

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09220

研究課題名(和文) 抗炎症性蛋白の機能に着目した子宮頸管熟化抑制機構の解明と早産予防戦略

研究課題名(英文) Development of novel approach for prevention of preterm birth by inhibiting cervical ripening using anti-inflammatory proteins

研究代表者

永松 健 (Nagamatsu, Takeshi)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60463858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、progranulin(PGRN)とsecretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)の2種類の抗炎症性蛋白の子宮頸管の熟化制御への関与を追究し、早産予防・治療に関する新たな知見の獲得を目指した。マウスモデルおよび臨床検体を用いた解析から、頸管、卵膜において、PGRNとSLPIはそれぞれ早産の原因により異なる産生動態を示した。プロゲステロンは両者の誘導因子であるのに対して、炎症の状況ではSLPIだけが発現増強した。抗炎症、抗プロテアーゼはPGRNとSLPIに共通した作用であるが、頸管熟化の制御で両者は個別的役割を担っている可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プロゲステロン作用不全と感染炎症は早産の代表的な背景機序である。しかし、臨床的にその双方を鑑別して治療の個別化に結び付けることはできていない。本研究の結果から妊婦の頸管において、PGRNおよびSLPIは異なる発現制御を受けており、そうした早産の背景原因の鑑別のためのバイオマーカー候補となりうることが示唆された。また特に、SLPIは早産の背景要因に関わらず病的頸管熟化の阻止に働くことが期待でき、子宮頸管熟化抑制という新規の着眼点からの早産治療の候補となりうる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to investigate the involvement of two anti-inflammatory proteins, progranulin (PGRN) and secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI), in the regulation of cervical ripening and to gain new insights for the treatment of preterm birth. Analysis of mouse models of preterm birth and clinical specimens revealed that PGRN and SLPI were produced abundantly at the cervix and fetal membrane. Expression patterns at the cervix were different between PGRN and SLPI depending on the causes of preterm birth. Anti-inflammatory and anti-protease properties are shared among PGRN and SLPI, but they might play distinct roles in the regulation of cervical ripening.

研究分野：周産期医学

キーワード：早産 妊娠 頸管熟化 抗炎症蛋白

1. 研究開始当初の背景

早産は我が国では全妊娠の 5-6%に発生し、出生児に長期的な心身障害を生じる重大な周産期疾患である。最近 20 年の推移で、早産児の予後は向上したが早産の発生率には改善が認められていない。そのため早産抑止のための新たな治療戦略の構築は周産期医療における重要課題である。早産の原因は多様であるが、感染の炎症、妊娠維持に関わるホルモン作用の減弱が主要な要因となる。早産の発症過程では、何らかの原因により子宮局所の炎症が subclinical に持続して子宮頸管の早期熟化を生じ、最終的には子宮口の開大および破水として顕在化して抑制不能な子宮収縮(陣痛)を生じて分娩に至る。経膈超音波法で子宮頸管長を測定して早期の自覚症状の乏しい段階で早産ハイリスク妊婦を検出している。しかし、頸管長短縮のある個々の妊婦の背景要因は多様であり、原因を判別した上で早産防止の個別的な対策を実施することが臨床的には望まれる。

2. 研究の目的

本研究は、子宮頸管の熟化制御に関わる分子生物学的機構を解明し、早産発症の初期段階での背景要因を同定して早産進行を抑止する新規治療戦略構築の足掛かり得ことを目的とした。具体的には progranulin(PGRN)と secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)の 2 種類の生理的抗炎症性蛋白の作用に焦点を置いて研究を進めた。

3. 研究の方法

生理的抗炎症性蛋白の機能異常が頸管熟化の制御の破綻を介して早産を引き起こしているとの仮説を設定して、早産発生機序の異なる 2 種類のマウスモデルを用いた検討と臨床サンプルによる検証を行い PGRN と SLPI の頸管熟化制御機構への関与の解明を進めた。妊婦の血清および頸管粘液検体を収集して、PGRN および SLPI の蛋白濃度や mRNA 発現を解析した。正常な経過の妊婦と子宮頸管長短縮を生じている早産ハイリスク状態の妊婦との比較を行った。LPS 投与による炎症誘導性の早産と RU486 投与によるプロゲステロン作用減弱性早産の 2 つの異なる機序の早産マウスモデルを用いて、それぞれの早産機序により PGRN と SLPI が子宮頸管熟化との関係でいかなる動態を示すかを検討した。

4. 研究成果

妊婦の血清中の PGRN 濃度は妊娠進行とともに上昇し、分娩後には低下した。そのため PGRN の中心的な産生源は胎盤を含めた妊娠子宮であることが示唆された。分娩前の頸管粘液中の PGRN の濃度を SLPI と比較して解析した結果、臨床上の頸管熟化指標である Bishop スコアと PGRN が負の相関を持つことが確認された。一方で SLPI は Bishop スコアとの相関は認められなかったが、分娩日が近づくにつれて産生が亢進した。In-vitro での検討では、頸管上皮細胞に対してプロゲステロン刺激を行うことで PGRN および SLPI の発現がいずれも誘導され、この反応がプロゲステロン受容体よりもむしろグルココルチコイド受容体を介したシグナル刺激を介していることが示唆された。以上のことから、PGRN と SLPI はプロゲステロンの作用により産生が誘導されて、子宮頸管の熟化制御に寄与していることが推測された。一方で、SLPI は局所炎症に反応して発現が上昇する特性がみとめ

られ、プロゲステロンのみならず炎症に対する防御因子としての役割が示唆された。頸管擦過細胞において、PGRN の mRNA 発現は頸管長短縮および早産既往がある妊婦においてそれぞれ発現が低下していることを確認した。また、SLPI については、頸管長との直接的な相関は認められなかったが、頸管長短縮妊婦における頸管局所の炎症性サイトカイン発現量と正の相関を認めた。以上より妊婦の頸管において、PGRN および SLPI は異なる発現制御を受けていることが示唆され早産リスクとの関わりを示すバイオマーカーとして利用可能性があること示す知見を得た。

早産マウスモデルにおいて、LPS 投与による炎症状態では子宮頸管における炎症性サイトカイン産生と同時に SLPI の発現増強が顕著である一方で PGRN の変化は乏しかった。RU486 によるプロゲステロン作用減弱では、頸管内コラーゲンの分解促進と一致して SLPI および PGRN の両者の発現低下を確認された。一方で、妊娠マウスに対してプロゲステロンの補充投与を実施したところ、RU486 投与と対照的に SLPI と PGRN の産生増加と同時に頸管熟化の遅延が観察された。これらのことからプロゲステロン作用の維持は頸管熟化を抑制する要因となっておりそのシグナルの下流として両者の抗炎症蛋白が機能していることが示唆された。PGRN と SLPI はいずれもその分子機能として、抗炎症、抗プロテアーゼという共通した作用が知られている。今回の研究結果から両者は、早産の個々の原因因子に対して異なる動態を示すことから、子宮頸管熟化の制御においても個別的な役割を担っている可能性がある。

妊婦の頸管において、PGRN および SLPI は異なる発現制御を受けており、そうした早産の背景原因の鑑別のためのバイオマーカー候補となりうることが本研究の結果から示唆された。また特に、SLPI は早産の背景要因に関わらず病的頸管熟化の阻止に働くことが期待でき、子宮頸管熟化抑制という新規の着眼点からの早産治療の標的分子となりうる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4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 Samejima Taiki, Nagamatsu Takeshi, Iriyama Takayuki, Nakayama Toshio, Seyama Takahiro, Sayama Seisuke, Kumasawa Keiichi, Komatsu Atsushi, Kawana Kei, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki	4. 巻 59
2. 論文標題 Impact of additional risk factors on the incidence of preterm delivery among pregnant women diagnosed with short cervix	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology	6. 最初と最後の頁 195 ~ 199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tjog.2020.01.005	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 Akiba Naoya, Iriyama Takayuki, Nakayama Toshio, Seyama Takahiro, Sayama Seisuke, Kumasawa Keiichi, Komatsu Atsushi, Yabe Shinichiro, Nagamatsu Takeshi, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki	4. 巻 ahead of print
2. 論文標題 Ultrasonographic vascularity assessment for predicting future severe hemorrhage in retained products of conception after second-trimester abortion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14767058.2019.1610739	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 Nagamatsu Takeshi, Fujii Tatsuya, Schust Danny J., Tsuchiya Naoko, Tokita Yohei, Hoya Mari, Akiba Naoya, Iriyama Takayuki, Kawana Kei, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki	4. 巻 80
2. 論文標題 Tokishakuyakusan, a traditional Japanese medicine (Kampo) mitigates iNKT cell-mediated pregnancy loss in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 e13021 ~ e13021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.13021	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 Hoya Mari, Nagamatsu Takeshi, Fujii Tatsuya, Schust Danny J., Oda Hiroko, Akiba Naoya, Iriyama Takayuki, Kawana Kei, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki	4. 巻 79
2. 論文標題 Impact of Th1/Th2 cytokine polarity induced by invariant NKT cells on the incidence of pregnancy loss in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 e12813 ~ e12813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.12813	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 永松 健	4. 巻 70
2. 論文標題 Molecular Mechanisms to Regulate Trophoblast Cell Functions and Cervical	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本産科婦人科学会雑誌ACTA OBST GYNAEC JPN	6. 最初と最後の頁 2604-2614
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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Takeshi Nagamatsu
2. 発表標題 Regulation of cervical ripening by anti-inflammatory mediators in preterm labor and term delivery
3. 学会等名 The 14th World Congress of International Society for Immunology of Reproduction (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiba Naoya, Takeshi Nagamatsu 他
2. 発表標題 Progranulin and secretory leukocyte protease inhibitor as key mediators in cervical ripening
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永松 健
2. 発表標題 学術奨励賞受賞講演 絨毛細胞機能および子宮頸管熟化を制御する分子システムと妊娠維持機構
3. 学会等名 第70回 日本産科婦人科学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taiki Samejima, Takeshi Nagamatsu, Takayuki Iriyama, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii
2. 発表標題 The association of progranulin expression controlled by progesterone with cervical maturation
3. 学会等名 第70回 日本産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi Nagamatsu
2. 発表標題 Secretory leukocyte protease inhibitor as a key regulator of cervical maturation
3. 学会等名 The 38th Annual Meeting of the American Society for reproductive Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoya Akiba, Takeshi Nagamatsu, Keiichi Kumasawa, Takayuki Iriyama, Yutaka Osuga, Tomoyuki Fujii
2. 発表標題 Progranulin as a key mediator in cervical ripening
3. 学会等名 Congress of European Society for Reproductive Immunology 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秋葉 直也, 永松 健, 鮫島 大輝, 熊澤 恵一, 瀬山 貴博, 中山 敏男, 入山 高行, 大須賀 穰, 藤井 知行
2. 発表標題 Progranulinによる頸管熟化制御機構-Essential role of progranulin in the regulation of cervical remodeling
3. 学会等名 第33回日本生殖免疫学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------