

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2007～2009

課題番号：19689034

研究課題名（和文）臨床応用へ向けての子宮内膜・子宮筋幹細胞特異的分子システムの解明

研究課題名（英文）Analysis of Molecular Mechanism of Female Reproductive Organ Tissue Stem Cell Systems for clinical application

研究代表者

梶谷 宇 (KAJITANI TAKASHI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：60407111

研究成果の概要（和文）：子宮内膜・子宮筋幹細胞特異的分子システムの解明を目的に、子宮内膜・子宮筋由来SP(side population、幹細胞特性を持つ細胞集団)細胞と非SP細胞との間で種々の解析を行い、発現に相違の認められる遺伝子群のプロファイルを得た。これらの遺伝子群の発現・機能解析を行い、子宮内膜・子宮筋幹細胞における生理的分子メカニズムの解明や、再生医療に常に付きまとう、使用する細胞の癌化や生理機能低下といった問題の解決へ向けて前進できたと考える。

研究成果の概要（英文）：In this project, we have investigated the molecular mechanisms of the physiological function of the endometrial -and myometrial tissue stem cells, by profiling the specific gene expression pattern of the putative stem cells, and by analyzing each gene's function. The results of this project may solve the some problems for the clinical usage of the stem cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	12,700,000	3,810,000	16,510,000
2008年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	21,100,000	6,330,000	27,430,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：再生医学・幹細胞学・子宮内膜・子宮筋

1. 研究開始当初の背景

細胞染色色素 Hoechst33342 による染色パターンによって、各種細胞は Side Population (SP) 細胞集団とそれ以外の (Main Population, MP)細胞集団とに分割することができ、SP 細胞は高い幹細胞活性を持つことが数多く報告されている。研究代表者の所属研究室では、すでに子宮内膜組織由来 SP 細胞および、子宮筋組織由来 SP 細胞

を分離し、種々の移植実験および *in vitro*での解析により、本 SP 細胞群は組織再構築能・多分化能といった幹細胞的特性の高い細胞集団であることが示唆された。しかしながら、その細胞集団の幹細胞性の維持および分化誘導における分子レベルでのメカニズムに関しては全く不明である。今後、この成体幹細胞システムを生殖器官の疾病および障害の治療へ応用するためには、このような分

子メカニズムの解明が不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では特に、幹細胞特異的に発現する遺伝子群を網羅的に探索し、新規、既知を問わず、特異的遺伝子産物の成体幹細胞における生理的役割を明らかにして、幹細胞性の維持および多分化能との関係を検証することに焦点をしばって研究を行う。

3. 研究の方法

SP細胞群と非SP細胞群との遺伝子発現の差異を検討し、SP細胞群において特異的に発現が誘導あるいは抑制されている遺伝子群、すなわち、新たな幹細胞マーカーおよび幹細胞特性を規定するマスター遺伝子の候補となりうる遺伝子群を探索・同定すべく、子宮内膜・子宮筋由来SP細胞と非SP細胞の間で種々の解析を行い、発現に相違の認められる発現遺伝子群のプロファイルを得る。その後、これらの遺伝子群について、mRNAおよび蛋白質の発現挙動を時空間的に解析する。細胞表面抗原については、それを利用してセルソーティングを行い、幹細胞分離の際のマーカーとして有用かどうかを検討する。

4. 研究成果

子宮内膜組織ならびに子宮筋組織由来のSP / MP細胞群間でマイクロアレイやSubtractive Hybridizationによる解析を行い、SP細胞群において特異的に発現が上昇されている遺伝子群、すなわち、新たな幹細胞マーカーおよび幹細胞特性を規定するマスター遺伝子の候補となりうる遺伝子群の探索・同定を試みたところ、多くの既知・未知の遺伝子がSP細胞群で特異的に発現上昇しているとの予備的データを得た。このうち、特に幹細胞機能に重要と思われる遺伝子をピックアップし、SP / MP細胞群間でRT-PCRによって発現量の差を検討した。その結果、幹細胞特性に関係が深いと思われる遺伝子群幹細胞における機能は未知である表面抗原CD-X(仮称)が、SP細胞において特異的に高発現していることが明らかとなった。特にCD-Xは、内膜組織・筋組織いずれにおいても特異的に高発現しており、子宮内膜、子宮筋共通の幹細胞マーカーであり、かつ、両組織において幹細胞機能を規定するマスター遺伝子である可能性が示唆されたので、まず、CD-Xについて重点的に解析を行うこととした。ヒト子宮組織におけるCD-X発現局在を免疫組織化学的に検討したところ、子宮筋層と子宮内膜の境界部分での発現を確認した。月経周期において子宮内膜の組織

再構築が行われる際、この領域から幹細胞が供給されるものと考えられており、このことからこのデータは前項の仮説を支持するものである。また、両組織において、CD-X陽性細胞は血球系細胞を除いた全生細胞のうち約2%ほどを占めており、FACSによって分離した細胞は一般的に用いられている培養法で培養可能であった。特に、子宮内膜由来のCD-X陽性細胞は、数代にわたり安定的に増殖、継代培養も可能であり、さらに、幹細胞特性の一つであるコロニー形成能、ならびに他系列への分化能という別の幹細胞特性も有していることが明らかとなった。以上より、CD-X遺伝子産物は幹細胞マーカーとして有用であるだけでなく、幹細胞特性を規定する何らかの機能を有している可能性も示唆された。また、CD-X以外の遺伝子群についても、細胞表面抗原Y(仮称)や転写因子Z(仮称)などの発現・機能解析も開始した。転写因子ZのmRNAは子宮内膜SP細胞においては非SP細胞よりも有意に高発現していたが、子宮筋SP細胞と非SP細胞との間には発現量の差異は認められなかった。子宮内膜細胞においてはステロイドホルモン添加による発現量の変化は認められなかった。正常子宮内膜組織においては間質細胞の核に特異的な発現が認められた。現在、転写因子Zの強制発現系を用いて、幹細胞特性への関与を検討しているところである。細胞表面抗原Yに関しては、正常子宮内膜組織においては腺細胞に特異的に発現していることがわかったが、具体的な幹細胞特性への関与は今後解析していく予定である。

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18件)

- 1) Maruyama T, Masuda H, Ono M, Kajitani T, Yoshimura Y; Human uterine stem/progenitor cells: their possible role in uterine physiology. *Reproduction* 2010 in press. 査読有
- 2) Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, Arase T, Oda H, Uchida H, Asada H, Ito M, Yoshimura Y, Maruyama T, Okano H; Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PLoS One* 2010 Apr 28;5(4):e10387. 査読有
- 3) Arase T, Uchida H, Kajitani T, Ono M,

- Tamaki K, Oda H, Nishikawa S, Kagami M, Nagashima T, Masuda H, Asada H, Yoshimura Y, Maruyama T; The UDP-glucose receptor P2RY14 triggers innate mucosal immunity in the female reproductive tract by inducing IL-8. *J Immunol.* 2009 Jun 1; 182(11):7074-7084. 査読有
- 4) Ohta K, Maruyama T, Uchida H, Ono M, Nagashima T, Arase T, Kajitani T, Oda H, Morita M, Yoshimura Y; Glycodelin blocks progression to S phase and inhibits cell growth: a possible progesterone-induced regulator for endometrial epithelial cell growth. *Mol Hum Reprod.* 2008 Jan;14(1):17-22. 査読有
 - 5) Yazawa T, Uesaka M, Inaoka Y, Mizutani T, Sekiguchi T, Kajitani T, Kitano T, Umezawa A, Miyamoto K; Cyp11b1 is induced in the murine gonad by luteinizing hormone/ human chorionic gonadotropin and involved in the production of 11-ketotestosterone, a major fish androgen; conservation and evolution of androgen metabolic pathway. *Endocrinology.* 2008 Apr; 149(4):1786-1792. 査読有
 - 6) Nagashima T, Maruyama T, Uchida H, Kajitani T, Arase T, Ono M, Oda H, Kagami M, Masuda H, Nishikawa S, Asada H, Yoshimura Y; Activation of SRC kinase and phosphorylation of STAT5 are required for decidual transformation of human endometrial stromal cells. *Endocrinology.* 2008 Mar; 149(3): 1227-1234. 査読有
 - 7) Kajitani T, Liu S, Maruyama T, Uchida H, Sakurai R, Masuda H, Nagashima T, Ono M, Arase T, Yoshimura Y; Analysis of serum FSH bioactivity in a patient with an FSH-secreting pituitary microadenoma and multicystic ovaries: A Case Report. *Hum Reprod.* 2008 Feb;23(2):435-439. 査読有
 - 8) 梶谷宇,丸山哲夫,浅田弘法,小野政徳,荒瀬透,小田英之,西川明花,内田浩,吉村泰典; 子宮内膜症・腺筋症由来疼痛に関連する遺伝子の発現解析. *エンドメトリオーシス研究会誌* 2008, 29 91-93. 査読有
 - 9) 丸山哲夫,梶谷宇,小田英之,西川明花,荒瀬透,内田浩,浅田弘法,吉村泰典; 子宮内膜症の病因に関する基礎研究 子宮内膜症関連遺伝子同定のための新しいアプローチ. *エンドメトリオーシス研究会誌* 2008, 29 42. 査読有
 - 10) 升田博隆,丸山哲夫,小野政徳,長島隆,梶谷宇,内田浩,浅田弘法,岡野栄之,松崎有未,吉村泰典; ヒト子宮内膜様幹細胞の同定・分離とその幹細胞特性の機能解析. *日本内分泌学会雑誌* 2008, 84(2) 626-627. 査読有
 - 11) 小野政徳,丸山哲夫,梶谷宇,内田浩,荒瀬透,各務真紀,小田英之,西川明花,升田博隆,長島隆,太田邦明,伊藤守,浅田弘法,岡野栄之,松崎有未,吉村泰典; 妊娠子宮における子宮筋 Side Population 細胞の役割. *日本生殖内分泌学会雑誌* 2008, 13, 25-29. 査読有
 - 12) 浅田弘法,古谷正敬,西尾浩,升田博隆,内田浩,丸山哲夫,梶谷宇,木挽貢慈,吉村泰典; 異所性子宮内膜症. *産婦人科治療* 2008, 96(3), 241-247. 査読有
 - 13) 丸山哲夫,長島隆,梶谷宇,内田浩,吉村泰典; 子宮内膜脱落膜化の機序の解明-チロシンキナーゼ SRC の役割と意義-*産婦人科の実際* 2008, 57(2), 193-198. 査読有
 - 14) Ono M, Maruyama T, Masuda H, Kajitani T, Nagashima T, Arase T, Ito M, Ohta K, Uchida H, Asada H, Yoshimura Y, Okano H, Matsuzaki Y; Side population in human uterine myometrium displays phenotypic and functional characteristics of myometrial stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007 Nov 20;104(47):18700-18705. 査読有
 - 15) Uchida H, Maruyama T, Ohta K, Ono M, Arase T, Kagami M, Oda H, Kajitani T, Asada H, Yoshimura Y; Histone deacetylase inhibitor-induced glycodelin enhances the initial step of implantation. *Hum Reprod.* 2007 Oct;22(10):2615-2622. 査読有
 - 16) Nagashima T, Maruyama T, Furuya M, Kajitani T, Uchida H, Masuda H, Ono M, Arase T, Ozato K, Yoshimura Y; Histone acetylation and subcellular

localization of chromosomal protein BRD4 during mouse oocyte meiosis and mitosis. *Mol Hum Reprod.* 2007 Mar;13(3):1-8. 査読有

- 17) Uchida H, Maruyama T, Ono M, Ohta K, Kajitani T, Masuda H, Nagashima T, Arase T, Asada H, Yoshimura Y; Histone deacetylase inhibitors stimulate cell migration in human endometrial adenocarcinoma cells through up-regulation of glycodeclin. *Endocrinology.* 2007 Feb;148(2):896-902. 査読有
- 18) 丸山哲夫, 升田博隆, 梶谷宇, 小野政徳, 吉村泰典; 子宮内膜と幹細胞. *産科と婦人科*2007, 74, 1635-1643. 査読有

[学会発表](計32件)

- 1) 川田陽子, 島田智恵, 浅田弘法, 杉本昌弘, 平山明由, 阿部しのぶ, 古谷正敬, 内田浩, 浜谷敏生, 丸山哲夫, 梶谷宇, 久慈直昭, 吉村泰典, 曾我朋義, 富田勝; 腹水と血清中における代謝物質の網羅的分析による子宮内膜症特異的な代謝物質の探索. 第31回日本エンドメトリオーシス学会 2010,1.16-17, 京都
- 2) Kajitani T, Maruyama T, Asada H, Yamasaki A, Oda H, Nishikawa S, Uchida H, Yoshimura Y; Up-regulation of 5- and 15-lipoxygenases in endometriosis The 25th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology 2009, 6.28-7.1, Amsterdam, Netherlands
- 3) Ono M, Maruyama T, Kajitani T, Uchida H, Oda H, Nishikawa S, Kagami M, Arase T, Nagashima T, Masuda H, Morikawa S, Mabuchi Y, Okano H, Matsuzaki Y, Yoshimura Y; The Role of uterine smooth muscle stem cells, isolated based on cell surface markers, in myometrial remodeling in the pregnant uterus. Society for Gynecologic Investigation's 55th Annual Scientific Meeting 2009,3.17-21, Glasgow, Scotland
- 4) 西川明花, 丸山哲夫, 梶谷宇, 内田浩, 各務真紀, 小田英之, 宮崎薫, 吉村泰典; FSH 産生下垂体腫瘍症例における卵巣過剰刺激の発症メカニズムの解析. 第55回日本生殖医学会学術講演会 2009,11.21-23, 金沢
- 5) 小野政徳, 丸山哲夫, 梶谷宇, 内田浩, 荒瀬透, 小田英之, 西川明花, 升田博隆, 岡野栄之, 松崎有未, 青木大輔, 吉村泰典; 新しい方法で単離された子宮平滑筋幹細胞の妊娠子宮リモデリングにおける役割. 第61回日本産科婦人科学会学術講演会 2009,4.3-5, 京都
- 6) 梶谷宇, 丸山哲夫, 浅田弘法, 内田浩, 各務真紀, 小田英之, 西川明花, 山崎彰子, 吉村泰典; 子宮内膜症組織におけるリポキシゲナーゼ経路関連遺伝子の発現解析. 第30回日本エンドメトリオーシス学会 2009,1.17-18, 仙台
- 7) 川田陽子, 浅田弘法, 杉本昌弘, 平山明由, 阿部しのぶ, 古谷正敬, 内田浩, 浜谷敏生, 梶谷宇, 丸山哲夫, 吉村泰典, 曾我朋義, 富田勝; CE-TOFMS による子宮内膜症患者腹水のメタボローム解析. 第30回日本エンドメトリオーシス学会 2009,1.17-18, 仙台
- 8) 浅田弘法, 古谷正敬, 梶谷宇, 内田浩, 丸山哲夫, 吉村泰典, 升田博隆, 岸郁子, 田島敏秀, 寺西貴英, 木挽貢慈; 腹腔鏡下ダグラス窩子宮内膜症病巣切除術の定型化と疼痛緩和効果に関する検討. 第30回日本エンドメトリオーシス学会 2009,1.17-18, 仙台
- 9) Asada H, Furuya M, Uchida H, Maruyama T, Kobiki K, Kajitani T, Yoshimura Y; Laparoscopic treatment of rectovaginal endometriosis(Japanese experience). 9th Annual Congress of APAGE 2008,10.9-12, Daegu, Korea
- 10) Masuda H, Maruyama T, Ono M, Kajitani T, Okano H, Yoshimura Y; Isolation and functional analysis of putative human endometrial stem/progenitor cells. The 24th European Society of Human Reproduction and Embryology. 2008, 7.6-9, Barcelona, Spain
- 11) Arase T, Maruyama T, Uchida H, Kajitani T, Ono M, Kagami M, Asada H, Yoshimura Y; UDP-glucose and its receptor P2Y14 as a new innate immune system in the female reproductive tract. Society for Gynecologic Investigation's 55th

- Annual Scientific Meeting.
2008,3.26-29, San Diego, USA
- 12) Uchida H, Maruyama T, Arase T, Ono M, Kajitani T, Kagami M, Oda H, Nishikawa S, Yoshimura Y; N-Cadherin Regulates Epithelio-Mesenchymal Transition and Endometrial Epithelial Cell Dynamics during Human Implantation. Society for Gynecologic Investigation's 55th Annual Scientific Meeting. 2008,3.26-29, San Diego, USA
- 13) Kajitani T, Maruyama T, Asada H, Ono M, Arase T, Kagami M, Oda H, Nishikawa S, Uchida H, Yoshimura Y; Expression analysis of pain-related genes in endometriosis and adenomyosis. 10th World Congress on Endometriosis. 2008,3.11-14, Melbourne, Australia
- 14) Maruyama T, Kajitani T, Oda H, Nishikawa S, Arase T, Kagami M, Ono M, Asada H, Uchida H, Yoshimura Y; Genome-wide approaches for identification of novel endometriosis-associated genes. 10th World Congress on Endometriosis. 2008,3.11-14, Melbourne, Australia
- 15) 荒瀬透, 丸山哲夫, 内田浩, 梶谷宇, 西川明花, 小田英之, 各務真紀, 浅田弘法, 吉村泰典; 子宮内膜における P2RY14 を介した新たな粘膜炎防御機構. 第 23 回日本生殖免疫学会学術集会 2008,12.6-7, 富山
- 16) 升田博隆, 丸山哲夫, 小野政徳, 長島隆, 梶谷宇, 内田浩, 浅田弘法, 岡野栄之, 松崎有未, 吉村泰典; ヒト子宮内膜幹細胞の同定・分離とその幹細胞特性の機能解析. 第 13 回日本生殖内分泌学会 2008,11.29, 大阪
- 17) 小野政徳, 丸山哲夫, 梶谷宇, 内田浩, 荒瀬透, 小田英之, 西川明花, 長島隆, 升田博隆, 馬淵洋, 森川暁, 岡野栄之, 松崎有未, 吉村泰典; 子宮平滑筋幹細胞の新しい分離法とその機能解析. 第 81 回日本内分泌学会学術総会 2008,5.16-18, 青森
- 18) 内田浩, 丸山哲夫, 荒瀬透, 小野政徳, 各務真紀, 小田英之, 西川明花, 梶谷宇, 浅田弘法, 青木大輔, 吉村泰典; ヒト着床モデルにおける epithelial-to-mesenchymal transition -N-cadherin の時期特異的機能関与 -. 第 60 回日本産婦人科学会学術講演会 2008,4.12-15, 横浜
- 19) 荒瀬透, 丸山哲夫, 内田浩, 梶谷宇, 小野政徳, 小田英之, 西川明花, 各務真紀, 浅田弘法, 青木大輔, 吉村泰典; ヒト雌性生殖器官における新しい感染防御システム-G 蛋白共役型受容体 P2Y14 とそのリガンド UDP-glucose-. 第 60 回日本産婦人科学会学術講演会 2008,4.12-15, 横浜
- 20) 太田邦明, 丸山哲夫, 内田浩, 小野政徳, 梶谷宇, 荒瀬透, 森田峰人, 吉村泰典; ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 HC toxin による hCG 分泌および細胞増殖を標的にした絨毛性疾患の制御. 第 60 回日本産婦人科学会学術講演会 2008,4.12-15, 横浜
- 21) 梶谷宇, 丸山哲夫, 浅田弘法, 小野政徳, 荒瀬透, 小田英之, 西川明花, 内田浩, 吉村泰典; 子宮内膜症・腺筋症由来疼痛に関連する遺伝子の発現解析. 第 29 回エンドメトリオーシス研究会 2008,1.19-20, 高知
- 22) 丸山哲夫, 梶谷宇, 小田英之, 西川明花, 荒瀬透, 内田浩, 浅田弘法, 吉村泰典; 子宮内膜症関連遺伝子同定のための新しいアプローチ. 第 29 回エンドメトリオーシス研究会 2008,1.19-20, 高知
- 23) Ono M, Maruyama T, Kajitani T, Uchida H, Masuda H, Nagashima T, Arase T, Ohta K, Asada H, Yoshimura Y; OCT-4 expression in human myometrium. ACOG2007 2007,9.21-25, Tokyo, Japan
- 24) Nagashima T, Maruyama T, Uchida H, Kajitani T, Ono M, Arase T, Kagami M, Ohta K, Asada H, Yoshimura Y; Src kinase activity is essential for decidualization of human endometrial stromal cells. The 23th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology 2007,7.1-4, Lyon, France
- 25) Masuda H, Maruyama T, Nagashima T, Ono M, Kajitani T, Ohta K, Arase T, Kagami M, Asada H, Okano H, Matsuzaki Y, Yoshimura Y;

Reconstruction and in vivo bioluminescence imaging of human endometrium in immunodeficient mice: its potential application as an endometriosis model. The 23th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology 2007,7.1-4, Lyon, France

- 26) 長島隆,丸山哲夫,内田浩,梶谷宇,小野政徳,荒瀬透,各務真紀,浅田弘法,吉村泰典; 核移行転写因子 STAT5 の上流シグナル分子として SRC チロシンキナーゼはヒト子宮内膜脱落膜化を制御する. 第 52 回日本生殖医学会学術講演会 2007,10.25-26, 秋田
- 27) 小野政徳,丸山哲夫,升田博隆,梶谷宇,長島隆,荒瀬透,太田邦明,各務真紀,小田英之,浅田弘法,伊藤守,内田浩,岡野栄之,松崎有未,吉村泰典; ヒト子宮平滑筋成体幹細胞の同定とその機能解析. 第 49 回日本平滑筋学会総会 2007,7.5-6, 奈良
- 28) 梶谷宇,丸山哲夫,浅田弘法,内田浩,升田博隆,長島隆,小野政徳,荒瀬透,各務真紀,太田邦明,吉村泰典; 疼痛関連遺伝子 Nerve Growth Factor の子宮内膜症・腺筋症における発現解析. 第 80 回日本内分泌学会学術総会. 2007,6.14-16, 東京
- 29) 長島隆,丸山哲夫,内田浩,梶谷宇,荒瀬透,小野政徳,各務真紀,吉村泰典; Src キナーゼ活性はヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化に必須である. 第 80 回日本内分泌学会学術総会 2007,6.14-16, 東京
- 30) 升田博隆,丸山哲夫,長島隆,小野政徳,梶谷宇,内田浩,浅田弘法,岡野栄之,松崎有未,青木大輔,吉村泰典; ヒト子宮内膜再生モデルマウスを用いた内膜幹細胞解析システムの開発. 第 59 回日本産科婦人科学会学術講演会 2007,4.14-17, 京都
- 31) 長島隆,丸山哲夫,内田浩,梶谷宇,荒瀬透,小野政徳,各務真紀,太田邦明,青木大輔,吉村泰典; アデノウィルスベクターによる Src チロシンキナーゼを標的にしたヒト子宮内膜脱落膜化の制御. 第 59 回日本産科婦人科学会学術講演会 2007,4.14-17, 京都
- 32) 荒瀬透,丸山哲夫,内田浩,梶谷宇,小

野政徳,長島隆,各務真紀,太田邦明,青木大輔,吉村泰典; 子宮内膜感染防御における G 蛋白共役型受容体 P2Y14/GPR105 の役割. 第 59 回日本産科婦人科学会学術講演会 2007,4.14-17, 京都

〔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

http://www.keio.ac.jp/english/research/atoz_lifesci.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶谷 宇 (KAJITANI TAKASHI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 60407111

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし