



子宮内膜症の発生に関する病理組織学的・ 免疫組織化学的検討

生駒直子 小畑孝四郎 天野陽子 大村元 三橋洋治
井上芳樹 太田善夫¹

近畿大学医学部奈良病院産婦人科

¹近畿大学医学部奈良病院臨床検査部

抄 録

子宮内膜症の発生機序として、移植説、化生説、胎生組織遺残説、血行性・リンパ行性転移説、機械的移植説、複合説など様々な説が提唱されているが、いまだ結論には至っていない。また、卵巣チョコレート嚢胞の癌化が問題となっているものの骨盤子宮内膜症の癌化の報告はほとんどない。今回我々は卵巣チョコレート嚢胞と骨盤子宮内膜症の発生機序ならびに癌化における生物学的特性の差異を調べる目的で骨盤腹膜子宮内膜症9例、卵巣チョコレート嚢胞10例の手術摘出標本を用いて、病理組織学的にそれらの形態を詳細に検討するとともに、エストロゲンレセプター(ER)、プロゲステロンレセプター(PR)、中皮のマーカーである calretinin、中皮と扁平上皮以外の上皮に発現がみられる Ber-EP4、ならびに HER2 蛋白を免疫組織化学的に染色し、それらの発現状態を検討し、その発生過程ならびに発癌に関する生物学的特性の差異を調べた。

その結果、骨盤腹膜子宮内膜症は移植説を支持する所見が認められ、卵巣チョコレート嚢胞は卵巣表層上皮の化生により発生し、その化生の過程で卵巣チョコレート嚢胞のみに HER2 蛋白が発現され、腫瘍性性格を獲得したものと推測された。

Key words: 子宮内膜症, 発生機序, 移植説, 化生説, HER2 蛋白

緒 言

子宮内膜症とは「子宮内膜組織あるいは子宮内膜類似組織が子宮内膜(正所性子宮内膜)以外の部位に認められる病態」をいうが、子宮体部の平滑筋線維束間に発育するものは発生機序や病態が異なることから子宮腺筋症と独立した疾患とされ子宮内膜症と区別されている¹。子宮内膜症は種々の部位に生じるが、卵巣が最も多く、子宮漿膜、卵管、仙骨子宮靭帯、ダグラス窩、骨盤腹膜、直腸、結腸、膀胱、子宮頸部に認められる。稀ながら外陰、膣、小腸、臍、鼠径部、肺、横隔膜、皮膚、リンパ節、四肢などに発生する^{2,3}。

組織学的な分類として子宮内膜症取扱い規約¹では定型の子宮内膜症と非定型の子宮内膜症に分けられている。定型の子宮内膜症とは、子宮内膜上皮細胞と子宮内膜間質細胞が観察されるものをいい、子宮内膜上皮細胞あるいは子宮内膜間質を欠くものを

非定型の子宮内膜症としている。古い病巣や卵巣チョコレート嚢胞では内膜上皮細胞がほとんど欠如している非定型の子宮内膜症の像をとることが多い。

Rokitansky⁴が1860年に子宮や卵巣肉腫に子宮腺形成が認められたことを報告して以来、子宮内膜症の発生機序として1)移植説⁵ 2)化生説⁶ 3)胎生組織遺残説^{7,8} 4)血行性・リンパ行性転移説⁹ 5)機械的移植説^{10,11} 6)複合説^{12,13}など様々な説が提唱されてきたが、いまだ結論には至っていない。

1927年、Sampson¹⁴は月経期に手術を施行した患者の卵管菜から月経血が逆流するのを観察し、子宮内膜症発生機序として子宮内膜移植説⁵を提唱した。また、1972年 Lauchlan⁶は“secondary müllerian system”という概念を初めて提唱し、腹膜上皮と間質はエストロゲンの存在下でミューラー管型上皮に化生して子宮内膜症が発生するという化生説が広まった^{12,13}。近年、子宮内膜症の複雑な病態の発生機序を一元的に考える事は困難であると考えられるよう

になり、腹膜表面・卵巣・深部子宮内膜症でのそれぞれの発生機序は異なるという説が有力となっている^{17,15}。

我々は卵巣チョコレート嚢胞の免疫組織化学的検討から、卵巣チョコレート嚢胞の発生は卵巣表層上皮の化生から始まり、卵巣封入嚢胞を介さない経路で発生する化生説を提唱した¹⁶。しかしながら、その後どのような過程で血液を含んだ卵巣チョコレート嚢胞に発育していくかは不明である。また、卵巣チョコレート嚢胞の癌化²⁰が問題になっているにもかかわらず、骨盤子宮内膜症の癌化を報告するものはほとんどなく、その生物学的特性の差異を示した報告はない。

そこで今回、骨盤腹膜子宮内膜症および卵巣チョコレート嚢胞について、病理組織学的・免疫組織化学的アプローチから子宮内膜症の発生について検討した。さらに、卵巣チョコレート嚢胞の上皮のER, PRの発現が減弱している¹⁹ことは、HER2蛋白陽性乳癌のER, PRの発現低下²¹と酷似しており、発癌に関する生物学的特性の差異をみるためにHER2蛋白の発現を骨盤腹膜子宮内膜症と卵巣チョコレート嚢胞で比較検討した。

材料と方法

近畿大学医学部奈良病院にて2006年1月から2011年10月までの間でMRIにて卵巣チョコレート嚢胞と診断された症例および子宮筋腫にて手術施行時に子宮内膜症が発見され手術摘出された症例のうち患者本人の同意の得られた骨盤腹膜子宮内膜症9例、卵巣チョコレート嚢胞10例の手術摘出標本を用いて、病理組織学的にそれらの形態を詳細に検討するとともに、ER, PR, 中皮のマーカーであるcalretinin, 中皮と扁平上皮以外の上皮に発現がみられるBer-EP4ならびにHER2蛋白を免疫組織化学的に染色し、それらの発現状態を検討した。また、対照として正所性子宮内膜5例、卵巣表層上皮5例についても同様に検討した。

手術摘出標本は通常ホルマリン固定後、パラフィン包埋切片を作成し、免疫組織化学的染色はABC法にて行い、染色状態の検討は婦人科腫瘍学会専門医2名と病理医1名で評価した。ER, PRに関しては標本内に認められるすべての子宮内膜類似上皮細胞のうち染色されている細胞とされていない細胞をそれぞれカウントし、染色されている細胞が5%未満のものを-, 5~50%を+, 50%以上のものを++とし、++を染色陽性として染色陽性率を算出した。calretininおよびBer-EP4に関しては5%以上の細胞に染色されているものを陽性として染色陽性率

表1 HER2 判定基準 (乳癌)

スコア	染色パターン
0	細胞膜に陽性染色なし、もしくは細胞膜の陽性染色がある腫瘍細胞が10%未満
1+	ほとんど識別できないほど、かすかな細胞膜の染色がある腫瘍細胞が10%以上。腫瘍細胞は細胞膜のみが部分的に染色
2+	弱~中等度の完全な細胞膜の陽性染色がある細胞が10%以上
3+	強い完全な細胞膜の陽性染色がある細胞が10%以上

を算出した。

HER2蛋白の染色判定に関しては乳癌のHER2判定基準²²(表1)に基づいて染色スコアを0, 1+, 2+, 3+の4つに分類し、1+以上を陽性として染色陽性率を算出した。また、2+および3+をHER2蛋白過剰発現とし、HER2蛋白過剰発現を示す症例にはFISH法(PCL JAPANに依頼)によりHER2遺伝子の増幅の有無を確認した。さらに、子宮内膜症と卵巣チョコレート嚢胞のHER2蛋白の発現状態の有意差検定は χ^2 検定を用いた。

結 果

中皮様形態を示す卵巣表層上皮(図4)の免疫組織化学的染色の結果はER(-), PR(-), calretinin(+), Ber-EP4(-)であった。それに対して正所性子宮内膜の上皮細胞ではER(+), PR(+), calretinin(-), Ber-EP4(+)であった。

骨盤腹膜子宮内膜症は病理組織学的には子宮内膜類似上皮と子宮内膜類似間質を伴う定型的子宮内膜症の像を示し(図1)、免疫組織化学的染色では正所性子宮内膜と同じ染色状態であった(図2, 表2)。

チョコレート嚢胞は病理組織学的には、その多くが上皮の欠損した非定型的子宮内膜症の像を示しているものの、一部で上皮の存在が確認された。長径1.3cmのチョコレート嚢胞ではほぼ全周に子宮内膜類似上皮の存在が確認され、そのごく一部が消褪出血を起こし上皮が剥離している像が確認された(図3)。さらに、卵巣表層上皮の陥入像(図4)および子宮内膜類似上皮のみからなる非定型子宮内膜症の存在を認めた(図5)。

免疫組織化学的には卵巣チョコレート嚢胞の上皮のER, PRの発現低下が認められ、一部にcalretininの発現を認めた(表3)。また、卵巣チョコレート嚢胞の周辺に認められる上皮のみの非定型子宮内膜症でcalretininの発現が認められた(図6)。

卵巣チョコレート嚢胞ではHER2蛋白の発現が

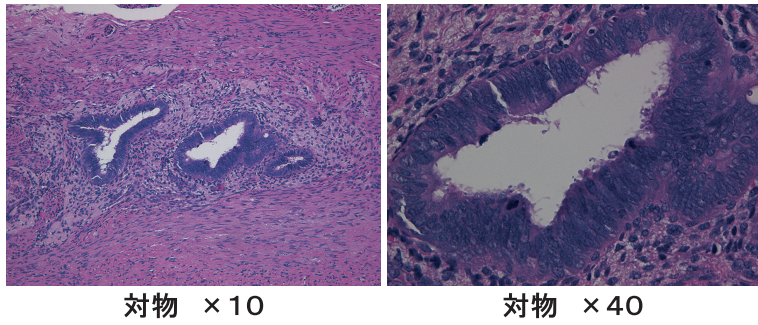


図1 腹膜子宮内膜症（病理組織学的所見：HE染色）
定型的子宮内膜症の像を呈している

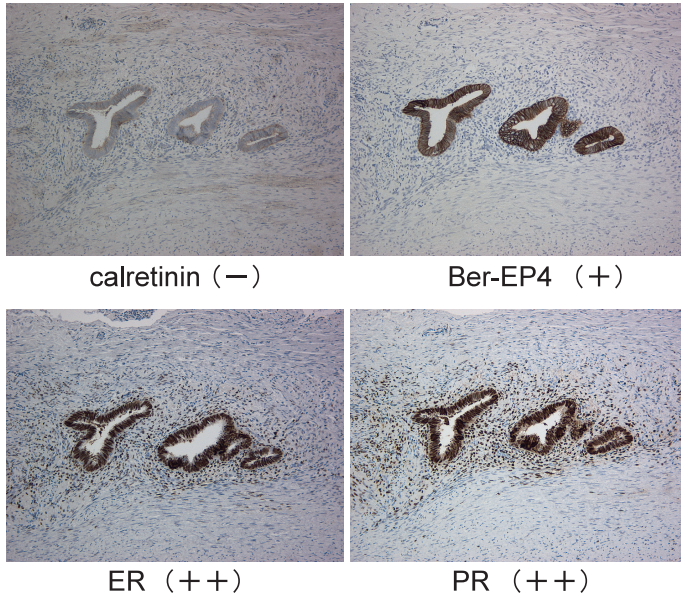


図2 腹膜子宮内膜症（免疫組織化学的染色：対物×10）
ER, PR, Ber-EP4の発現を認めるが、calretininの発現は認めない

表2 骨盤子宮内膜症における caltentin, Ber-EP4, ER, PR, HER2 蛋白発現

場所	年齢	calretinin	Ber-EP4	ER	PR	HER2 蛋白
1. ダグラス窩	40	-	+	++	++	0
2. ダグラス窩	45	-	+	++	++	0
3. 膀胱子宮窩	35	-	+	++	++	0
4. 卵管腹膜	30	-	+	++	++	0
5. ダグラス窩	49	-	+	++	++	0
6. ダグラス窩	38	-	+	++	++	0
7. ダグラス窩	25	-	+	++	++	0
8. ダグラス窩	52	-	+	++	++	0
9. 膀胱子宮窩	38	-	+	++	++	0
陽性率		0%	100%	100%	100%	0%

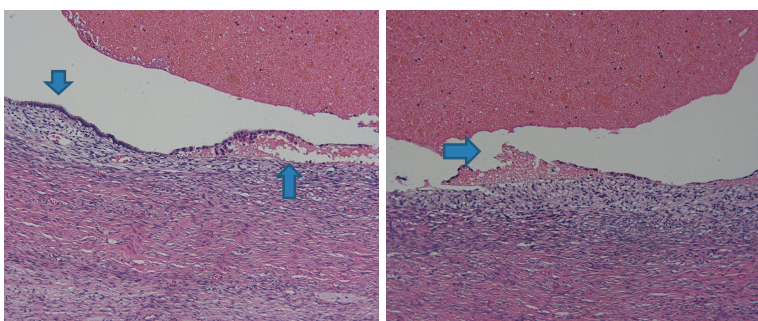


図3 長径1.3 cmの卵巢チョコレート嚢胞
（病理組織学的所見：HE染色，対物×4）
ほぼ全周に子宮内膜類似上皮の存在が確認され（↓），そのごく一部が消褪出血を起こして（↑）上皮が剝離している（→）

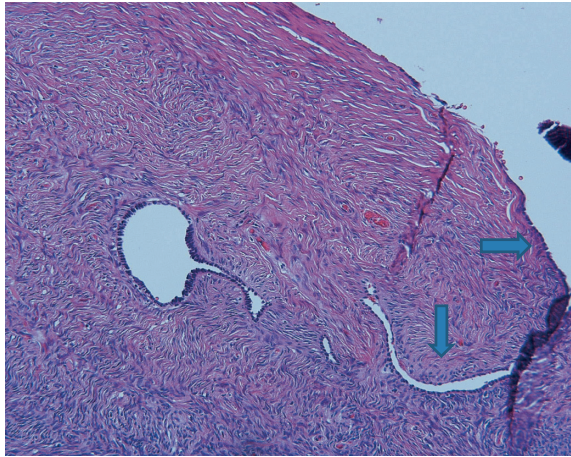


図4 卵巣チョコレート嚢胞に合併する卵巣表層上皮の陥入像
(HE染色, 対物×4)
中皮様形態を示す卵巣表層上皮(→), 卵巣表層上皮の陥入像(↓)

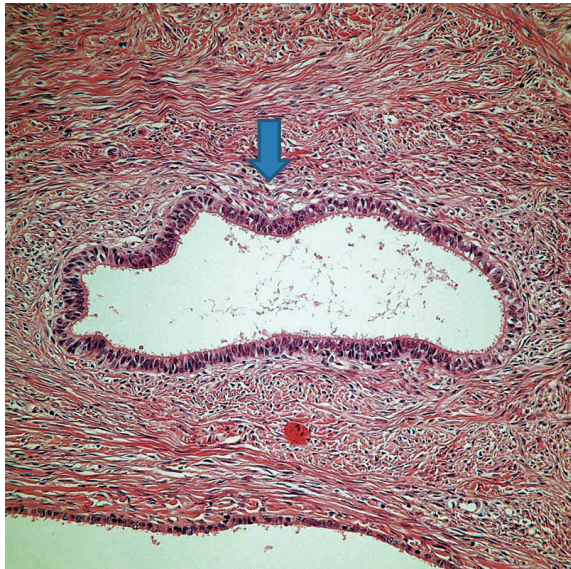


図5 卵巣チョコレート嚢胞に合併する子宮内膜類似上皮のみの非定型子宮内膜症(↓)(HE染色, 対物×10)

80%に、過剰発現が30%に認められたが、骨盤子宮内膜症、正所性子宮内膜ならびに卵巣表層上皮ではその発現は全く認められなかった(表3, 4)。また、HER2 蛋白過剰発現を示した3症例に対して行われた FISH 法による検討では HER2 遺伝子の増幅は確認されなかった。

考 察

子宮内膜症の発生機序として様々な説が提唱されているが、腹膜上皮あるいは卵巣表層上皮などからの化生で発生した子宮内膜症は中皮の性格を残しながらミューラー管型上皮としての形質発現を示すと考えられている²³。calretinin は29kDa の Ca-

表3 卵巣チョコレート嚢胞における calretinin, Ber-EP4, ER, PR, HER2 蛋白発現

症例	年齢	calretinin	Ber-EP4	ER	PR	HER2
1	37	-	+	++	++	2+
2	33	-	+	++	+	1+
3	20	+	-	-	-	0
4	40	-	+	+	-	1+
5	42	+	+	+	-	2+
6	32	+	+	+	-	1+
7	39	-	+	++	+	2+
8	46	-	+	+	+	1+
9	41	-	+	+	+	0
10	55	-	+	++	+	1+
陽性率		30%	90%	40%	10%	80%

表4 子宮内膜症における HER2 蛋白の発現

組織	陽性率	過剰発現率
正所性子宮内膜	0% (0/5)	0% (0/5)
卵巣表層上皮	0% (0/5)	0% (0/5)
骨盤腹膜子宮内膜症	0% (0/9)	0% (0/9)
卵巣チョコレート嚢胞	80% (8/10)	30% (3/10)
P 値	0.000105	0.095446

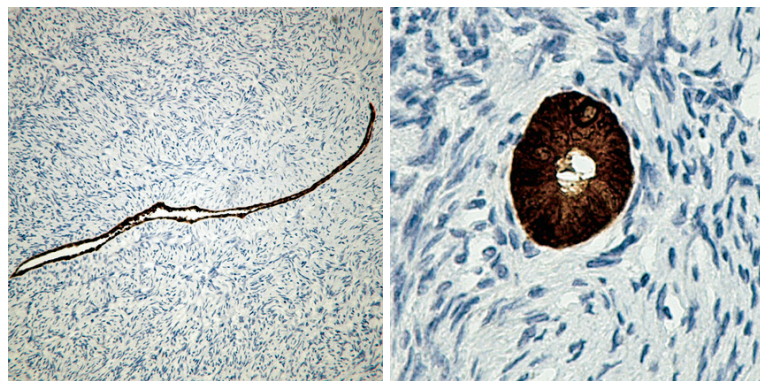


図6 免疫組織化学的染色(calretinin, 対物 a: ×20, b: ×40)
卵巣チョコレート嚢胞の周辺にみられる卵巣表層上皮の陥入部分(a)と子宮内膜類似上皮(b)における calretinin の発現が認められる

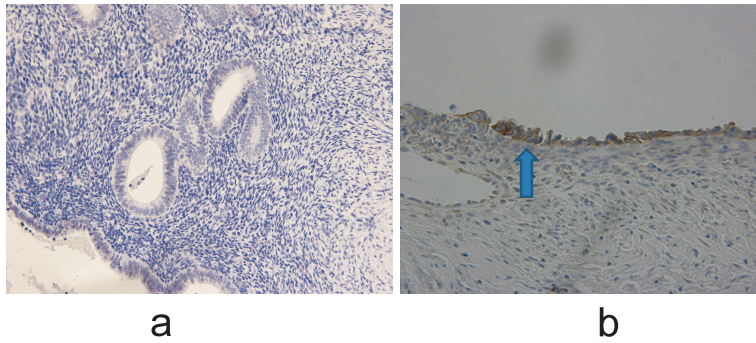


図7 免疫組織化学的染色 (HER2 蛋白, 対物×20)
腹膜子宮内膜症(a)には HER2 蛋白の発現はないが, 卵巣チョコレート嚢胞(b)の上皮に HER2 蛋白の発現がみられる (↑)

binding protein で中皮あるいは中皮様形態を示す卵巣表層上皮に発現し²⁴, 正所性子宮内膜には発現しないことから中皮のマーカーとした。また, Ber-EP4 は34kDa および39kDa の glycoprotein で中皮および扁平上皮以外の上皮に発現しており²⁵, 中皮様形態を示す卵巣表層上皮には発現していないことから, 中皮の性格をみるもう1つのマーカーとして採用した。

正所性子宮内膜の上皮細胞では ER (+), PR (+), calretinin (-), Ber-EP4 (+) であったのに対して, 中皮様形態を示す卵巣表層上皮での免疫組織化学的染色の結果は正所性子宮内膜と全く正反対の発現状態を示しており, 子宮内膜症病変の起源が正所性子宮内膜由来かあるいは卵巣表層上皮や腹膜中皮由来かの判定基準とした。

骨盤子宮内膜症の発生機序に関しては移植説および化生説が有力とされているが決着していない。前田ら^{26,27} は natural killer (NK) 細胞上の killer immunoglobulin-like receptor (KIR) 発現と macrophage の抗原提示に関わる human leukocyte antigen (HLA)-ABC, -DR の発現を検討し, 子宮内膜症患者の腹腔内での NK の細胞障害低下や腹腔 macrophage の抗原提示能の低下が起こっていることを突き止め, 逆流経血中の内膜細胞による腹腔内曝露への処理能力の低下が, 子宮内膜症の発生・進展に関わっていると報告し, 移植説を支持している。

今回の病理組織学的検討では骨盤腹膜子宮内膜症のいずれも中皮様形態を示す所見はなく, すべて定型的子宮内膜症の像を示していた。また, 免疫組織化学的検討でも中皮の性格を示す所見が全くなかったことから, 骨盤腹膜子宮内膜症の発生機序は移植説で説明可能と考えられた。

卵巣チョコレート嚢胞の発生機序として a. 癒着部分から広がる b. 封入嚢胞の化生から広がる c. 卵胞の生理的破裂部分から広がるなどの諸説があるが³, 卵巣チョコレート嚢胞の上皮細胞が中皮の性格を強く持つにもかかわらず, 封入嚢胞はミューラー管型上皮の性格を強く持つ¹⁹ ことから, 封入嚢胞の

化生から広がるという説は説明が難しく, 別の発生機序を考える必要がある。今回の検討では, 卵巣チョコレート嚢胞を合併する卵巣内には calretinin 強陽性の腹膜陥入像や子宮内膜類似上皮が観察されることから, 卵巣チョコレート嚢胞の発生は卵巣表層上皮の陥入, 化生から始まると考えられた。さらに, 今回の検討で観察された子宮内膜類似上皮のみからなる非定型的子宮内膜症や発生初期段階と思われる長径1cm前後の小さいチョコレート嚢胞の上皮細胞はほぼ全周に認められ, その一部に消退出血に伴う上皮の剝離像が認められた。これらの所見から, 卵巣チョコレート嚢胞の発生は ①卵巣表層上皮の陥入からはじまり②上皮細胞のミューラー管型上皮への化生さらに③子宮内膜類似間質が誘導され, ER, PR が間質に発現して④消退出血様変化を繰り返し起こした結果, 上皮細胞のほとんど認められない典型的なチョコレート嚢胞が形成される過程が推測された。

また, 卵巣チョコレート嚢胞における免疫組織化学的染色の結果は症例により様々な発現状態を示しているが, secondary müllerian system の概念を導入すると, 中皮の性格を持つ卵巣表層上皮から化生を起こして子宮内膜症が発生していく過程で中皮の性格を残したまま上皮の性格が変化した結果, 中皮のマーカーである calretinin の発現が認められたり, Ber-EP4 の発現がない症例があったり, ER, PR の発現の低下が認められたと解釈できる。

ヒト癌遺伝子 HER2/neu (c-erbB-2) の遺伝子産物である HER2 蛋白は, ヒト上皮増殖因子受容体ファミリーに属する増殖因子受容体であり, その細胞質側にチロシンキナーゼ活性領域を有する分子量約185kDa の膜貫通型蛋白質である²⁸。今回の検討では卵巣チョコレート嚢胞の80%に HER2 蛋白の発現が認められたが, 骨盤子宮内膜症には全く認められなかった。また, 卵巣チョコレート嚢胞は卵巣表層上皮の化生により発生するものと推測されるが, 卵巣表層上皮には HER2 蛋白の発現が認められなかったことから, 卵巣チョコレート嚢胞が子宮内膜類

似組織へと化生していく過程で HER2 蛋白の発現を獲得したものと推測され、子宮内膜症の発生機序の違いが子宮内膜症の癌化に関する生物学的特性を規定する重要なポイントであると考えられた。

結 論

- 1) 骨盤腹膜子宮内膜症は移植説を支持する所見を認めた。
- 2) 卵巣チョコレート嚢胞は卵巣表層上皮の陥入からはじまり、上皮の化生により発生するものと推測された。
- 3) HER2 蛋白の発現は卵巣チョコレート嚢胞の 80% に認められたが、骨盤子宮内膜症では全く認められなかった。
- 4) 子宮内膜症における発癌に関する生物学的特性の差異は、その発生過程の違いに基づくものと考えられ、卵巣チョコレート嚢胞では化生の過程で HER2 蛋白の発現を獲得したものと推測された。

文 献

1. 日本産科婦人科学会編：子宮内膜症取扱い規約 第 1 部 診断および進行度分類基準とカラーアトラス (1993) 金原出版 東京
2. 手島伸一 (2007) 子宮内膜症 子宮腫瘍病理アトラス 文光堂 東京：314-317
3. 手島伸一, 石倉 浩 編集 (2004) 卵巣腫瘍病理アトラス, 文光堂 東京
4. Rokitsansky K (1860) Ueber Uterusdruesen Neubildung in Uterus und Ovarial sarkomen. *Ztschr K Gesellsch Aerzte zu Wien* 16: 577-581
5. Sampson JA (1940) The development of the implantation therapy for the origin of peritoneal endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 40: 549
6. Lauchlan SC (1972) The secondary Mullerian system. *Obstet Gynecol Surv* 27: 133-146
7. Von Reckkinghausen F (1896) Die Adenomyome und Cystadenome der Uterus und Tubenwandung. *Berling Wien Klin Wchnschr* 8: 530
8. Russel ww (1899) Abberant portions of the Mullerian duct foud in an ovary. *Johns Hopkins Hospital Bulletin* 10
9. Sampson JA (1927) Metastastic or embolic endometriosis, due to the menstrual sissemination of endometrial tissue into the venous circulation. *Am J Pathol* 3: 93-109
10. Greenhill JP (1942) The yearbook of Obstet & Gynec. The yearbook publishers
11. Wolf GC, Singh KB (1989) Cesarean scar endometriosis: A review. *Obstet Gynecol Surv* 44: 89-95
12. Merrill JA (1966) Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol* 93: 780-790
13. Ttaketani Y, Mizuno M (1991) Evidence for direct regulation of epidermal growth factor receptors by steroid hormones in human endometrial cells. *Hum Reprod* 6: 1365-1369
14. Sampson JA (1927) Peritoneal endomeyriosis, due to menstrual dissemination of endometrial tissue into verous circulation. *Am J pathol* 3: 93-109
15. Fujii S (1991) Secondary mullerian system and endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 165: 219-225
16. Okamura H, Katabuchi H (2001) Detailed morphology of human ovarian surface epithelium focusing on its metaplastic and neoplastic capability. *Ital J Anat Embryol* 106: 263-276
17. Brosens IA (1997) Endometriosis—a disease because it is characterized by bleeding. *Am J Obstet Gynecol* 176: 263-267
18. Nisolle M, Donnez J (1997) Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectogaginal sepyum are different entities. *Fertil Steril* 68: 585-596
19. 小池英爾, 小畑孝四郎, 中井里香, 椎名昌美, 安田佳子, 星合 昊 (2008) 卵巣子宮内膜症性嚢胞の成因に関する研究. *近畿大医誌* 33: 57-61
20. 小畑孝四郎 (2003) 卵巣子宮内膜症の癌化とその治療. *日産婦会誌* 55: 890-902
21. Lal P, Tan LK, Chen B (2005) Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol* 123: 541-546
22. Kounelis S, Kapranos N, Malamos N, Kouribairaktari E (2005) Evaluation of HER2 gene status in breast cancer by chromogenic in situ hybridization: comparison with immunohistochemistry. *Anticancer Res* 25: 939-946
23. Nakayama K, Masuzawa H, Li SF, Yoshikawa F, Toki T, Nikaido T, Silverberg SG, Fujii S (1994) Immunohistochemical analysis of the peritoneum adjacent to endometriotic lesions using antibodies for Ber-EP4 antigen, estrogen receptors, and progesterone receptors: implication of peritoneal metaplasia in the pathogenesis of endometriosis. *Int J Gynecol Pathol* 13: 348-358
24. Cao QJ, Jones JQ, Li M (2001) Expression of calretinin in human ovary, testis, and ovarian sex cord-stromal tumors. *Int J Gynecol Pathol* 20: 346-352
25. Cherchi PL, Marras V, Capobianco G, Ambrosini G, Piqa M, Fadda GM, Dessole S (2001) Immunohistochemical evaluation of a new epithelial antigen, Ber-EP4, in ovarian cancer: Preliminary results. *Eur J Gynaecol Oncol* 22: 433-435
26. Maeda N, Izumiya C, Kusum T, Masumoto T, Yamamoto Y, Oguri H, Fukaya T (2004) Killer inhibitory receptor CD158a overexpression among natural killer cells in women with endometriosis is undiminished by laparoscopic surgery and gonadotropin releasing hormone against treatment. *Am J Reprod Immunol* 51: 364-372
27. Yamamoto Y, Maeda N, Izumiya C, Kusume T, Oguri

H, Kawaguchi M, Hayashi K, Nomura A, Yamashita C, Fukaya T (2008) Decreased human leukocyte antigen-DR expression in the lipid raft by peritoneal macrophages from women with endometriosis. *Fertil Steril* 89 : 52-59

28. Archer SG, Eliopoulos A, Spandidos D, Bames D, Ellis IO, Blamery RW, Nicholson RI, Robertson JF (1995) Expression of ras p21, p53 and c-erbB-2 in advanced breast cancer and response to first line hormonal therapy. *Br J Cancer* 72 : 1259-1266