

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16814

研究課題名(和文) インスリン抵抗性異常を基盤とした子宮内膜脱落膜化不全と産科合併症の発症機序の解明

研究課題名(英文) PPAR gamma regulates decidualization of human endometrial stromal cells via PI3K-Akt-mTOR signaling pathway

研究代表者

尾崎 理恵 (Ozaki, Rie)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：40816708

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)：子宮内膜の脱落膜化は胚の着床・胎盤形成に必須である。脱落膜化不全は、不妊症、不育症、妊娠高血圧症の発症の原因となる。子宮内膜の脱落膜化にはインスリンシグナルが重要であることが分かっているが、その制御機構については未解明である。本研究ではインスリン抵抗性関連遺伝子である、Proliferator-Activated Receptor gamma (PPAR γ)がどのように脱落膜化を制御するか解析した。本研究により、PPAR γ は子宮内膜の脱落膜化制御に重要であり、また、mTORシグナルやPI3K-Aktシグナルといったインスリン刺激伝達に重要な経路を制御していることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の晩婚・晩産化に伴い不妊症・不育症や産科合併症である妊娠高血圧症候群などで治療を要する患者は増加している。不妊症・不育症、妊娠高血圧症候群発症のメカニズムには子宮内膜の脱落膜化不全とその後の胎盤形成不全がある。更に、これらの疾患にはインスリン抵抗性の異常があることが臨床的に指摘されているが、インスリン抵抗性異常と脱落膜化不全の関係は明らかになっていなかった。本研究によりインスリン抵抗性関連遺伝子であるPPAR γ が子宮内膜の脱落膜化を制御することを示した。これにより、インスリン抵抗性改善が子宮内膜脱落膜化を改善しこれらの疾患の治療につながる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Pregnancy critically depends on the transformation of the human endometrium into a decidual matrix that controls embryo implantation and placenta formation. Impaired decidualization results in implantation failure, early pregnancy loss, and preeclampsia. Herein, we elucidated that PPAR gamma, a gene associated with insulin resistance, regulates decidualization of human endometrial stromal cells via PI3K-Akt-mTOR signaling pathway. This suggested the underlying mechanism of infertility and pregnancy losses caused by decidualization failure.

研究分野：産婦人科学

キーワード：不育症 妊娠高血圧症候群 PPARgamma PPARGC1A

1. 研究開始当初の背景

近年、本邦では晩婚・晩産化がすすみ、35歳以上の出産（高齢出産）も一般的となっている。それに伴い、妊娠高血圧症候群、妊娠糖尿病、不妊症といった高齢妊娠に伴う合併症も増加し、生殖補助医療および妊娠合併症の管理を含めた周産期医療の重要性は高まるばかりである。子宮内膜細胞は脱落膜化という現象を経て分化し、妊娠に適した状態に変化する。近年、子宮内膜の脱落膜化現象とその後の胎盤形成の異常は不妊症・不育症、さらには妊娠後の妊娠高血圧症候群などの産科合併症に関わる重要な因子であることが分かってきた。しかし、ブラックボックスである子宮内での胚の着床やその後の妊娠維持の過程は未だ未解明な点が多い。更に、不妊症、不育症、妊娠高血圧症候群の患者はインスリン抵抗性の異常を有することが臨床的に指摘されている。これらにより、インスリン抵抗性の異常を基盤とした子宮内膜の脱落膜化障害・胎盤形成障害が、着床不全や妊娠後の流産や胎盤機能不全を誘導し、妊娠高血圧症候群の発症に寄与することが示唆される。（図1）しかしながら、子宮内の環境である着床・胎盤形成にインスリン抵抗性がどのように関与しているかについては未解明である。

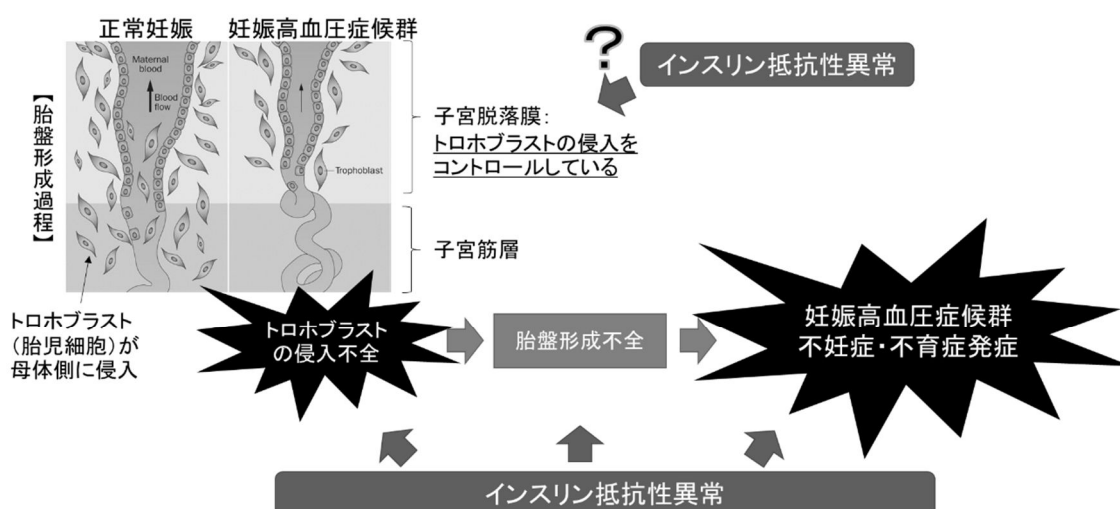


図1. 胎盤形成と妊娠異常

母体内膜は胚の着床前に分化し脱落膜となる。妊娠初期、胎児のトロホプラストは母体の脱落膜に侵入し胎盤を形成する。トロホプラストの侵入不全は妊娠高血圧症候群、不妊症、不育症の発症につながる。トロホプラストの侵入をコントロールする子宮内膜の脱落膜化は、細胞内インスリンシグナルが制御しており、インスリン抵抗性異常による子宮内膜脱落膜化不全がこれらの疾患の原因となっている可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト子宮内膜細胞を用いて体外で子宮内膜を脱落膜化させることにより、インスリン抵抗性と子宮内膜脱落膜化制御の機構を明らかにし、子宮内環境の異常である脱落膜化不全の原因究明を目指す。これにより、インスリン抵抗性を基盤とした不妊症・不育症とその後の産科合併症の発症に及ぶ疾患体系を樹立し、新たな治療手法の開発への貢献が期待できる。

3. 研究の方法

本研究ではインスリン抵抗性の異常が子宮内膜脱落膜化不全に密接に関与しているとの仮説を立案し、非妊娠時のヒト子宮内膜を体外で培養した実験系を用いて、インスリン抵抗性に重要な Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma (PPAR γ) や PI3-kinase、Insulin Receptor Substrate(IRS)、その他インスリン抵抗性関連遺伝子を過剰発現・抑制することにより解明する。

インスリン抵抗性関連遺伝子による子宮内膜脱落膜化の制御機構を解明

インスリン抵抗性の原因とされている遺伝子群には以下のようなものがある。(Table 1) これらの遺伝子を in vitro で制御することで脱落膜化にどのような影響があるか解析する。

Table 1. インスリン抵抗性に関わる遺伝子

Insulin Receptor IRS-1,2,3,4 PI3 kinase	Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) Protein kinase C (PKC) PPAR γ	etc.
---	--	------

ヒト子宮内膜細胞を用いたインスリン抵抗性関連遺伝子の発現および機能解析を以下の方法で行う。

(1) 子宮内膜脱落膜化に伴うインスリン抵抗性関連遺伝子の変化を解析する。

順天堂大学産婦人科で患者に同意を得て子宮内膜組織を採取。

cAMP とプロゲステロンを添加した培養液で内膜細胞を脱落膜化し、細胞を採取。

mRNA、プロテインを抽出し、RT-qPCR 及びウェスタンブロットを用いて、脱落膜化細胞でのインスリン抵抗性関連遺伝子(Table1)の発現変化を解析。

(2) インスリン抵抗性関連遺伝子を薬剤および si RNA を用いて発現を制御し、脱落膜化へどのように影響するか解析する。

siRNA non-targeting (ネガティブコントロール)、各 target 遺伝子の siRNA で内膜細胞を処理。また、インスリン抵抗性改善薬として知られる rosiglitazone (PPAR γ agonist) などを用いて細胞を処理。

cAMP とプロゲステロンを添加した培養液で内膜細胞を脱落膜化し、細胞を採取。

mRNA、プロテインを抽出し、RT-qPCR 及びウェスタンブロットを用いて、ノックダウンおよび過剰発現を確認。

抽出した mRNA、プロテインを用いて脱落膜化マーカー (IGFBP1, PRL, 11BHS1) の発現を解析。

4. 研究成果

(1) インスリン抵抗性関連遺伝子 Proliferator-Activated Receptor gamma (PPAR γ)が子宮内膜脱落膜化に重要であることを解明。

インスリン抵抗性関連遺伝子である PPAR γ を siRNA およびインスリン抵抗性改善薬である pioglitazone を用いて発現抑制および過剰発現させた結果、ヒト子宮内膜の脱落膜化が抑制されることが分かった。以上より PPAR γ はヒト子宮内膜の脱落膜化に制御必須の遺伝子であることが分かった。

(2) PPAR の機能解析

インスリン抵抗性関連遺伝子 PPAR γ がどのように脱落膜化を制御するか RNA-seq を用いて解析した。PPAR γ はヒト子宮内膜細胞において、mTOR シグナルや PI3K-Akt シグナルといったインスリン刺激伝達に重要な経路を制御していることが分かった。これらのインスリン刺激伝達経路が子宮内膜の脱落膜化制御に重要である可能性が示された。

PPAR γ は妊娠高血圧症候群患者の胎盤において特異的に発現が低下することが他の研究で示されている。母体側の子宮内膜細胞にとっても PPAR γ は脱落膜化の制御に重要でありインスリン抵抗性の改善が妊娠高血圧症候群発症予防につながる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Asako Ochiai, Mari Kitade, Keisuke Murakami, Yukiko Okada, Shinichiro Ikuma, Rie Ozaki, Yuko Matsumura, Yu Kawasaki, Atsuo Itakura
2. 発表標題 Effect of pioglitazone on endometrial receptivity: Analysis of insulin signaling in the decidualization of human endometrial stromal cells
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 落合 阿沙子
2. 発表標題 インスリン抵抗性関連遺伝子PPAR はヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化を制御する
3. 学会等名 第64回日本生殖医学会学術講演会
4. 発表年 2019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
---------	---------