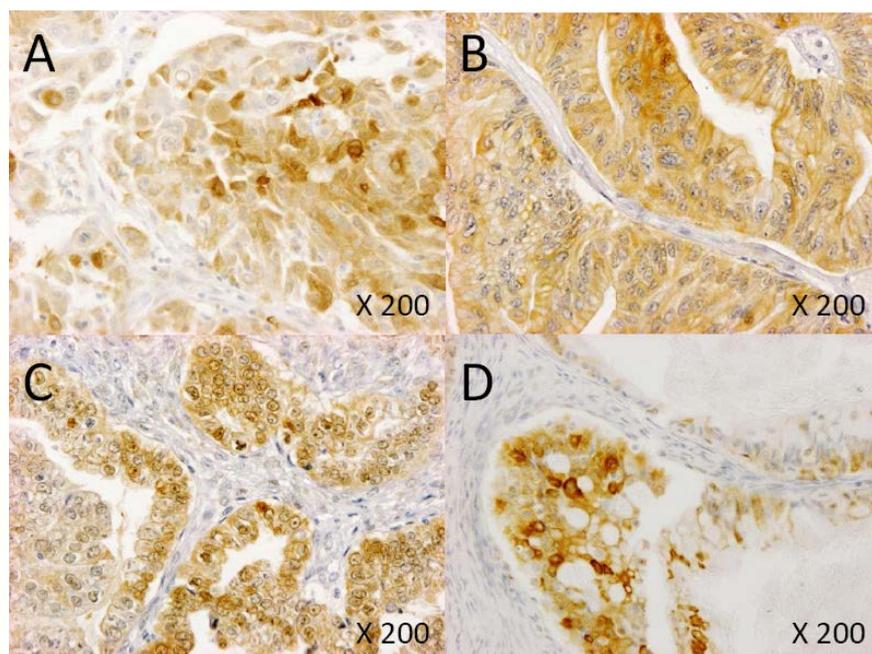
- A. 子宮体癌における MSH2 の核内での免疫反応陽性例。
免疫染色、x100
- B. 子宮体癌における MLH1 の核内での免疫反応陽性例。
免疫染色、x100
- C. 子宮体癌における MSH6 の核内での免疫反応陽性例。
免疫染色、x100
- D. 子宮体癌における PMS2 の核内での免疫反応陽性例。
免疫染色、x100

図 1. 子宮体癌における DNA ミスマッチ修復遺伝子関連蛋白の発現陽性例



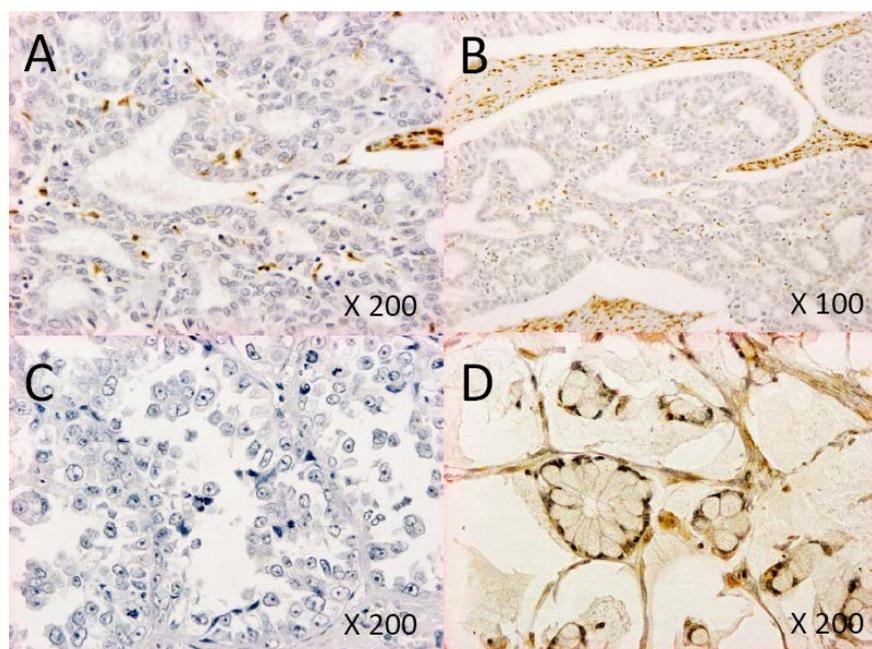
- A. 子宮体癌における MSH2 の核内での免疫反応陰性例。
免疫染色、x100
- B. 子宮体癌における MLH1 の核内での免疫反応陰性例。
免疫染色、x100
- C. 子宮体癌における MSH6 の核内での免疫反応陰性例。
免疫染色、x100
- D. 子宮体癌における PMS2 の核内での免疫反応陰性例。
免疫染色、x100

図 2. 子宮体癌における DNA ミスマッチ修復遺伝子関連蛋白の発現陰性例



- A. 漿液性腺癌における ALDH1A1 の細胞質、核内での免疫反応陽性例。免疫染色、x200
- B. 類内膜腺癌における ALDH1A1 の細胞質、細胞膜、核内での免疫反応陽性例。免疫染色、x200
- C. 明細胞腺癌における ALDH1A1 の細胞質、核内での免疫反応陽性例。免疫染色、x200
- D. 粘液性腺癌における ALDH1A1 の細胞質、核内での免疫反応陽性例。免疫染色、x200

図 3. 卵巣癌における ALDH1A1 の発現陽性例



- A. 漿液性腺癌における ALDH1A1 の免疫反応陰性例。免疫染色、x200
- B. 類内膜腺癌における ALDH1A1 の免疫反応陰性例。免疫染色、x200
- C. 明細胞腺癌における ALDH1A1 の免疫反応陰性例。免疫染色、x200
- D. 粘液性腺癌における ALDH1A1 の免疫反応陰性例。免疫染色、x200

図 4. 卵巣癌における ALDH1A1 の発現陰性例

4)臨床病理学的背景の抽出

子宮体癌の臨床病理学的背景として年齢、BMI、同時性卵巣癌の有無、異時性大腸癌、胃癌、卵巣癌の有無、組織型、手術進行期、分化度、腹腔内残存腫瘍の有無、術後化学療法レジメン、術後放射線療法の有無を抽出し、卵巣癌の臨床病理学的背景として年齢、組織型、手術進行期、分化度、腹腔内残存腫瘍の有無、術後化学療法レジメンを抽出した。子宮体癌では MMR 関連蛋白の発現の有無によって、卵巣癌では ALDH1A の蛋白発現の有無によって臨床病理学的背景に差異があるか比較した。その後、評価可能病変を有する子宮体癌の 24 症例、卵巣癌の 139 症例について化学療法奏効度をバイオマーカー発現の有無で比較した。化学療法奏効度は Response Evaluation Criteria In Solid Tumor (RECIST) を用いて評価し、完全寛解、部分寛解、不変、増悪のうち、完全寛解と部分寛解を合わせた割合を奏効率として 2 群間で比較した。最後に無増悪生存、全生存をそれぞれのバイオマーカー発現の有無で比較したのちに多変量解析を用いてそれぞれのバイオマーカーの発現が患者の全生存に対する独立予後因子となるか検討した。

5)統計処理方法

統計処理は Stat Mate IV (ATMS, Tokyo, Japan) と StatView version 5 (SAS Institute Japan, Ltd., Tokyo, Japan) を用いた。2 群間の差の検定は t 検定又は χ^2 検定を用いた。生存率の算出は Kaplan-Meier 法を用い、生存率の差の検定には log rank 検定を用いた。多変量解析には Cox 比例ハザードモデルを用いた。

予後因子として子宮体癌においては年齢 (連続変数)、BMI (連続変数)、組織型 (類内膜腺癌 対 非類内膜腺癌)、手術進行期 (I/II 期 対 III/IV 期)、分化度 (grade 1/2 対 grade 3)、腹腔内残存腫瘍 (なし 対 あり)、MMR 関連蛋白発現 (正常 対 消失) を、卵巣癌においては年齢 (連続変数)、組織型 (漿液性/類内膜腺癌 対 明細胞/粘液性腺癌)、手術進行期 (I/II 期 対 III/IV 期)、腹腔残存腫瘍 (なし 対 あり)、ALDH1A1 の発現 (陰性 対 陽性) をそれぞれ選出し、患者の全生存に対する独立予後因子の同定を実施した。p 値<0.05 を統計学的に有意であるとした。

結果

子宮体癌 191 例における MMR 関連蛋白の発現消失率は MLH1 において 28% (53/191)、MSH6 において 13% (25/191)、MSH2 において 14% (27/191)、PMS2 において 19% (37/191) であった。結果として 40% (76/191) が MMR 消失群と判定された。MMR 関連蛋白発現の有無による患者背景を表 1 に示す。MMR 消失群は正常群と比較して有意に早期の高分化型類内膜腺癌が多かった ($p=0.03$, $p=0.007$, $p=0.009$) が、2 群間で年齢、BMI、腹腔内残存腫瘍の有無、同時性卵巣癌、異時性大腸癌、胃癌、卵巣癌の有無、術後化学療法レジメン、術後放射線療法の有無については有意差を認めなかった。

卵巣癌 258 例における ALDH1A1 の発現陽性率は 30% (77/258) であった。ALDH1A の発現の有無による患者背景を表 2 に示す。ALDH1A1 陽性群は陰性群と比較して有意に早期の高分化型非漿液性腺癌が多く、手術完遂率が高い傾向を示した ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$)。2 群間で年齢と術後化学療法レジメンについては有意差を認めなかった。

子宮体癌の対象症例のうち、術後に化学療法を施行されている症例は 75 症例あり、その中で評価可能病変を有する症例は MMR 正常群で 18 例、MMR 消失群で 6 例であった (表 3)。2 群間での化学療法奏効度に有意差は認めなかったが、MMR 消失群において化学療法奏効度が高い傾向を認めた (MMR 消失群; 67% (4/6) 対 MMR 正常群; 44% (8/18), $p=0.34$)。また完全寛解となった 2 例はいずれも MMR 消失群であり、パクリタキセルとカルボプラチン療法が用いられていた。

卵巣癌の対象症例のうち、術後に化学療法が施行されている症例は 206 症例あり、その中で評価可能病変を有する症例は ALDH1A1 陽性群で 32 例、ALDH1A1 陰性群で 107 症例であった (表 4)。2 群間での化学療法奏効度に有意差は認めなかった (ALDH1A1 陽性群; 72% (23/32) 対 ALDH1A1 陰性群; 73% (78/107), $p=0.9$)。

子宮体癌における 5 年無増悪生存率は MMR 消失群で 92%、MMR 正常群で 78%であり ($p=0.013$, 図 5A)、5 年全生存率は MMR 消失群で 94%、MMR 正常群で 78%であった ($p=0.009$, 図 5B)。多変量解析において MMR 関連蛋白発現消失は子宮体癌患者の全生存に対する独立予後良好因子であることが判明した (ハザード比 = 0.24, 95%信頼区間; 0.08-0.70, $p=0.008$, 表 5)。

卵巣癌における 5 年無増悪生存率は ALDH1A1 陽性群で 80%、ALDH1A1 陰性群で 61%であり ($p=0.02$, 図 6A)、5 年全生存率は ALDH1A1 陽性群で 66%、ALDH1A1 陰性群で 56%であった ($p=0.09$, 図 6B)。多変量解析において ALDH1A 発現陽性は卵巣癌患者の全生存に対する独立予後因子とはならなかった (ハザード比 = 1.06, 95%信頼区間; 0.65-1.72, $p=0.81$, 表 6)。

表 1. MMR 関連蛋白の発現の有無による子宮体癌患者背景

	MMR 正常群 (n=115)	MMR 消失群 (n=76)	p 値
年齢: 中央値 (範囲)	60 (34-86)	58 (38-76)	0.11
BMI: 中央値 (範囲)	22.8 (15.8-33.7)	23.3 (16.8-32.3)	0.76
同時性卵巣癌			0.35
あり	2	4	
なし	113	72	
異時性大腸癌/胃癌/卵巣癌			0.09
あり	2	6	
なし	113	10	
組織型			0.009
類内膜腺癌	98	70	
非類内膜腺癌	17	6	
漿液性腺癌	9	1	
明細胞腺癌	6	0	
その他	2	5	
進行期			0.03
I/II 期	86	66	
III/IV 期	29	10	
分化度			0.007
Grade 1/2	87	69	
Grade 3	28	7	
腹腔内残存腫瘍の有無			0.65
あり	16	9	
なし	99	68	
術後化学療法レジメン			0.33
CAP 療法	43	20	
TC/DC 療法	9	2	
その他	0	0	
なし	63	54	
術後放射線療法の有無			0.92
あり	2	2	
なし	113	74	

BMI, body mass index; CAP, cyclophosphamide, adriamycin, and cisplatin; MMR, DNA mismatch repair; TC/DC, paclitaxel and carboplatin/ docetaxel and carboplatin

表 2. ALDH1A1 の発現の有無による卵巣癌患者背景

	ALDH1A1 陽性群 (n=77)	ALDH1A1 陰性群 (n=181)	p 値
年齢: 中央値 (範囲)	53 (29-78)	54 (20-81)	0.2
組織型			< 0.001
漿液性腺癌	27	114	
非漿液性腺癌	50	67	
類内膜腺癌	21	22	
明細胞腺癌	6	33	
粘液性腺癌	22	9	
その他	1	3	
進行期			< 0.001
I/II 期	46	56	
III/IV 期	31	125	
分化度			< 0.001
Grade 1/2	28	51	
Grade 3	12	82	
腹腔内残存腫瘍の有無			< 0.001
あり	31	125	
なし	46	56	
術後化学療法レジメン			0.24
CAP 療法	35	72	
TC/DC 療法	16	59	
その他	9	15	
なし又は不明	17	35	

CAP, cyclophosphamide, adriamycin, and cisplatin; TC/DC, paclitaxel and carboplatin/ docetaxel and carboplatin

表 3. 評価可能病変を有する子宮体癌症例における術後化学療法の奏効度

RECIST 評価	MMR 正常群 (n=18)	MMR 消失群 (n=6)	p 値
完全寛解	0	2	
部分寛解	8	2	
不変	8	1	
増悪	2	1	
奏効率	8/18 (44%)	4/6 (67%)	0.34

MMR, DNA mismatch repair; RECIST, Response Evaluation Criteria In Solid Tumor

表 4. 評価可能病変を有する卵巣癌症例における術後化学療法の奏効度

RECIST 評価	ALDH1A1 陽性群 (n=32)	ALDH1A1 陰性群 (n=107)	p 値
完全寛解	8	23	
部分寛解	15	55	
不変	1	12	
増悪	8	17	
奏効率	23/32 (72%)	78/107 (73%)	0.9

RECIST, Response Evaluation Criteria In Solid Tumor

表 5. 子宮体癌患者の全生存に対する多変量解析

変数	ハザード比	95%信頼区間	p 値
年齢 (連続変数)	1.06	1.02-1.11	0.004
BMI (連続変数)	0.95	0.86-1.06	0.37
組織型 (類内膜腺癌 対 非類内膜腺癌)	1.61	0.59-4.39	0.35
手術進行期 (I/II 期 対 III/IV 期)	6.58	1.75-24.3	0.005
分化度 (grade 1/2 対 grade 3)	1.09	0.41-29.2	0.85
腹腔内残存腫瘍 (なし 対 あり)	8.51	2.57-28.2	< 0.001
MMR 関連蛋白発現状態 (正常 対 消失)	0.24	0.08-0.70	< 0.008

BMI, body mass index; MMR, DNA mismatch repair

表 6. 卵巣癌患者の全生存に対する多変量解析

変数	ハザード比	95%信頼区間	p 値
年齢 (連続変数)	1.01	0.99-1.03	0.28
組織型 (漿液性/類内膜腺癌 対 明細胞/粘液性腺癌)	2.58	1.56-4.27	< 0.001
手術進行期 (I/II 期 対 III/IV 期)	2.55	1.34-4.83	0.004
腹腔内残存腫瘍 (なし 対 あり)	2.79	1.46-5.31	0.002
ALDH1A1 発現状態 (陰性 対 陽性)	1.06	0.65-1.72	0.81

表 7. ALDH1A1 の免疫組織化学的発現と予後との相関 (文献レビュー)

ALDH isoform	癌腫	患者数	予後不良	予後と相関なし	予後良好
ALDH1A1	白血病	65	●		
ALDH1A1	膀胱癌	216	●		
ALDH1A1	乳癌	577	●		
ALDH1A1	乳癌	203		●	
ALDH1A1	乳癌	381		●	
ALDH1A1	乳癌	109	●		
ALDH1A1	乳癌	639		●	
ALDH1A1	乳癌	47		●	
ALDH1A1	大腸癌	1420		●	
ALDH1A1	肺癌	60	●		
ALDH1A1	卵巣癌	442			●
ALDH1A1	卵巣癌	439	●		
ALDH1A1	卵巣癌	123	●		
ALDH1A1	膝癌	269	●		
ALDH1A1	前立腺癌	40		●	
ALDH1A1	前立腺癌	163	●		
ALDH1A3	乳癌	47	●		
ALDH2	乳癌	47	●		
ALDH4A1	乳癌	47		●	
ALDH7A1	前立腺癌	40		●	

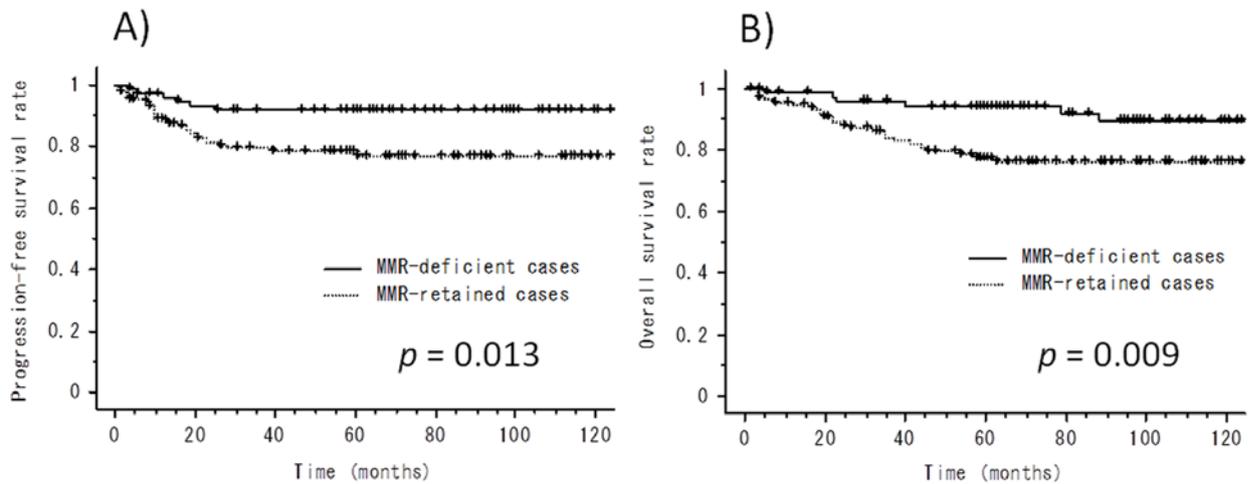


図 5. 子宮体癌における DNA ミスマッチ修復遺伝子関連蛋白の発現の有無による
無増悪生存曲線、全生存曲線

- A) DNA ミスマッチ修復遺伝子関連蛋白の発現の有無による無増悪生存曲線
 実線は MMR 消失群、点線は MMR 正常群の無増悪生存曲線を示す。MMR 消失群における 5 年無増悪生存率は 92%で、MMR 正常群におけるそれは 78%であった ($p = 0.013$)。
- B) DNA ミスマッチ修復遺伝子関連蛋白の発現の有無による全生存曲線
 実線は MMR 消失群、点線は MMR 正常群の全生存曲線を示す。MMR 消失群における 5 年全生存率は 94%で、MMR 正常群におけるそれは 78%であった ($p = 0.009$)。

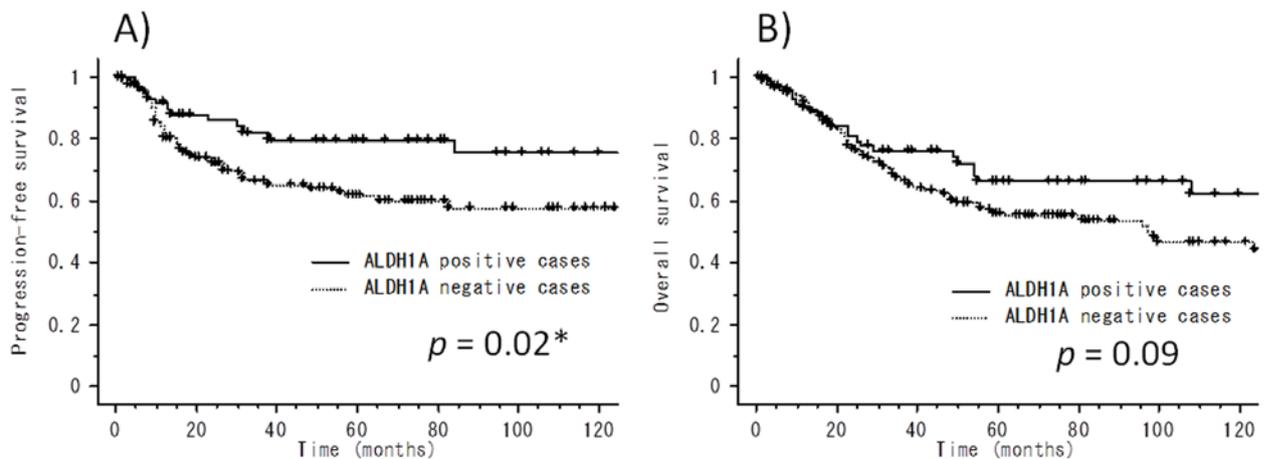


図 6. 卵巣癌における ALDH1A1 の発現の有無による無増悪生存曲線、全生存曲線

- A) 卵巣癌における ALDH1A1 の発現の有無による無増悪生存曲線
 実線は ALDH1A1 発現陽性群、点線は ALDH1A1 発現陰性群の無増悪生存曲線を示す。ALDH1A1 発現陽性群における 5 年無増悪生存率は 80%で、ALDH1A1 発現陰性群のそれは 61%であった ($p = 0.02$)。
- B) 卵巣癌における ALDH1A1 の発現の有無による全生存曲線
 実線は ALDH1A1 発現陽性群、点線は ALDH1A1 発現陰性群の全生存曲線を示す。ALDH1A1 発現陽性群における 5 年全生存率は 66%で、ALDH1A1 発現陰性群におけるそれは 56%であった ($p = 0.09$)。

考察

今回の検討で子宮体癌における MMR 関連蛋白の消失は 14~28%であり、対象症例の 40%が MMR 消失群と判定された。過去の報告をみると、免疫組織化学による MMR 関連蛋白の消失については子宮体癌の 16~45%において認められると報告されている³⁴⁻³⁶。今回の検討と過去の報告はほぼ同様であると考えられた。

今回の検討では MMR 消失群の 92% (70/76) は類内膜腺癌であった。日本産婦人科学会の婦人科腫瘍委員会報告によれば、日本における Lynch 症候群関連の子宮体癌は早期の高分化型類内膜腺癌が多く予後良好であることが示されている⁴⁶。他方で MMR 消失群の 8% (6/76) は非類内膜腺癌であり、その内訳は粘液性腺癌が 2 例、混合型腫瘍が 2 例、漿液性腺癌が 1 例、未分化癌が 1 例であった。過去の報告を見ても MMR が消失した子宮体癌のうち 67~94%は類内膜腺癌であるが、残りは漿液性腺癌、明細胞腺癌、未分化癌、癌肉腫から成るとされている³⁴⁻³⁷。今回の検討では MMR 消失群における Type II の子宮体癌の割合は過去の報告とほぼ同様であった。

MMR 関連蛋白の発現消失の有無によって化学療法奏効度が異なるか検討した結果、統計学的有意差は認めないものの、MMR 消失群は正常群を比較して化学療法感受性が高い傾向を示し (奏効率; 67% 対 44%)、興味深いことに 2 例の完全寛解症例はいずれも MMR 消失群で化学療法レジメンはパクリタキセルとカルボプラチン併用療法であった。MSI-high の大腸癌においてアルキル化剤、5-FU 製剤、白金製剤に治療抵抗性を示す一方でイリノテカンやドセタキセル、ジェムシタビンに感受性があるとする報告がある²⁹⁻³²。自験例は症例数が少なく確定的な結論には至らないものの、子宮体癌においても MMR 消失群はタキサン製剤に感受性を示す可能性が示唆された。

MMR 関連蛋白の消失が予後に及ぼす影響については現在も議論が分かれている。日本産婦人科学会の婦人科腫瘍委員会報告では Lynch 症候群関連の子宮体癌は予後良好であるとされており⁴⁶、Black D からも MMR 消失は予後良好因子であると報告している³⁷。一方で Garg K ら、Grzankowski KS ら、Shih KK らによると MMR 消失は 40 歳未満または 60 歳未満の若年子宮体癌において低分化型の進行癌と相関し予後不良であると報告されている³⁴⁻³⁶。Ziglbom I ら、Basil JB らによれば MSI は子宮体癌の全生存に関連しないと報告されている^{38, 39}。我々の単施設での後方視的検討では子宮体癌における MMR 消失は早期の高分化型類内膜腺癌と関連し、無増悪生存、全生存共に有意に延長することが示され、更に MMR 関連蛋白消失は子宮体癌患者の全生存に対する独立予後良好因子であることが多変量解析から明らかとなった。上記のような予後に関する研究結果の不一致は対象症例の異質性が原因と考えられる。今回我々の検討では非類内膜腺癌も含めており、しかも大部分が散発性の子宮体癌症例である。遺伝性子宮体癌か散発性子宮体癌か、Type I の子宮体癌のみなのか Type II の子宮体癌も含むのかによっても生存結果は変化するであろう。最近の全ての組織型を含む子宮体癌における MMR 消失が予後に及ぼす影響についてのメタ解析によれば、MMR の発現状態は子宮体癌の予後には関連しないとされている⁴⁷。今後同質性の高い子宮体癌の患者集団の集積を行い、この点について再度検証する必要があると考えられる。

今回の我々の検討における卵巣癌における ALDH1A1 の発現頻度は 30% (77/258) であった。過去の報告では卵巣癌における ALDH1A1 の発現頻度は 15~49%とされており⁴³⁻⁴⁵、発現頻度は我々の結果とほぼ同様であった。

ALDH1A1 発現陽性群は有意に早期の高分化型非漿液性腺癌が多く手術完遂率が高かった。過去の報告で ALDH1A1 の発現陽性は早期の類内膜腺癌と有意に相関するとするものがある⁴³。自験例を組織型別に検討すると、ALDH1A1 陽性頻度は漿液性腺癌で 35%、類内膜腺癌で 49%、粘液性腺癌で 71%、明細胞腺癌で 15%であり、ALDH1A の発現は漿液性腺癌、明細胞腺癌と比較して類内膜腺癌、粘液性腺癌で高頻度であった。

ALDH1A1 発現陽性群は陰性群と比較して化学療法感受性はほぼ同等であったが (奏効率 23/32 (72%) vs. 78/107 (73%), $p=0.9$)、無増悪生存は有意に延長し、全生存は延長する傾向があった ($p=0.02$, $p=0.09$)。これは陽性群の患者背景として早期の類内膜腺癌や粘液性腺癌が多く含まれていることが関係し、予後良好となった可能性が示唆された。ALDH1A1 の発現と予後との相関に関する過去の文献レビューを表 7 に示す⁴²。全癌腫でみると予後不良が 11 報、予後との相関無しが 8 報、予後良好が 1 報であった。卵巣癌に限ると、予後不良が 2 報と予後良好が 1 報であった。自験例では ALDH1A1 の発現陽性は無増悪生存を有意に延長するものの、全生存は延長傾向を示すにとどまった。また ALDH1A1 の発現は上皮性卵巣癌の全生存に対する独立予後因子とはならなかった ($HR = 1.06$, 95% CI: 0.65-1.72, $p = 0.81$)。乳癌において ALDH1A の発現は BRCA 変異と相関するとする報告⁴⁸や、大腸癌において ALDH1A の発現は遠隔転移を有さない早期症例と相関するとする報告⁴⁹がみられる。いずれの知見も予後良好を示唆する所見であり、今後卵巣癌においてさらなる症例集積を行い、ALDH1A の発現と予後との相関について再度検証することが望まれる。

終わりに

子宮体癌における MMR 関連蛋白発現消失は早期の高分化型類内膜腺癌と関連し、化学療法感受性が高い傾向を示し、有意に無増悪生存、全生存を延長することが示された。また MMR 発現消失は子宮体癌患者の全生存に対する独立予後良好因子であると考えられる。

卵巣癌における ALDH1A1 の発現陽性は早期の高分化型非漿液性腺癌と関連し、手術完遂率が高い傾向があり、化学療法感受性は陰性群とほぼ同等であったが、有意に無増悪生存を延長し、全生存を延長する傾向を示した。ALDH1A1 の発現陽性は卵巣癌患者の全生存に対する独立予後因子とはならなかった。

免疫組織化学は悪性腫瘍の重要なバイオマーカーであり、臨床として、治療方針決定の大切なデータと考える。

参考文献

- 1) Lax SF and Kurman RJ. A dualistic model for endometrial carcinogenesis based on immunohistochemical and molecular genetic analyses. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1997;81:228-232
- 2) Lax SF. Molecular genetic pathways in various types of endometrial carcinoma: from a phenotypical to a molecular-based classification. *Virchows Arch* 2004;444:213-223
- 3) Cho KR and Shih IM. Ovarian cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2009;4:287-313
- 4) Singer G, Stöhr R, Cope L, Dehari R, Hartmann A, Cao DF, 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* 2005;29:218-224
- 5) Willner J, Wurz K, Allison KH, Galic V, Garcia RL, Goff BA, et al. Alternate molecular genetic pathways in ovarian carcinomas of common histological types. *Hum Pathol* 2007;38:607-613
- 6) Press JZ, De Luca A, Boyd N, Young S, Troussard A, Ridge Y, et al. Ovarian carcinomas with genetic and epigenetic BRCA1 loss have distinct molecular abnormalities. *BMC Cancer* 2008;8:17
- 7) Wright K, Wilson P, Morland S, Campbell I, Walsh M, Hurst T, et al. β -catenin mutation and expression analysis in ovarian cancer: exon 3 mutations and nuclear translocation in 16% of endometrioid tumors. *Int J Cancer* 1999;82:625-629
- 8) Catus L, Bussaglia E, Rodriguez I, Gallardo A, Pons C, Irving JA, et al. Molecular genetic alterations in endometrioid carcinomas of the ovary: similar frequency of β -catenin abnormalities but lower rate of microsatellite instability and PTEN alterations than in uterine endometrioid carcinomas. *Hum Pathol* 2004;35:1360-1368
- 9) Enomoto T, Weghorst CM, Inoue M, Tanizawa O, and Rice JM. K-ras activation occurs frequently in mucinous adenocarcinomas and rarely in other common epithelial tumors of the human ovary. *Am J Pathol* 1991;139:777-785
- 10) Jones S, Wang TL, Shih IM, Mao TL, Nakayama K, Roden R, et al. Frequent mutations of chromatin remodeling gene ARID1A in ovarian clear cell carcinoma. *Science* 2010;330:228-231
- 11) Wiegand KC, Shah SP, Al-Agha OM, Zhao Y, Tse K, Zeng T, et al. ARID1A mutation in endometriosis-associated ovarian carcinomas. *N Engl J Med* 2010;363:1532-1543
- 12) Kuo KT, Mao TL, Jones S, Veras E, Ayhan A, Wang TL, et al. Frequent activating mutations of PIK3CA in ovarian clear cell carcinoma. *Am J Pathol* 2009;174:1597-1601
- 13) Hashiguchi Y, Tsuda H, Inoue T, Berkowitz, and Mok SC. PTEN expression in clear cell adenocarcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 2006;101:71-75
- 14) Ushijima K, Yahata H, Yoshikawa H, Konishi I, Yasugi T, Saito T, et al. Multicenter phase II study of fertility-sparing treatment with medroxyprogesterone acetate for endometrial carcinoma and atypical hyperplasia in young women. *J Clin Oncol* 2007;25:2798-2803
- 15) Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med* 2012;366:1382-1392
- 16) Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, Friedlander M, Powell B, Bell-McGuinn KM, et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet* 2010;376:245-251
- 17) Gelmon KA, Tischkowitz M, Mackay H, Swenerton K, Robidoux A, Tonkin K, et al. Olaparib in patients with recurrent high-grade serous or poorly differentiated ovarian carcinoma or triple-negative breast cancer: a phase 2, multicentre, open-label, non-randomized study. *Lancet Oncol* 2011;12:852-861
- 18) Hirasawa T, Miyazawa M, Yasuda M, Shida M, Ikeda M, Kajiwara H, et al. Alterations of hypoxia-induced factor signaling pathway due to mammalian target of rapamycin (mTOR) suppression in ovarian clear cell adenocarcinoma: in vivo and in vitro explorations for clinical trial. *Int J Gynecol Cancer* 2013;23:1210-1218
- 19) Tan DSP, Miller RE, and Kaye SB. New perspectives on molecular targeted therapy in ovarian clear cell carcinoma. *Br J Cancer* 2013;108:1553-1559
- 20) Burger RA, Brady MF, Bookman MA, Fleming GF, Monk BJ, Huang H, et al. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med* 2011;365:2473-2483
- 21) Monk BJ, Dalton H, Farley JH, Chase DM, and Benjamin I. Antiangiogenic agents as a maintenance strategy for advanced epithelial ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013;86:161-175
- 22) Eskander RN and Tewari KS. Incorporation of anti-angiogenesis therapy in the management of advanced ovarian carcinoma-Mechanistics, review of phase III randomized clinical trials, and regulatory implications. *Gynecol Oncol* 2014;132:496-505
- 23) Karamurzin Y and Rutgers JKL. DNA Mismatch Repair Deficiency in Endometrial Carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2009;28:239-255
- 24) Garg K and Soslow RA. Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer) and endometrial carcinoma. *J Clin Pathol* 2009;62:679-684
- 25) Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:6870-6875
- 26) Boland CR, Koi M, Chang DK, et al. The biochemical basis of microsatellite instability and abnormal immunohistochemistry and clinical behavior in Lynch syndrome: from bench to bedside. *Fam Cancer* 2008;7(1):41-52
- 27) Thibodeau SN, Bren G, and Schaid D. Microsatellite Instability in Cancer of the Proximal Colon. *Science* 1993;260:816-819
- 28) Hewish M, Lord CJ, Martin SA, et al. Mismatch repair deficient colorectal cancer in the era of personalized treatment. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7:197-208
- 29) Vilar E, Scaltriti M, Balmaña J, et al. Microsatellite instability due to hMLH1 deficiency is associated with increased cytotoxicity to irinotecan in human colorectal cancer cell lines. *Br J Cancer*. 2008;99:1607-12

- 
- 30) Pelosof L, Yerram SR, Ahuja N, et al. CHFR silencing or microsatellite instability is associated with increased antitumor activity of docetaxel or gemcitabine in colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2014;134:596-605
 - 31) Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349(3):247-257
 - 32) Fink D, Nebel S, Aebi S, et al. The role of DNA mismatch repair in platinum drug resistance. *Cancer Res* 1996;56:4881-4886
 - 33) Benatti P, Gafa R, Barana D, et al. Microsatellite instability and colorectal prognosis. *Clin Cancer Res* 2005;11(23):8332-8340
 - 34) Garg K, Shih K, Barakat R, et al. Endometrial carcinomas in women aged 40 years and younger: Tumor associated with loss of DNA mismatch repair proteins comprise a distinct clinicopathologic subset. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1869-1877
 - 35) Shih KK, Garg K, Levine DA, et al. Clinicopathologic significance of DNA mismatch repair protein defects and endometrial cancer in women 40 years of age and younger. *Gynecol Oncol* 2011;123:88-94
 - 36) Grzankowski KS, Shimizu DM, Kimata C, et al. Clinical and pathologic features of young endometrial cancer patients with loss of mismatch repair expression. *Gynecol Oncol* 2012;126:408-412
 - 37) Black D, Soslow RA, Levine DA, et al. Clinicopathologic significance of defective DNA mismatch repair in endometrial carcinoma. *J Clin Oncol* 2006;24(11):1745-1753
 - 38) Zigelboim I, Goodfellow PJ, Gao F, et al. Microsatellite instability and epigenetic inactivation of MLH1 and outcome of patients with endometrial carcinomas of the endometrioid type. *J Clin Oncol* 2007;25(15):2042-2048
 - 39) Basil JB, Goodfellow PJ, Rader JS, et al. Clinical significance of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer* 2000;89(8):1758-1764
 - 40) Magee JA, Piskounova E, and Morrison SJ. Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty. *Cancer Cell* 2012;21:283-296
 - 41) Shah MM and Landen CN. Ovarian cancer stem cells: Are they real and why are they important? *Gynecol Oncol* 2014;132:483-489
 - 42) Marcato P, Dean CA, Giacomantonio CA, and Lee PWK. Aldehyde dehydrogenase: its role as a cancer stem cell marker comes down to the specific isoform. *Cell Cycle* 2011;10:1378-1384
 - 43) Chang B, Liu G, Xue F, Rosen DG, Xiao L, Wang X, et al. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Mod Pathol* 2009;22:817-823
 - 44) Kuroda T, Hirohashi Y, Torigoe T, Yasuda K, Takahashi A, Asanuma H, et al. ALDH1-high ovarian cancer stem-like cells can be isolated from serous and clear cell adenocarcinoma cells, and ALDH1 high expression is associated with poor prognosis. *PLOS ONE* 2013;8:e65158
 - 45) Liebscher CA, Prinzler J, Sinn BV, Budczies J, Denkert C, Noske A, et al. Aldehyde dehydrogenase 1/ epidermal growth factor receptor coexpression is characteristic of a highly aggressive, poor-prognosis subgroup of high-grade serous ovarian carcinoma. *Hum Pathol* 2013;44:1465-1471
 - 46) Report of gynecologic oncology committee. Committee for frequency of hereditary endometrial cancer and its clinicopathology in Japan. *Acta Obst Gynaec Jpn* 2009; 61(7):1540-1542
 - 47) Diaz-Padilla I, Romero N, Amir E, et al. Mismatch repair status and clinical outcome in endometrial cancer: A systemic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013;88:154-67
 - 48) Bane A, Vilorio-Petit A, Pinnaduwa D, Muckigan AM, O'Malley FP, and Andrulis IL. Clinico-pathologic significance of cancer stem cell marker expression in familial breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* 2013;140:195-205
 - 49) Hessman CJ, Bubbers EJ, Billingsley KG, Herzig DO, and Wong MH. Loss of expression of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 correlates with advanced-stage colorectal cancer. *Am J Surg* 2012;203:649-653