

令和 6 年 5 月 8 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09615

研究課題名（和文）顆粒膜細胞障害に着目した子宮内膜症における卵胞発育障害の解明

研究課題名（英文）The effect of endometriosis on granulosa cells in follicle growth

研究代表者

中村 智子（Nakamura, Tomoko）

名古屋大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：40732681

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）：子宮内膜症において、転写因子TCF21はperiostinを介して線維化を制御し、炎症によって増強された（Ganieva U, 2020）。また、世界初となる卵巣子宮内膜症モデルマウスを作製し、酸化ストレス上昇や卵胞刺激ホルモン受容体発現低下等の顆粒膜細胞機能障害を明らかにした（Hayashi S, 2020）。さらに本モデルマウスを用いてRNA-seq解析や卵巣透明化を行った。卵巣子宮内膜症性嚢胞により、VEGF経路の発現は上昇し、卵胞発育の異常早期から血管新生が開始されていることが示された。初期発育段階の卵胞も有意に少なく、内膜症により卵胞の枯渇が誘導されている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮内膜症の治療薬は排卵を抑制するため、子宮内膜症合併不妊の女性は、内膜症治療か不妊治療かの二者択一を迫られている。本研究では、内膜症による卵胞発育障害の機序を、炎症と線維化、及び血管新生の観点から顆粒膜細胞障害から解明することで、排卵を抑制しない新規内膜症治療薬開発の一助となった。

研究成果の概要（英文）：We reported that transcription factor 21 and periostin were involved in the regulation of fibrosis in endometriosis, and were both upregulated by inflammation (Ganieva U, 2020). We then developed a novel ovarian endometriosis mouse model and showed increased oxidative stress and repressed FSH receptor expression in granulosa cells (Hayashi S, 2020). We further evaluated follicular growth in this model with RNA-seq, IHC and tissue clearing. VEGF pathway expression was elevated, and angiogenesis was initiated at an abnormally early stage of follicle development. The number of early stage follicles were also significantly decreased in the ovaries with endometriomas, suggesting follicular depletion.

研究分野：子宮内膜症

キーワード：子宮内膜症 卵胞発育

1. 研究開始当初の背景

晩産化・少子化による月経回数の増加とともに、内膜症患者数は年々増加している(厚生労働省患者調査)。不妊治療の現場でも内膜症を合併する女性は25-50%を占め、大きな課題となっている。現行の内膜症薬物療法ではホルモン療法であるため排卵が抑制され、手術では侵襲による卵巢機能低下が報告されている。そのため、内膜症合併不妊症をもつ女性は現状、内膜症治療か不妊症治療かの二者択一のジレンマに陥る。内膜症治療を選択すると、薬物療法中は妊娠ができず手術療法では侵襲による妊孕性低下を覚悟しなければならない。一方で、不妊治療を選択すると、治療中のエストロゲン高値による内膜症の増悪や癌化のリスクに直面する。そこで、排卵抑制せず内膜症治療が可能な薬の開発が必要である。そのためには内膜症による卵胞発育障害のメカニズムを解明し、これをターゲットとした新規内膜症治療薬を開発する必要がある。

臨床研究により、内膜症がある女性では卵巣予備能および自然排卵数は低下し、排卵刺激に反応不良と言われている(Horikawa 2008, Benaglia 2013)。病理学的研究からは、原始卵胞数が低く(Kitajima 2014)、内膜症による線維化は卵胞数の減少を招く(Oktem 2010)と報告されている。卵胞内では、卵と卵を囲む顆粒膜細胞は相互作用を及ぼしており、正常な卵胞発育には健全な顆粒膜細胞が必須である。我々は、卵胞発育における顆粒膜細胞での卵胞刺激ホルモン受容体(FSHR)発現の制御について報告してきた(Shimizu 2019, Nguyen 2019)。また、内膜症において炎症と線維化がfocal adhesion kinaseを介して悪循環を形成する機序を報告した(Nagai 2019)。

子宮内膜症では卵胞発育障害が確認されているが、内膜症による炎症と線維化が卵胞発育を制御するメカニズムに関する基礎研究は少なく、エビデンスは乏しい。

2. 研究の目的

内膜症による卵胞発育障害の機序を、炎症と線維化による顆粒膜細胞障害から解明し、排卵を抑制しない新規内膜症治療薬の開発を目的とする。これには「生体内」で子宮内膜症による卵胞発育障害を検討できるモデルマウスが必要だが、これまでのモデルは腹膜病変を再現したもののみであり、多くは卵巣摘出し作成されている。卵巣子宮内膜症性嚢胞が卵巣内での卵胞発育にどのような影響を及ぼすか、どのように治療できるかを解析するために必要な卵巣子宮内膜症マウスモデルは世界に存在していない。そこで、ヒト手術検体を用いて内膜症における炎症と線維化の関連を解明することと並行して、卵巣子宮内膜症マウスモデルを確立する。

3. 研究の方法

(1) ヒト手術検体を用い、子宮内膜症病変における線維化と炎症につき、転写因子TCF21・ペリオスチン・サイトカインの免疫染色を用いて評価した。また、子宮内膜症間質細胞においてTCF21発現をノックアウト/強制発現することで線維化との関連を調べた。

(2) 9週齢のレシピエントマウスの卵巣嚢を切開し、内腔で卵巣表面にドナーマウス子宮の細切片を封入して卵巣子宮内膜症モデルマウスを作製した。13週齢にて卵巣子宮内膜症性嚢胞を病理的に確認し、顆粒膜細胞におけるFSHR発現や酸化ストレスを評価した。また、モデルマウスにおける妊孕性の評価も行った。

(3) 卵巣子宮内膜症モデルマウスにおける卵胞発育を評価するため、組織透明化・RNA-seq・免疫染色を行った。

4. 研究成果

(1) 子宮内膜症において、転写因子TCF21がperiostinを介して線維化を制御し、線維化によって惹起される炎症性サイトカインを介してTCF21は増強されることを示し論文報告した(Ganieva U, 2020 図1)。

(2) 生体内で、卵巣子宮内膜症性嚢胞が卵胞発育に及ぼす影響を調べるため、世界初となる卵巣子宮内膜症モデルマウスを作製し、論文報告した(Hayashi S, 2020 図2)。内膜症により、卵巣組織の線維化は経時的に進行し、鉄沈着も増強した。顆粒膜細胞では酸化ストレス(4-hydroxy-2-nonenal-modified proteins)及び8-hydroxy-2'-deoxyguanosine)は上昇し(図3)卵胞刺激ホルモン受容体FSHR発現は低

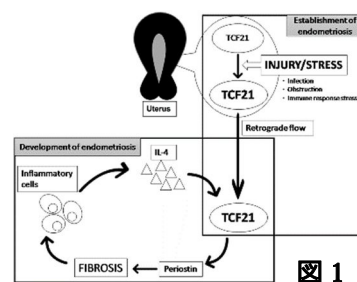


図1

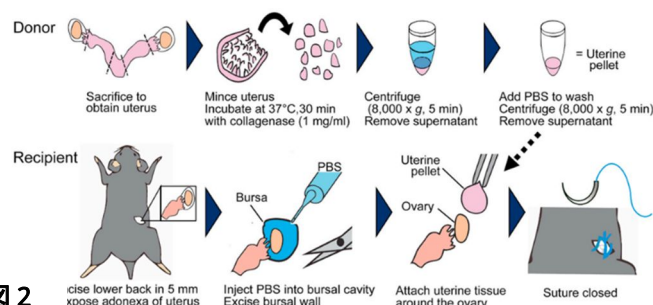


図2

下する等、内膜症は顆粒膜細胞機能を障害することが示され、産仔数の低下も認められた(図 4)。

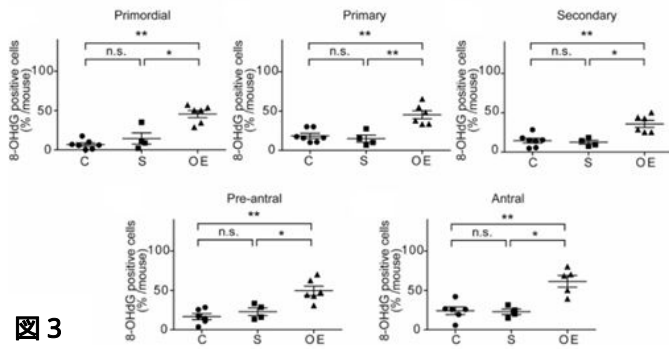


図 3

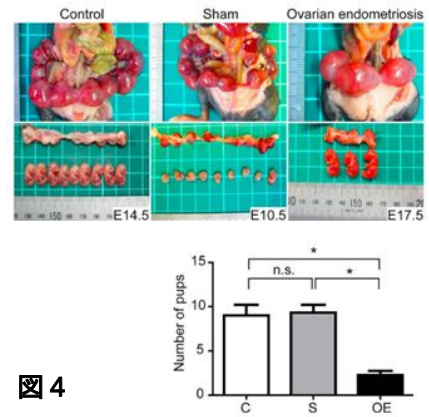


図 4

(3) 卵巣透明化技術により卵巣子宮内膜症モデルマウスの卵巣での各発育段階の卵胞数を比較したところ、内膜症モデルでは初期発育段階の卵胞が有意に少ないことが示され、内膜症により卵胞の枯渇が誘導されている可能性が示唆された。そこで、卵巣子宮内膜症モデルマウスの卵巣を用いて RNA-seq 解析を行い、卵巣子宮内膜症性嚢胞があると、VEGF 経路の発現が上昇していることが示された。免疫染色より、卵胞発育の早期において小胞状卵胞の段階から、異常に血管新生が開始されてしまっていることも分かった。これを第 75 回日本産科婦人科学会学術集会ならびに第 44 回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会にて発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mayuko Murakami, Satoko Osuka, Ayako Muraoka, Shotaro Hayashi, Bayasula, Yukiyo Kasahara, Reina Sonehara, Yumi Hariyama, Kanako Shinjo, Hideaki Tanaka, Natsuki Miyake, Sayako Yoshita, Natsuki Nakanishi, Tomoko Nakamura, Maki Goto, Hiroaki Kajiyama	4. 巻 20(1)
2. 論文標題 Effectiveness of NLRP3 Inhibitor as a Non-Hormonal Treatment for ovarian endometriosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reproductive biology and endocrinology	6. 最初と最後の頁 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12958-022-00924-3.	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 Tomoko Nakamura	4. 巻 2(3)
2. 論文標題 Clinical Aspects of Adolescent Endometriosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrines	6. 最初と最後の頁 301-310
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/endocrines2030028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Shotaro, Nakamura Tomoko, Motooka Yashiro, Ito Fumiya, Jiang Li, Akatsuka Shinya, Iwase Akira, Kajiyama Hiroaki, Kikkawa Fumitaka, Toyokuni Shinya	4. 巻 37
2. 論文標題 Novel ovarian endometriosis model causes infertility via iron-mediated oxidative stress in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 101726 ~ 101726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.redox.2020.101726	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 Nagai Takashi, Ishida Chiharu, Nakamura Tomoko, Iwase Akira, Mori Masahiko, Murase Tomohiko, Bayasula, Osuka Satoko, Takikawa Sachiko, Goto Maki, Kotani Tomomi, Kikkawa Fumitaka	4. 巻 27
2. 論文標題 Focal Adhesion Kinase-Mediated Sequences, Including Cell Adhesion, Inflammatory Response, and Fibrosis, as a Therapeutic Target in Endometriosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reproductive Sciences	6. 最初と最後の頁 1400 ~ 1410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s43032-019-00044-1	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 中村智子	4. 巻 8
2. 論文標題 若年者における子宮内膜症	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 東海産婦人科内視鏡手術研究会雑誌	6. 最初と最後の頁 3-9
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 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 Ganieva Umida, Nakamura Tomoko, Osuka Satoko, Bayasula, Nakanishi Natsuki, Kasahara Yukiyo, Takasaki Nobuyoshi, Muraoka Ayako, Hayashi Shotaro, Nagai Takashi, Murase Tomohiko, Goto Maki, Iwase Akira, Kikkawa Fumitaka	4. 巻 190
2. 論文標題 Involvement of Transcription Factor 21 in the Pathogenesis of Fibrosis in Endometriosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 145 ~ 157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2019.09.008	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 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Hideaki Tanaka, Tomoko Nakamura, Hiroaki Kajiyama, Shinya Toyokuni
2. 発表標題 Effects of endometriotic cysts on granulosa cells
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 可世木聡、中村智子、田中秀明、曽根原玲菜、三宅菜月、村岡彩子、仲西菜月、大須賀智子、梶山広明
2. 発表標題 内膜症性嚢胞が卵巣顆粒膜細胞に及ぼす影響
3. 学会等名 第44回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹田健彦、村上真由子、大須賀智子、阮加里、関友望、可世木聡、矢吹淳司、田中秀明、曾根原玲菜、三宅菜月、村岡彩子、仲西菜月、中村智子、梶山広明
2. 発表標題 卵巣子宮内膜症に対する非ホルモン治療薬としてのNLRP3阻害剤の有効性の検討
3. 学会等名 第44回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村智子
2. 発表標題 ライフステージに応じた子宮内膜症の薬物療法
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shotaro Hayashi, Tomoko Nakamura, Natsuki Miyake, Reina Sonehara, Mayuko Murakami, Sayako Yoshita, Ayako Muraoka, Natsuki Nakanishi, Tomohiko Murase, Satoko Osuka, Maki Goto, Hiroaki Kajiyama
2. 発表標題 Novel established ovarian endometriosis mouse model appeared infertility accompanied with iron-induced oxidative stress on follicles
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会 international session
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayako Muraoka, Satoko Osuka, Reina Sonehara, Mayuko Murakami, Natsuki Miyake, Sayako Yoshita, Shotaro Hayashi, Natsuki Nakanishi, Tomohiko Murase, Tomoko Nakamura, Maki Goto, Hiroaki Kajiyama
2. 発表標題 Human endometrial epithelial and mesenchymal cell lines were established and characterized the difference with or without endometriosis
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会 international session
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村上 真由子, 大須賀 智子, 曾根原 玲菜, 三宅 菜月, 吉田 沙矢子, 林 祥太郎, 村岡 彩子, 仲西 菜月, 邨瀬 智彦, 中村 智子, 後藤 真紀, 梶山 広明
2. 発表標題 子宮内膜症とNLRP3 inflammasomeおよびIL-1 の関連についての検討
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村智子、仲西菜月、大須賀智子、後藤真紀、梶山広明
2. 発表標題 腸管子宮内膜症治療：部位による検討
3. 学会等名 第61回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会 シンポジウム1
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi Shotaro, Nakamura Tomoko, Miyake Natsuki, Sonehara Reina, Murakami Mayuko, Yoshita Sayako, Muraoka Ayako, Nakanishi Natsuki, Murase Tomohiko, Osuka Satoko, Goto Maki, Kajiyama Hiroaki
2. 発表標題 Novel established ovarian endometriosis mouse model appeared infertility accompanied with iron-induced oxidative stress on follicles
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 祥太郎、中村 智子、田中 秀明、曾根原玲菜、村上真由子、村岡 彩子、仲西 菜月、邨瀬 智彦、大須賀智子、後藤 真紀、岩瀬 明、梶山広明
2. 発表標題 新規卵巣子宮内膜症モデルマウスの確立と酸化ストレスによる卵胞機能、妊孕性の低下
3. 学会等名 第42回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Xuan Phuoc Nguyen, Tomoko Nakamura, Satoko Osuka, Bayasula Bayasula, Ayako Muraoka, Shotaro Hayashi, Natsuki Nakanishi, Yukiyo Kasahara, Tomohiko Murase, Maki Goto, Akira Iwase, Fumitaka Kikkawa
2. 発表標題 Expressions and Effects of Phoenixin and Its Receptor GPR173 During the Human Menstrual Cycle
3. 学会等名 Society for Reproductive Investigation 67th Annual Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoko Nakamura, Umida Ganieva, Akira Iwase, Satoko Osuka, Shotaro Hayashi, Ayako Muraoka, Natsuki Nakanishi, Tomohiko Murase, Maki Goto, Hiroaki Kajiyama
2. 発表標題 Expressions of transcription factor 21 and periostin in the eutopic endometrium of adenomyosis and endometriosis
3. 学会等名 14th World Congress on Endometriosis (国際学会)
4. 発表年 2021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
研究分担者	岩瀬 明 (Iwase Akira) (20362246)	群馬大学・大学院医学系研究科・教授 (12301)	
研究分担者	後藤 真紀 (Goto Maki) (90378125)	名古屋大学・医学系研究科・准教授 (13901)	2021年12月31日に退職のため、研究分担者から削除しました。
研究分担者	大須賀 智子 (Osuka Satoko) (30778296)	名古屋大学・医学部附属病院・准教授 (13901)	

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
---------	---------