

厚生科学研究
生活安全総合研究事業

ダイオキシン類の汚染状況
および子宮内膜症等健康に関する研究

平成12年度研究報告書

平成13年3月

主任研究者 石川 睦 男

旭川医科大学産婦人科学教室

厚生科学研究生活安全総合研究事業

ダイオキシン類の汚染状況および子宮内膜症等健康に関する研究

平成12年度研究報告書

総括研究報告

石川睦男 旭川医科大学産婦人科、教授

分担研究者報告

玉舎輝彦 岐阜大学医学部産婦人科、教授
清水敬生 癌研究会附属病院婦人科、医長
山下幸紀 国立札幌病院産婦人科、部長
千石一雄 旭川医科大学産婦人科、助教授
山下剛 旭川医科大学産婦人科、助手

研究協力者

伊藤直樹 岐阜大学医学部産婦人科
清水かほり 癌研究会附属病院婦人科
佐藤恒 癌研究会附属病院婦人科
石谷敬之 国立札幌病院産婦人科
田熊直之 旭川医科大学産婦人科
中田俊之 旭川医科大学産婦人科
加藤育民 旭川医科大学産婦人科
趙 亜微 旭川医科大学産婦人科
王 曉芳 旭川医科大学産婦人科

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

総括研究報告書

ダイオキシン類の汚染状況および子宮内膜症等健康に関する調査

主任研究者 石川睦男 旭川医科大学産婦人科教授

（研究の要旨）

ダイオキシン類におけるヒトの健康に関する影響が懸念される中、様々な方面からダイオキシン類を含む環境化学物質と発癌作用あるいはこれらの化学物質が示すホルモン様活性に対する研究調査が行われてきた。特にイタリアのセベゾ地域における化学工場の爆発に伴うダイオキシン類(TCDD)の周辺地区への散布に対する地域住民への健康への影響についてのデータは、人体に対する環境化学物質の長期的な影響を考える上で非常に参考になるものであった。現在もなお続いている当該地区における長期的なヒトの健康に対する影響についての報告によれば、発癌に対する影響では消化管およびリンパ、造血器系の癌が増加していると報告されている。子宮内膜癌などのホルモン依存性癌の罹患率の上昇は現時点で確認されていない。ホルモン様活性についての検討では、事故後に産まれた子供の性比に女兒への偏りが認められることが報告されている。子宮内膜症に対する検討および月経サイクル、初経および閉経年齢などについての検討は現在進行中とされている。しかしながら当該地区での男児の出生率が低下しており女兒が生まれやすい傾向を認めたことはこれらの環境化学物質が何らかのホルモン作用を示している可能性を否定しない。

国内でのダイオキシン類の生体に対する影響についての研究も報告され始めており、産婦人科領域における研究報告においても母乳中、腹水中でダイオキシン類が確認される事態となっており、通常でもダイオキシン類などの環境化学物質の汚染は一定レベルで存在していることが認められ、ヒトの健康に何らかの影響を与えている可能性が示唆されている。

今年度の我々の研究は、現在までの様々な報告や昨年当研究班での臨床的

検討の結果に基づき、その作用メカニズムを明らかにするために基礎的研究の部分にも焦点をあてダイオキシン類の生体作用を明らかにするものである。また、これらの結果懸念されている婦人科疾患、とりわけ婦人科癌（卵巣癌）の前癌病変とされる疾患（卵巣子宮内膜症）との関連解析、および子宮内膜症が合併する婦人科癌（子宮内膜癌）との関連性の検討についての研究も行うものである。さらに今年度はダイオキシン類の生体内濃度を直接計測することでこれらの疾患とダイオキシン類の直接の関連性の検討も行った。

（１）研究目的

環境化学物質による健康障害の不安が一般に高まっているなかで、最近多くの環境化学物質が内分泌攪乱化学物質として生殖障害をもたらすことが報告されてきている。特にダイオキシン類は母乳中への蓄積が注目され、女性生殖器の蓄積の検討が必要となってきた。さらに、日本を始めとする先進国に子宮内膜症の頻度が増加が報告され、子宮内膜症の発症の増加とダイオキシン汚染との関連性が注目を集めている。さらに、深刻なことはこの子宮内膜症からの卵巣明細胞腺癌ならびに類内膜腺癌への続発変化が疑われていることである。そこで当研究班では、ダイオキシン類の女性生殖器への汚染状況の分析を行い、ダイオキシン類と子宮内膜症発生の因果関係ならびに卵巣癌への続発変化の関連につき解明することを研究目的とした。具体的にはダイオキシン類の女性生殖器への蓄積状況および生理作用を明確にし、また蓄積しているとするダイオキシン類が子宮内膜症の発症進展と関連があるか否かを明らかにすることにより、国民の混乱を防止する。また本研究で得られた成果は、ダイオキシン類などの環境化学物質の許容量の基準ならびに見直しにつき、厚生行政、環境行政に提案することが可能となるかが期待される

（２）研究方法

本年度の研究は昨年度の研究の結果を踏まえて、生体内のダイオキシン類がどのようなメカニズムで人体に影響を与えるのかを解明するための基礎的な検討を行った。臨床的検討では、昨年度の卵巣癌と子宮内膜症の合併頻度の統計処理をさらに多数例で検討することで統計学的パワーを高めた。また子宮内膜

症病変が子宮内膜癌発症に影響を与えているかどうかを解析するため、子宮頸癌を対照疾患として子宮内膜症の合併率を検討した。さらに、最近発症例が急増し子宮内膜症病変がその前癌病変である可能性についても検討され始めている卵巣明細胞腺癌患者の血液中ダイオキシン類濃度の測定も行った。

(a) ヒト発生に関するダイオキシン類の影響を検討するために、卵を取り巻く細胞である顆粒膜細胞および胎児臍帯血中の単核球のサイトカイン産生に対するダイオキシン類の作用についての検討が、岐阜大学医学部産婦人科玉舎輝彦および研究協力者によって行われた。

(b) ダイオキシン類のレセプター遺伝子 AHR/APNT の正常卵巣および子宮内膜症、卵巣癌での発現の有無とその量、およびダイオキシン類代謝酵素 CYP1A1 の TCDD に対する発現依存性の研究は、旭川医科大学産婦人科山下剛および研究協力者によっておこなわれた。

(c) 卵巣明細胞癌患者のダイオキシン類の血中濃度の測定、およびモデル動物を用いた実験子宮内膜症の作成が、旭川医科大学産婦人科千石一雄および研究協力者によって行われた。

(d) 臨床的なアプローチとして昨年度同様、卵巣癌と子宮内膜症の合併頻度等に関する研究が、主任研究者である石川睦男の下で、各研究協力者の附属病院の症例を検討して行われた。さらに子宮内膜症から子宮内膜癌への癌化の関わりを明らかにするために、国立札幌病院婦人科は山下幸紀、癌研究会附属病院婦人科は清水敬生の元で、附属病院の過去10年間の子宮内膜癌における子宮内膜症の合併率などの統計調査が、各設問に対しその有無について回答する形の study として施行された。昨年 of pilot study の段階で両者の合併率が高いことが示唆されていたので、今回は対照疾患として子宮頸癌および他の良性疾患患者での子宮腺筋症合併率も同様に解析し、合併頻度の上昇が子宮内膜癌に特有な現象かどうかを検討された。

(e) 研究班全体の研究としてまず旭川医大における卵巣明細胞癌患者と対照コントロールのダイオキシン類血中濃度の測定が行われた。

(3) 研究結果

(a) 高濃度 TCDD は臍帯血単核球および顆粒膜細胞ともに TNF、IL-6 および IL-1 β の産生を抑制したが、生理的濃度のエストロゲンはサイトカイン産生に対し影響を与えず、また TCDD との相互作用も認められなかった。

(b) ダイオキシン類レセプターおよび関連因子のAHR, ARNT発現の検討では、正常卵巣と卵巣子宮内膜症組織およびPAI株をのぞく卵巣癌細胞のいずれにもAHR, ARNTが発現していた。TCDD投与によるAHR, ARNTのTCDD濃度依存性発現は認めなかった。TCDD投与によるダイオキシン類分解酵素CYP1A1の時間依存性の研究では、Kuramochi株、CAOV-3株、JHOC-5株、SMOV-2株の4株でTCDD投与に対するCYP1A1遺伝子の時間依存性のmRNA発現増強を認めた。TCDD投与によるダイオキシン類分解酵素CYP1A1の濃度依存性の研究では、Kuramochi株、CAOV-3株、OVCA-3株において濃度依存性を認めた。

(c) モデル動物を用いた実験子宮内膜症の作成では、同種移植法の90%以上(11/12)に子宮内膜症性嚢胞を作成し得た。組織学的(HE染色)にも嚢胞壁に腺管構造が確認された。また17%(2/12)に子宮内膜症性の癒着を認めた。移植手術後の週数(2-7)による差異は肉眼的には明らかでなかった。いずれの実験も自家移植法でも同等の病変を作成し得た。コントロールとして用いた子宮内膜自家移植、子宮漿膜面移植、腸管内膜移植、卵巣摘除マウスではいずれも子宮内膜症性嚢胞の発生を認めなかった。

(d) 臨床的な検討では、子宮内膜症と卵巣癌の合併頻度について対象疾患である卵巣癌の総数を昨年度の369例から724例まで増やして解析し得た。その詳細は以下の表に示すが(表1~5)、子宮内膜症の合併率は全体で20.2%(外性子宮内膜症では16%)と昨年度の結果よりも高頻度となった。子宮腺筋症と子宮内膜癌の検討では、国立札幌病院の報告では子宮腺筋症の合併率は、良性疾患26.4%、子宮体癌36.4%、子宮頸癌21.0%であった。癌研の報告では子宮体癌での516例中、184例(35.7%)に子宮内膜症の合併を認めた。その内、89%は子宮腺筋症であった。子宮頸癌では子宮内膜症の合併は37.0%(34/92)に認められた。

(e) 卵巣明細胞癌患者での血液中ダイオキシン類濃度の測定では、以下の表に示す様な結果が得られた(表6)。いずれも対照である正常婦人に比較して高値を示した。

(4) 考察

昨年同様、ダイオキシン類の生体に対する影響が調査された。サイトカイン産生に対する影響では、単核球のみならず顆粒膜細胞、臍帯血単核球においても同様のサイトカイン産生抑制効果を示すことが判明した。このような作用は卵巣組織内でのダイオキシン類レセプターの発現の検討同様、AHR, ARNTを介してその作用が発現していると考えられた。子宮内膜症の標的組織の一つである正常卵巣、卵巣子宮内膜症、卵巣癌においても、AHR, ARNTはすでに発現しており、ダイオキシン類の取り込みにより複合体を形成し、卵巣組織内でその機能を発現しうることが示された。TCDD投与によるダイオキシン類代謝酵素CYP1A1遺伝子の時間及び濃度依存性の実験結果から、ヒト組織におけるダイオキシン類の影響はTCDDの暴露時間および濃度に依存した影響を受けることが明らかになり、生体内での大量曝露あるいは長期間曝露によるダイオキシン類の影響拡大が示唆される結果となった。

モデル動物による実験子宮内膜症の結果では、実験的に子宮内膜症を形成させることに成功し、組織学的にも子宮内膜症組織が確認された。今後のダイオキシン類投与による生体反応を検討するためにこの実験子宮内膜症モデルが使用される予定である。

また臨床的検討ではより多数例を検討した結果、卵巣癌の約20%という高頻度に子宮内膜症の合併を認めることとなった。この頻度は昨年度の報告(8.9%)よりも高頻度であるが、その理由としてサンプルの再切り出しを行い、非常に多数の切片を詳細に検討し得たことが理由の一つと考えられる。また子宮内膜症合併卵巣癌において、明細胞腺癌(43.4%)、類内膜癌(44.6%)の2つの組織型がほかの組織型に比較して依然高頻度であり、これらの疾患と子宮内膜症の組織学的な関連性が強く示唆された。

子宮内膜癌と子宮腺筋症との関連では、2つの協力施設でともに内膜癌の35%前後に子宮腺筋症を合併するという結果をみた。現時点では統計解析に十分な症例数に達していないが、対照疾患である子宮頸癌や良性疾患の合併率よりも高頻度を示しており、このことは卵巣子宮内膜症と卵巣癌の関係同様、子宮腺筋症からの子宮内膜癌の発生の可能性を支持するものといえ、今後の研究を展開する上で重要な基礎的データの一つとなるものである。

卵巣明細胞癌患者における血液中ダイオキシン類濃度の測定では、全体の症

例数が少なく統計解析は終了していないが、測定したいずれの卵巢癌症例においても正常対照の血液中ダイオキシン類濃度よりも高値を示しており、ダイオキシン類の長期的あるいは高濃度の暴露による子宮内膜症、およびそこから癌化の可能性を否定しないものであった。この点に関してはさらに多数の検体の測定および検討が必要であると考えられた。

表 1, 各施設の回答症例数

施設名	卵巢癌	子宮体癌	計
岐阜大学	1 1 3	1 5 2	2 6 5
癌研病院	3 5 5	5 0 9	8 6 4
国立札幌病院	1 8 7	2 0 9	3 9 6
旭川医科大学	6 9	7 8	1 4 7
計	7 2 4	9 4 8	1 6 7 2

表 2, 卵巢癌組織型と頻度

漿液性腺癌	269 (37.2%)
粘液性腺癌	131 (18.1%)
類内膜腺癌	101 (14.0%)
明細胞腺癌	136 (18.8%)
移行上皮癌	19 (2.6%)
未分化癌	16 (2.2%)
その他	50 (6.9%)
不明	2 (0.3%)

表 3, 卵巣癌患者における子宮内膜症合併率

有	146 (20.2%)
無	575 (79.4%)
不明	3 (0.4%)

表 4, 卵巣癌患者における子宮内膜症のタイプ

外性子宮内膜症	113
子宮腺筋症のみ	33

表 5, 卵巣癌における各組織型別の子宮内膜症タイプ

	子宮腺筋症を含む	外性子宮内膜症のみ
漿液性腺癌	24 (8.9%)	9 (3.3%)
粘液性腺癌	12 (9.2%)	1 (0.8%)
類内膜腺癌	45 (44.6%)	8 (7.9%)
明細胞腺癌	59 (43.4%)	21 (15.4%)
未分化癌	1 (6.3%)	0 (0%)
その他	5 (10.0%)	3 (6.0%)

表 6, 現在まで測定した血中ダイオキシン類の測定濃度 (脂肪重量あたり)

Case 1 正常対照 48才 (人工乳にて保育)

	濃度 (pg/ g-fat)	毒性当量 (pg-TEQ/ g-fat)
PCDDs	120	4.9
PCDFs	8.6	1.7
PCDDs + PCDFs	130	6.6

Case 2 正常対照29才 (人工乳にて保育)

	濃度 (pg/ g-fat)	毒性当量 (pg-TEQ/ g-fat)
PCDDs	180	1.2
PCDFs	8.4	2
PCDDs + PCDFs	190	3.2

Case 3 卵巣明細胞癌 (50才) (2回経産婦、母乳栄養)

	濃度 (pg/ g-fat)	毒性当量 (pg-TEQ/ g-fat)
PCDDs	240	7.1
PCDFs	2.5	4.7
PCDDs + PCDFs	270	12

Case 4 卵巣明細胞癌 (65才) (2回経産婦、混合栄養)

	濃度 (pg/ g-fat)	毒性当量 (pg-TEQ/ g-fat)
PCDDs	110	5.3
PCDFs	15	3.1
PCDDs + PCDFs	120	8.4

(5) 結論

今回の検討から、子宮内膜症は高頻度に卵巣癌、特に明細胞性および類内膜性卵巣癌と合併していることが判明した。また基礎的検討の結果から、ダイオキシン類は卵巣、卵巣子宮内膜症、卵巣癌あるいは子宮内膜に存在するダイオキシン類レセプター-AHR, ARNT を介して作用することが示唆され、またダイオキシン類の代謝酵素の活性がダイオキシン類自体の濃度により左右されることから、長期間暴露あるいは大量暴露によりその影響を拡大させる可能性があることが判明した。さらに卵巣明細胞癌患者において血液中ダイオキシン類濃度が高値であったこと、また代謝活性の誘導性が卵巣癌細胞において確認されることから、ダイオキシン類が卵巣癌の発症進展に関わっている可能性が強く示唆された。また子宮腺筋症と子宮内膜癌の発症進展における臨床的検討からは、子宮腺筋症が高頻度に子宮内膜癌と合併していることが明らかにされ、卵巣癌同様その発症進展に高い関連性を持っていることが強く示唆された。またダイオキシン類の影響は卵巣顆粒膜細胞、臍帯血顆粒球にもおよび、高濃度のダイオキシン類の暴露によりサイトカイン産生が低下する事が判明した。このことはヒト胚発生および胎児発育においてもダイオキシン類が何らかの影響を及ぼしうる可能性を示唆している。

これらの基礎的な検討及び臨床的な検討の結果より次年度は、実際の症例を用いてダイオキシン類とその作用の関係を具体的に示すとともに、子宮内膜症が卵巣癌発症進展にどのように関わっていくのかを明らかにしていく予定である。また実験子宮内膜症にて子宮内膜症発症のメカニズムを探り、ダイオキシン類が内膜症発症進展のどのステップに影響を与えるかも明らかにしていく予定である。

参考文献

- (1) Mocarrelli P, Marocchi A, Brambilla P, Gerthoux P, Young DS, Mantel N. Clinical laboratory manifestations of exposure to dioxin in children. A six-year study of the effects of an environmental disaster near Seveso, Italy.

JAMA. 1986 Nov 21;256(19):2687-95.

(2) Mocarelli P, Gerthoux PM, Ferrari E, Patterson DG, Kieszak SM, Brambilla P, Vincoli N, Signorini S, Tramacere P, Carreri V, Sampson EJ, Turner WE, Needham LL. Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring. Lancet. 2000 May 27;355(9218):1858-63.

(3) Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, Samuels S, Vercellini P, Olive D, Needham L, Patterson D, Brambilla P. Seveso Women's Health Study: a study of the effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive health. Chemosphere. 2000;40(9-11):1247-53.

(4) Tsutsumi O, Momoeda M, Takai Y, Ono M, Taketani Y. Breast-fed infants, possibly exposed to dioxins in milk, have unexpectedly lower incidence of endometriosis in adult life. Int J Gynaecol Obstet 2000 Feb;68(2):151-3

(5) 福井敬介、越智博、伊藤昌春、エンドメトリオーシス研究会会誌、vol 21,p39-44, 2000

(6) Tomoaki Takahashi, Yoshitaka Ikeda, Akihiro Tateishi, Yukihiro Yamaguchi, Mutsuo Ishikawa and Naoyuki Taniguchi", "A sequence motif involved in the donor substrate binding by α 1,6-fucosyltransferase: the role of the conserved arginine residues. Glycobiology.10(5), 503-510, 2000

(7) Tomoaki Takahashi, Yoshitaka Ikeda, Eiji Miyoshi, Yuji Yaginuma, Mutsuo Ishikawa and Naoyuki Taniguchi", " α 1,6 Fucosyltransferase is Highly and Specifically Expressed in Human Ovarian Serous Adenocarcinomas. Int.J.Cancer. 88, 914-919, 2000

(8) 石川睦男、山下剛.子宮内膜症と環境化学物質.臨床環境 2000,8-14

(9) Toshinobu Miyamoto, Hiroaki Hyashi, Kazuo Sengoku, Hidenori Ojima, Yoshihiko Tokusashi, Yuji Yaginuma, Naoyuki Takuma, Shiga Hasuie, Naoyuki Miyokawa, Mutsuo Ishikawa. Diffuse malignant mesothelioma of the uterus. Acta Obstet Gynecol Scand ,79 154-155, 2000

(10) Ken Nagaya, Michael D.Fetters, Mutsuo Ishikawa, Takahiko Kubo, Takashi Koyanagi, Yoshiharu Saito, Hiroshi Sameshima, Mitsuhiro Sugimoto, Koichiro Takagi, Yoshihide Chiba, Hiroshi Honda, Masaaki Mukubo, Mitsuhiro Kawamura, Shoji Satoh, Reiko Neki. Causes of Maternal Mortality

in Japan. JAMA 283(20) : 2661-2667 May, 2000

(11) Hiroaki Hayashi, Yuji Yaginuma, Tsuyoshi Yamashita, Atsushi Morizaki, Takayuki Ishiya, Yasuhito katou, Mutsuo Ishikawa. Prospective Randomized Study of Antibiotic Prophylaxis for Nonlaparotomy Surgery in Benign Conditions. Chemotherapy;46:213-218,2000

(12) Y. Yaginuma, T. Yamashita, T. Ishiya, A. Morizaki, Y. Katoh, T. Takahashi, H. Hayashi, M. Ishikawa. Abnormal Structure and Expression of PTEN/ MMAC1 Gene in Human Uterine Cancers. Molecular Carcinogenesis 27(2): 110-116,2000

(13) Hasuike S., Miura K., Miyoshi O., Miyamoto T., Niikawa N., Jinnou Y., Ishikawa M. Isolation and localization of an IDDMK1, 2-22-related human endogenous retroviral gene, and identification of a CA repeat marker at its locus. J. Hum. Genet 44(5): 343-347,1999

(14) Horikawa M, Higashiyama S, Nomura S, Kitamura Y, Ishikawa M, Taniguchi N. Upregulation of endogenous heparin-binding EGF-like growth factor and its role as a survival factor in skeletal myotubes. FEBS Lett , 1;459(1), 100-4,1999

(15) Y. Saitoh, Y. Yaginuma, M. Ishikawa. Analysis of Bcl-2, Bax and Survivin genes in uterine cancer. International Journal of Oncology 15: 137-141,1999

(16) Kunio Tanaka, Akiyasu Mizukami, Naomi Kojima and Mutsuo Ishikawa. ³¹P NMR studies of phosphate metabolism in the ovulatory process induced by gonadotropins in perfused rabbit ovary. NMR Biomed. 12; 249-255,1999

(17) H. Hayashi, Y. Yaginuma, S. Kitamura, Y. Saitou, T. Miyamoto, H. Komori, K. Wada, M. Ishikawa. Bilateral Oophorectomy in Asymptomatic Women over 50 Years Old Selected by Ovarian Cancer Screening. Gynecol Obstet Invest , 47: 58-64,1999

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

ダイオキシン類の免疫担当細胞のサイトカイン産生への影響に関する研究

分担研究者 玉舎輝彦 岐阜大学医学部産婦人科教授

研究協力者 伊藤直樹 岐阜大学医学部産婦人科

研究要旨

高濃度のダイオキシン類は臍帯血中の免疫担当細胞および卵胞内の顆粒膜細胞のサイトカイン産生を抑制した。

A. 研究目的

子宮内膜症発生発育において性ステロイド作用と関連して腹腔内免疫担当細胞の産生する各種のサイトカインの関与が指摘されている。平成11年度に、その基礎的検討として正常対照における末梢血免疫担当細胞のサイトカイン産生に対するダイオキシン類の影響について検討し、高濃度のダイオキシン類はサイトカインの産生に対して抑制的に働くことが示された。本年度は、多くの内分泌攪乱物質が主に胎児期の発生発育に影響していることに注目し、胎児の環境に対する影響を検討する目的で、臍帯血中の単核球のサイトカイン産生能に対するダイオキシン類の影響を検討した。また卵巣内での卵の発育においてその周囲に存在する顆粒膜細胞の役割は重要であるが、その顆粒膜細胞もサイトカインを産生することが知られている。サイトカインの役割の詳細は未だ不明であるが、今回、卵の発生に対する影響を考え、顆粒膜細胞のサイトカイン産生に対するダイオキシン類の影響も検討した。

B. 研究方法

1) 臍帯血単核球における検討

特記すべき合併症ならびに感染症を認めない妊婦を対象とした。分娩後直ちにヘパリン加臍帯血を採取し、Ficoll-Hypaque 比重遠心法により単核球を分離し、24 well plate を用い 106 cells / ml / well の細胞濃度で RPMI1640 培地中に浮遊し、lipopolysaccharide 5 μ g/ml により刺激培養した。培養液中にはエストロゲンならびに 2,3,7,8,-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) を添加した。3 時間培養後、培養上清を採取し、Interleukin-1 β (IL-1 β)、Tumor necrosis factor (TNF)、Interleukin-6 (IL-6) 濃度を ELISA 法により定量した。また、ダイオキシン類の特異的な受容体と考えられている aryl hydrocarbon receptor (AHR) の mRNA 発現を、分離した単核球において RT-PCR 法を用いて検出した。

2) 顆粒膜細胞における検討

体外受精における卵の採取時に卵と同時に吸引される顆粒膜細胞を使用した。顆粒膜細胞は臍帯血単核球と同様に TCDD、エストロゲンを添加し 48 時間刺激培養した。培養上清中のサイトカイン定量とともに、顆粒膜細胞中の AHR mRNA の発現を RT-PCR 法により検出した。

(倫理面への配慮)

十分なインフォームドコンセントを得た上で臍帯血および顆粒膜細胞を採取した。結果については個人名は非公開であり、結果を他に流用しない旨説明した。

C. 研究結果

1000 pg/ml 以上の濃度において TCDD は臍帯血単核球および顆粒膜細胞ともに TNF、IL-6 および IL-1 β の産生を抑制した。生理的濃度のエストロゲンはサイトカイン産生に対し影響を与えず、また TCDD との相互作用も認められなかった。

臍帯血および顆粒膜細胞とも、検討した全ての検体において AHR の mRNA の発現が検出された。

D. 考察

子宮内膜症症例の腹水中において各種サイトカインの濃度の上昇が報告されており、腹腔内での過剰な免疫反応が子宮内膜症の成因の一つとして考えられ

ている。しかし、今回の結果からはダイオキシンはサイトカインの産生に対して抑制的に働くことが示され、特定の濃度域でサイトカインが増加するような結果は得られなかった。

免疫担当細胞だけではなく顆粒膜細胞においてもダイオキシン類に対する反応性に差は認められず、また全ての検体においてほぼ同程度の AHR mRNA が検出されており、特にダイオキシン類のいわゆる毒性以外に特定の反応経路（特にダイオキシン類によって特定の濃度で活性が上昇するような）が存在する可能性は少ないと思われる。

しかし、生体内での反応は細胞性免疫も含め複雑な系での現象であり、サイトカイン産生に対する直接的な影響のみで説明されるものではない。また、ダイオキシンの影響は必ずしも用量依存性ではなく、特定の濃度域で卵細胞に特異的に作用するとの報告もあり、さらにその他の要素を含んだ *in vivo* での詳細な検討が必要と思われる。

E 結論

ダイオキシンは *in vitro* において臍帯血単核球のみならず顆粒膜細胞のサイトカイン産生に対し抑制的に働くことが示唆された。

研究発表

まだありません。

知的所有権の取得状況

まだありません。

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

子宮体癌及び卵巣癌と子宮内膜症の合併に関する臨床的検討

分担研究者	清水敬生	癌研究会附属病院婦人科医長
研究協力者	清水かほり	癌研究会附属病院婦人科
	佐藤恒	癌研究会附属病院婦人科

A, 研究要旨

1980-1998年に当科で初回治療された卵巣癌 540 症例中 159 例 (29.4%) に子宮内膜症が病理組織学的に確認された。進行期(TNM)別では、T1: 49% (211 例), T2: 44% (55 例)、T3: 11% (274 例)であった。T3 で子宮内膜症の合併率が低いのは、進行した癌組織で置き換えられているためと考えられる。T2 は症例数が少ない。従って、卵巣癌に於ける子宮内膜症との関連性は T1 症例で行われることが妥当と考える。T1 に於ける組織型別の卵巣子宮内膜症の合併頻度、及び transformation site (子宮内膜症から腺癌細胞へ移行する部位) 確認の頻度は、それぞれ、漿液性 (36 例) : 6%, 0%; 移行上皮 (6 例) : 0%, 0%; 類内膜 (49 例) 24%, 10% : 明細胞 (69 例) : 28%, 16%であった。即ち、少なくとも、明細胞、類内膜腺癌に於いては、病理組織学的に子宮内膜症からの癌化あり得ることが証明された。

一方、子宮体癌 516 症例 (1989-1998 年) では 36% に子宮内膜症の合併が病理組織学的に確認された。この頻度は、現在調査段階であるが、子宮頸癌 92 例 (1998-2000 年) に於ける頻度 37% と同等であった。しかしながら、子宮腺筋症 (筋層) の頻度は、子宮体癌が有意に高頻度であった (89% vs 71%)。従って、内膜から発生する子宮体癌に関しては、子宮内膜症との関連性について、より詳細な検討が必要と考えられた。

B, 研究目的

子宮内膜症と婦人科悪性腫瘍との関連性

C, 研究方法

研究材料：癌研究会附属病院婦人科で初回手術を受けた卵巣癌（1980-1998年）、子宮体癌（1989-1998年）、子宮頸癌（1998-2000年）症例の病理組織標本、及び病歴を研究材料とした。

(1) 病理診断：上記病理標本の切り出しは婦人科医が施行。標本の観察は、病理医および本研究に携わる婦人科医により、conference microscope を使用し、同時にかつ詳細に行われた。

(2) 疫学調査：カルテの記載に基づいて行われた。

(3) 統計解析：Macintosh computer, SAS 統計解析 soft により行われた。

D, 研究結果

(1) 子宮体癌：516 例中、184 例 (35.7%) に子宮内膜症の合併を認めた。その内、89% は子宮腺筋症であった。組織型別にみた合併率は、類内膜型：33.0% (147/446)、腺扁平上皮癌：30.3% (10/33)、漿液性：25.0% (5/20)、明細胞：11.1% (1/9)、混合型：0% (0/8) であった。子宮内膜症合併頻度の高い傾向を示した類内膜型をさらに分化度別にみると、G1: 32.7% (82/251), G2 28.4% (40/141), G3: 46.3% (25/54) で、分化度による有意差は認められなかった。

(2) 子宮頸癌：子宮内膜症の合併は 37.0% (34/92) に認められた。組織型別頻度は、扁平上皮癌 (60 例)：38.3%; 腺扁平上皮癌 (13 例):38.5%、腺癌 (18 例): 33.3% であった。子宮内膜症の部位別頻度は、子宮腺筋症：70.6%; 卵巣:14.7%; 骨盤腹膜:9% であった。

(3) 卵巣癌：1980-1998 年に当科で初回治療された卵巣癌 540 症例中 159 例 (29.4%) に子宮内膜症が病理組織学的に確認された。進行期(TNM)別では、T1: 49% (211 例), T2: 44% (55 例)、T3: 11% (274 例) であった。T3 で子宮内膜症の合併率が低いのは、進行した癌組織で置き換えられているためと考えられる。T2 は T1, 3 に比較し、症例数が少ない。従って、卵巣癌に於ける子宮内膜症との関連性は T1 症例で行われることが妥当と考える。T1 に於ける組織型別の卵巣子宮内膜症の合併頻度、及び transformation site (子宮内膜症から腺癌細胞へ移行する部位) 確認の頻度は、それぞれ、漿液性 (36 例)：6%、

0%; 移行上皮 (6 例):0%, 0%; 類内膜 (49 例) 24%, 10%; 明細胞 (69 例) : 28%, 16%であった。即ち、明細胞、類内膜腺癌は、他の組織型に比し、有意に合併頻度が高率であった。また、transformation site の確認から、少なくとも、明細胞、類内膜腺癌に於いては、病理組織学的に子宮内膜症からの癌化があり得ることが証明された。正常大卵巣癌 (peritoneal serous carcinoma) 16 症例に於いては 1 例のみ子宮内膜症の合併を認めた。

E 考察

(1) 子宮体癌の 1/3 以上の症例で子宮内膜症の合併が確認された。現在調査中の子宮頸癌においても、子宮内膜症の合併頻度は同等であったが、子宮腺筋症の合併頻度は子宮体癌の方が高い傾向を認めており、今後、観察期間、年齢等の背景をそろえて、さらに検討する必要性ありと考える。また、子宮体癌の前癌状態と考えられている子宮内膜異型増殖症についても、今後子宮内膜症との関連性を調査する必要がある。

(2) 卵巣癌の約 30%に於いて、子宮内膜症の合併が認められた。癌の進行に伴い、子宮内膜症の病巣が癌で置き換えられる可能性が高く、本研究は T1 (TNM 分類) 症例を対象にすべきと考えられた。組織型との関連では、類内膜、明細胞腺癌に於いて、卵巣子宮内膜症合併率が漿液性に比し有意に高いこと、及び合併症例の約半数に子宮内膜症から腺癌へ移行する transformation site が病理組織学的に確認された。この頻度は病理標本の切片の数を増やすことによりさらに高率になることが予想される。これらのことから、卵巣明細胞、類内膜腺癌は、子宮内膜症から癌化し得ることが示唆された。今後は、子宮内膜症から癌化への移行の機序を解明するため、血液中のホルモン、ダイオキシン類の測定、子宮内膜症診断後の治療内容の解析、疫学調査が必要と考えられた。

以上まとめると次の通りである。子宮体癌：1989 年から 1998 年の間に当科で手術を受けた子宮体癌 516 例の 36%に子宮内膜症を認められた。現在調査中の子宮頸癌に於いても、子宮内膜症の合併頻度は同等であった。しかしながら、子宮腺筋症の合併頻度は、子宮体癌 31%、子宮頸癌 25%と前者で高い傾向が認められた。卵巣癌：1980 年から 1998 年の間に当科で手術を受けた 540 例の少なくとも約 30%に子宮内膜症の存在を病理組織学的に確認した。癌の進行に伴い、子宮内膜症病巣は癌で置き換えられている可能性が高いため、

子宮内膜症の合併頻度は 30%以上あったものと推定される。また、今後の研究対象として、T1 病巣が適していると考えられる。組織型と子宮内膜症合併との関連性は明確であった。即ち、最も頻度の高い漿液性では 11% で、類内膜、明細胞は各々 56%, 67%と合併は有意に高頻度であった。これらの症例の中には H-E 染色標本に於いて、子宮内膜症から癌への移行部 (transformation sites) が、それぞれ 10%, 16%確認された。このことは、子宮内膜症から明細胞癌が発生することを示唆するものと考えられる。

従って今後の研究計画として、子宮内膜症の前癌病変としての意義を検討するために、2001 年の研究は、以下の点を中心に行われる予定である。

体癌に於ける子宮内膜症（子宮腺筋症）合併頻度を、観察期間、年齢等の背景を揃えて、子宮頸癌のそれと比較検討する。子宮体癌の前癌状態と考えられる子宮内膜異型増殖症に於ける子宮内膜症の合併頻度を疫学的、病理組織学的に検討する。卵巣癌においては、T1 (TNM 分類) 症例のみを対象をして、子宮内膜症の合併頻度の病理組織学的検討（子宮内膜症の部位、癌との移行部位）及び疫学的調査を行う。いわゆる normal sized ovarian carcinoma のみならず、腹膜原発腫瘍に於ける、子宮内膜症の合併頻度の病理組織学的検討を行う。

F, 結論

子宮体癌の 1/3 以上の症例で子宮内膜症の合併が確認された。子宮頸癌の子宮内膜症の合併率は子宮体癌と同等であった。しかしながら、子宮腺筋症の頻度が後者でやや高い傾向であり、子宮体癌と子宮内膜症の関連性については現段階で結論を出す事は出来ない。

一方、卵巣癌に於いては、最近発生頻度が増加している明細胞腺癌、および類内膜腺癌に於いて、子宮内膜症と癌化との密接な関係が示唆された。

G, 研究発表

1. 論文発表：Gynecologic Oncology 投稿予定
2. 学会発表：日本婦人科腫瘍学会発表予定
3. 知的所有権の取得状況：無し