

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861313

研究課題名(和文)子宮内膜症の発症・進展におけるストレス応答の関与

研究課題名(英文)Effect of stress response in endometriosis

研究代表者

長谷川 亜希子 (HASEGAWA, AKIKO)

東京大学・医学部附属病院・臨床登録医

研究者番号：50598159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症はホルモン依存性の慢性炎症性疾患である。ドロスピレノン(D)を子宮内膜間質細胞(EuSC)および子宮内膜症間質細胞(EcSC)に投与しEuSCは脱落膜化された。EcSCではDNA合成能が抑制されこの系にプロゲステロンレセプターは関連した。慢性炎症に関連しEcSCにIL17Aを添加しGRO α が亢進した。IL-17A刺激したEcSCは好中球遊走作用を有した。免疫化学染色にてIL17AとGRO α 陽性細胞は上皮直下間質に検出された。子宮内膜症モデルマウスにて早期晩期に分けて好中球除去抗体を投与し早期群で個数減少を認めた。以上より子宮内膜症でのホルモンおよび免疫に着目した病態解明をすすめた。

研究成果の概要(英文)：To investigate the effect of drospirenone(D) on human eutopic endometrial(EuSC) and ectopic(EcSC) endometriotic stromal cells. EuSC and EcSC were treated with D. D induced decidualization in EuSC, and induction was negated by RU486. D reduced DNA synthesis on EcSC, and negated by RU486, but not by aldosterone or mineralocorticoid receptor silencing. To investigate a role of interleukin (IL)-17A in endometriosis. IL17A increased the secretion of Gro α from EcSCs. The conditioned medium of EcSCs stimulated with IL17A attracted neutrophils. On immunostaining, IL17A and Gro α were detected in similar areas of the stroma beneath the epithelium. Fluorescent immunostaining corroborated that MPO-positive neutrophils were also positive for IL17A. In mice endometriosis model, neutrophils were depleted by antiGr1 antibody, either in the early (E) or late (L) stage. The number of endometriotic lesions was significantly less in group E.

研究分野：子宮内膜症

キーワード：子宮内膜症 慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

免疫異常や慢性炎症が子宮内膜症の進展に必要であることが多くのエビデンスから示唆されている。これらの観点から子宮内膜症の病態解明を進めていくことが必要と考えられる。

2. 研究の目的

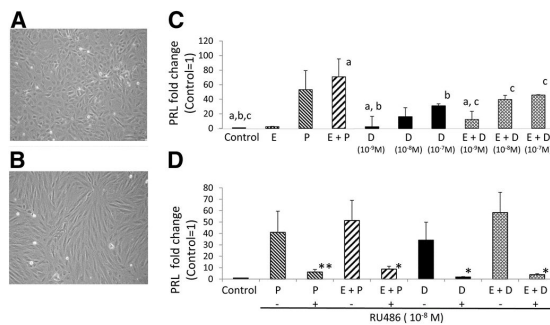
(1) 子宮内膜症の治療にも用いられる低用量ピルはエストロゲン・プロゲステン合剤であるがその成分は徐々に改良されてきている。低用量ピルのヤーズはプロゲステンとしてドロスピレノン(以下D)を配合した新薬であり子宮内膜症の治療効果が証明されているが、その効果はエストロゲンとの合剤としてのものであり単剤での治療効果については詳細不明であるため今回検討した。子宮内膜間質細胞(以下EuSC)および子宮内膜症(以下EcSC)について検討を施行した。

(2) 免疫応答の異常や慢性炎症が子宮内膜症の進展に必要であることが多くのエビデンスから示唆されている。小胞体ストレスは慢性炎症の一因と言われている。また IL-17A は慢性炎症疾患で重要な役割を果たしていることが示唆されているサイトカインであり、主に Th17 から分泌されていると考えられている。以上より子宮内膜症における IL-17A の機能・発現につき検討を施行した。

3. 研究の方法

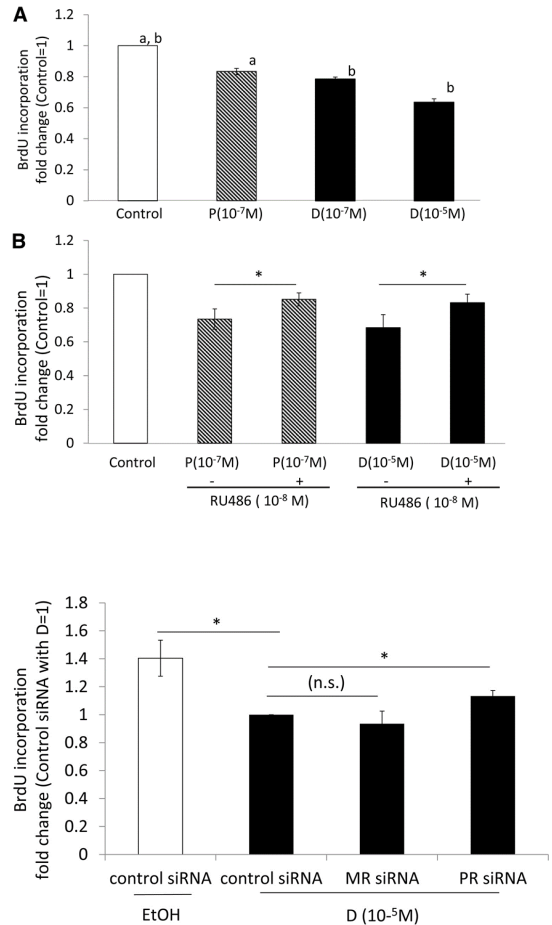
(1)

EuSC に対する D の効果につき検討するため、EuSC に D を 8 日間投与し脱落膜化を鏡視下に形態学的に、またプロラクチン産生を ELISA 法にて確認した。またこの脱落膜化は RU486 の投与にて相殺され、PR を介して作用していることが確認された。



EcSC に対する D の効果につき検討するため、EcSC に D を投与すると BrdU 取込能が低下した。この作用は RU486 で相殺されプロゲステロンレセプターを介していることを確認した。またアルドステロン(A)はミネラルコルチコイドレセプター(MR)に agonist として作用し A 存在下では MR の antagonist として作用することが証明されているが A 投与にて BrdU 取込能に変化はなくこの系に MR は関与していないことが確認された。これらの

レセプターの関連については EcSC に PR siRNA および MR siRNA を transfection させた細胞での実験でも証明された。



(2)

子宮内膜症卵巣嚢胞から採取した培養子宮内膜症間質細胞に IL-17A を添加し得られた mRNA 発現をマイクロアレイ分析にかけると GRO が最も亢進された遺伝子であった。

GRO は好中球ケモカインとして知られておりボイデンチャンパー法を用いて好中球遊走活性を調べた。

子宮内膜症組織における IL-17A、GRO、好中球の分布を免疫組織化学染色にて検討した。好中球マーカーとして好中球エラスターゼを使用した。GRO 陽性細胞は間質細胞であり、IL-17A 分泌細胞は核が分葉しており好中球であることが示唆された。次に IL-17A と好中球マーカーである MPO を使用して二重蛍光免疫染色を施行したところ、二重陽性細胞は上皮直下の間質に検出された。

好中球除去抗体(抗 Gr1 抗体)を用い、マウス子宮内膜症モデルにて検討を施行した。当研究グループにて作成した子宮内膜症モデルマウスに対し、早期除去群、晩期除去群、対照群に分けて好中球除去抗体を投与した

ところ早期除去群では他群に比べて個数、総重量の減少を認めた。

4. 研究成果

(1)

D は子宮内膜間質細胞を脱落膜化させることにより増殖を抑制し子宮内膜症の進展を抑制している可能性が示唆された。

D は EcSC に直接作用してその増殖を抑制していることが証明された。これらのことより D は子宮内膜症間質細胞および子宮内膜間質細胞に直接作用を有することで子宮内膜の進展を抑制することが証明された。

(2)

IL-17A 刺激した子宮内膜症間質細胞上清は対照と比べ多くの好中球遊走作用を有した。

IL-17A による子宮内膜症間質細胞を介した子宮内膜症局所への好中球遊走促進作用が示唆された。

慢性炎症と異常免疫との関連が示唆され子宮内膜症のさらなる病態解明が必要と考えられた。

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2件)

Miyashita M, Koga K, Izumi G, Makabe T, Hasegawa A et al.

Drospirenone induces decidualization in human eutopic endometrial stromal cells and DNA synthesis of human endometriotic stromal cells
Fertility and sterility 2015 Jul; 104(1):217-24
査読有

久保田佳穂里、西森裕美子、細川有美、長谷川亜希子、藤本晃久、森本千恵子、浦田陽子
膣中隔切除術を施行後、患側子宮に自然妊娠した OHVIRA 症候群の1例
東京産科婦人科学会会誌 2014.64 巻 p59-64 査読有

[学会発表](計10件)

土屋富士子、長谷川亜希子、他
AMH を指標とした子宮筋腫核出術が卵巣機能におよぼす影響
日本生殖医学会 2014年12月
細川有美、長谷川亜希子、他
当科における腹腔鏡下卵巣腫瘍手術前後の抗ミューラー管ホルモンの変化についての検討

日本産科婦人科内視鏡学会 2014年9月

廣田泰、長谷川亜希子、他
慢性疼痛を伴う子宮内膜症症例に対する腹腔鏡手術による疼痛改善効果はダグラス窩閉塞を有する症例で高い

日本産科婦人科内視鏡学会 2014年9月
森本千恵子、長谷川亜希子、他
子宮筋腫核出術後造影 MRI による核出部の血流回復の検討

日本産科婦人科内視鏡学会 2014年9月
長谷川亜希子、有田白峰、他
乳頭状充実部分が存在した良性傍卵巣腫瘍の1例

関東連合産科婦人科学会 2014年6月
長谷川亜希子、細川有美、他
大きな子宮筋腫核出を腹腔鏡下に施行する際の当院の工夫

日本内視鏡外科学会 2014年10月
久保田佳穂里、長谷川亜希子、他
膣中核切除術を施行後、患側子宮に自然妊娠した OHVIRA 症候群の1例

東京産科婦人科学会例会 2014年9月
西森裕美子、長谷川亜希子、他
膀胱子宮内膜症を腹腔鏡下に切除した1例

東京産科婦人科学会例会 2015年2月
真壁友子、長谷川亜希子、他
ジエノゲストの副作用に関する検討

日本エンドメトリオーシス学会 2015年1月
真壁友子、長谷川亜希子、他
低用量エストロゲン・プロゲステン配合剤(LEP)の副作用に関する検討

日本エンドメトリオーシス学会 2015年1月

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川亜希子 (HASEGAWA, Akiko)
東京大学医学部附属病院 臨床登録医
研究者番号：50598159

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：