

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20602006

研究課題名(和文)

子宮内膜症の慢性疼痛発症における疼痛関連遺伝子の解析と新規疼痛関連分子の探索

研究課題名(英文) Evaluation of pain related genes for patients with endometriosis

研究代表者

浅田 弘法 (ASADA HIRONORI)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：60231883

研究成果の概要(和文):

子宮内膜症は疼痛・不妊・悪性腫瘍の発症など、女性のリプロダクティブヘルスへの影響が大きい疾患である。本研究では、子宮内膜症の発症および疼痛発現に関与する機序の一部を明らかにすることを目的として研究を行った。子宮内膜症の疼痛発症と腹水中の NGF 濃度を検討し、子宮内膜症の発症と NGF 濃度は関連性が見いだせなかったが、子宮内膜症患者における疼痛強度と腹水中 NGF 濃度は関連性があることが示唆された。また、リポオキシゲナーゼ関連遺伝子群の子宮内膜症病巣における挙動の検討から、5-LOX と 15-LOX が子宮内膜症病巣に高発現を認めることが検出された。

研究成果の概要(英文):

Endometriosis is associated with disruption of women's reproductive health, in terms of pelvic pain and infertility. However mechanisms of endometriosis related pain still remain unclear. To obtain a clue to elucidate the molecular mechanisms underlying the endometriosis related pain, we investigated the concentration of nerve growth factor (NGF) in ascites. The expression and localization of NGF and lipoxygenase related genes were also investigated. NGF, 5-lox, and 15-lox are locally produced from endometriotic lesion. These locally expressed genes may contribute to the generation and maintenance of acute and chronic pelvic pain, such as dysmenorrhea and dyspareunia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：疼痛学

キーワード：子宮内膜症

## 1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は、発症頻度が高く、慢性骨盤痛・月経困難症・性交時痛などの急性疼痛および慢性疼痛を来す代表的疾患の一つである。生殖年齢の上昇とともに子宮内膜症に罹患している患者は増加傾向にある。子宮内膜症は慢性炎症性疾患ととらえることができ、その、慢性炎症により、ときに激しい骨盤痛を発症する。炎症性疾患としての子宮内膜症は、

骨盤内の癒着を生じるとともに、慢性的な疼痛を子宮、膀胱、直腸などに生じることがあり、これにより患者は慢性疼痛に悩まされることになる。一方、疼痛のみならず、慢性炎症性疾患の特徴として、周辺臓器の障害を誘発しやすい疾患である。骨盤内癒着による妊孕性低下のみならず、卵巣への障害により卵巣機能の低下も憂慮されている。

## 2. 研究の目的

このような観点から我々は、以前より、子宮内膜症の臨床的問題として大きな位置をしめる、子宮内膜症による慢性炎症と疼痛の発生機序の解明に取り組んできた。

子宮内膜症は上記のように疼痛と密接に関連した疾患であるが、疼痛発症に関しては、発症する病態によって疼痛の強さと発現時期が異なっている。いままで対象とされていた子宮内膜症性嚢胞の場合、疼痛と関与する場合、嚢胞の破綻を契機に発症する場合と、周辺臓器との癒着および、卵巣周囲の子宮内膜症組織に関与した圧痛を生じる場合とがある。また、その他の病型で、より疼痛と関与するとされているものに、深部子宮内膜症がある。特に、直腸・膀胱・子宮（子宮腺筋症）は、疼痛と密接に関連する疾患群であるとの指摘は多い(Chapron C. et al, Hum Reprod. 2003; 18(4))。疼痛を主訴としている子宮内膜症に対しては、薬物療法(GnRH, ダナゾール, 低容量ピル, 漢方など)および外科的治療法が行われているが、重症骨盤痛を伴う子宮内膜症への治療は未だ満足のいくものではないのが現状である(Roman H. J Gynecol Obstet Bil Reprod. 2007; 36(2))。子宮内膜症のなかでも疼痛を合併する症例に対しては、その疼痛の発症機序の解明とともに、あらたな治療方法の開発が必要とされている。

このように、子宮内膜症患者に対する包括的疼痛治療の必要性があると考えられている。臨床的な問題点を把握しながら臨床検体を解析すること、および、子宮内膜症を疼痛という観点から分子生物学的に解析することを目的に本研究を計画した。

## 3. 研究の方法

上記のように、子宮内膜症のなかでも、疼痛を発症しやすい病態（深部子宮内膜症：ダグラス窩子宮内膜症、直腸子宮内膜症、膀胱子宮内膜症、子宮腺筋層）と発症しにくい病態（チョコレート嚢腫）がある。また、比較的疼痛を訴える頻度が少ないチョコレート嚢胞の中でも、疼痛を訴える症例と疼痛を全く訴えない症例がある。今回我々は、疼痛関連遺伝子群の発現を、疼痛の程度によって比較検討することにより、疼痛に関連して発現する遺伝子群の違いを明確にするとともに、子宮内膜症の発症病態や疼痛関連物質の解析を行った。

### (1) 腹水中の NGF と子宮内膜症および子宮内膜症関連疼痛に関する研究

疼痛の機序としては、子宮、膀胱、直腸において平滑筋であるという共通性がある一方で、消化管に特有の平滑筋収縮機序や疼痛

伝達機序も炎症性腸疾患で報告されているため、子宮内膜症による疼痛発症機序も異所性子宮内膜症においては異なっている可能性がある。子宮内膜症の病巣による疼痛関連遺伝子群の発現を比較する解析を行うことで、疼痛に関連した分子を究明していくことを考えた。

子宮内膜症病巣（卵巣子宮内膜症、子宮腺筋症）と正所性子宮内膜における NGF の発現強度を real-time PCR によって確認したのち、腹水中の NGF の測定を行った。腹水は疼痛プロファイルが明確になっている子宮内膜症患者および、骨盤内に子宮内膜症がない患者からえられた検体を使用して解析を行った。腹水中の NGF 濃度に一定の cut-off を規定することにより、NGF 濃度と疼痛との関連性が認められるかどうか検討を行った。

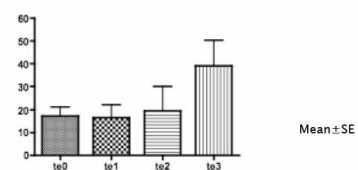
### (2) リポキシゲナーゼ関連遺伝子群の子宮内膜症病巣における発現に関する研究

アラキドン酸代謝経路においてロイコトリエン類、ヒドロキシ酸類、リポキシン類への代謝を行う酵素に lipoxygenase (LOXs) がある。この酵素には 5-LOX, 12-LOX および 15-LOX があり、それぞれの代謝経路を担っている。上記の酵素類の遺伝子の子宮内膜症病巣における発現解析を行った。子宮内膜症性嚢胞と正所性子宮内膜において上記3つの酵素類の発現解析を real-time PCR で行った。その後、5-LOX および 15-LOX の子宮内膜症病巣における蛋白発現を免疫染色で検討した。

### (3) 腹水における代謝産物の網羅的解析により子宮内膜症関連代謝産物の探索

子宮内膜症発症における腹腔内環境に注目し、プロファイルの明確な患者からえられた腹水をメタボローム解析することにより、新たな発症因子、疼痛増強因子を抽出することも目的として研究を行った。従来より腹水中には多くのケミカルメディエーターが存在し、特に子宮内膜症患者において、その濃度は高濃度であることが示されてきた(Agic A. et al, Gynecol Obstet Invest. 2006; 62(3))。

NGF concentration (pg/ml)



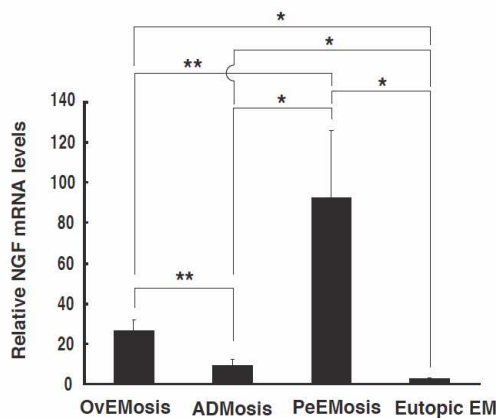
tenderness (0-3)

また、近年の網羅的解析方法の進歩により、疾患特異的因子を探索する試みが始まっている。我々は、子宮内膜症患者における腹水中の代謝産物に対して、キャピラリー電気泳動質量分析装置(CE-MS)および液体クロマトグラフィー質量分析装置(LC-MS)の技術を用いて、質量分析から代謝産物を特定するメタローム解析を行った。子宮内膜症患者腹水と非子宮内膜症患者腹水の比較検討を行った。

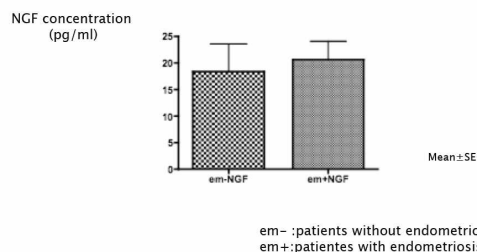
#### 4. 研究成果

##### (1) 腹水中の NGF と子宮内膜症および子宮内膜症関連疼痛に関する研究

子宮内膜症病巣において、正所性子宮内膜に比して NGF の発現が増強していることを見出していた。この検討では、腹膜の子宮内膜症病変において NGF は高発現していることを見出された。



子宮内膜症患者の腹腔内環境に関する検討を進めるため、子宮内膜症患者と非子宮内膜症患者において腹水中の NGF 濃度を比較検討したところ、子宮内膜症の発症と腹水中 NGF 濃度には有意な差は検出されなかった。



しかし、子宮内膜症を発症している患者を骨盤の疼痛によって階層化したところ、腹水中の NGF 濃度とダグラス窩の圧痛との関連性を見出すことができた。

腹水中の NGF 濃度の cut off 値を 28pg/ml と設定したところ、腹水中の NGF 陽性率は、子宮内膜症患者において、疼痛が軽度の患者群と、疼痛が重症である患者群において、NGF の陽性率に差を認め、疼痛が増強している群において、NGF の陽性率が 47.8%と高率に認められた。以上により、腹水中の NGF は子宮内膜症の発症とは関連しないものの、子宮内膜症における慢性疼痛発症と維持に関与している可能性が示唆された。今後抗 NGF 抗体を用いた局所療法や、NGF 関連因子の局所投与が開発されていけば、子宮内膜症患者の疼痛緩和の一助となる可能性があると考えられた。

##### (2) リポキシゲナーゼ関連遺伝子群の子宮内膜症病巣における発現に関する研究

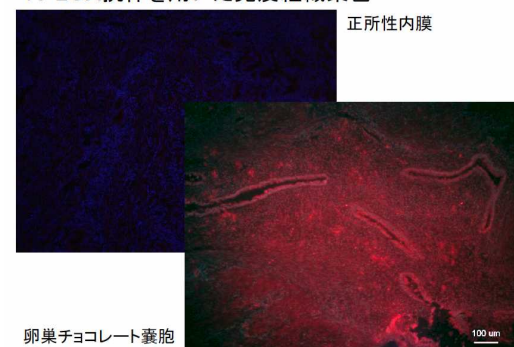
疼痛の発症と子宮内膜症病巣進展に関して脂質メディエーターが関与していることは示唆されているが、プロスタグランジン系に関してはある程度の知見があるものの、ロイコトリエン系に関する知見がなく、本研究では、ロイコトリエン経路 (LOX 経路) がどのように子宮内膜症の進展に関与しているかを探索するため、子宮内膜症組織において 5-LOX, 12-LOX, 15-LOX の発現解析を行った。

子宮内膜症病巣と正所性子宮内膜との比較において、5-LOX および 15-LOX が子宮内膜症病巣において発現が増強していた。免疫染色によって検討を行ったところ、5-LOX 蛋白質は病巣の腺上皮細胞に、また、15-LOX 蛋白質が病巣間質および子宮内膜症腺上皮細胞に特異的に発現していた。

##### 5-LOX抗体を用いた免疫組織染色



##### 15-LOX抗体を用いた免疫組織染色



(3)子宮内膜症患者における腹水中に存在する代謝産物に関する研究

CE-MSを用いた腹水の解析では、アミノ酸などのイオン代謝物質を95物質検出できた。その中で、14物質の定量値が子宮内膜症患者(n=5)と非子宮内膜症患者(n=5)の間で統計的な有意差を認めた。またLC-MSを用いた解析では、腹水中から130の脂質系代謝物質を検出することができた。その中で、子宮内膜症患者(n=9)と非子宮内膜症患者(n=10)の間で、8つの物質に統計的な有意差が検出された。Methionine, Serine, Proline, Glutamineなどのアミノ酸や5-Oxoprolineなどのアミノ酸代謝経路上にある物質、およびリン脂質の一種が子宮内膜症患者の腹水において高濃度であった。

#### 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20件)

1. Yoshino O, Hayashi T, Osuga Y, Orisaka M, Asada H, Okuda S, Hori M, Furuya M, Onuki H, Sadoshima Y, Hiroi H, Fujiwara T, Kotsuji F, Yoshimura Y, Nishii O, Taketani Y. Decreased pregnancy rate is linked to abnormal uterine peristalsis caused by intramural fibroids. Hum Reprod. 査読有, 2010 ;25(10):2475-9.

2. Maruyama T, Masuda H, Ono M, Kajitani T, Yoshimura Y. Human uterine stem/progenitor cells: their possible role in uterine physiology and pathology. Reproduction. 査読有, 2010 ;140(1):11-22.

3. Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, Arase T, Oda H, Uchida H, Asada H, Ito M, Yoshimura Y, Maruyama T, Okano H. Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. PLoS One. 査読有, 2010 28;5(4):e10387.

4. 川田陽子, 島田友恵, 浅田弘法, 杉本昌弘, 平山明由, 阿部しのぶ, 古谷正敬, 内田浩, 浜谷敏生, 梶谷宇, 丸山哲夫, 久慈直昭, 吉村泰典, 曾我朋義, 富田勝 : 腹水と血清中における代謝物質の網羅的分析による子宮内膜症特異的な代謝物質の探索 日本エンドメトリオース学会誌, 査読無, 31巻 Page210-212(2010)

5. 岸郁子, 浅田弘法, 田島敏秀, 木挽貢慈, 河西明代, 小野寺成実, 亀井清: 左水腎症にて判明した尿管子宮内膜症の1例 日本エンドメトリオース学会誌, 査読無, 31巻 Page146-150(2010)

6. 浅田弘法, 古谷正敬, 伊藤嘉佑子, 辻紘子, 有馬宏和, 梶谷宇, 内田浩, 浜谷敏生, 丸山哲夫, 吉村泰典, 岸郁子, 木挽貢慈, 安藤正明: 子宮内膜症の腹腔鏡手術 合併症を回避するために 子宮内膜症病巣切除術の術式別合併症とその対策に関する検討 日本エンドメトリオース学会誌, 査読無, 31巻 Page39-43(2010)

7. 飯沼繭, 橋本志歩, 植木有紗, 持丸佳之, 古谷正敬, 浅田弘法, 青木大輔, 吉村泰典, 安藤正明: 子宮頸部筋腫に対して腹腔鏡下手術を施行した2例 日本産科婦人科学会東京地方部会誌59巻3号 Page428-432(2010)

8. 持丸佳之, 浅田弘法, 古谷正敬, 有馬宏和, 青木大輔, 吉村泰典, 浅井哲, 安藤正明: 多発巨大子宮筋腫症例への腹腔鏡下子宮全摘術の適応における考察 日本産科婦人科学会東京地方部会誌59巻1号 Page104-108(2010)

9. Asada H, Yagihashi T, Furuya M, Kosaki K, Takahashi T, Yoshimura Y. Association between patient age at the time of surgical treatment for endometriosis and aryl hydrocarbon receptor repressor polymorphism. Fertil Steril. 査読有, 2009 ;92(4):1240-2.

10. Arase T, Uchida H, Kajitani T, Ono M, Tamaki K, Oda H, Nishikawa S, Kagami M, Nagashima T, Masuda H, Asada H, Yoshimura Y, Maruyama T. The UDP-glucose receptor P2RY14 triggers innate mucosal immunity in the female reproductive tract by inducing IL-8. J Immunol. 査読有, 2009 1;182(11):7074-84.

11. 内田浩, 丸山哲夫, 各務真紀, 小田英之, 西川明花, 梶谷宇, 浅田弘法, 吉村泰典: Advanced Studies in Implantation Mechanisms エピジェネティックなヒト着床不全への新規治療戦略(Advances Studies in Implantation Mechanisms Epigenetic Treatment in Assisted Human Embryo Implantation) Journal of Mammalian Ova Research 査読有, 26巻3号 Page116-121(2009)

12. 荒瀬透, 丸山哲夫, 内田浩, 梶谷宇, 小野政徳, 宮崎薫, 西川明花, 小田英之, 各務真紀, 浅田弘法, 吉村泰典:【生殖器の感染防御機構】子宮内膜における感染防御 P2RY14

HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY, 査読無, 16巻4号 Page319-324(2009)

13. 内田浩, 丸山哲夫, 小田英之, 西川明花, 各務真紀, 梶谷宇, 浅田弘法, 吉村泰典:ヒト着床と子宮内膜のEMT 日本生殖内分泌学会雑誌, 査読有, 14巻 Page11-14(2009)

14. 辻紘子, 浅田弘法, 浅井哲, 古谷正敬, 内田浩, 浜谷敏生, 丸山哲夫, 小崎健次郎, 柳橋達彦, 羽田智則, 安藤正明, 田島敏秀, 木挽貢慈, 吉村泰典:子宮内膜症の発症に対して, EP300遺伝子多型が及ぼす影響 日本エンドメトリオーシス学会会誌, 査読無, 30巻 Page110-111(2009)

15. 川田陽子, 浅田弘法, 杉本昌弘, 平山明由, 阿部しのぶ, 古谷正敬, 内田浩, 浜谷敏生, 梶谷宇, 丸山哲夫, 久慈直昭, 吉村泰典, 曾我朋義, 富田勝:CE-TOFMSによる子宮内膜症患者腹水のメタボローム解析 日本エンドメトリオーシス学会会誌, 査読無, 30巻 Page107-109(2009)

16. 古谷正敬, 浅井哲, 芥川英之, 辻紘子, 有馬宏和, 浅田弘法, 吉村泰典, 篠田昌宏, 長谷川博俊:腸閉塞をきたした回腸子宮内膜症の2例 日本エンドメトリオーシス学会会誌, 査読無, 30巻 Page78-81(2009)

17. 浅田弘法, 古谷正敬, 有馬宏和, 高野光子, 梶谷宇, 升田博隆, 内田浩, 浜谷敏生, 丸山哲夫, 吉村泰典, 岸郁子, 田島敏秀, 寺西貴英, 木挽貢慈:子宮内膜症(子宮腺筋症)における手術療法 腹腔鏡下ダグラス窩子宮内膜症病巣切除術の定型化と疼痛緩和効果に関する検討 日本エンドメトリオーシス学会会誌, 査読無, 30巻 Page60-62(2009)

18. 浅田弘法, 古谷正敬, 有馬宏和, 田島敏秀, 岸郁子, 寺西貴英, 木挽貢慈, 吉村泰典:【子宮内膜症の適切な治療法選択】手術療法における考え方 子宮内膜症性嚢胞(チョコレート嚢胞) 産婦人科の実際, 査読無, 58巻8号 Page1169-1175(2009)

19. 内田浩, 丸山哲夫, 各務真紀, 小田英之, 西川明花, 梶谷宇, 浅田弘法, 吉村泰典:【着床不全】着床不全に対する新しい治療の試み ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY, 査読無, 16巻2号 Page149-154(2009)

20. 浅田弘法, 古谷正敬, 浅井哲, 高野光子, 有馬宏和, 吉村泰典, 田島敏秀, 岸郁子, 木挽貢慈:【産婦人科手術療法マニュアル】内視鏡下手術 卵巣嚢胞摘出術・付属器摘出術 産科と婦人科, 査読無, 76巻 Suppl. Page237-242(2009)

〔学会発表〕(計11件)

1. 中平直希, 浅田弘法, 伊藤嘉佑子, 辻紘子, 古谷正敬, 内田浩, 浜谷敏生, 橋場剛士, 青木大輔, 吉村泰典:泌尿器科との連携により内視鏡手術にて対応した膀胱子宮内膜症の一例 関東連合産婦人科学会(茨城県)2010年11月28日

2. 伊藤嘉佑子, 辻紘子, 古谷正敬, 浅田弘法, 吉村泰典, 木挽貢慈:腸管子宮内膜症への外科的アプローチの検討 内視鏡外科学会(横浜)2010年10月18-20日

3. Ito K, Asada H, Tsuji H, Furuya M, Kishi I, Kobiki K, Yoshimura Y: Comparison of effect and pain relief between intravenous fentanyl citrate and interval analgesia after laparoscopic myomectomy. 19th Annual Congress ESGE, Barcelona (Spain), 29th Sep-2nd Oct 2010.

4. Asada H, Ito K, Tsuji H, Furuya M, Kishi I, Kobiki K, Yoshimura Y: Laparoscopic excision of sacrouterine ligament and posterior vaginal fornix in the treatment of patients with deep endometriosis without aggressive rectum involvement: standardization of surgical technique and 3 years follow-up. 19th Annual Congress ESGE, Barcelona (Spain), 29th Sep-2nd Oct 2010.

5. 浅田弘法, 古谷正敬, 升田博隆, 鎌田可奈子, 有馬好美, 後藤孝明, 今井樹, 丹羽眞一郎, 本田律生, 片淵秀隆, 吉村泰典, 佐谷秀行:子宮内膜腺上皮細胞におけるEMT関連マーカーの免疫組織化学的検討 日本生殖医学会(金沢)2009年11月22-23日

6. 古谷正敬, 浅田弘法, 升田博隆, 内田浩, 鎌田可奈子, 有馬好美, 後藤孝明, 今井樹, 丹羽眞一郎, 本田律生, 片淵秀隆, 吉村泰典, 佐谷秀行:子宮内膜症病巣腺上皮細胞におけるEMT関連マーカーの免疫組織化学的検討 日本生殖医学会(金沢)2009年11月22-23日

7. 長谷川政徳, 大東貴志, **浅田弘法**, 香野日高, 水野隆一, 菊地栄次, 長田浩彦, 宮嶋哲, 中川健, 大家基嗣: 腹腔鏡と経尿道的手技を併用して膀胱部分切除術を施行した膀胱子宮内膜症の1例 Endourology・ESWL学会(東京) 2009年11月11 -13日

8. 浅井哲, **浅田弘法**, 有馬宏和, 古谷正敬, 岩田壮吉, 青木大輔, 吉村泰典: 卵巣嚢腫合併妊娠における腹腔鏡下手術(気腹法)の検討 日本産科婦人科内視鏡学会(高知) 2009年9月3-5日

9. 有馬宏和, 杉山重里, 高野光子, 古谷正敬, **浅田弘法**, 青木大輔, 吉村泰典, 森昌玄, 星野健: 生体肝移植後に腹腔鏡下手術で治療しえた内膜症性卵巣嚢腫の一例 日本産科婦人科内視鏡学会(高知) 2009年9月3-5日

10. 古谷正敬, **浅田弘法**, 高野光子, 木挽貢慈, 内田浩, 浜谷敏生, 橋場剛, 久慈直昭, 末岡浩, 青木大輔, 吉村泰典: cystectomy-ablation併用による子宮内膜症性卵巣嚢腫の治療 日本産科婦人科内視鏡学会(高知) 2009年9月3-5日

11. 高沢天湖, **浅田弘法**, 古谷正敬, 茂田綾, 又吉徹, 青木大輔, 吉村泰典: 腹腔鏡下手術における自己回収輸血の意義と術中回収血の特性に関する考察 日本産科婦人科内視鏡学会(高知) 2009年9月3-5日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕  
ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

浅田 弘法 (ASADA HIRONORI)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 60231883

### (2) 研究分担者

古谷 正敬 (FURUYA MASATAKA)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 70317197

梶谷 宇 (KAJITANI TAKASHI)  
帝京大学・医学部・助教  
研究者番号: 60407111  
(平成20年度~21年度のみ)

丸山 哲夫 (MARUYAMA TETSUO)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 10209702

吉村 泰典 (YOSHIMURA YASUNORI)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号: 10129736