

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10671

研究課題名(和文) NF- $\kappa$ B活性化分子を標的とした新たな子宮内膜症治療研究課題名(英文) Development of new therapeutic agents for endometriosis: inhibitors of nuclear factor- $\kappa$ B pathway

研究代表者

原田 省 (HARADA, TASUKU)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：40218649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症は慢性炎症性疾患である。本研究では、私達が開発した子宮内膜症マウスモデルを用いてNF- $\kappa$ Bの活性化経路で重要な分子ターゲットとして、子宮内膜症の発生・進展における役割を検討するとともに新規薬剤開発に向けた基盤研究を行った。慢性炎症を模倣した子宮内膜症モデルマウスの病巣組織に炎症関連遺伝子発現を定量した。LPS受容体のToll-like receptor(TLR)4発現、細胞増殖能はKi-67、血管新生はPECAM、T細胞とマクロファージの集簇はCD3とF/80、NF- $\kappa$ Bおよびリン酸化NF- $\kappa$ Bの発現を検出した。天然型NF- $\kappa$ B阻害剤(パルチザン ; Part) 投与の影響をみた。

研究成果の概要(英文)：Local inflammatory reaction in the peritoneal environment is one of the contributing factors in the pathogenesis of endometriosis. In women with endometriosis, the peritoneal fluid (PF) is remarkable for an increased number of activated macrophages and inflammatory factors. We demonstrated the presence of increased levels of pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor (TNF), interleukin (IL)-6, and IL-8 in the PF of patients with endometriosis. The pro-inflammatory cytokines, including TNF and IL-8 released by peritoneal macrophages and endometriotic stromal cells, are upregulated by NF- $\kappa$ B.

研究分野：子宮内膜症

キーワード：子宮内膜症 NF- $\kappa$ B IAP阻害薬

### 1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症に対しては外科療法と薬物療法が行われているが、術後再発率が高いことと副作用が問題となり、より長期的に安全に使用できる薬剤の開発が待たれている。

### 2. 研究の目的

子宮内膜症は慢性炎症疾患である。そこで、炎症の主要な調整因子であるNF- $\kappa$ Bの活性化経路を担う分子を標的とした新しい薬物療法の開発を目指す。本研究では、私どもが開発した子宮内膜細胞(ESC)培養系と子宮内膜症マウスモデルを用いてNF- $\kappa$ Bの活性化経路に属する重要な分子をターゲットとして、子宮内膜症の発生・進展における役割を検討するとともに、新しい治療開発に向けた基盤研究を行う。

### 3. 研究の方法

本研究では、細胞モデルと子宮内膜症マウスモデルを用いて子宮内膜症の発生・進展における役割を検討するとともに新規薬剤開発に向けた基盤研究を行った。慢性炎症を模倣した子宮内膜症モデルマウスの病巣組織における炎症関連遺伝子発現を定量した。LPS受容体のToll-like receptor (TLR) 4発現、細胞増殖能はKi-67、血管新生はPECAM、T細胞とマクロファージの集簇はCD3とF4/80、NF- $\kappa$ Bおよびリン酸化NF- $\kappa$ Bの発現を検出した。天然型NF- $\kappa$ B阻害剤(パルテノライド; Part)投与の影響をみた。

2週間にわたるLPSの少量腹腔内投与は、子宮内膜症病巣の個数とサイズを増加させた。LPS投与により、病巣組織中のTLR4、Ki-67、CD3、F4/80およびPECAMの陽性細胞率は上昇し、NF- $\kappa$ Bおよびリン酸化NF- $\kappa$ Bの染色強度も増強した。また、炎症あるいは疼痛関連遺伝子があるPtgs2、Vegf、Il-6およびCcl2遺伝子の発現が増加した。正所性子宮内膜組織では、LPS投与によりこれらの炎症関連遺伝子発現の影響はみられなかった。LPSによるこれらの効果は、Partの併用投与により抑制されたことから、マウス子宮内膜症病巣形成の過程において、NF- $\kappa$ B経路が重要なシグナル経路であることが示唆された。Part投与が病巣形成や炎症反応を抑制したことから、NF- $\kappa$ Bを標的とした薬物治療がヒト子宮内膜症に応用できる成績を得た。

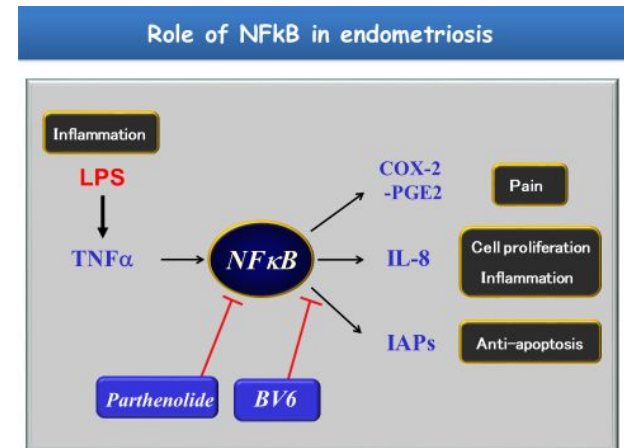
次に、細胞死にかかわる inhibitors of apoptosis protein (IAP) familyとその抑制剤の効果を検証した。LPSを腹腔内投与したのちに、IAP抑制剤であるBV6を腹腔内投与し、Partを対照として子宮内膜症様病巣について検討した。BV6あるいはSR16234投与により、マウスあたりの病巣数、病巣重量および病巣表面積が減少した。LPSにより増加したIl-6、Ccl-2とPtgs-2の遺伝子発現量は、これら両方の薬剤により有意に抑制された。Ki-67陽性細胞比率は低下し、CD3、F4/80およびTLR4発現も低下した。また、病巣におけるNF- $\kappa$ Bおよびリン酸化NF- $\kappa$ Bの発現が抑制された。

マウス子宮内膜症様病巣において、BV6とSR16234は病巣縮小と炎症抑制効果を示した。

### 4. 研究成果

本研究結果から、少量のLPSの投与による腹腔内炎症を模倣したマウス子宮内膜症モデルの作成に成功した。

NF- $\kappa$ B経路を介して抗炎症作用及び細胞増殖抑制作用により、IAP阻害薬・SR16234が新たな子宮内膜症の治療薬となる可能性が示された。



### 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13件)

Inhibition of IAP (inhibitor of apoptosis) proteins represses inflammatory status via nuclear factor-kappa B pathway in murine endometriosis lesions.

Taniguchi F, Uegaki T, Nakamura K, Mon KY, Harada T, Ohbayashi T, Harada T.

Am J Reprod Immunol. 査読有、79巻、2018

SR-16234, a Novel Selective Estrogen Receptor Modulator for Pain Symptoms with Endometriosis: An Open-label Clinical Trial.

Harada T, Ohta I, Endo Y, Sunada H, Noma H, Taniguchi F.

Yonago Acta Med. 査読有、5巻、2018年227-233

Lipopolysaccharide promotes the development of murine endometriosis-like lesions via the nuclear factor-kappa B pathway.

Azuma Y, Taniguchi F, Nakamura K, Nagira K, Khine YM, Kiyama T, Uegaki T, Izawa M, Harada T.

Am J Reprod Immunol. 査読有、77(4)巻、2017

Efficacy and safety of a flexible extended regimen of ethinylestradiol/drospirenone for the treatment of dysmenorrhea: a multicenter,

randomized, open-label, active-controlled study. Momoeda M, Kondo M, Elliesen J, Yasuda M, Yamamoto S, Harada T. Int J Womens Health. 査読有、2 ; 9 巻、2017、295-305

Serum Vascular Endothelial Growth Factor-A as a Prognostic Biomarker for Epithelial Ovarian Cancer.

Komatsu H, Oishi T, Itamochi H, Shimada M, Sato S, Chikumi J, Sato S, Nonaka M, Sawada M, Wakahara M, Umekita Y, Harada T. Int J Gynecol Cancer. 査読有、27 巻、2017、1325-1332

Ethinylestradiol 20 µg/drospirenone 3 mg in a flexible extended regimen for the management of endometriosis-associated pelvic pain: a randomized controlled trial.

Harada T, Kosaka S, Elliesen J, Yasuda M, Ito M, Momoeda M.

Fertil Steril. 査読有、108 巻 2017、798-805  
Efficacy of Norethisterone in Patients with Ovarian Endometrioma.

Taniguchi F, Enatsu A, Ikebuchi A, Yamane E, Moriyama M, Murakami J, Harada T, Harada T.

Yonago Acta Med. 査読有、15 巻、2017 年、182-185

Analysis of pregnancy outcome and decline of anti-Müllerian hormone after

laparoscopic cystectomy for ovarian endometriomas.

Taniguchi F, Sakamoto Y, Yabuta Y, Azuma Y, Hirakawa E, Nagira K, Uegaki T, Deura I, Hata K, Harada T.

J Obstet Gynaecol Res. 査読有、42 巻、2016、1534-1540

Evaluation of an ultra-low-dose oral contraceptive for dysmenorrhea: a placebo controlled, double-blind, randomized trial.

Harada T, Momoeda M.

Fertility and Sterility. 査読有、106 巻、2016、1807-1814

The Impact of Adenomyosis on Women's Fertility.

Harada T, Khine YM, Kaponis A, Nikellis T, Decavalas G, Taniguchi F.

Obstet Gynecol Surv. 査読有、71 巻、2016、557-568

Primary Umbilical Endometriosis: Unusual and Rare Clinical Presentation. Taniguchi F, Hirakawa E, Azuma Y, Uejima C, Ashida K, Harada T.

Case Rep Obstet Gynecol. 査読有、2016

Inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) may be effective therapeutic targets for treating endometriosis.

Uegaki T, Taniguchi F, Nakamura K, Osaki M, Okada F, Yamamoto O, Harada T

Hum Reprod. 査読有、30 巻、2015、149-158  
Current treatment of endometrioma.

Kaponis A, Taniguchi F, Azuma Y, Deura I, Viatas C, Decavalas GO, Harada T

Obstet Gynecol Sur. 査読無、70 巻、2015、183-195

〔学会発表〕(計 9 件)

子宮内膜症に伴う疼痛に対する EE/DRSP 配合剤のフレキシブル処方検討

原田省、小酒さおり、Joerg E、安田匡伸、伊藤良、百枝幹雄

2017 年

第 38 回日本エンドメトリオーシス学会

月経困難症治療に対する患者の治療選好に関する研究

原田省、秋山紗弥子

2017 年

第 69 回日本産科婦人科学会

Advances in medical treatments

Harada T

2017 年

The 13th World Congress on Endometriosis (国際学会)

Long term medical management of endometriosis and adenomyosis.

Harada T

Taiwan Endometriosis Society 2016 Annual Meeting (招待講演)(国際学会)

2016 年 12 月 18 日

台北国際会議中心(台湾)

Lipopolysaccharide Promotes The Development of Murine Endometriosis-like Lesions Via Nuclear Factor-Kappa B Pathway.

Taniguchi F, Azuma Y, Terakawa N,

Harada T

ASRM2016 (国際会議)

2016 年 10 月 16 日 ~ 24 日

ソルトパレスコンベンションセンター(ソルトパレス・米国)

Modern management of infertility for adenomyotic patients.

Harada T

SEUD2016 (招待講演)(国際学会)

2016 年 5 月 12 日 ~ 14 日

フィラ デ バルセロナ(スペイン)

Interventional alternatives to surgery for the treatment of adenomyosis.

Harada T

SEUD2016 (招待講演)(国際会議)

2016 年 5 月 12 日 ~ 14 日

フィラ デ バルセロナ(スペイン)

Long term medical management of endometriosis

Harada T

第 2 回国際子宮内膜症研究会(招待講演)(国際学会)

2016年4月15日～16日  
杭州中囊大酒店(中国)  
Pelvic inflammation via toll-like  
receptor4 promotes the development of  
endometriosis-like lesions in the morine  
model.

Taniguchi Fuminori

American Society For Reproductive  
Medicine2015

2015年10月17日～10月21日  
Baltimore(米国)

〔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 なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

原田 省 (HARADA, Tasuku)  
鳥取大学・医学部・教授  
研究者番号：40218649

### (2) 研究分担者

谷口 文紀 (TANIGUCHI, Fuminori)  
鳥取大学・医学部・准教授  
研究者番号：40322218

伊澤 正郎 (IZAWA, Masao)  
鳥取大学・医学部・特任教授  
研究者番号：50032222