

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19604

研究課題名（和文）正常子宮内膜の老化とがん化を分けるメカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism that separates between normal endometrium aging and cancer development

研究代表者

加藤 聖子（Kato, Kiyoko）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：10253527

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,500,000円

研究成果の概要（和文）：我々は子宮内膜が老化によりIL-17RB、IL-6、IL-8、IL-1が増加することを報告した。IL17B/IL17RBシグナルはNF- κ B経路を介してIL6、IL8、IL1を発現した。正常子宮内膜初代培養細胞のオルガノイド形成の検討では、IL-6、IL-8は形成能を増加、IL-1は低下させIL-1のみがSA-gal陽性老化細胞数の割合が増加した。IL-6、IL-8は細胞増殖促進、IL-1はJNK pathwayを介して細胞老化を誘導していた。正常子宮内膜の老化とがん化を分ける作用機序に老化細胞から分泌されるサイトカインの種類が関与していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在日本において晩婚化・晩産化による少子化が問題となっている。この原因として、加齢による卵や子宮内膜の老化による不妊症の増加が挙げられる。また、子宮体癌は罹患率が急増しているが、罹患率は閉経前後より増加してくる。このように加齢による子宮内膜の老化は不妊症や子宮体癌に関与すると考えられる。本研究により子宮内膜は老化により複数の炎症性サイトカインが分泌され、IL-1は細胞老化、IL-6、IL-8は増殖に関与していることが明らかとなった。前者は着床不全、後者はがん化につながると考えられ、本研究の内容は学術的・社会的に意義がある。

研究成果の概要（英文）：We have previously reported that IL-17RB is upregulated in the endometrium during aging. We established an IL-17RB-high expressing cell line and demonstrated that IL17B/IL17RB signaling expresses IL6, IL8, and IL1 through the NF- κ B pathway. Using organoid formation in primary cultures of normal endometrium, we found that IL-6 and IL-8 increased the formation capacity, IL-1 decreased it, and only IL-1 increased the percentage of SA-gal-positive senescent cells. JNK pathway was extracted as the most relevant factor for IL17RB expression. IL-6 and IL-8 promoted cell proliferation and IL-1 induced cell senescence via JNK pathway. These results indicate that the types of cytokines secreted by senescent cells are involved in the mechanism that separates normal endometrium senescence from cancer development.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮内膜 老化 IL-17RB IL-6 IL-8 IL-1 オルガノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮体癌は最近増加しており、その発症数は閉経前後より多くなることが知られている。

子宮体癌の20-30%にKRAS変異があるが、KRAS変異は正常子宮内膜にも報告されている。

我々はこれまでに、正常子宮内膜には幹細胞が存在し、幹細胞にKRAS変異が入った時のみ腫瘍形成能を持つことを報告した(Kato K et al 2007, 2012)。最近、ERKのリン酸化を阻害するdual specificity phosphatase 6 (DUSP6)がEGFR/RAS/ERKの過剰なシグナルによる細胞毒性を回避することが報告された。我々はこのDUSP6が子宮体癌において、幹細胞性維持に重要であることを報告し(Kato M, et al. 2020)、加えてがん幹細胞では脱メチル化により発現が亢進していることを見出している(未発表)。また、老齢マウスの子宮内膜は若年マウスに比べて、細胞周期に關与する遺伝子群の発現の低下やIL-17 Receptor B(IL-17RB)の発現の亢進がみられ、複数の炎症性サイトカインを分泌すること(Tomari H et al. 2020, Kawamura T et al. 2021)を報告した。IL-17RBは様々ながんで発現が亢進しているが、子宮体癌においての報告はない。正常細胞に遺伝子変異が入った場合、その細胞が排除される機構としては、過剰な増殖シグナルによる細胞死誘導や周囲の細胞との細胞競合が知られている。

2. 研究の目的

我々は、子宮内膜は加齢により、幹細胞性が低下し、細胞老化が誘導され、炎症性サイトカインの分泌が増加し、KRASなど遺伝子変異の頻度が増加するが、老化細胞や遺伝子変異を持つ細胞は細胞死や細胞競合で排除される。幹細胞に変異が起きたり、排除機能が低下したりすると異常細胞が蓄積し子宮体癌の発生に繋がるのではないかと考えた。本研究では、我々が同定してきたIL-17RBの観点から、正常子宮内膜の老化とがん化の運命を分けるメカニズムの違いを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) IL-17RB発現が正常子宮内膜に与える影響

不死化ヒト子宮内膜細胞株を用いてIL-17RB高発現細胞株を樹立する。IL-17Bをリガンドとして添加し、下流のシグナル経路やスフェア形成能を解析する。ELISAで培養上清中のSASP関連サイトカインの分泌を検討する。同意を得た患者から採取された正常子宮内膜の初代培養細胞を用いてFACSによりIL-17RB高発現細胞と低発現細胞を分取し、それぞれのRNAシーケンスにより解析を行い、IL-17RB発現により幹細胞性や老化シグナルに変化があるかを検討する。

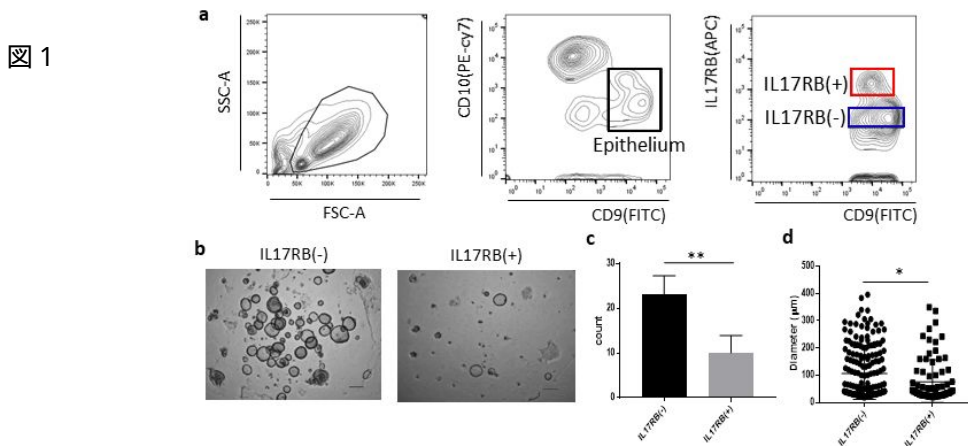
(2) IL-17RB下流で発現する炎症性サイトカインが子宮内膜の細胞老化や増殖に与える影響

同意を得た患者から採取された正常子宮内膜の初代培養細胞を用いてオルガノイド培養を行い、上記で同定された炎症性サイトカインを培養液に添加し、継代によるオルガノイド形成能の変化を解析し子宮内膜への影響を検討する。上記で同定されたシグナル伝達経路にある因子の発現をロックダウンし、子宮内膜への影響を解析する。3)培養液に上記のサイトカインや阻害剤を添加し、不死化正常子宮内膜細胞あるいは初代培養細胞の細胞増殖や細胞老化の効率を解析しそのメカニズムの違いを検討する。

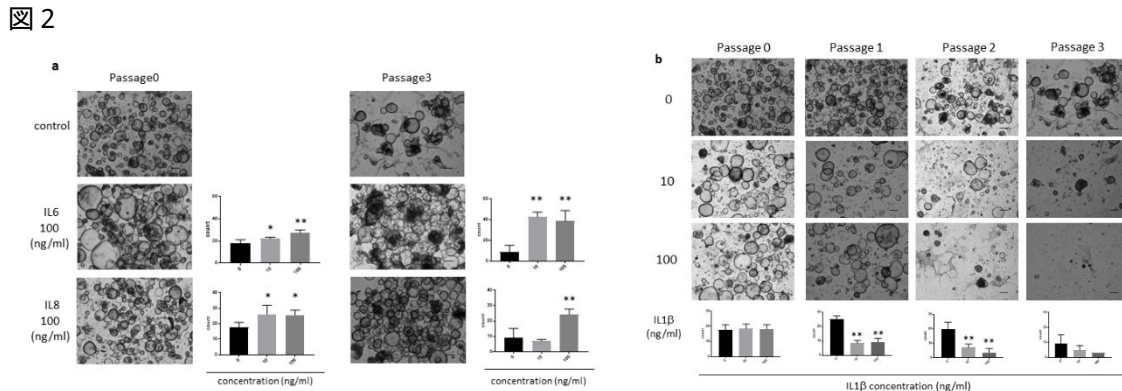
4. 研究成果

(1) IL-17RB発現が正常子宮内膜に与える影響

IL-17B をリガンドとして添加し、下流のシグナル経路を解析したところ、NF- κ B の転写能の亢進、リン酸化の亢進、核への局在化が認められた。SASP 関連サイトカインの発現を検討したところ、IL-6, IL-8, IL-1 mRNA の発現亢進がみとめられた。以上のことより、IL17B/IL17RB シグナルは NF- κ B 経路を介して IL6, IL8, IL1 を発現することが示された。同意を得た患者から採取された正常子宮内膜の初代培養細胞を用いて FACS により IL-17RB 高発現細胞と低発現細胞を分取しオルガノイド形成をみたところ、高発現細胞は低発現細胞に比較し形成能の低下していた(図 1)。

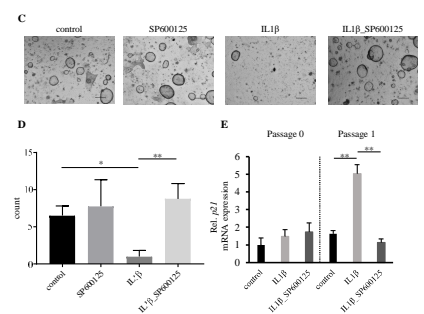


(2) IL-17 RB 下流で発現する炎症性サイトカインが子宮内膜の細胞老化や増殖に与える影響
正常子宮内膜の初代培養細胞のオルガノイド培養液に上記のサイトカインを添加しオルガノイド形成を検討したところ、IL-6, IL-8 は形成能を増加させ、IL-1 は低下させた(図 2)。



また、SA-gal 染色により老化細胞を解析したところ、IL-1 のみか老化細胞数の割合が増加した。また、この IL-17B と IL-1 は抹消のマクファージより分泌されていた。

マウスの RNA シークエンスのデータより IL17RB に最も関連する因子として JNK pathway が抽出された IL1 を hEM 細胞に添加すると、mock 細胞、IL17RB 強制発現細胞共に、時間経過とともに JNK のリン酸化が亢進し、JNK inhibitor である SP600125 を添加することで阻害された。また、IL1 により低下した初代培養細胞のオルガノイド形成も SP600125 の添加により回復した(図 3)。



以上より、老化により発現する IL-17RB のシグナルの下流で発現が増加する SASP 関連サイトカインのうち、IL-6, IL-8 は細胞増殖に関与しがん化に繋がる可能性がある。一方 IL-1 は JNK pathway を介して細胞老化を誘導していた。正常子宮内膜の老化とがん化を分けるメカニズムに老化細胞から分泌されるサイトカインの種類が関与していることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okugawa Kaoru, Yahata Hideaki, Hachisuga Kazuhisa, Tomonobe Hiroshi, Yasutake Nobuko, Kodama Keisuke, Kenjo Hironori, Yagi Hiroshi, Ohgami Tatsuhiro, Yasunaga Masafumi, Onoyama Ichiro, Asanoma Kazuo, Horii Emiko, Ohishi Yoshihiro, Oda Yoshinao, Kato Kiyoko	4. 巻 100
2. 論文標題 Evaluation of Clinical Significance of Lymphovascular Space Invasion in Stage IA Endometrial Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology	6. 最初と最後の頁 195 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000521382	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 Yasutake Nobuko, Iwasaki Takeshi, Yamamoto Hidetaka, Sonoda Kenzo, Kodama Keisuke, Okugawa Kaoru, Asanoma Kazuo, Yahata Hideaki, Kato Kiyoko, Oda Yoshinao	4. 巻 235
2. 論文標題 Cyclin-dependent kinase 8 is an independent prognosticator in uterine leiomyosarcoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathology - Research and Practice	6. 最初と最後の頁 153920 ~ 153920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prp.2022.153920	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 Yahata Hideaki, Kodama Keisuke, Okugawa Kaoru, Hachisuga Kazuhisa, Yasutake Nobuko, Maenohara Shoji, Yagi Hiroshi, Yasunaga Masafumi, Ohgami Tatsuhiro, Onoyama Ichiro, Asanoma Kazuo, Kobayashi Hiroaki, Sonoda Kenzo, Baba Shingo, Ishigami Kousei, Ohishi Yoshihiro, Oda Yoshinao, Kato Kiyoko	4. 巻 165
2. 論文標題 Long-term follow up after sentinel node biopsy alone for early-stage cervical cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 149 ~ 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygyno.2022.01.031	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 Yagi Hiroshi, Onoyama Ichiro, Asanoma Kazuo, Kawakami Minoru, Maenohara Shoji, Kodama Keisuke, Matsumura Yumiko, Hamada Norio, Horii Emiko, Hachisuga Kazuhisa, Yasunaga Masafumi, Ohgami Tatsuhiro, Okugawa Kaoru, Yahata Hideaki, Kato Kiyoko	4. 巻 30
2. 論文標題 Tumor-derived ARHGAP35 mutations enhance the G 13-Rho signaling axis in human endometrial cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Gene Therapy	6. 最初と最後の頁 313 ~ 323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41417-022-00547-1	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 Yasunaga Masafumi, Yahata Hideaki, Okugawa Kaoru, Shimokawa Mototsugu, Maeda Yumiko, Hori Emiko, Kodama Keisuke, Yagi Hiroshi, Ohgami Tatsuhiro, Onoyama Ichiro, Asanoma Kazuo, Kato Kiyoko	4. 巻 61
2. 論文標題 Prognostic impact of adding bevacizumab to carboplatin and paclitaxel for recurrent, persistent, or metastatic cervical cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology	6. 最初と最後の頁 818 ~ 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tjog.2022.06.005	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 Asanoma Kazuo, Yahata Hideaki, Okugawa Kaoru, Ohgami Tatsuhiro, Yasunaga Masafumi, Kodama Keisuke, Onoyama Ichiro, Kenjo Hironori, Shimokawa Mototsugu, Kato Kiyoko	4. 巻 48
2. 論文標題 Impact of obesity on robotic assisted surgery in patients with stage endometrial cancer and a low risk of recurrence: An institutional study <sc>IA</sc>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 3226 ~ 3232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.15434	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 Yahata Hideaki, Kato Kiyoko, Shimokawa Mototsugu, Kawamura Keiko, Shimono Nobuyuki, Kawana Kei, Okamoto Aikou, Aoki Daisuke, Kimura Tadashi	4. 巻 49
2. 論文標題 Study of the effects of in person attendance at academic conferences on the health of the attendees under COVID 19 pandemic	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 1083 ~ 1089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.15626	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 Okugawa Kaoru, Yahata Hideaki, Ohgami Tatsuhiro, Yasunaga Masafumi, Asanoma Kazuo, Kobayashi Hiroaki, Kato Kiyoko	4. 巻 -
2. 論文標題 An update of oncologic and obstetric outcomes after abdominal trachelectomy using the FIGO 2018 staging system for cervical cancer: a single-institution retrospective analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2023.34.e41	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7件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 蜂須賀 一寿, 大石 善丈, 川上 穰, 安武 伸子, 前之原 章司, 小玉 敬亮, 権丈 洋徳, 八木 裕史, 大神 達寛, 安永 昌史, 小野山 一郎, 浅野間 和夫, 矢幡 秀昭, 堀 絵美子, 加藤 聖子, 小田 義直
2. 発表標題 高齢者の子宮体部類内膜癌, G1は若年者と比較し, より侵襲的である
3. 学会等名 第64回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤 聖子
2. 発表標題 産婦人科の未来に向けて ~ 私の子宮体がん発生機構解明への挑戦 ~
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河村 圭子, 藏本 和孝, 詠田 真由, 友延 尚子, 濱田 律雄, 横田 奈津子, 磯邊 明子, 宮崎 順秀, 大石 博子, 加藤 聖子
2. 発表標題 IL17B/IL17RB pathway による子宮内膜老化メカニズムの解明
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Asanoma K, Yagi H, Onoyama I, Kodama K, Kawakami M, Yasutake N, Maenohara S, Yasunaga M, Ohgami T, Okugawa K, Yahata H, Kato K
2. 発表標題 Endometrial Cancer Basic Research 1; BHLHE40 regulates glycolysis and oxidative phosphorylation mediated by a phosphatase-AMPK axis in endometrial cancer cells
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤 聖子
2. 発表標題 子宮内膜をめぐる話題
3. 学会等名 第137回鹿児島県産婦人科医会 第147回鹿児島産科婦人科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 八木 裕史, 川上 穰, 前之原 章司, 小玉 敬亮, 松村 友美子, 小野山 一郎, 淺野間 和夫, 加藤 聖子
2. 発表標題 子宮体癌の進展における Ga13-Rho シグナル経路の役割
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤 聖子
2. 発表標題 女性ヘルスケアの立場から子宮体癌を考える
3. 学会等名 第11回日本婦人科ロボット手術学会（招待講演）
4. 発表年 2022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
---------	---------