

令和元年6月28日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20219

研究課題名(和文) ヒト子宮筋腫組織皮下移植マウスモデル作成とデコリンによる非ホルモン治療の開発

研究課題名(英文) Establishment of a novel mouse xenograft model of human uterine leiomyoma and development of non hormonal therapy using decorin

研究代表者

鈴木 裕介 (Suzuki, Yusuke)

大阪医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：90770925

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：子宮筋腫は最も頻度が高い婦人科良性腫瘍であるが、発症過程や増殖機構などは十分に解明されていない。子宮筋腫の研究における遅滞の大きな原因の一つは、適切な実験動物モデルの欠如である。本研究では、ヒト筋腫組織を用いた簡便なマウス皮下移植モデルを考案し、移植筋腫の発育を確認するとともに、筋腫組織の移植に適した子宮筋腫摘出術式及び腫瘍内における筋腫の部位を分子生物学的および組織学的な解析を行うことによって探索した。本研究により、作製が容易で移植後も発育する新しいヒト子宮筋腫マウスモデルを確立した。このマウスモデルは、子宮筋腫に対する新しい治療法の開発に役立つと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、作製が容易で移植後も発育する新しいヒト子宮筋腫マウスモデルを確立した。このマウスモデルは、子宮筋腫に対する新しい治療法の開発に役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Uterine leiomyoma is the most common benign tumour in women, and an appropriate animal model for leiomyoma would be useful for exploring new therapeutic strategies. Therefore, we have been challenged to develop a new simple mouse model for human leiomyoma. As a result, this model will be useful for the development of new therapeutic strategies.

研究分野：産婦人科

キーワード：子宮筋腫 子宮筋腫移植モデル 子宮筋腫モデルマウス Gn-RH エストロゲン プロゲステロン 子宮内膜症 leiomyoma

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮筋腫は女性で最も頻度が高い婦人科領域の良性腫瘍である。多くの症例では無症状であるが、一部の症例では過多月経や疼痛などの症状を示し、不妊の原因となる。筋腫を縮小させる有効な薬物療法はなく、過多月経に対するホルモン療法である gonadotropin releasing hormone agonist (GnRHa) 投与により多少の縮小効果を認めるものの、更年期障害や骨粗鬆症といった副作用が強いため、使用期間は限定される。このことより、子宮筋腫に対しては手術加療が一般的であり、妊孕性温存希望がある症例には子宮筋腫核出術が施行され、希望がない症例に対しては子宮全摘術が施行される。手術加療の患者侵襲性を考慮すると、軽微な副作用のみで子宮筋腫を縮小させる有効な治療薬の開発が望まれている。

2. 研究の目的

子宮筋腫の治療研究が進まない理由の一つとして、ヒトの病態に近い適切な動物実験モデルの欠如が挙げられる。近年、新しいヒト子宮筋腫実験動物モデルが報告されてきているが、重度の免疫不全マウス、遺伝子組み換え細胞、血管新生因子含有ゲルの使用など、費用がかかるだけでなく飼育管理などの面で複雑なものが多い。そのため、今回の研究では、より安価かつ簡便なヒト子宮筋腫マウスモデルの作製を目的とした。

3. 研究の方法

初めに、無作為に選んだ子宮筋腫手術症例から筋腫組織片を用いて、子宮筋腫移植マウスモデルの作製を試みた。

- (1) 雌の BALB/c nu/nu マウスに組織を移植する際に血管新生因子含有ゲル Matrigel™ (Corning, NY) を使用し、移植筋腫組織に対する Matrigel™ の有用性を検討した。
- (2) 雌の BALB/c nu/nu マウスにエストラジオール (E2) とプロゲステロン (P) 含有の薬剤徐放ペレットを背側頸部の皮下に埋め込み、手術により摘出したヒト子宮筋腫組織片をマウスの背部皮下に移植した。移植後 4 週と 8 週に腫瘍を摘出して移植前の組織と比較検討をした。また徐放ペレット埋め込み後のマウスにおける血清 E2 と P 値の推移を ELISA 法で測定した。
- (3) 異種移植後の筋腫における細胞由来を抗ヒト α 平滑筋アクチン抗体、抗 SM22 α 抗体、抗カルデスモン抗体、抗非筋ミオシン IIB (SMemb) 抗体、抗エストロゲン受容体 α (ER α) 抗体、抗プロゲステロン受容体抗体 (PR)、抗 Ki67 抗体、抗ヒトミトコンドリアリボソーム蛋白 L11 (hMitC) 抗体を用いた蛍光免疫染色法と FITC 標識イソレクチン B4 を用いたレクチン染色法で検討した。
- (4) 移植子宮筋腫がより発育しやすい条件を模索するため、手術術式、採取する筋腫部位 (辺縁および中央)、手術前の GnRHa 投与による偽閉経療法の有無、元々の子宮筋腫の大きさ (最大径 10 cm 未満もしくは 10 cm 以上) を移植前後の組織重量の増大率で比較検討した。
- (5) GnRHa 投与の有無における移植前筋腫の ER α 、PR、インスリン様成長因子-2 (insulin-like growth factor 2, IGF2)、胎児平滑筋ミオシン重鎖アイソフォーム (SMemb) の遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法によって、移植前と移植 8 週後の筋腫の ER α と PR の蛋白発現を蛍光免疫染色法によって比較検討した。
- (6) GnRHa 投与の有無における移植後腫瘍の増殖活性を評価するために移植前と移植 8

週後の筋腫の Ki67、SM α -アクチン発現を二重蛍光免疫染色法によって解析した。

4 . 研究成果

- (1) 移植時に Matrigel™ を使用した方が毛細血管は増加していたが、逆に移植腫瘍組織の大きさは減少し、移植組織内の線維形成が著明であった。このため、今回の研究では Matrigel™ を使用しない方針とした。
- (2) E2 と P の血清中濃度は、埋め込み 4 週後で最高値に達しその後漸減していったが、埋め込み 8 週後の時点においても移植筋腫の増大を認めた。
- (3) 異種移植組織がマウス由来の細胞とヒト平滑筋腫組織由来の細胞から構成されていることを免疫組織化学的解析によって確認した。
- (4) 腹式子宮筋腫核出術、手術前の GnRHa 投与、10 cm 以上の子宮筋腫が、移植後の筋腫の発育により適した条件であった。また、組織採取部位については、筋腫中央よりも筋腫辺縁の方が移植後より良好に発育する傾向を示した。
- (5) GnRHa 非投与群と比較して、GnRHa 投与群の筋腫組織で *ER α* 、*ER β* 、*PR*、*IGF2*、*SMemb* 遺伝子発現は有意に上昇していた。埋め込み前の筋腫では *ER α* と *PR* 蛋白発現は GnRHa 投与群で有意に上昇していたが、移植 8 週後では有意差を認めなかった。GnRHa 投与群の移植前において、筋腫組織での Ki67、SM α -アクチン蛋白発現は GnRHa 非投与群に比べて有意に減少していたが、移植 8 週後の時点では逆に GnRHa 投与群で有意に増加していた。

本研究において、我々はヒト子宮筋腫の新しいマウスモデルを確立した。本モデルは、移植後に筋腫が発育し続け、移植手技が比較的単純であり、血管新生因子含有ゲルを必要とせず、入手や管理が容易な BALB/c nu/nu マウスの使用といった特徴を持つ。更に、移植に理想的な子宮筋腫の条件としては、手術前の GnRHa 投与、腹式子宮筋腫核出術で摘出、10 cm 以上の子宮筋腫、筋腫辺縁組織が挙げられた。また、GnRHa 投与投与群と非投与群の比較では、*IGF2* と *SMemb* 遺伝子が GnRHa 投与群で有意に発現増加しており、これらの因子が子宮筋腫の発育に関与している可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

Suzuki Y, Ii M, Terai Y, Ohmichi M, Asahi M. Establishment of a novel mouse xenograft model of human uterine leiomyoma.

査読有 Sci Rep. 2018 Jun11;8(1):8872.

doi: 10.1038/s41598-018-27138-1.

PubMed PMID: 29891843

PubMed Central PMCID: PMC5995841.

オンライン掲載

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

6. 研究組織

(1)研究分担者 該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：伊井 正明

ローマ字氏名： Ii, Masaaki

研究協力者氏名：寺井 義人

ローマ字氏名： Terai, Yoshito

研究協力者氏名：大道 正英

ローマ字氏名： Ohmichi, Masahide

研究協力者氏名：朝日 通雄

ローマ字氏名： Asahi, Michio

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。