

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24048

研究課題名(和文) 子宮内膜症のPGC-1 を介した伝達経路の解明と分子標的治療の確立

研究課題名(英文) Elucidation of the PGC-1 alpha-mediated pathway of endometriosis and establishment of molecular targeted therapy

研究代表者

片岡 恒 (Kataoka, Hisashi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90849027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：われわれは子宮内膜症の病態形成や増悪に関わるPGC-1 に着目してきた。PGC-1 が作用を示すRXR受容体はPPAR受容体などと共役するが、子宮内膜症においてはRXRはホモダイマー、またモノマーとして働く可能性があることを明らかにした。またPGC-1 は局所の低酸素や低栄養環境でその働きを強め、糖やエネルギー代謝に影響を及ぼして病態の進展に関わる可能性を示した。マウスを用いた実験ではRXRの働きを抑えるHX531が子宮内膜症の個数や重さを減少させることも確認した。これらよりPGC-1 は子宮内膜症において病態形成の中心的役割を果たすこと、HX531は新規治療薬として有用である可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮内膜症は生殖年齢女性の約6-10%が罹患し、骨盤痛や不妊の原因となり生活のQOLを著しく低下させる。その病因は不明な点が多く、また従来の治療では再発のリスクや妊娠希望女性には使いづらいなど、新しい治療法の開発が望まれている。われわれが見出したPGC-1 は子宮内膜症の病態形成に中心的な役割を果たす因子であり、その詳細な検討から子宮内膜症の発症機序や増悪のメカニズムの解明に期待できる。またPGC-1 が共役するRXRの阻害剤を用いることで子宮内膜症の治療につながる可能性を見出した。これらは今までとは違う側面からの新規治療法であり、子宮内膜症の克服への一助となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have focused on the role of PGC-1 in the pathophysiology and progression of endometriosis. It was shown that RXR receptors, which are coactivators with PPAR receptors and other receptors, may act as homodimers and monomers in endometriosis. We also showed that PGC-1 may play a role in the pathophysiology of endometriosis by enhancing its function in local hypoxia and undernutrition, affecting glucogenesis and energy metabolism. In mice, we found that HX531, which suppresses RXR function, reduced the number and weight of endometriotic tissues. These results suggest that PGC-1 plays a central role in the pathophysiology of endometriosis and that HX531 may be useful as a novel therapeutic agent.

研究分野：子宮内膜症

キーワード：PGC-1 低栄養 代謝

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は子宮内膜様組織が卵巣や腹膜、骨盤深部などで異所性に増殖することによって生じる。生殖年齢女性の6-10%が罹患し、骨盤痛や不妊の原因となり生活のQOLを著しく低下させる。子宮内膜症の詳細な病因は明らかではないが、局所のエストロゲン産生、細胞増殖、局所の炎症、抗アポトーシスなどの因子がその進展・増悪に関係すると考えられている。局所のエストロゲン産生は子宮内膜症の病態形成に重要であり、エストロゲン生合成酵素であるアロマターゼの異常高発現により高濃度の局所性エストロゲンが産生される。さらに子宮内膜症間質細胞ではエストロゲンがインターロイキン (IL)-6、IL-8、COX-2 および PGE₂ などの炎症性サイトカインを誘発することで局所の炎症に関わり、また IL-8 はまた子宮内膜症間質細胞の増殖を促進させる。このように局所エストロゲン産生を中心に、その代謝やシグナル伝達の異常が子宮内膜所の進展・維持に重要な役割を果たしている。

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha (PGC-1α) は飢餓や運動といった外的刺激に反応して Retinoid X receptor alpha (RXRα) や Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) などのさまざまな核内受容体と共役し、ステロイドホルモン産生や糖代謝、ミトコンドリア生合成といった働きを司る転写共役因子である。また RXRα は PPARγ やその他の様々な核内受容体と heterodimer を形成し転写活性化因子として働くことがわかっている。その一方で PGC-1α は乳癌や子宮内膜癌などのエストロゲン依存性疾患においても発現が認められるが、同じエストロゲン依存性疾患である子宮内膜症における発現および働きは明らかではなかった。申請者らはこれまでに子宮内膜症組織において PGC-1α が高発現していること、また核内受容体である steroidogenic factor-1 (SF-1) の発現を誘導し、さらにアロマターゼ酵素を活性化し局所のエストロゲン産生にも寄与することを明らかにした。また PGC-1α がステロイドホルモン産生制御だけでなく、子宮内膜症間質細胞の増殖促進や局所の炎症、アポトーシス抵抗性の獲得を誘導し、その結果惹起されたサイトカイン等が再び PGC-1α を誘導させるといった子宮内膜症の病態形成・進展における master gene である可能性を見出した。さらに PGC-1α が共役する核内受容体の一つである RXRα の antagonist がこれらの PGC-1α による作用を抑制することも明らかにした。以上より、PGC-1α と共役する核内受容体やシグナル伝達の制御、核内受容体作動薬の薬理作用と PGC-1α の関連の解析を進めることで、新たな治療戦略の分子基盤の確立が期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は PGC-1α が直接的に共役する受容体の詳細な理解のもと、RXRα や PPARγ などの核内受容体に対する作動薬と PGC-1α の詳細な関連を解明し、子宮内膜症への治療薬としての効果を検証することである。本研究の特徴は、子宮内膜症の病態形成・進展における「PGC-1α を中心とした vicious loop」の存在を提唱し、master gene である PGC-1α をターゲットにした新規治療の可能性を探索することである。本研究によって得られる PGC-1α と核内受容体シグナル伝達経路の解明や、RXRα や PPARγ などの作動薬の詳細な薬理作用と子宮内膜症に対する効果を解明することで、内分泌と炎症の両側面からのアプローチと、より効果的な治療法が開発できる。

3. 研究の方法

PGC-1α が RXRα と共役する核内受容体の同定とシグナル伝達経路の解明

1. PGC-1α による RXRα への作用を明らかにする。PGC-1α 強発現/抑制による RXRα の発現変化をリアルタイム PCR やウェスタンブロット法、免疫染色で検討する。
2. 子宮内膜症において RXRα と heterodimer を形成し、PGC-1α と直接相互作用を示す核内受容体を同定する。申請者らにより RXRα は Nuclear Receptor Half Site (NRHS) の転写活性を調節することが明らかとなった。そこで PPARγ や Estrogen related receptor alpha (ERRα) などの核内受容体の強発現/抑制による NRHS の転写活性の変化をルシフェラーゼアッセイで評価する(図2)。また、PGC-1α や RXRα と NRHS 間の直接的な相互作用の確認についてはクロマチン免疫沈降 (ChIP) やゲルシフトアッセイによって確認する。
3. 子宮内膜症における RXRα や同定された核内受容体のシグナル伝達経路の解析を行う。RXRα や同定された核内受容体を強発現/抑制した際に変動する遺伝子やシグナル伝達経路の解明には DNA microarray を用い、シグナル伝達経路に関わる蛋白の阻害剤を用いて下流遺伝子の発現変化をリアルタイム PCR またはウェスタンブロット法で調べる。
4. PGC-1α の発現制御因子の同定を行う。PGC-1α は様々な外的刺激を伝達しており、これらの因子は子宮内膜症の病理学的発生機序にも重要な役割を果たしている。PGE₂ やサイトカイン添加によって生じる PGC-1α の mRNA、蛋白発現変化を調べる。

RXRα や PPARγ などの核内受容体に対する作動薬の治療効果の検討

1. 子宮内膜症モデルマウスに RXRα や PPARγ 作動薬を投与し、子宮内膜様組織の細胞増殖抑制効果を評価する。

2. 子宮内膜症モデルマウスに RXR α や PPAR γ 作動薬を投与し、マウスの体重変動や脂肪組織量の変化、血糖値の変化などの副作用について評価する。

4. 研究成果

PGC-1 α による RXR α への影響については、強発現、抑制によりその発現には変化を認めなかった。また RXR α と heterodimer を形成する核内受容体としては PPAR γ や PPAR δ/ϵ が知られている。それらへの作動薬 (agonist、antagonist) を投与し、子宮内膜間質細胞への細胞増殖や炎症性サイトカインへの影響を評価したが、antagonist においてもその多くが細胞増殖を促進し、炎症を惹起し、aromatase の発現を促進させた。これらは子宮内膜症の病態を増悪させる可能性がある。またこれらの作動薬は RXR へ交差性がないことから、PGC-1 α が直接的に共役すると考えられる RXR は子宮内膜症においては homodimeric、または monomeric に効果を発揮する可能性が考えられた。さらに motif analysis では RXR の monomer または monomeric receptor の aromatase promoter 領域への結合部位があり、これが子宮内膜症における病態形成の中心的役割を果たす可能性があると考えた。

次に PGC-1 α の発現調節因子の検討を行った。われわれの以前の研究では PGC-1 α は TNF- α によりその発現が増強されることがわかっていたが、その他に自由鉄や低酸素、低栄養環境でもその発現が促進されることが確認された。これらは PGC-1 α が様々な局所環境因子で調節されることを示しており、さらに局所の環境 (代謝やエネルギー産生) に影響を与え、病態を増悪・促進させている可能性が考えられた。そこでまず、PGC-1 α における子宮内膜症の代謝 (糖、脂質、エネルギー) への影響を明らかにするため、metabolome analysis を行った。その結果、PGC-1 α は、特に糖新生と TCA サイクルに影響を及ぼしていることが明らかとなった。次に、代謝に注目し、低栄養環境下における細胞動態を検討した。既に低栄養環境において子宮内膜間質細胞は PGC-1 α の発現を促進させることが明らかであったが、さらに IL-6 などの炎症性サイトカインや BCL-2 などの抗アポトーシス因子の発現も促進された。これらは RXR の antagonist である HX531 で抑制されることから低栄養環境におけるこれらの作用は PGC-1 α を介している可能性が考えられた。

次に、子宮内膜症モデルマウスに RXR α の antagonist である HX531 を投与し、その効果を検討した。マウスに TNF- α を投与することにより腹水中の PGC-1 α 濃度が上昇することを確認し HX531 を腹腔内に投与したところ、TNF- α 投与群では子宮内膜症様組織の個数、重量ともに増加し、HX531 投与群ではその個数、重量ともに減少することが明らかとなった。

これらの知見から、PGC-1 α は局所の炎症の増悪サイクルだけでなく、子宮内膜症という局所的な特殊環境 (低酸素、低栄養) において病態形成の重要な因子として働き、また糖新生や TCA サイクルなど代謝に影響を及ぼし、その vicious loop を形成していることが明らかとなった。In vivo の実験からは HX531 は子宮内膜症治療に有用である可能性が示された。

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 0件）

1. 著者名 Kataoka Hisashi, Mori Taisuke, Okimura Hiroyuki, Matsushima Hiroshi, Ito Fumitake, Koshiba Akemi, Tanaka Yukiko, Akiyama Kanoko, Maeda Eiko, Sugahara Takuya, Tarumi Yosuke, Kusuki Izumi, Khan Khaleque N, Kitawaki Jo	4. 巻 34
2. 論文標題 Peroxisome proliferator-activated receptor- coactivator 1 -mediated pathway as a possible therapeutic target in endometriosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Reproduction	6. 最初と最後の頁 1019 ~ 1029
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/humrep/dez067	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 Mori Taisuke, Ito Fumitake, Koshiba Akemi, Kataoka Hisashi, Takaoka Osamu, Okimura Hiroyuki, Khan Khaleque N., Kitawaki Jo	4. 巻 18
2. 論文標題 Local estrogen formation and its regulation in endometriosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 305 ~ 311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12285	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 片岡 恒	4. 巻 24
2. 論文標題 PGC-1 は子宮内膜症病態形成に関与する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生殖内分泌学会雑誌	6. 最初と最後の頁 9 ~ 11
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 Kokabu Tetsuya, Mori Taisuke, Matsushima Hiroshi, Yoriki Kaori, Kataoka Hisashi, Tarumi Yosuke, Kitawaki Jo	4. 巻 42
2. 論文標題 Antitumor effect of XCT790, an ERR inverse agonist, on ER -negative endometrial cancer cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cellular Oncology	6. 最初と最後の頁 223 ~ 235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13402-019-00423-5	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 Ito Fumitake, Mori Taisuke, Tarumi Yosuke, Okimura Hiroyuki, Kataoka Hisashi, Tanaka Yukiko, Koshiba Akemi, Kitawaki Jo	4. 巻 14
2. 論文標題 Equilin in conjugated equine estrogen increases monocyte-endothelial adhesion via NF- B signaling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1~14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0211462	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 Tarumi Yosuke, Mori Taisuke, Okimura Hiroyuki, Maeda Eiko, Tanaka Yukiko, Kataoka Hisashi, Ito Fumitake, Koshiba Akemi, Kusuki Izumi, Kitawaki Jo	4. 巻 -
2. 論文標題 Interleukin 9 produced by helper T cells stimulates interleukin 8 expression in endometriosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Reproductive Immunology	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) 10.1111/aji.13380	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 Maeda Eiko, Koshiba Akemi, Mori Taisuke, Ito Fumitake, Kataoka Hisashi, Okimura Hiroyuki, Sugahara Takuya, Tarumi Yosuke, Kusuki Izumi, Khan Khaleque N., Kitawaki Jo	4. 巻 7
2. 論文標題 Atherosclerosis-related biomarkers in women with endometriosis: The effects of dienogest and oral contraceptive therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X	6. 最初と最後の頁 100108 ~ 100108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.eurox.2020.100108	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Hisashi Kataoka, Taisuke Mori, Fumitake, Ito, Akemi, Koshiba, Hiroyuki Okimura, Eiko Maeda, Yosuke Tarumi, Takuya Sugahara, Koki Shimura, Izumi Kusuki, and Jo Kitawaki
2. 発表標題 Hepcidin as a key regulator of iron in the pathogenesis of endometriosis and a new biomarker
3. 学会等名 The 71th Annual Congress of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hisashi Kataoka, Taisuke Mori, Izumi Kusuki Khaleque N Khan , Jo Kitawaki
2. 発表標題 Hepcidin promotes iron accumulation and triggers inflammatory features of normal endometrium
3. 学会等名 Asian Conference of Endometriosis (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 片岡 恒	4. 発行年 2020年
2. 出版社 (株)診断と治療社	5. 総ページ数 130
3. 書名 産科と婦人科	

1. 著者名 大須賀穰、甲賀かをり	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 304
3. 書名 子宮内膜症・子宮腺筋症－診断アトラス&新たな治療戦略	

〔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
---------	---------