

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18630

研究課題名(和文)子宮におけるシクロオキシゲナーゼ2の機能解析

研究課題名(英文)Physiological role of cyclooxygenase 2 in the uterus

研究代表者

金谷 真由子 (Saito-Kanatani, Mayuko)

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

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)：胚が子宮内膜に浸潤する過程である胚浸潤の機構はこれまで明らかでなかった。本研究では胚浸潤に焦点をあて、COX2の子宮特異的ノックアウトマウスを用いて解析を行った。COX2がプロスタグランジンを介して胚浸潤をコントロールしていることを明らかにした。さらに、COX2が誘導するプロスタグランジンが、栄養膜細胞の浸潤能を高め、脱落膜化を促進して胚浸潤を調節していることを明らかにした。本研究により、胚浸潤の過程を調節している子宮因子としてCOX2が存在することが解明できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、子宮特異的なCOX2欠損マウスを用いることでこれまでのマウスモデルの欠点を克服し、着床をコントロールしているCOX2による子宮の脂質機能調節機構の詳細を明らかにした。胚が子宮内膜に着床する過程、特に胚が子宮内膜に浸潤していく過程とそれに関わる脂肪酸をin vivoで解析することを通して、胚浸潤という現象を脂質生化学的に理解することができた。将来的には着床障害の診断治療への応用に繋がる成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of embryo invasion, which is the process that the embryo invades into the endometrium, has not been clarified so far. This study focused on embryo invasion and analyzed using COX2 uterine-specific knockout mice. We revealed that COX2 controls embryo invasion via prostaglandins. Furthermore, we revealed that COX2-induced prostaglandins enhance the invasive capacity of trophoblast cells, and promote decidualization. This study revealed that COX2 is a critical uterine factor that regulates the process of embryo invasion.

研究分野：産婦人科学

キーワード：着床 妊娠 COX2 プロスタグランジン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

体外受精が不妊治療としてごく一般化し、現在では出生児の16人に1人が体外受精によるものになった現在、良好胚を胚移植しても妊娠しない着床障害は不妊治療の残された最後の大きな問題であり、着床障害の機序の解明、新規診断・治療法の確立を目指した基礎研究が必要である。妊娠初期の現象である着床において、プロスタノイドの重要性は以前から指摘されてきたが、それはCOX2が着床に必須であると考えられてきたことに起因する。着床は胚対位、胚接着、胚浸潤の3つの過程に分けられ、各過程で必須の因子が異なる。一方で、COX2が着床のどの過程に参与しているか明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究では、生殖臓器としての子宮の生理的役割、特に着床における機能に深く関与する機能的脂質を選出し、着床障害による不妊症の診断・治療のターゲットを見出すことを目指して研究を行った。特に、胚浸潤という現象に焦点をあて、その異常をきたすCOX2の子宮特異的ノックアウトマウスを用いて、COX2が胚浸潤を調節する機構を明らかにすることを目的に研究を施行した。

3. 研究の方法

子宮全体のCOX2欠損マウス(Ptgs2-floxed/Pgr-Cre (COX2-uKO)マウス)を研究に用いた。妊孕性のある野生型♂マウスと交配させて妊娠の表現型を検討した。排卵、受精、着床前の胚発育、着床、分娩の表現型を調べた。栄養膜細胞株HTR8/SVneo細胞を用いて、プロスタグランジンの浸潤能を調べた。

子宮内膜上皮、子宮内膜間質、子宮全体のStat3欠損マウスとして、Stat3-floxed/Ltf-iCre (Stat3-eKO)、Stat3-floxed/Amhr2-Cre (Stat3-sKO)、およびStat3-floxed/Pgr-Cre (Stat3-uKO)マウスを研究に用いた。着床の表現型を調べた。

4. 研究成果

まず、子宮のCOX2について着床研究を行った。子宮全体のCOX2欠損マウス(Ptgs2-floxed/Pgr-Cre (COX2-uKO)マウス)を用いて研究を行った。妊孕性を確認した野生型雄マウスとCOX2-uKOマウスを交配させて妊娠の表現型を検討した。分娩数の表現型として、COX2-uKOマウスは分娩仔数がコントロールの約4分の1に低下し妊孕性の低下を認め、胚浸潤が障害された。COX2-uKOマウスでは、排卵、受精、着床前の胚発育に異常を認めなかったが、通常Day5午前(腔栓確認日=Day1)に認められる着床部位の子宮内膜間質の血管透過性低下が認められ、通常Day5夕に認められる子宮内膜管腔上皮消失が起こらず、Day6午前において胚の栄養膜細胞が子宮内膜間質へ浸潤しないことが判明した。胚接着部の子宮内膜管腔上皮の消失が起きないことが明らかとなり、子宮内膜間質が胚の栄養膜細胞と直接のコンタクトを取れないため、胚浸潤が起きていない可能性が考えられた。さらに脱落膜化障害が認められた。着床期のCOX2欠損マウス子宮を用いたリポドミクス解析によりプロスタグランジンが著明に低下していた。プロスタグランジンが栄養膜細胞の浸潤能に与える影響をヒト栄養膜細胞株HTR8/SVneo細胞を用いて検討したところ、プロスタグランジンが栄養膜浸潤を促進した。またCOX2-uKOマウスにプロスタグランジンを投与したところ、ヒト子宮内膜間質の脱落膜化と胚浸潤が改善した。以上の結果から、COX2がプロスタグランジンを介して胚浸潤を調節していることが示された。

次に、着床に必須な転写因子STAT3について検討を行った。STAT3は子宮において発現し、胚着床に不可欠であることが知られる。本研究では、胚着床における子宮内膜上皮および間質のSTAT3の役割を調べた。子宮内膜上皮、子宮内膜間質、子宮全体のStat3欠損マウスとして、Stat3-floxed/Ltf-iCre (Stat3-eKO)、Stat3-floxed/Amhr2-Cre (Stat3-sKO)、およびStat3-floxed/Pgr-Cre (Stat3-uKO)マウスを作成した。Stat3-eKOマウスおよびStat3-sKOMausは、子宮内膜への胚接着がなく着床障害をきたした。この結果、子宮内膜上皮および間質の両方のSTAT3が胚接着に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。Stat3-eKOMausの子宮は子宮管腔が入り組んだ構造を示し、着床期に起こる子宮管腔のスリット化が起こらなかったことから、子宮内膜上皮のSTAT3は子宮管腔の形成に関わっていることが示された。一方Stat3-sKOMausの子宮は、着床期の子宮における子宮内膜上皮のエストロゲン応答能亢進と持続的な細胞増殖を示し、子宮内膜の胚受容能における間質STAT3の役割が示唆された。さらに、Stat3-uKOMausは、持続的な子宮内膜上皮の増殖という特徴だけでなく、子宮管腔形態異常という特徴も持っていた。これらの結果から、子宮内膜上皮のSTAT3は着床期の子宮管腔のスリット状態変化を制御し、子宮内膜間質のSTAT3は上皮のエストロゲン応答能と細胞増

殖能を抑制することが示された。本研究により、子宮内膜上皮および間質の STAT3 が異なる経路を介して子宮の胚受容能を調節していることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hiraoka Takehiro, Hirota Yasushi, Fukui Yamato, Gebril Mona, Kaku Tetsuaki, Aikawa Shizu, Hirata Tomoyuki, Akaeda Shun, Matsuo Mitsunori, Haraguchi Hirofumi, Saito-Kanatani Mayuko, Shimizu-Hirota Ryoko, Takeda Norihiko, Yoshino Osamu, Fujii Tomoyuki, Osuga Yutaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Differential roles of uterine epithelial and stromal STAT3 coordinate uterine receptivity and embryo attachment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2020
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-72640-0	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 -

1. 著者名 Akaeda Shun, Hirota Yasushi, Fukui Yamato, Aikawa Shizu, Shimizu Hirota Ryoko, Kaku Tetsuaki, Gebril Mona, Hirata Tomoyuki, Hiraoka Takehiro, Matsuo Mitsunori, Haraguchi Hirofumi, Saito Kanatani Mayuko, Takeda Norihiko, Fujii Tomoyuki, Osuga Yutaka	4. 巻 22
2. 論文標題 Retinoblastoma protein promotes uterine epithelial cell cycle arrest and necroptosis for embryo invasion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e50927
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embr.202050927	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 -

1. 著者名 Matsuo Mitsunori, Hirota Yasushi, Fukui Yamato, Fujita Hidetoshi, Saito-Fujita Tomoko, Kaku Tetsuaki, Gebril Mona, Hirata Tomoyuki, Akaeda Shun, Hiraoka Takehiro, Tanaka Tomoki, Haraguchi Hirofumi, Saito-Kanatani Mayuko, Shimizu-Hirota Ryoko, Takeda Norihiko, Fujii Tomoyuki, Osuga Yutaka	4. 巻 161
2. 論文標題 Levonorgestrel Inhibits Embryo Attachment by Eliminating Uterine Induction of Leukemia Inhibitory Factor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 bqz005
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/endocr/bqz005	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 -

1. 著者名 Sanada Yuko, Harada Miyuki, Kunitomi Chisato, Kanatani Mayuko, Izumi Gentaro, Hirata Tetsuya, Fujii Tomoyuki, Suzuki Nao, Morishige Ken ichirou, Aoki Daisuke, Irahara Minoru, Tsugawa Koichiro, Tanimoto Mitsune, Nishiyama Hiroyuki, Hosoi Hajime, Sugiyama Kazuhiko, Kawai Akira, Osuga Yutaka	4. 巻 45
2. 論文標題 A Japanese nationwide survey on the cryopreservation of embryos, oocytes and ovarian tissue for cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 2021~2028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14073	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 -

1. 著者名 森嶋かほる, 原口広史, 高村将司, 金谷真由子, 平野茉莉, 秋山育美, 能瀬さやか, 原田美由紀, 平田哲也, 廣田泰, 甲賀かをり, 平池修, 大須賀穰, 藤井知行	4. 巻 73
2. 論文標題 腹腔鏡下子宮筋腫核出術の安全性を担保するための最適な筋腫個数に関する検討	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床婦人科産科	6. 最初と最後の頁 701-704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 金谷真由子	4. 巻 63
2. 論文標題 【整形外科医が知るべきスポーツ内科学】女性アスリートの医学的問題と対策	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 整形・災害外科	6. 最初と最後の頁 61-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 石沢千尋, 浦田陽子, 眞壁友子, 原口広史, 矢野倫子, 松尾光徳, 宮下真理子, 金谷真由子, 森嶋かほる, 廣田泰, 大須賀穰, 藤井知行	4. 巻 69
2. 論文標題 子宮粘膜下筋腫に対しGnRHアンタゴニストを使用して多量出血をきたした1例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 東京産科婦人科学会誌	6. 最初と最後の頁 23-28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
連携研究者	廣田 泰 (HIROTA YASUSHI) (40598653)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	

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
---------	---------