

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590476

研究課題名(和文)子宮内膜症の病変形成に関わる内膜細胞生存メカニズム

研究課題名(英文)Mechanism of endometrial cell survival in the formation of endometriotic lesion

研究代表者

田村 和広 (Tamura, Kazuhiro)

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70281409

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症は、逆流した月経血中の剥離子宮内膜片が異所性に生着して機能する難治性の疾患である。実験的に作成したマウスでの内膜症病変において、炎症性サイトカインのレベルの上昇を観察した。病変におけるタンパク質解析を行ったところ、タンパク質分解酵素の阻害作用をもつタンパク質のひとつ、アンチトリプシン(1-AT)が顕著に低下していた。この1-ATは、培養内膜細胞において炎症性サイトカインの発現上昇を抑制した。1-ATが過剰な炎症反応に対して抑制作用を示していると考えられ、病変の炎症反応の助長さらに形質が変化した細胞の生存に1-ATレベルの低下が有利に働いていることを示した。

研究成果の概要(英文)：Endometriosis is the intractable disorder characterized by the presence of endometrial tissue outside of the uterine cavity. Distinct endometriosis-like lesions in our experimental internal bleeding mouse model exhibited the expression of high levels of inflammation factors. To identify changes in protein levels in endometriosis-like lesions, protein profile changes were compared with control (no bleeding) mice. Cell lysates from lesions from uOVX and control mice were analyzed by 2-D gel electrophoresis, followed by MALDI-TOF MS. The level of alpha1-antitrypsin (a1-AT) is decreased in lesions from mice that underwent uOVX. In cultured stromal cells, a1-AT inhibited the expression of inflammation and cell survival factors. Reduced a1-AT levels may exacerbate local inflammation, suggesting the possible involvement of a1-AT in the pathophysiology of endometriosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：実験病理学

キーワード：子宮内膜症 炎症 動物モデル アンチトリプシン

1. 研究開始当初の背景

(1) 子宮内膜症は、逆流した月経血中の内膜細胞塊が異所性に生着、増殖して発症すると考えられている。本疾患の現治療薬としては、悪化因子と考えられるエストロゲンの低下をねらった抗ゴナドトロピン作用をもつ性腺刺激ホルモン放出ホルモン放出ホルモン(GnRH)のアゴニストや病巣に対する直接抑制作用をもつプロゲステロン誘導体があるが、治療効果は限られている。再発率は45%と高く、病態生理に基づく新しい根本的治療法が望まれている。疫学的な視点からは、内膜症の発症に日本人女性の晩婚化、出産率低下、高カロリー・高脂質な食生活などによるエストロゲンを主体とした内分泌環境の変化が深く関わっているとみられている。脂質異常症改善薬のスタチン系薬剤が、マウスモデルにて病変を縮小させることが報告されている。最近、内膜症の病変構成細胞は、プログラム化された細胞死(アポトーシス)を起こしにくく、正常細胞と比べてアポトーシスを抑制するタンパク質が高度に発現していることも発表されている。もし、本タンパク質に代表されるような抗アポトーシスシグナル経路がカギを握っているとすれば、この抗アポトーシス機能を抑制することで新たな内膜症治療法(薬)が開発できるはずである。しかし、内膜細胞の異常な生存を許容するシグナルを惹起する因子とこの未知因子が作用した後の細胞内シグナルの全貌は明らかになっていない。したがって、異所性に腹腔内に侵入した内膜細胞が生着して増殖し病変を形成するメカニズム(内膜症病変を形成させる内因性因子とその作用機構)を解析することは、意義深い。

(2) 子宮内膜症の病因の解明や新治療法の検討のため、子宮内膜症の動物モデルを用いた研究が散見される。申請者らもヒト子宮腺細胞株と子宮内膜間質細胞株を使い、内膜症モデルを作成し、内膜症様病変を観察している。そこで、本研究では、正常なヒト子宮構成細胞を移植して腹腔内に転移した内膜細胞がなぜ異所性に生着し増殖するのかという点に注目し、この生着を許容する因子と病巣の拡大に関与している腹腔内因子とそれによる細胞内シグナルの変化を、このヒト内膜細胞移植ヌードマウスモデルと培養ヒト内膜細胞を用いて明らかにする。本研究は、根本的治療薬がない不妊原因疾患の治療につながる基礎研究であり、ヒト子宮内膜症の病変形成に関わる因子の探索とその病態への関わり、また、病変形成・進行に至る細胞内メカニズムを明らかにできると考えた。

2. 研究の目的

(1) 子宮内膜症は子宮内膜組織が腹腔内など

異所性に存在して機能する疾患であり、不妊を招く婦人科領域の重要疾患である。女性ホルモンであるエストロゲンにより悪化し、日本では約13万人(生殖年齢の約5~10%)が罹患している。この内膜症の発症メカニズムとして、逆流した月経血中に含まれる剥がれた子宮内膜の細胞塊が腹腔内や骨盤などに異所性に生着して機能するという移植説が有力である。月経血中には腺細胞、間質細胞、血管内皮細胞、血球細胞が含まれる。この月経血中の内膜細胞は本来、生存できず除去されてしまうが、内膜症患者では、何らかの原因により、腹腔内の内膜細胞が死滅しにくくなるなどの質的变化を伴って腹膜などに生着すると考えられる。加えて、構成細胞の浸潤能の増加、患者の腹腔内での免疫能低下(免疫寛容)などが加わり、内膜症が発症し、進行していくと考えられる。内膜症組織は、月経周期内でのホルモン変動に相応して内膜の増殖や剥離が起こり出血を繰り返しながら、病状が進行する。この繰り返される出血は、症状悪化を招く。病変では出血と共に、炎症反応が誘起されており、痛みや不妊の誘発に炎症反応が大きく関わっている。内膜症患者の腹水においてはプロスタグランジン(PG)E₂やインターロイキン(IL)-8などの炎症性因子の濃度の増加に加え、血中IL-6レベルの上昇が報告されている。

(2) 近年、ヌードマウスにヒト内膜組織片を注入し、内膜症モデルとしてその病態を検討している報告が散見される。卵巣摘出ヌードマウス腹腔内にヒト内膜細胞を注入すると、ゲルに内包された細胞塊が卵巣摘出部位を中心に腹腔内に形成されることを観察している。しかし、このモデルにおいて形成された細胞塊(子宮内膜様病変)の構造は未解析であり、更に、本モデルで形成された病変様細胞塊が、ヒト内膜症の病態の局面を反映しているものなのかは不明である。本実験モデルでは、卵巣摘出に伴った出血または組織の障害が、病変の形成と生化学的变化に影響を及ぼしていることが推察される。申請者らは、病変での炎症性サイトカイン亢進においてプロテアーゼ活性化受容体(Protease activated receptor: PAR)を介する経路が関与している結果を得ている。PAR1、3、4は血液凝固因子であるトロンビンによる細胞外ドメインの切断で活性化され、PAR2は、トリプシンなどによって活性化される。また、PAR1、2、4はテザリガンドの受容体活性化配列であるアミノ酸5~6個からなる合成ペプチドの処置でも活性化される。

(3) 以上のような研究背景を踏まえて、先ず、モデル動物の内膜症様病変組織において

発現量が著しく変化しているタンパク質の同定を行い、次に、本病変の組織の構造と構成細胞の解析、及び、病変でのシグナル伝達系の変化、さらに、*in vitro* 内膜細胞培養系を用いて病変様組織で発現が低下していた γ -アンチトリプシン(γ -AT)のシグナル伝達系と炎症性因子の発現への影響を検討した。シグナル伝達経路としては、特に、細胞生存と関わる the mammalian target of rapamycin (mTOR)シグナル系と内膜症病態との関連性が示唆されている炎症関連因子の発現に関わる NF κ B シグナル系に着目した。

3. 研究の方法

(1) ヒト子宮内膜細胞の培養とヌードマウスへの移植

腺細胞株と間質細胞株の培養：卵巣ステロイド反応性を維持し腫瘍を形成しない特徴をもつヒト子宮内膜腺細胞株(EM1)の培養は、10% ウシ胎仔血清 (FBS)、100 μ g/ml ゲンタマイシン、50 μ g/ml ペニシリン、50 μ g/ml ストレプトマイシン、100 μ g/ml ネオマイシン、250 μ g/ml ファンギゾンを含むダルベッコ改変イーグルメディウム (DMEM) を基本培地として用いた。ヒト子宮内膜間質細胞株 (EtsT499) の培養には10% FBS 及び上述の抗生物質含有 F-12 1:1 混合培地 (10% FBS 含有 DMEM/F-12) を基本培地として用いた。

調製細胞の移植および病変様組織の回収と構成細胞の回収：8週令の雌 BALB/c 系ヌードマウス (BALB/cSlc-nu/nu, 日本エスエルシー) を用いた。腺上皮細胞株 (EM1) と間質細胞株 (EtsT 499) を 2 : 1 で混合後、マトリゲルに分散させた (全量 5×10^6 個/一匹当たり)。調製した細胞分散液は、250 μ l のメディウム中に調製し、同量の高濃度マトリゲルと混合して全量 500 μ l とした。ヌードマウスの背部を切開して、結紮を行わない卵巣摘出術の直後に、卵巣摘出部付近へ注入し移植した。予備実験では、卵巣ステロイド、卵胞ホルモンまたは 黄体ホルモンあるいは合成黄体ホルモンのジエノゲストを週3回、皮下投与した。

培養間質細胞における PAR アゴニスト、EGF、PGE2、 γ -AT、各種阻害薬の処置： 1×10^5 細胞の EtsT499 を 24 穴プレートに播種して 48 時間培養し、1% FBS 含有の培養液に換えた。 γ -AT (0.5 mg/ml、ヒト血漿由来)、PAR1 アゴニスト (トロンピン: 10 U/ml)、PAR2 アゴニスト (PAR2 活性化ペプチド, 30 μ M) を処置し、30 分後にライセートを調製した。PAR アゴニストに加え、EtsT499 は、EGF (50 ng/ml) または PGE2 (0.5 μ M) でも処置した。mTOR 阻害薬の KU0063794、MEK 阻害薬 U0126、MAPK 阻害薬 SB203584、JNK 阻害薬 SP600125 を処置して 30 分後に PAR1/2 アゴニストを処置した。

(2) 病変様組織からの構成細胞の回収とプロテオーム解析

形成された病変様組織を回収した。解剖は、移植 3 日後、さらに、2、5 週間後のいずれかで行い、生着組織の有無とその状態を観察した。3 日後に形成された病変様組織は、プロテオーム解析を行うためセルリカバリーション (BD) を用いて分散、PBS の洗浄後、細胞を可溶化バッファーで溶解した。これらのサンプルは、タンパク質定量 (Bradford 法) 後、プロテオーム解析を実施した。

サンプル前処理：対照群 (非卵巣摘出群) 並びに卵巣摘出群 (OVX 群) のサンプルを高速度遠心し、その上清について 2-D Cleanup kit にて不純物を除去し、膨潤液に再溶解して、タンパク質定量を行った。

二次元電気泳動：30 μ g タンパク質相当量を使用した。12 時間以上膨張した IPG Ready Strip ゲルを所定のプログラムにて一次元目の泳動 (等電点電気泳動) を行った。その後、IPG ゲルを平衡化バッファー A にて、引き続き、平衡化バッファー B にて平衡化した。その後、平衡化した IPG ゲルを 12.5% 自作ゲルにセットし、二次元目の電気泳動 (SDS-PAGE) を行った。泳動後のゲルを SYPRO ルビィにて、染色し、分子イメージ解析装置 FX (Bio-Rad) にて画像を取り込んだ。

発現差異解析：取り込み画像を 16bit TIFF 画像とし、自動解析による歪み補正・スポット検出を行った。検出された 1731 スポットについてその発現変化を解析した。

MALDI-TOF MS による PMF 分析並びに LC-MS/MS によるタンパク質同定：In gel digestion 法を用いて目的タンパク質をペプチドに断片化し、得られた断片ペプチドを質量分析計で検出した。質量分析により得られたペプチドの質量をデータベース検索 (Mascot サーチ) することによりタンパク質を同定した。また、LC-MS/MS 分析では、タンパク質をプロテアーゼ処理して得られた断片ペプチドを逆相 HPLC で分離・濃縮しながらハイブリッド型質量分析計で検出した。質量分析で得られたペプチド質量および質量分析計内でアルゴンガスと衝突させることにより得られたフラグメントイオンのスペクトル (MS/MS データ) をデータベース検索し、タンパク質を同定した。

(3) 免疫染色

摘出組織は、4% パラホルムアルデヒドで固定し、パラフィン包埋切片を調製した。この切片を用いて γ -AT の免疫染色、メチルグリーンによる核染色を行った。 γ -AT の免疫染色においては、脱パラフィン後に、PBS で洗浄後、クエン酸バッファーで抗原の賦活化を行い、内因性パーオキシダーゼを 3% 過酸化水素含有メタノールで、不活化した。切片を 10%

正常ヤギ血清にてブロッキング後、抗 α_1 -AT 抗体とインキュベートした。PBS で洗浄後、ヒストファインシンプルステイン MAX-PO multi (ニチレイ) と反応させ、PBS で洗浄後、3, 3'-ジアミノベンジジン を基質として発色反応を行った。腺と間質細胞の各マーカーであるピメンチンとサイトケラチンの染色も行った。

(4) 培養細胞からの RNA 抽出と RT-PCR 解析
 病変組織に適量の ISOGEN (ニッポンジーン) を加えてホモジナイズし、付属のプロトコルに従ってトータル RNA を抽出した。培養細胞由来 RNA も同様の方法にて回収した。トータル RNA 量を、吸光度 (260 nm) 測定により求め、100 ng の RNA を用いて半定量 RT-PCR またはリアルタイム RT-PCR 解析を行った。半定量 RT-PCR では、PCR 産物はエチジウムブロマイドを含む 1.2 %アガロースゲルを用いて電気泳動し、UV 照射下にて撮影した。

(5) ウェスタンブロット解析
 細胞融解液 (RIPA Buffer) を用いてライセートを調製し、ウェスタンブロット解析に供した。ローディングバッファーを加えて煮沸後、5-20% グラジエント SDS ポリアクリルアミドゲルにて、電気泳動を行った。フッ化ポリビニリデンメンブランに転写し、イムノブロック (DS ファーマバイオメディカル) にてブロッキング後、一次抗体として、抗モノクローナル抗ヒト Native α_1 -AT 抗体、酸化型 α_1 -AT 抗体、抗リン酸化 NF κ B 抗体など各種抗体とインキュベートした。これら抗体と共に 4 晩インキュベートした。TBST [20 mM Tris-HCl (pH 7.5)、0.15 M NaCl、0.1% Tween20] でメンブランを洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ (またはマウス) IgG 抗体と共にインキュベートした。TBST でメンブランを洗浄し、化学発光基質にて発光反応を行った。なお、同メンブランにて他のタンパク質を検出するため、ストリッピング液を用いて脱抗体反応し、上記と同操作を行った。

(6) 統計処理

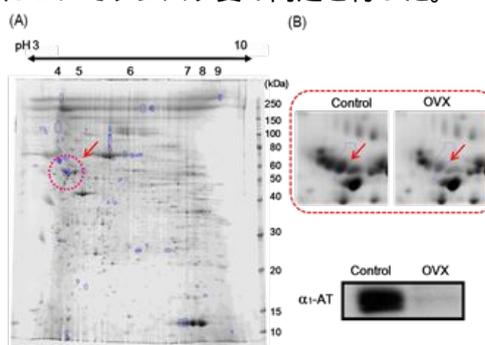
ウェスタンブロットの一部のデータをデンストメトリー解析にて処理、平均値 \pm 標準誤差で表した。各測定値は Tukey-Kramer test により統計処理した。危険率 0.05%以下で有意差ありとみなした。

4. 研究成果

(1) 片側卵巣摘出術 (uOVX) 動物で観察される病変様組織でのタンパク質発現の変化: プロテオーム解析

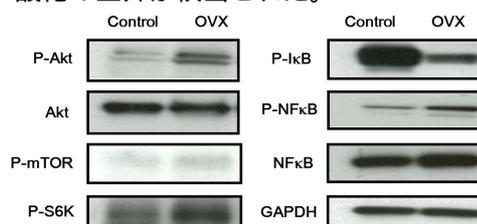
二次元電気泳動で分離したタンパク質 1731 スポットについて、発現差異解析を行った (下図)。対照 (Sham) 群と uOVX 群の各 3 匹から回収した病変様組織由来細胞のライセートをプールしたサンプルを調製した。uOVX 群の病変

様組織由来細胞で、発現が 1/2 以下に低下したスポットが 50 個、また、逆に発現が 2 倍以上に上昇していたスポットが 38 個検出された。このうち、発現差異が極めて明確であり、一定量以上の質量がある 5 つのスポットについてタンパク質の同定を行った。



これらのなかで、上図の赤丸で囲んだ図 B の矢印のタンパク質は、uOVX 群で Control 群 (非 uOVX 対照群) と比べて 2.4 倍レベルが低下していた。このスポット (pI 4.8, 分子量 52 kDa) は、MALDI-TOF MS 分析により、Serpinal serpin peptidase inhibitor clade A (alpha-antitrypsin: α_1 -AT) と推定された。そこで、抗ヒト α_1 -AT 抗体を用いて、ウェスタンブロットを行った結果、対照群では明らかなバンドが検出されたが、uOVX 群ではほとんど認められなかったことから、本タンパク質は、 α_1 -AT であると判断した。なお、Meola らは、内膜症患者の異所性病変において、ダウンレギュレートされている遺伝子として SERPINA1 を同定している。逆に、Ferreno らは、比較的軽度な内膜症患者や妊娠可能な女性と比較して、重度な内膜症患者 (ASRM 段階 III から IV) の患者の腹腔内液中の α_1 -AT は、高値であったと報告している。このように患者サンプルを用いた α_1 -AT レベルの変動の検討結果は一貫性が得られておらず、臨床上的意義は不明である。

(2) uOVX 動物の病変様組織中の Akt, mTOR, NF κ B の活性化及び酸化型 α_1 -AT レベルの変化
 細胞移植の 3 日後に病変様組織を酵素消化してその構成細胞を分離し、細胞内 Akt, mTOR, NF κ B シグナル系の変化を解析した。プールした病変様組織のライセート 10 μ g タンパク質を電気泳動した。OVX 動物のゲル塊由来細胞では、対照群と比べて、Akt, S6 キナーゼのリン酸化の亢進、I κ B リン酸化の低下、NF κ B リン酸化の上昇が検出された。



次に、個体別の病変様組織内のリン酸化 mTOR レベル、さらに、酸化型 α_1 -AT レベルの変化を検討したところ、リン酸化 mTOR レベルは、Control 群に比べて OVX 群において高値を示した (1.0 ± 0.51 vs. 2.9 ± 1.86 , $p < 0.05$)。また、酸化型 α_1 -AT レベルも増加している個体が多かった(有意差なし)。

(3) 病変様組織の構造と内膜細胞の局在、並びに α_1 -アンチトリプシン (α_1 -AT) の局在

移植 3 日後と 5 週間後に摘出された病変様組織像を解析した。

右図(3 日後)に示すように、その組織は卵巣摘出部位周辺にみられた。ヘマトキシリン染色像の解析から、病変様組織の接着部位周辺には、腺様構造がみられた。また、 α_1 -AT を示す染色が観られ、その部位は、間質細胞マーカーであるビメンチン陽性細胞を含んでいた。しかし、上皮細胞はほとんど存在しなかった。顆粒球を示す CD11b 陽性細胞も存在しなかったことから、 α_1 -AT の主な産生源は、間質細胞であると考えられた。なお、腺上皮細胞株と内膜症患者の正所性子宮内膜由来間質細胞の混合分散細胞を移植すると、腺から形成されるヒト病変組織でみられる特徴に類似したのう胞様構造が観察された。この結果は、内膜細胞株のみではヒト内膜症病変に類似した形態学的構造を作成することが不可能であることを示している。



(4) 培養子宮内膜間質細胞の Akt, mTOR, NF κ B シグナルと炎症性因子に及ぼす α_1 -AT の作用

培養間質細胞を PAR1/PAR2 両アゴニストで刺激した際のシグナル経路に及ぼす α_1 -AT の効果を解析したが、mTOR、S6K、NF κ B、Akt のリン酸化レベルは変化がなかった。PAR 処置は、ERK と p38MAPK のリン酸化レベルを増加させたが、 α_1 -AT の効果はなかった。なお、間質細胞での ERK のリン酸化レベルは、MEK 阻害薬、JNK 阻害薬で抑制された。mRNA とタンパク質レベルで α_1 -AT の発現を確認した間質細胞には、PAR1 と PAR2 が発現しており、両アゴニストの併用処置は、各アゴニスト単独よりも相乗的に IL-8 や COX-2 の発現量を上昇させた。 α_1 -AT の効果を PAR アゴニスト存在下で検討したところ、 α_1 -AT 処置は、IL-8 と COX-2 レベルを抑制した。さらに、PAR1 アゴニスト前処置細胞に内膜症悪化に関わる PGE₂ を処置すると、主に EP2 受容体を介して COX-2 発現が上昇し、上皮成長因子 (EGF) を処置すると IL-8 発現が上昇した。これらの亢進は、PAR 刺激下の場合と同様、 α_1 -AT 処置で有意に抑制された。腺細胞株と間質細胞の混合スフェロイド培養でも、トロンピンと PGE₂ で刺

激された COX-2 発現は、 α_1 -AT 処置で抑制傾向にあった。一方、逆に α_1 -AT レベルをノックダウンすると、トロンピンと PGE₂ 誘導性の COX-2 発現は増加した。

(5) まとめ

プロテオーム解析において、内膜症マウスモデルの病変様組織では、 α_1 -AT のタンパク質量が著しく低下した。 α_1 -AT は、SERPINA1 遺伝子にコードされる血中に豊富に存在するセリンプロテアーゼインヒビター活性を有する急性期タンパク質(セルピン)である。主な働きは、炎症部位の活性化した好中球から放出されるプロテアーゼ(主にエラスターゼ)を不活性化することによって組織の障害を保護する。また、病変では 52 kDa 以上のポリマー化した酸化型 α_1 -AT の上昇傾向がみられた。

α_1 -AT はその活性中心にあるメチオニン残基が酸化されると活性を失う。この酸化型はリウマチ性疾患、気管支拡張症患者の血清で増加しており、炎症性疾患での組織の破壊程度を反映する。マクロファージが産生して酸化された α_1 -AT が、血管壁で LDL と結合して動脈硬化の初期病態にも関わり、単球も活性化するという報告もあり、酸化型が単に炎症産物ではなく、炎症反応の修飾因子として機能している可能性も考えられる。なお、内膜症病態では、酸化ストレスの関与も示唆されているが、本実験モデルの病変でも酸化型

α_1 -AT の上昇傾向がみられた。

増殖因子などにより刺激を受けた細胞では、ホスファチジル 3-キナーゼ (PI3K) が活性化され、これが Akt をリン酸化、細胞周期、タンパク質合成、糖代謝などを調節する。この制御の破綻は多くの疾病、例えば、悪性腫瘍、糖代謝異常、自己免疫疾患の原因となることが知られている。この Akt のターゲットの一つでセリン・スレオニンキナーゼである mTOR は、細胞の分裂や生存等の調節に中心的な役割をもつ(PI3K/Akt/mTOR 経路)。内膜症様病変では、 α_1 -AT の低下と共に、Akt、mTOR、S6K、NF κ B のリン酸化の高進がみられた。さらに、NF κ B は、ストレス、IL-1 や腫瘍壊死因子 (TNF α) などのサイトカインにより活性化され、急性・慢性炎症の他、増殖、アポトーシスなどに関わる。NF κ B シグナルの変調は、近年、子宮内膜症の病態でも観察されているが、本マウスモデルでみられた mTOR 並びに NF κ B 系シグナルのアップレギュレーションは、患者病変の特徴を模倣しているようにも思われる。

血中濃度の約 1/2 の濃度の α_1 -AT が、PAR 刺激による IL-8、COX-2 の発現量を抑制した。IL-8 は、血管新生や好中球の遊走を促進して腫瘍の成長を促進する。さらに、IL-8 は間質細胞の過剰な増殖を起こす。一方、PG は内膜生存や病変炎症を助長すると考えられており、

PG 合成経路の異常も内膜症の異所性病変で検出されている。PGE2 または EGF を間質細胞に処置すると、各々 COX-2 と IL-8 の発現量は増加した。これらの効果はトロンビン前処置により、さらに増強されたが、 α_1 -AT はこれらも抑制した。炎症性因子に対する抑制効果は、トロンビン前処置の条件下でも確認でき、PGE2 や EGF による刺激条件下でもみられることから、 α_1 -AT の阻害は、セリンプロテアーゼ活性の抑制作用を介さない未知の機序が関与しているものと推察できる。この機序の解明は、今後の検討課題の一つである。一方、siRNA により内在性 α_1 -AT 発現を低下させた条件下では、COX-2 発現並びに IL-8 発現は上昇した。このことは、間質細胞が産生する内因性 α_1 -AT がこれら炎症性因子の発現上昇に対して、抑制的に機能していると推察できる。子宮内膜症では、月経血中の成分により遺伝的要因を持つ正常子宮内膜細胞が形質転換を起こし、炎症反応を伴って悪化する。 α_1 -AT の低下が炎症反応に抑制的な調節作用をもつことを示した本研究は、内膜症の炎症性病態でのプロテアーゼ系の失調の関与を示唆した。 α_1 -AT が関連するシグナル系は新しい創薬ターゲットになるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Tamura K, Yoshie M, Miyajima E, Kano M, Tachikawa E. (2013) Stathmin regulates hypoxia-inducible factor-1 α expression through the mammalian target of rapamycin pathway in ovarian clear cell adenocarcinoma. *ISRN Pharmacol.*, 2013, 279593

査読有

Shinohara A, Kutsukake M, Takahashi M, Kyo S, Tachikawa E, Tamura K. (2012) Protease-activated receptor-stimulated interleukin-6 expression in endometriosis-like lesions in an experimental mouse model of endometriosis. *J Pharmacol Sci.*, 119, 40–51

査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

Inhibitory action of α_1 -anti-trypsin on proinflammatory cytokine expression in human endometrial stromal cells. Tamura K, Fumoto K, Otsu M, Yoshie M, Kajihara T, Ishihara O, Isaka K, Tachikawa E.

国際内分泌学会議・米国内分泌会議 (2014 年 6 月 ICE/ENDO2014、シカゴ)

乙津 舞好、田村 和広、吉江 幹浩、桑原直子、立川 英一 ヒト子宮内膜間質細胞の機能に及ぼす α_1 -アンチトリプシン発現抑制の効果 第 72 回 西東京内分泌代謝研究会 (2014 年 6 月東京)

麓 恵子、田村 和広、高島 陽香、吉江 幹浩、草間 和哉、沓掛 真彦、立川 英一 卵巣摘出ヌードマウスに移植した子宮内膜細胞の挙動 第 106 回繁殖生物学会大会 (2013 年 9 月東京)

田村 和広、高島 陽香、麓 恵子、沓掛 真彦、吉江 幹浩、立川 英一、梶原 健、内野 聡美、石原 理 ヒト子宮内膜細胞のヌードマウスへの移植で形成される内膜症様病変における α_1 -アンチトリプシン (AAT) レベルの低下と AAT の機能 第 86 回日本内分泌学会学術総会 (2013 年 4 月仙台)

麓 恵子、田村 和広、高島 陽香、沓掛 真彦、吉江 幹浩、立川 英一、井坂 恵一 ヒト子宮内膜細胞における炎症性サイトカイン発現に及ぼす α_1 -アンチトリプシンの作用 日本薬学会第 133 年会 (2013 年 3 月 横浜)

高島 陽香、田村 和広、麓 恵子、沓掛 真彦、吉江 幹浩、立川 英一、井坂 恵一 プロテアーゼ活性化受容体刺激下のヒト子宮内膜間質細胞の炎症因子と mTOR シグナルに及ぼす α_1 -アンチトリプシンの作用 第 70 回 西東京内分泌代謝研究会 (2012 年 12 月東京)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ps.toyaku.ac.jp/wp/shinkeiyakuri/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 和広 (TAMURA Kazuhiro)

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号： 70281409