

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16774

研究課題名（和文）Wnt/ β -catenin経路阻害剤を子宮内膜症治療に応用する研究課題名（英文）Applying Wnt/ β -catenin pathway inhibitors for the treatment of endometriosis

研究代表者

平川 東望子（Tomoko, Hirakawa）

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20516132

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）：CREB-binding protein (CBP) / β -catenin阻害剤であるICG-001とC-82を用いて子宮内膜症治療薬への応用を検討した。子宮内膜症間質細胞について β -cateninとCBP/P300との結合を免疫沈降により確認した。ICG-001とC-82を投与し、コラーゲンゲル収縮を有意に抑制し、癒痕形成抑制効果を認めた。ICG-001・C-82は細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導し、細胞遊走能は抑制された。線維化に關与する α -SMAはICG-001・C-82投与にて発現が抑制された。ICG-001は子宮内膜症モデルマウスにおいて子宮内膜症病変の縮小効果を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮内膜症は生殖可能年齢女性において罹患頻度が高く、月経困難症や不妊の原因となる。また日本人に多いとされる卵巣明細胞癌の発生母地となることも知られている。本研究成果はCREB-binding protein (CBP) / β -catenin阻害剤であるICG-001とC-82が子宮内膜症治療の有望な選択肢であることを示した。女性のヘルスケアの観点からも、婦人科腫瘍の観点からも臨床的に応用可能な治療選択肢を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether ICG-001 and C-82, which are inhibitors of CREB-binding protein (CBP) / β -catenin, could be therapeutic agents for endometriosis. For endometriotic stromal cells, the binding of β -catenin to CBP / P300 was confirmed by immunoprecipitation. Administration of ICG-001 and C-82 significantly suppressed collagen gel contraction and suppressed cicatrization. ICG-001 and C-82 suppressed cell proliferation, induced apoptosis, and suppressed cell migration. The expression of α -SMA involved in fibrosis was suppressed by administration of ICG-001 and C-82. ICG-001 reduced endometriotic lesions in model mice.

研究分野：子宮内膜症

キーワード：子宮内膜症 β -catenin 線維化

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は生殖可能年齢女性において罹患頻度が高く、月経困難症や不妊の原因となる。また日本人に多いとされる卵巣明細胞癌の発生源地となることも知られている。しかしながら、子宮内膜症治療は、ホルモン療法を用いることが多く、ホルモン療法中は妊娠が困難となることからそれらを両立する治療標的の探求が行われている。Wnt/ β -catenin 経路の異常活性化は肝硬変、特発性肺線維症など線維化疾患の原因として知られており、 β -catenin がこの経路において重要な役割を果たすことが知られている。この経路は子宮内膜症の線維化への関与も示唆されている。

β -catenin 経路では、Wnt の刺激により細胞質内で β -catenin が安定化・蓄積し、核内に移行する。転写因子である TCF/LEF や転写共同因子である CBP と結合することにより細胞増殖を誘導する遺伝子などの発現を促進する。Wnt/ β -catenin 経路の異常活性化は癌細胞ではもちろんのこと、肝硬変、特発性肺線維症などの線維化疾患の原因として知られており、この経路を標的とする創薬研究がすすんでいる。ICG、C-82 は β -catenin と CBP の結合を選択的に阻害することにより細胞増殖を抑制する。C-82 は ICG-001 の誘導體である。

2. 研究の目的

子宮内膜症でもほかの線維化を起こす疾患と同様に Wnt/ β -catenin 経路に異常活性化を認めるかどうか確認することを目的とした。さらに、肝硬変治療薬として臨床応用の研究がすすんでいる CREB-binding protein (CBP) / β -catenin 阻害剤である ICG-001 と C-82 を用いて子宮内膜症治療薬への応用の可能性を検討した。

3. 研究の方法

患者から手術前に文書による説明・同意を取得した後、卵巣子宮内膜症性嚢胞間質細胞 (ECSC)、正常子宮内膜間質細胞 (NESC) を採取し培養した。ECSC と NESC それぞれについて β -catenin と CBP/P300 との結合を免疫沈降により確認した。ICG-001 と C-82 をそれぞれ ECSC に投与し、癒痕形成抑制効果 (コラーゲンゲル 3 次元培養法; 創傷治癒、癒痕化研究において広く使用されている。繊維芽細胞が、ゲルを構成しているコラーゲン線維を引き寄せる結果、ゲルが収縮する。

) 細胞増殖抑制効果 (MTT assay・BrdU assay)、アポトーシス誘導効果 (Caspase 3/7 assay・Cell death detection ELISA)、細胞遊走能 (scratch assay)、細胞増殖・アポトーシス・線維化に関連する遺伝子の発現変化 (real time RT-PCR) を評価した。

さらに、ICG-001 の子宮内膜症治療効果を評価するために子宮内膜症モデルマウスを作製した。マウスの腹腔内にマウス子宮を移植することにより内膜症病変を作成し、ICG-001 を投与して子宮内膜症の治療効果を評価した。

動物実験の方法は以下の通りである。卵巣摘出後、エストラジオールを投与し、ドナーマウスの子宮をレシピエントマウスの腹腔内に移植した。子宮内膜症が定着するのを待ち、移植 1 週間後から薬剤投与を開始した。マウスは各群 10 匹ずつ、薬剤なし、ICG-001 10mg/Hg、50mg/Kg、100mg/Hg の四群に分け週 3 回、6 週間投与した。

その後、マウスの腹腔内をくまなく観察し、内膜症病変の個数、重量、生着部位を記録した。

4. 研究成果

ICG-001・C-82 とともにコントロール (NESC) と比較して ECSC ではコラーゲンゲル収縮を有意に抑制し、癒痕形成抑制効果を認めた。また、ICG-001・C-82 は細胞増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した。さらに、細胞遊走能は抑制された。線維化に関与する α -SMA は ICG-001・C-82 投与にて発現が抑制された。ICG-001 は子宮内膜症モデルマウスにおいて子宮内膜症病変の縮小効果を認めた (図 1)。

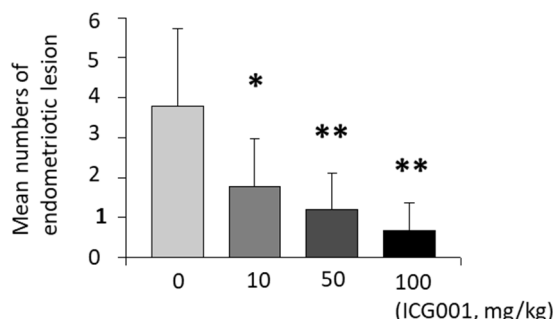


図 1: ICG-001 の子宮内膜症モデルマウスにおける病変縮小効果

蛋白レベルでは β -catenin は子宮内膜症で高発現していた (図 2)。また、CBP と結合する β -catenin も子宮内膜症の方が多くことが明らかになった。この結果、内膜症において β -catenin 経路が促進されており、このことが内膜症の特徴である細胞増殖促進、アポトーシス抵抗性、癒痕化などに関連していると推定された。これらの特徴をブロックすることが内膜症の治療につながると考え、 β -catenin/CBP 阻害剤を投与したところ、細胞増殖抑制、アポトーシス促進、遊走能抑制、癒痕化を示す収縮能は抑制、内膜症病変は縮小し、子宮内膜症の治療効果を認めた (図 3)。

ICG-001 と C-82 は肝硬変治療薬などでの線維化改善効果があきらかになっており、臨床応用に向けて研究がすすんでいる。ICG-001、C-82 とともに子宮内膜症における線維化の改善が期待できる新規薬剤である。今後は肝硬変などでの臨床応用の経過を確認しながら、子宮内膜症においても臨床研究に移行したいと考えている。

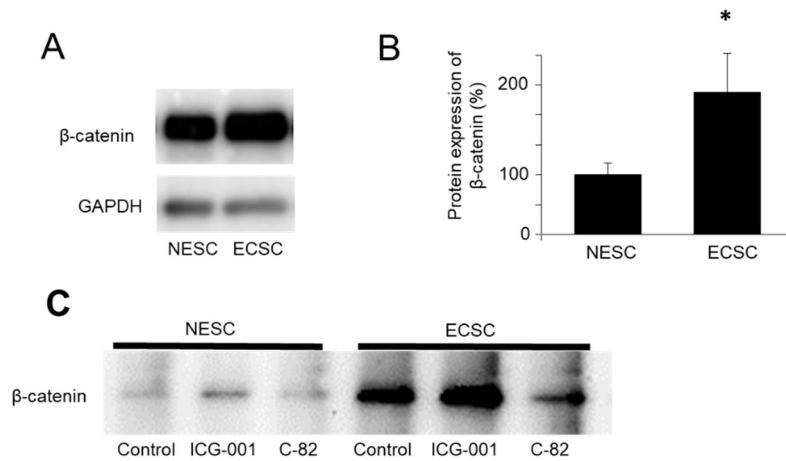


図 2 : 子宮内膜症における β -catenin の発現 (A,B) と ICG-001・C-82 投与後の変化 (C)

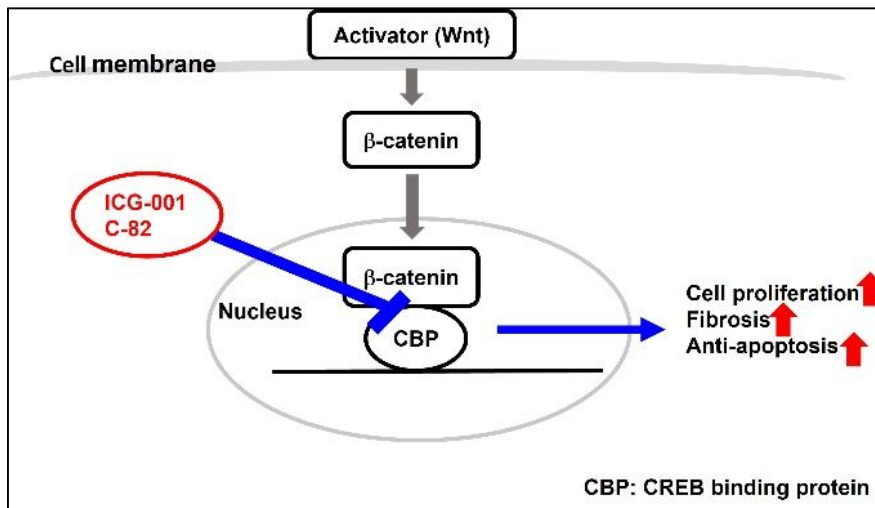


図 3 : 子宮内膜症に対する ICG-001・C-82 の作用機序

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomoko Hirakawa	4. 巻 9
2. 論文標題 -catenin signaling inhibitors ICG-001 and C-82 improve fibrosis in preclinical models of endometriosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific report	6. 最初と最後の頁 20056
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-56302-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平川 東望子
2. 発表標題 子宮内膜症の線維化治療薬としてのCBP/ -catenin阻害剤の効果
3. 学会等名 日本分子形態学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平川 東望子
2. 発表標題 CBP/ -catenin阻害剤は子宮内膜症の線維化を改善する
3. 学会等名 日本生殖医学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------