

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 9 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：2018～2019

課題番号：18H05961・19K21116

研究課題名（和文）イソフラボンの新たな子宮内膜症治療薬としての分子基盤の確立

研究課題名（英文）Establishment of molecular basis of isoflavone as a new therapeutic target for endometriosis

研究代表者

高岡 宰 (Takaoka, Osamu)

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：20826036

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）：本研究ではダイゼインリッチイソフラボンアグリコン（DRIAs）の子宮内膜症に対する効果および作用機序の解析を行う。DRIAsはサプリメントで、副作用の報告なくホットフラッシュの症状を軽減するなど女性のヘルスケア領域で注目されている。イソフラボンはエストロゲン作用もしくは抗エストロゲン作用を持つとされているが、子宮内膜症に対する効果は明らかではなかった。研究代表者は子宮内膜症においてDRIAsが細胞増殖を抑制することおよび抗炎症作用を持つことを明らかにした。本研究ではDRIAsの子宮内膜症に対する細胞増殖抑制効果および抗炎症作用の解析をさらに進め、新たな治療薬としての基盤を確立させる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DRIAsは、代表的なイソフラボンアグリコンであるダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインを7:1:2の割合で含有している。本研究ではDRIAsの子宮内膜症の細胞増殖抑制を確認した。次に単体イソフラボンで増殖抑制を検討したが、いずれも増殖抑制を認めなかった。この結果からDRIAsのイソフラボンアグリコンの成分構成の比率が子宮内膜症の治療として有効な可能性あると考えられる。さらに3つの主要構成成分であるイソフラボンアグリコンのアロステリックな相互作用としての結果が細胞増殖抑制や抗炎症作用を発揮していると示唆される。この点を重点的に研究を進めている。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyze the effect and mechanism of daidzein-rich isoflavone aglycones (DRIAs) on endometriosis. DRIAs are supplements, and they are attracting attention in the field of women's health care, such as reducing the symptoms of hot flashes without reporting side effects. Isoflavone have an estrogenic or anti-estrogenic effect, but its effect on endometriosis was not clear. We have shown that DRIAs inhibits cell proliferation and possesses anti-inflammatory effects in endometriosis. In this study, we will further analyze the effects of cell growth suppression and anti-inflammatory effects of DRIAs on endometriosis and establish the basis for new therapeutic agents.

研究分野：生殖内分泌

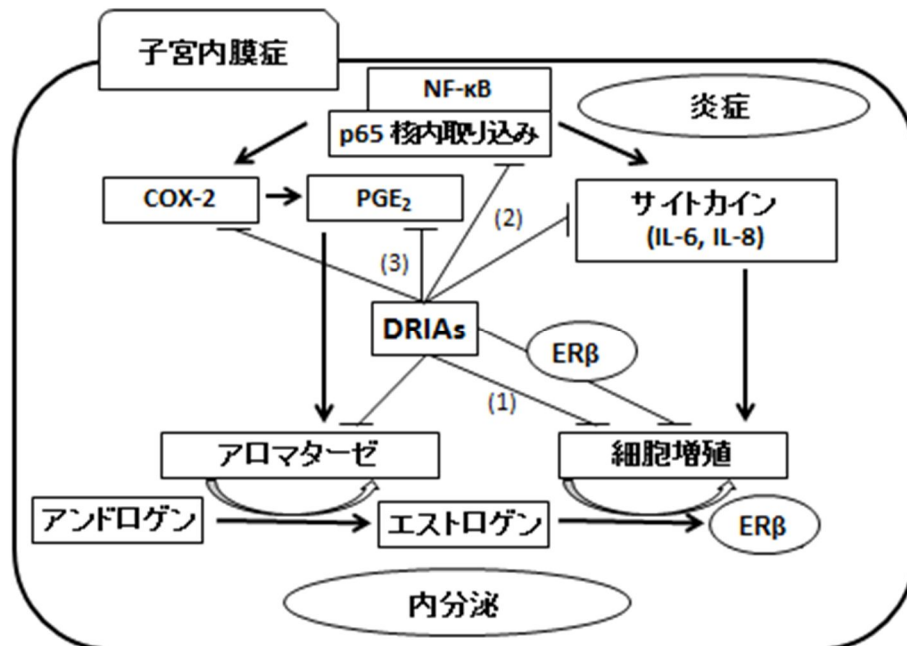
キーワード：イソフラボン 子宮内膜症 エストロゲンレセプター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は、子宮内膜またはその類似組織が子宮内腔面以外に生着し増殖、発育し、性成熟期女性の約 10%に発生する。月経痛と不妊をきたすことにより生活の質を著しく損なう疾患である。労働力や妊孕能の低下による社会的損失が問題となっている。エストロゲンが病巣の進展および維持に関わっているとされている。炎症性サイトカインは子宮内膜症の病巣局所でエストロゲン合成を促進し、その結果正のフィードバックが病巣の進展・維持を助長している。それゆえに子宮内膜症はエストロゲン依存性炎症性疾患として考えられている。子宮内膜症の内分泌療法は GnRH アナログ、低用量エストロゲン・プロゲステン配合剤 (LEP 製剤) などがある。これらの治療薬の開発はすべて子宮内膜症がエストロゲン依存性疾患であることを着眼点としており、エストロゲン伝達・応答機序を制御する内分泌作用が主であった。しかしながら、排卵抑制といったデメリットもあるため、挙児希望のある子宮内膜症の患者にはこれらのホルモン治療薬は使用しにくいのが現状である。したがって生殖年齢の子宮内膜症の患者に対して新しい作用機序による治療薬が早急に望まれる。

イソフラボンはエストロゲンと構造が類似しているのでエストロゲン受容体 (ER) と結合しエストロゲン様作用あるいは抗エストロゲン作用を発揮する。イソフラボンはホットフラッシュや骨粗鬆症の症状を軽減する一方でイソフラボンは子宮内膜増殖症や子宮体癌のようなエストロゲン依存性疾患の発症と関連があるとされている。しかしながら、イソフラボンが子宮内膜症に対して治療効果があるのか増悪因子なのかは明らかではなかった。研究代表者はイソフラボンの一種であるダイゼインが豊富に含まれたイソフラボンアグリコンが ER を介して子宮内膜症間質細胞および子宮内膜症マウスモデルに対して細胞増殖抑制および抗炎症作用を持つことを明らかにしてきた (下図)。



2. 研究の目的

本研究の目的は DRIAs の子宮内膜症に対する細胞増殖抑制効果および抗炎症作用の未知の機構を解明し、DRIAs を含めたイソフラボンの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。本研究では DRIAs の子宮内膜症に対する細胞増殖抑制効果の検証、抗炎症作用の機序の解明と ERβとの関連、を明らかにすることを目的とし、新たな子宮内膜症治療薬としての基盤を確立させる。

3. 研究の方法

DRIAs の子宮内膜症に対する細胞増殖抑制効果の検証

1. DRIAsを構成するイソフラボンの構成比を変更して、その細胞増殖抑制効果をWST-8アッセイで評価し最も増殖抑制効果のあるイソフラボンの割合を解明する。各種イソフラボン単体では増殖抑制は認めなかったが、DRIAsは増殖抑制効果を示している(図1(1))。イソフラボンの相乗効果が示唆されるが、最良の構成割合は明らかではない。
2. エストロゲン関連応答配列 (ERRE; 5'-AGGTCA-3') をレポーターとしたルシフェラーゼアッセイ、リアルタイムPCR法を用いてDRIAsのERβのリガンドとしての特性を評価する。
3. 子宮内膜症マウスモデルを用いてDRIAsの細胞増殖抑制効果の確認し、同時にDRIAsの

構成成分のイソフラボンおよび代謝物の血中濃度および腹水中濃度を測定する。実験は学内動物施設で規定を遵守し行う。

4. ERβを過剰発現あるいはノックダウンした子宮内膜症モデルマウスでDRIAsの嚢胞形成抑制効果を評価する。
5. 既存の子宮内膜症治療薬との併用効果を評価する。WST-8アッセイで評価する。

DRIAs の子宮内膜症に対する抗炎症作用の機序の解明と ERβとの関連

1. DRIAs の抗炎症作用機序は子宮内膜症の炎症反応の主なレギュレーターである NF-κB とそのサブユニットである p65 の核内取り込みの抑制を示している (図 1(2))。他の炎症反応経路の解明をウエスタンブロット法および蛍光免疫染色を用いて確認する。
2. 子宮内膜症の増悪因子とされている IL-17、IL-33 などの炎症性サイトカインや、抗炎症性サイトカインの IL-4、IL-10 の mRNA の発現をリアルタイム PCR 法で評価する。
3. ERβプラスミドあるいはsiRNAを用いて遺伝子導入を行い、IL-6、IL-8、COX-2およびPGE₂ (図1(3)) などの炎症性サイトカインの発現をリアルタイムPCR法で評価する。
4. ERβ過剰発現下あるいは抑制下でのNF-κBおよびp65をウエスタンブロット法、蛍光免疫染色で評価し、ERβとNF-κBおよびp65の関連を解明する。
5. 子宮内膜症マウスモデルの嚢胞内および腹水中の各種サイトカイン濃度を評価する。
6. エストロゲン代謝酵素であるHSD17β1, 2の発現をリアルタイムPCR法で評価する。

4. 研究成果

上記方法について特にエストロゲン代謝酵素の発現について、子宮内膜症の増悪因子であるエストロゲンを低下させる傾向を見出した。その他の項目についても現在さらに解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高岡 幸
2. 発表標題 子宮内膜症に対するダイゼインリッチイソフラボンアグリコン（DRIAS）の治療効果-エストロゲンレセプターを介しての子宮内膜症間質細胞増殖抑制-
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年～2019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
--	---------------------------	-----------------------	----