

令和元年6月6日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10734

研究課題名(和文) アンジオテンシン受容体を介した新たな子宮腺筋症の治療戦略

研究課題名(英文) New strategy for the treatment of adenomyosis and endometriosis via angiotensin receptors

研究代表者

千島 史尚 (CHISHIMA, Fumihisa)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：50277414

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症病巣のangiotensin 1(AT1) receptor mRNA発現及びAT1/AT2 receptor 発現比が非子宮内膜症性患者の増殖期子宮内膜に比較し有意に高値であった。子宮内膜症病巣におけるAT1mRNA発現とmPGES-1発現に相関を認めた。

内膜症性嚢胞壁のMAS1 mRNAの発現は非子宮内膜症患者の増殖期正所性内膜と比較して有意に増加していた。MAS1/AT1 mRNA 比は非子宮内膜症患者の正所性内膜と比較して、子宮内膜症患者の正所性内膜で有意に増加した。正所性内膜におけるMAS1/AT1 mRNA比の増加が子宮内膜リモデリングに影響する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮腺筋症、子宮内膜症は、月経困難症や過多月経を呈し罹患女性のライフスタイルに大きな障害を及ぼす。薬物療法としては、子宮腺筋症の出血、疼痛などの症状に対し、プロスタグランジン(PG)合成酵素阻害剤のほか、GnRH agonist, proestrogens, progesterone含有IU D、Low dose estrogen-progesterone(LEP)製剤などが用いられているが、満足のいく治療法は確立されていない。アンジオテンシンレセプターが、子宮内膜症や子宮腺筋症の増殖に関する関与が示唆され、アンジオテンシンレセプターをターゲットとした新たな治療法の開発の糸口となる。

研究成果の概要(英文)：The AT1/AT2 ratio in endometriotic cysts was significantly increased compared with that in the eutopic endometrium in the proliferative phase in controls. There was a relationship between the AT1 mRNA expression and that of mPGES-1 mRNA in the endometriotic cysts. There was a significant relationship between the mRNA expression of the AT2 receptor and that of mPGES-1 in eutopic endometrium of non-endometriotic control.

The MAS1 mRNA levels in ovarian endometriotic tissue were increased significantly regardless of the menstrual cycle phase. The MAS1 mRNA levels were significantly higher in the proliferative-tissues of the endometriosis patients than in those of the controls. The ratio of the MAS1 to the AT1 mRNA in the proliferative-tissues was increased predominantly in the endometriosis patients compared with that in the controls. Renin-angiotensin system may play an important role in the pathophysiology of endometriosis.

研究分野：生殖免疫学

キーワード：子宮腺筋症 子宮内膜症 AT1 AT2 MAS1

1. 研究開始当初の背景

子宮腺筋症は、子宮内膜あるいはその類似細胞が子宮筋層内に生着・増殖する疾患である。月経困難症や過多月経といった症状を呈し罹患女性のライフスタイルに大きな障害を及ぼす。子宮腺筋症は、40～50歳代にかけての経産婦に多いとされるが、我が国の晩婚化、晩産化により子宮腺筋症の好発年齢においても妊孕性の温存が必要となるケースが見受けられる。薬物療法としては、子宮腺筋症の出血、疼痛などの症状に対し、Prostaglandin(PG)合成酵素阻害剤のほか、GnRH agonist, proestrogens, progesterone 含有 IU D、Low dose estrogen-progesterone(LEP)製剤などが用いられるが、満足のいく治療法は確立されておらず、今後妊孕性を低下させずに、副作用が少なく、長期投与が可能な薬剤の開発が望まれる。レニンアンギオテンシン系 rennin-angiotensin system (RAS)は血管の緊張、腎における血行力学、水電解質バランスを調節、血圧を変化させる。近年、RAS系は生殖分野でも注目を集めており、卵胞発育、排卵、血管新生、細胞増殖に関連があるといわれている(F.Z. Marques, 2011)。RAS系の生理活性物質としては1-8の8つのアミノ酸からなるアンジオテンシン(Ang)の生理活性がきわめて高い。この(Ang)からACE2によって、8位のペプチド側から切られたペプチドがAng(1-7)である。Ang(1-7)の受容体であるMas受容体の存在が確認されている。Angは強力な酸化ストレス産生物質だが、ACE2-Ang(1-7)/Mas受容体軸は酸化ストレスを減少する方向に働く。新たな治療法の確立を目指し、子宮腺筋症の発症と進展と、アンギオテンシン系とPG合成系の関わりを解明するため研究を進める。

2. 研究の目的

子宮腺筋症に対する新たな治療法の確立のために、子宮腺筋症の発症と進展と、アンギオテンシン系とPG合成系のかかわりを解明する。正所性子宮内膜及び、子宮腺筋症病巣におけるAngiotensinogen、Angiotensin converting enzyme(ACE)、angiotensin 1(AT1)、angiotensin 2(AT2) receptor、microsomal prostaglandin E synthase-1(mPGES-1)、Cyclooxygenase-2(COX2)の発現をmRNAレベル、蛋白レベルにおいて明らかにする。

3. 研究の方法

子宮腺筋症におけるAngiotensinogen、Angiotensin converting enzyme(ACE)、angiotensin 1(AT1)、angiotensin 2(AT2) receptor、mPGES-1、COX2 mRNA発現 informed consentのもと、当施設で手術を受けた子宮腺筋症の患者を対象とする。内膜症、子宮腺筋症を伴わない手術検体の子宮内膜、子宮筋層組織を陰性対象、正常分娩により得られた胎盤組織を陽性対象とする。子宮内膜については月経時、増殖期、分泌期の各月経周期に分けて検討する。RNAは組織より通常の方法で抽出し、Angiotensinogen、Angiotensin converting enzyme(ACE)、angiotensin 1(AT1)、angiotensin 2(AT2) receptor、mPGES-1、COX2に対するprimerを用いてreal-time RT-PCRでこれらの定量的な解析を行う。免疫組織化学的解析により、AT1、AT2 receptor、mPGES-1の局在を検討する。

また子宮腺筋症モデルである子宮内膜間質細胞の3次元共培養系におけるアンギオテ

ンシン系の invasion に与える影響を検討し、更に CD-1 マウスモデルにおいて angiotensin 受容体拮抗薬(ARB)を投与し、微小血管に対する影響を含めて解析することを計画していたが、子宮腺筋症術前に GnRH agonist などのホルモン療法を施行されたり、患者年齢が生殖年齢をはずれるものが多いため、研究の対象となる子宮腺筋症症例が少なく、その基礎的な代替研究として子宮内膜症において以下の検討を進めることとした。

レニン アンジオテンシン系の一つである Angiotensin II type1 receptor (AT1R)は細胞増殖や血管新生、炎症促進に働く。一方で MAS1 (Angiotensin-1-7 の受容体)は AT1R と相反する作用を示す。子宮内膜症病変に加えて子宮内膜症患者の正所性子宮内膜の MAS1 発現量を検討し、子宮内膜症でのレニン アンジオテンシン系の関与について検討した。

4. 研究成果

- (1) コントロールとなる非子宮腺筋症の正所性子宮内膜において その検討を行い、Angiotensin receptor(AT1, AT2)発現について mRNA および蛋白の産生を確認した。正所性子宮内膜における AT1/AT2 mRNA 発現比と mPGES-1 に相関を認めなかった。
- (2) 子宮腺筋症に関しては、症例数は少ないが、AT1, AT2 蛋白の局在を確認している。
- (3) 子宮内膜症病巣の AT1 receptor mRNA 発現および AT1/AT2 receptor 発現比が非子宮内膜症性患者の増殖期子宮内膜に比較して有意に高値であった。子宮内膜症病巣における AT1 mRNA 発現と mPGES-1 発現に相関を認めた。
- (4) MAS1 は免疫組織学的に腺上皮細胞の先端部分に局在を認めた。子宮内膜症性嚢胞における MAS1 mRNA 発現は、月経周期関係なく亢進していた。内膜症患者の増殖期における MAS1 mRNA 発現は、コントロール群に比較し高値を示した。一方、内膜症性嚢胞壁では MAS1 mRNA と AT1R mRNA に相関を示したが非子宮内膜症患者の正所性内膜と比較して相関は弱かった。MAS1/AT1 mRNA 比では非子宮内膜症患者の正所性内膜と比較して、子宮内膜症患者の正所性内膜で有意に増加していた。この正所性内膜における MAS1/AT1 mRNA 比の増加が子宮内膜リモデリングに影響を与え子宮内膜組織が異所性に増殖する原因となっている可能性が考えられた。

引用文献

Braileanu GT, Simasko SM, Speth RC, Daubert D, Hu J, Miranda MA.: Angiotensin II increases intracellular calcium concentration in pig endometrial stromal cells through type 1 angiotensin receptors, but does not stimulate phospholipase C activity or prostaglandin F2alpha secretion. *Reproduction* 121, 605, 2002

F.Z. Marques, K.Z. Pringle, A Conquest. Molecular characterization of rennin-angiotensin system components in human intrauterine tissues and fetal membranes from vaginal delivery and cesarean section. *Placenta* 2011 ; 32 : 214-221

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

Nakajima T, Chishima E, Nakao T, Chuyu H, Kasuga A, Shinya K, Nakayama T, Azuma H, Ichikawa G, Komatsu A, Yamamoto T, Kawana K. The expression of MAS1, an angiotensin (1-7) receptor, in the eutopic proliferative endometria of endometriosis patients. *Gynecol Obstet Invest.* 2018 83(6):600-607 doi: 10.1159/000490561. 査読有

[学会発表] (計6件)

Takahiro Nakajima, Fumihisa Chishima, Takehiro Nakao, Chuyu Hayashi, Akiko Kasuga, Kaori Shinya, Takuo Nakayama, Hiromitsu Azuma, Go Ichikawa, Atsushi Komatsu, Tatsuo Yamamoto, Kei Kawana: Dominant expression of angiotensin 1-7 receptor (MAS1) in the eutopic endometrium in the endometriosis patients: 第70回日本産科婦人科学会学術講演会、仙台、2018.5

Takahiro Nakajima, Fumihisa Chishima, Nanoko Shoji, Takehiro Nakao, Erina Mato, Hiromitsu Azuma, Chuyu Hayashi, Go Ichikawa, Kenji Sugita, Shinichi Takada, Tatsuo Yamamoto. Kei Kawana. Expression of angiotensin1-7 receptor (MAS1), angiotensin (AT)1, AT2 receptors in endometriotic lesions. 37th Annual meeting, American Society for Reproductive Immunology, Chicago, Illinois, USA 2017.9

Takahiro Nakajima, Fumihisa Chishima, Takehiro Nakao, Erian Kato, Hiromitsu Azuma, Chuyu Hayashi, Go Ichikawa, Kenji Sugita, Shinichi Takada, Tatsuo Yamamoto, Kei Kawana: Tissue remodeling by renin-angiotensin system is uncontrolled in the endometriotic lesion and eutopic endometrium of endometriosis cases: 第69回日本産科婦人科学会学術講演会、広島、2017.4

Takahiro Nakajima, Fumihisa Chishima, Takehiro Nakao, Chuyu Hayashi, Yoichi Aoki, Motomi Yamazaki, Go Ichikawa, Kenji Sugita, and Tatsuo Yamamoto: Prorenin/renin-angiotensin system in local endometriosis lesions. 5th Asian Conference on Endometriosis, Osaka, Japan 2016.9

Fumihisa Chishima, Takehiro Nakao, Takahiro Nakajima, Masahiko Sugitani, Chuyu Hayashi, Manami Suzuki, Go Ichikawa, Kenji Sugita, Tatsuo Yamamoto: Expression of angiotensin receptors in the patients with endometriosis. (Invited plenary) 35th Annual meeting, American Society for Reproductive Immunology, Kingstone, Ontario, Canada 2015.6

Takehiro Nakao, Fumihisa Chishima, Takahiro Nakajima, Masahiko Sugitani, Chuyu Hayashi, Manami Suzuki, Go Ichikawa, Kenji Sugita, Tatsuo Yamamoto: The ratio of AT1/AT2 receptors mRNA expression in local lesions of endometriosis. 35th Annual meeting, American Society for Reproductive Immunology, Kingstone, Ontario, Canada 2015.6

[図書] (計1件)

千島 史尚, 中島 隆広、仲尾 岳大、川名 敬、子宮内膜症におけるレニン-アンジオテンシン系、実践 臨床生殖免疫学 (編集 柴原浩章) 中外医学社、東京、2018

[産業財産権]

出願状況 なし

[その他] なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

○研究分担者氏名：山本 樹生

ローマ字氏名：(YAMAMOTO, Tatsuo)

所属研究機関名：日本大学

部局名：医学部

職名：客員教授

研究者番号：40167721

○研究分担者氏名：梶田 賢司

ローマ字氏名：(SUGITA, Kenji)

所属研究機関名：日本大学

部局名：医学部

職名：兼任講師

研究者番号：30386031

○研究分担者氏名：林 忠佑

ローマ字氏名：(HAYASHI, Chuyu)

所属研究機関名：日本大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号：70625417

○研究分担者氏名：市川 剛

ローマ字氏名：(ICHIKAWA, Go)

所属研究機関名：日本大学

部局名：医学部

職名：兼任講師

研究者番号：80599994