

令和元年5月29日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16833

研究課題名(和文) 子宮体癌妊孕性温存療法におけるプロゲステロン抵抗性の形成機構

研究課題名(英文) Progesterone resistance in fertility-sparing treatment of endometrial cancer

研究代表者

金谷 真由子 (Saito-Kanatani, Mayuko)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60748862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：子宮体癌のプロゲステロン(P4)抵抗性を考える上で子宮内膜への黄体ホルモン作用の検討は有用である。細胞増殖抑制機能を持つがん抑制遺伝子retinoblastoma(RB)の子宮特異的欠損マウスを用いて検討したところ、RBおよびP4が着床直前の子宮内膜上皮の細胞増殖能と胚着床を調節していること、着床直前の子宮内膜上皮の細胞増殖抑制は単なる胚受容能の指標というだけでなく機能的な変化であることが示唆された。またP4はRBを介さない経路でも子宮内膜上皮の増殖抑制を誘導できたことから、P4による子宮内膜の多様な細胞内シグナル調節経路の存在が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、P4による正常子宮内膜の細胞増殖抑制が子宮機能に与える意義が明確になった。子宮体癌の前がん病変ともいえる子宮内膜増殖症は不妊症の病歴を伴うことがしばしばであり、子宮内膜上皮の分化異常ともいえる状態であることが着床の妨げになっている可能性が考えられる。本研究により、P4による正常な子宮内膜の応答性とその異常の病態を理解する端緒になるため、究極的には子宮体癌におけるP4応答性の異常の理解に繋がるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In association with progesterone (P4) resistance in endometrial cancer, we investigated cell proliferation of the endometrium stimulated by P4. Retinoblastoma protein (RB), which inhibits cell proliferation, was deleted in the mouse uterus using uterine specific RB conditional knockout mice. We found that RB and P4 cooperatively controls endometrial epithelial cell growth and embryo implantation, and cessation of cell proliferation in the endometrial epithelium is functionally important. We also found that P4 plays a role in the endometrial control of various signaling pathways associated with cell cycle regulation.

研究分野：産婦人科学

キーワード：子宮内膜 プロゲステロン 細胞増殖 細胞分化 子宮

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

1. 研究開始当初の背景

食生活の欧米化に伴う肥満や多嚢胞性卵巣症候群を背景として、若年性の子宮体癌(子宮内膜腺癌)の罹患率は年々増加している。子宮体癌の現在の標準治療は子宮全摘術を含む術式が基本であり、標準治療を行った場合には妊孕性が損なわれる。昨今の晩婚化・晩産化傾向により、40歳未満の未経産の子宮体癌患者は増加傾向にあり、それに伴って妊孕性温存を希望する子宮体癌患者も増加しているのが現状である。妊孕性温存を強く希望した患者に対しては高用量プロゲスチン療法(MPA療法)が選択され、一定の効果が報告されているが、奏効率は60-70%程度と満足のものではなく、再発率が高いことが問題となっている。MPA療法の有用性を示すバイオマーカーとしてプロゲステロン受容体(PGR)が報告されているが、PGR陰性の子宮体癌に対してもMPAが効果を示すことがある。この例をはじめとして、MPAの子宮体癌抑制作用の分子生物学的機序については依然不明である。このような臨床的背景から、MPA療法への反応性を事前に評価できる新たなバイオマーカーの同定、子宮体癌におけるプロゲスチンの作用機構の解明は喫緊の課題となっている。本研究は、子宮体癌におけるMPAの作用経路とP4抵抗性のメカニズムを明らかにすることを目的としている。本研究により、子宮体癌におけるP4感受性またはP4抵抗性のバイオマーカーや感受性が決まるメカニズムが明らかになれば、今後さらに増加すると考えられる子宮体癌の妊孕性温存治療の進歩に貢献できるし、場合によっては進行期・再発期子宮体癌におけるプロゲスチン療法の適応拡大につながっていく可能性が考えられる。

子宮体癌においてプロゲスチン(MPA)は癌抑制作用を示し、特にPGR陽性の子宮体癌ではMPA有用と報告されている。プロゲスチンは、子宮内膜細胞において、PGRを介したE2の細胞増殖促進作用に拮抗して作用すると考えられているがその機序は明らかでない。PGRの有無とMPA療法と効果は必ずしも一致するものではなく、プロゲステロン(P4)によるPGRを介さない作用や、P4に対する反応性の低下、すなわち『P4抵抗性』が存在すると推測される。その他プロゲスチン療法の有用性を示すバイオマーカーも報告されているが、その推測は十分といえるものではない。さらにプロゲスチンの腫瘍抑制の作用機序に関してはほとんど解明されていない。

本研究者はこれまでに核内受容体PGRの転写調節について研究を行ってきた。具体的には、子宮内膜由来細胞株Ishikawa細胞におけるP4応答遺伝子の探索と同定に関する研究で、子宮内膜上皮細胞株におけるP4応答遺伝子を網羅的に解析した。また別の研究で、妊娠の各時期のP4のターゲットが変化する可能性を考慮して妊娠前・中・後の各時期の子宮内膜間質細胞におけるP4応答遺伝子を抽出した。妊娠の各時期のP4応答遺伝子を抽出できた。さらに、早産検体からの細胞も同様にP4応答遺伝子を抽出し、早産と正産で比較したところ、早産検体で特異的なP4応答遺伝子を見いだすことができた。早産と同様に、子宮体癌もP4抵抗性疾患としての資質を有していると推測できたため、本研究の着想に至った。

子宮内膜は、生理的にはP4による制御を受けてダイナミックな細胞分化を遂げ、細胞形態が変化し妊娠成立へ向けた機能が付与される。一方で、その周期的な変化が破綻しUnopposed estrogenにさらされた状態では、PTEN、PIK3CAなどの変異が誘導され子宮体癌という病的変化がもたらされる。この過程を経ることで、P4-PGRシグナルの応答能の変化やPGRのターゲット分子の変化については不明のままである。このような分子細胞生物学的な背景を念頭に入れて研究を行うこととした。

2. 研究の目的

プロゲステロン(P4)は核内受容体であるP4受容体(PGR)を介して働き、子宮内膜にはPGRが強く発現している。若年性子宮体癌(子宮内膜腺癌)に対する妊孕性温存療法として、プロゲスチンの1つであるMPAを用いた高用量プロゲスチン療法がおこなわれるが、約30-40%の患者には有効でなく再発を認めることから、子宮体癌における「P抵抗性」がその病態に関与している可能性が指摘されている。本研究では、MPA療法の有効性を規定する分子を同定し、子宮体癌におけるP4抵抗性の起こる機序を明らかにすることを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

子宮体癌のプロゲステロン(P4)抵抗性を考える上では、子宮内膜に対する黄体ホルモンの作用の検討は極めて有用である。P4作用により着床直前に子宮内膜上皮増殖停止と間質の増殖開始が起こる。この変化は子宮の胚受容能の指標として知られるが、この細胞増殖の変化自体が着床の成否を調節しているかは不明である。そこで細胞増殖を抑制する機能を持つことが知られているがん抑制遺伝子であるretinoblastoma(RB)の子宮特異的欠損マウスを用いて、RBおよびP4による着床期の子宮内膜上皮増殖抑制と着床の調節機構を検討した。方法として、Rb-loxPマウスとPgr-Creマウスを用いて子宮のRB欠損マウスを作成し、コントロールマウスと着床の表現型を比較検討した。

4. 研究成果

腔栓確認後に新生仔を得た雌マウスの割合はコントロールマウスが 85%、子宮の RB 欠損マウスが 16%であり、子宮の RB 欠損で妊孕能が低下することが示された。腔栓確認日を Day1 とすると、子宮の RB 欠損マウスでは着床直前である Day4 の Ki67 陽性の子宮内膜上皮細胞が著明に増加しており、RB 欠損による子宮内膜上皮細胞の増殖能亢進が認められた。子宮の RB 欠損マウスでは Day5 で胚接着は起こるものの Day6 で胚浸潤の異常（間質へのトロホブラスト浸潤の異常）が認められ、Day8 で 70%の胚が死滅した（コントロールマウスは 0%）。子宮の RB 欠損マウスに Day2 から P4 投与（2mg/日）を行ったところ、Day4 の子宮内膜上皮の細胞増殖が抑制され Day8 の死滅胚は完全に消失しコントロールマウスと同等に新生仔が得られた。本研究により、RB および P4 が着床直前の子宮内膜上皮の細胞増殖能と胚浸潤を調節していること、着床直前の子宮内膜上皮の細胞増殖抑制は単なる胚受容能の指標というだけでなく機能的な変化であることが示唆された。また P4 は RB を介さない経路でも子宮内膜上皮の増殖抑制を誘導できたことから、P4 による子宮内膜の多様な細胞内シグナル調節経路の存在が明らかとなった。

本研究により、P4 による正常子宮内膜の細胞増殖抑制が子宮機能に与える意義が明確になった。子宮体癌の前がん病変ともいえる子宮内膜増殖症は不妊症の病歴を伴うことがしばしばであり、子宮内膜上皮の分化異常ともいえる状態であることが着床の妨げになっている可能性が考えられる。本研究により、P4 による正常な子宮内膜の応答性とその異常の病態を理解する端緒になるため、究極的には子宮体癌における P4 応答性の異常の理解に繋がるものと考えている。現在、ヒト子宮体癌の臨床検体を解析する準備を進めている。

. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Matsumoto L, Hirota Y, Saito-Fujita T, Takeda N, Tanaka T, Hiraoka T, Akaeda S, Fujita H, Shimizu-Hirota R, Igaue S, Matsuo M, Haraguchi H, Saito-Kanatani M, Fujii T, Osuga Y. HIF2 α in the uterine stroma permits embryo invasion and luminal epithelium detachment. *J Clin Invest.* 2018, 128(7):3186-3197. doi: 10.1172/JCI98931.

Egashira M, Hirota Y, Shimizu-Hirota R, Saito-Fujita T, Haraguchi H, Matsumoto L, Matsuo M, Hiraoka T, Tanaka T, Akaeda S, Takehisa C, Saito-Kanatani M, Maeda KI, Fujii T, Osuga Y. F4/80+ Macrophages Contribute to Clearance of Senescent Cells in the Mouse Postpartum Uterus. *Endocrinology.* 2017, 158(7):2344-2353. doi: 10.1210/en.2016-1886.

金谷真由子、平池修、大須賀穰. アンチエイジングとしての女性ホルモンの歴史と役割. *Anti-aging medicine* 2018, 14:330-334.

[学会発表](計 4 件)

國富千智、平池修、原口広史、松本玲於奈、宮下真理子、中澤明里、平野茉奈、金谷真由子、能瀬さやか、森嶋かほる、泉玄太郎、原田美由紀、平田哲也、廣田泰、甲賀かをり、大須賀穰、藤井知行. 当院における軟性・硬性子宮鏡を用いた外来小手術の症例検討. 第 58 回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会 2018.

甲賀かをり、金谷真由子. 女性外科医を活躍させるためには? - 学会・医育機関が取り組むべきことを考える. 第 58 回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会 2018.

金谷真由子、泉玄太郎、宮下真理子、平野茉来、原口広史、森嶋かほる、山本直子、高村将司、原田美由紀、平田哲也、廣田泰、甲賀かをり、平池修、藤井知行、大須賀穰. Endometriosis Fertility Index を用いた子宮内膜症性卵巣嚢胞切除術後の妊娠予後評価. 第 39 回日本エンドメトリオーシス学会学術集会 2018.

金谷真由子、能瀬さやか、高橋優、鍊石和明、松本玲央奈、中澤明里、平野茉来、森嶋かほる、原田美由紀、平池修、藤井知行、大須賀穰. 女性アスリート外来の開設. 第 32 回日本女性医学学会学術集会 2017

[図書](計 2 件)

金谷真由子、廣田泰. 臨床医のための最新産科婦人科（子宮筋腫に対するウリプリスタール治療）先端医療技術研究所、249 ページ、2017 年

金谷真由子、甲賀かをり. 女性内分泌クリニカルクエスチョン（異常出血の FIGO 分類）. 診断と治療社、232 ページ、2017 年

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：廣田 泰

ローマ字氏名 : (HIROTA, Yasushi)

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。