

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10661

研究課題名(和文) 抗プロテアーゼ分子に着目した子宮頸管熟化制御機構の解明と早産予防療法の開発

研究課題名(英文) Study on molecular mechanism of cervical maturation focusing on anti-protease system

研究代表者

永松 健 (Nagamatsu, Takeshi)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60463858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：抗プロテアーゼ作用を有する抗菌ペプチドsecretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)に着目して頸管熟化制御のメカニズムを検討した。SLPIは子宮頸管で上皮内に発現し、プロゲステロンと炎症による2種類の制御を受けていることが確認された。頸管熟化に関わる分子の中でSLPIは正常な分娩前および早産の前に顕著な発現の亢進が確認された。SLPIはプロゲステロンによる産生誘導を受けて頸管熟化の制御因子として機能しており、感染などに伴う局所炎症が生じた場合には発現が増加して炎症制御に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to investigate the molecular mechanism of cervical maturation focusing on secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI), an antimicrobial peptide with anti-protease activity. In-vitro study and preterm birth mouse model demonstrated that SLPI at the cervix was induced by progesterone and inflammatory environment. SLPI administration inhibited the incidence of preterm birth in mice triggered by neutrophil elastase and LPS. In the analysis of cervical cells obtained from pregnant women, SLPI was elevated prior to the labor onset in both of term and preterm delivery. These findings suggested a critical role of SLPI in the regulation of cervical maturation prior to delivery.

研究分野：産婦人科学

キーワード：子宮頸管熟化 抗菌ペプチド 早産 炎症

1. 研究開始当初の背景

【研究背景】

早産は我が国では全妊娠の5-6%に発生し、その出生児に長期的な心身障害を生じる重大な周産期疾患である。早産を生じるリスク要因は多様であるが、その原因の如何によらず最終的には子宮局所における炎症性カスケードへと帰結して不可逆的に進行する。

早産では本来妊娠末期に生じるべき頸管熟化が早期に進行することが重要な病理機序となる。頸管熟化のメカニズムは完全には解明されていないが、各種プロテアーゼの作用による細胞外マトリックスの構造変化が重要なプロセスとされる。生体にはプロテアーゼの働きに拮抗する生理的抗プロテアーゼ分子が存在しており、そのプロテアーゼと抗プロテアーゼ間のバランスが組織の構造維持の鍵となっている。しかし、これまで頸管における抗プロテアーゼ機能やプロテアーゼとのバランスに着目した研究は乏しい。secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)は抗菌ペプチドの一種に分類される多機能性蛋白質である。抗菌作用以外にプロテアーゼに対する拮抗作用や抗炎症作用を有することが知られている。SLPIと頸管熟化の関係については未解明である。

2. 研究の目的

本研究では頸管熟化を促進するプロテアーゼに拮抗する働きを持つSLPIに着目して頸管熟化制御のメカニズムを解明することを目的として検討を行った。

3. 研究の方法

早産発症の背景には複数の原因が存在する。原因因子の種類によって早産発症に関わるプロテアーゼ、抗プロテアーゼの種類や関与の強さが異なると予想される。異なる機序により早産を誘導する2種類のマウスモデルを用いてヒト早産との比較を進めた。lipopolysaccharide(以下LPSと略す)誘発早産モデルは子宮内感染による炎症状態を生じるモデルである。一方、抗プロゲステロン剤RU486の投与は妊娠維持ホルモンであるプロゲステロンの作用を減弱することによる早産モデルである。これら両者の早産モデルにおいて子宮頸管におけるSLPIの発現および頸管熟化との関係を探索した。

さらに、頸管上皮細胞由来の細胞株 Ect1を用いてマウスモデルにおいて確認された、SLPIの発現誘導に関して、そこに関わる分子機構について確認を進めた。SLPI発現の制御機構の解明のためプロゲステロン応答性および炎症性メディエーターとの相互応答に着目した。

また、妊娠女性の頸管細胞においてSLPIを含めた頸管熟化に関わる10種類の遺伝子の発現プロファイルと正常分娩発来および早産との関係を解析した。マウスモデルとヒ

トとに共通する病的な子宮頸管熟化に関わる因子の同定を進めた。

4. 研究成果

早産マウスモデルにおける検討の結果から、SLPIは、子宮頸管で主に上皮内に発現し、プロゲステロン作用により発現が増強し、また、LPS刺激による炎症においても発現増加が生じることが確認された。(図1)頸管熟化の促進因子となるプロテアーゼである好中球エラスターゼ(NE)は、LPS感受性を上昇させた。NEとLPSの同時投与による早産モデルにおけるSLPI投与の効果を見た結果、SLPI投与は頸管熟化に対して抑制的に働き、早産を減少させた。

さらに細胞培養実験により、プロゲステロンのグルココルチコイド受容体の作用を介してSLPIの発現増加を生じていることが確認された。(図2)また、LPSによる炎症刺激に反応したSLPIの発現増加の機序としてNFκB関連分子の働きが介在していることが示唆された。

妊婦における分娩前の子宮頸部の頸管熟化では、NFκB誘導性の炎症関連遺伝子群、抗炎症遺伝子群、細胞外マトリックスの分解に関与する遺伝子群の3種類の経路の活性化が示唆された。3種類の経路の中で、SLPIは抗炎症遺伝子群の中心的な要素となっていた。SLPIは、分娩前に頸管粘液中の蛋白濃度の上昇も確認され、新たな分娩予測のバイオマーカーとして有用であることが考えられた。また、早産患者での頸管においてはSLPIの発現上昇が確認された。特に、切迫早産において入院した妊婦の集団の中で最終的に早産に至った妊婦では、早産が回避されて正常産となった妊婦よりもSLPIの頸管における発現が亢進していることが確認された。これは、早産を誘導する背景として頸管の炎症が存在し、それに伴いSLPIが誘導されていることを裏付ける結果であった。

以上の結果より、SLPIはプロゲステロンによる産生誘導を受けて頸管熟化の制御因子として機能しており、感染などに伴う局所炎症が生じた場合には発現が増加して炎症制御に関与することが示唆された。そして、SLPIは頸管熟化に対して拮抗的に作用する働きを持つことが推測された。好中球エラスターゼなどの働きを拮抗するSLPIの機能は、早産予防・治療法のターゲットになりうると考えられた。(図3)

図 1

正常妊娠、早産モデルにおける頸管SLPI mRNA発現の比較

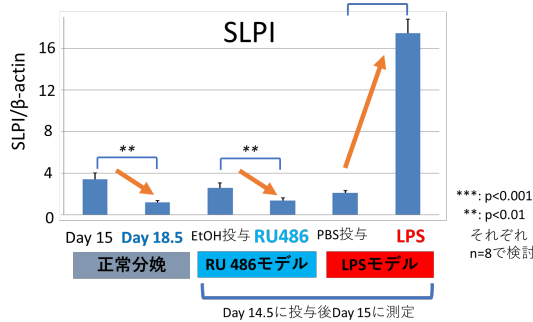
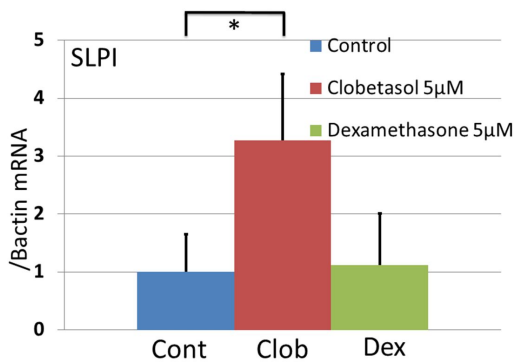


図 2

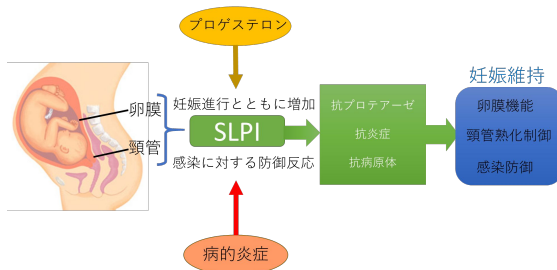
グルココルチコイド受容体刺激による SLPI の誘導



Cont: コントロール
Clob: クロベタゾール
Dex: デキサメサゾン

図 3

妊娠・分娩におけるSLPIの役割



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

1. 査読有 Samejima T, Nagamatsu T, et al.: Labor prediction based on the expression patterns of multiple genes related to cervical maturation in human term

pregnancy. American journal of reproductive immunology 2017;78. doi: 10.1111/aji.12711

2. 査読有 Samejima T, Nagamatsu T, et al.: Elevated concentration of secretory leukocyte protease inhibitor in the cervical mucus before delivery. American journal of obstetrics and gynecology 2016;214:741 e741-747. Doi: 10.1016/j.ajog.2015.12.029

3. 査読有 Itaoka N, Nagamatsu T, et al.: Cervical Expression of Elafin and SLPI in Pregnancy and Their Association With Preterm Labor. American journal of reproductive immunology 2015;73:536-544. Doi: 10.1111/aji.12354

4. 査読無 永松 健: 【産婦人科感染症の診断・管理-その秘訣とピットフォール】早産と周産期感染症 早産の機序と生体反応. 臨床婦人科産科 2018;72:125-131.

5. 査読無 鮫島 大輝, 永松 健: 【産婦人科診療で用いられるバイオマーカー】早産マーカー. 産婦人科の実際 2017;66:1241-1245.

6. 査読無 永松 健, 藤井 知行: 【難治性の周産期 common disease への挑戦】反復後期流・早産の治療 既往早産妊婦の管理 乳酸菌療法. 臨床婦人科産科 2016;70:31-35.

[学会発表](計4件)

1. 鮫島 大輝, 永松 健, 他: 複数遺伝子の発現プロファイルを用いた分娩前の子宮頸管熟化の評価と分娩発来予知法の検討. 日本生殖免疫学会. 2016

2. Samejima T, Nagamatsu T, et al.: Cervical SLPI expression during pregnancy is regulated by progesterone in mouse. 日本産科婦人科学会学術集会. 2016

3. 鮫島 大輝, 永松 健, 他: マウス早産モデルの子宮頸部における SLPI 発現変化. 日本生殖免疫学会. 2015

4. 鮫島 大輝, 永松 健, 他: 頸管粘液中の 1MG、SLPI 濃度上昇は陣痛発来予測因子となり得る 正常産妊婦における前方視的検討. 日本産科婦人科学会学術集会 2015

[図書]
該当なし

[産業財産権]

該当なし

〔その他〕
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永松 健 (NAGAMATSU, Takeshi)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：60463858

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし