

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21659260

研究課題名（和文） 現代の光環境が子宮内膜症を誘導する分子メカニズムの解明

研究課題名（英文） The lighting effects on development of endometrial hyperplasia

研究代表者

岡村 州博 (OKAMURA KUNIHIRO)

東北大学・大学院医学系研究科・名誉教授

研究者番号：90124560

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、現代社会に特徴的な夜間照明が、エストロゲン・シグナルを介し子宮内膜症を増殖させるメカニズムを、動物モデルを用いて解明することである。

「子宮内膜症モデル・マウス」を作成し、Bmal1 レポーター遺伝子にて内膜症組織に対する光環境の影響を評価し、夜間照明が子宮内膜症の癌化傾向が増進する可能性を、移植内膜組織のサイズ、血中エストロゲン (E1・E2) 濃度が上昇を指標として検討した。

研究成果の概要（英文）：

This research aims to clarify how illumination during night leads to endometrial hyperplasia using the estrogen signal pathway of an animal model. We evaluated the effects of night illumination on transplanted endometrial tissues using a Bmal1-reporter system and also examined the degree of hyperplasia by measuring the growth sizes of endometrial tissues and serum estrogen levels (E1, E2).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	0	1,500,000
2010 年度	800,000	0	800,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	240,000	3,340,000

研究分野：産科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・胎児新生児医学

キーワード：子宮内膜症、光環境、エストロゲン

1. 研究開始当初の背景

近年の大規模臨床研究により、夜間人工照明

が乳ガン発生率を上昇させるという結果が報告された。その原因として光による夜間メラトニンの分泌抑制が推定されている (Davis & Mirick, 2006; Hansen, 2006)。乳ガン研究では、メラトニンがその増殖を抑制することが既に明らかになっており、ラットにおいてメラトニン産生器官の松果体を除去すると、乳ガン細胞が増殖することが報告されている (Blask et al., 2003)。また、ヒト乳ガン細胞由来の MCF-7 細胞の増殖はメラトニンで抑制される (Hill & Blask, 1988)。乳がんと同様に現代の光環境がメラトニンが関わるメカニズムを通して子宮内膜症に影響する可能性がある。近年、子宮内膜症患者の罹患数が上昇傾向にあることが言われているが、この背景として現代社会に特徴的な夜間の恒明環境が子宮内膜症患者の増加につながっているのかも知れない。我々は、「夜間の光環境→メラトニン分泌低下→腫瘍細胞の増殖メカニズム」の間をつなぐ因子として、子宮内膜症の主要因子であるエストロゲンに注目している。光曝露によってメラトニン分泌が低下しエストロゲン受容体の発現が抑制される可能性 (Roy & Wilson, 1981)、恒明環境において卵巣からのエストロゲン分泌の増加 (Stevens & Rea, 2001;) が報告されている。また、子宮内膜症同様にエストロゲン受容体 β (ER β) が α (ER α) に比較して優位とされる前立腺がんにおいては、ER β が癌化した細胞のアポトーシスを誘導し、良性腫瘍としての増殖能のみを ER α を通じて維持させている可能性がある (Cheng et al., 2004)。多様な増殖因子・特定遺伝子が関与する乳ガン細胞に比べ、主にエストロゲンが細胞増殖に重要な役割を果たす子宮内膜症

細胞を検討することにより「光環境→メラトニン→エストロゲン→腫瘍細胞増殖・癌化」のメカニズムをより端的に解明できる可能性が高い。

2. 研究の目的

子宮内膜症は組織学的には良性腫瘍に分類され、その増殖にエストロゲンが重要な役割を果たしている。このエストロゲン・シグナルが関わる子宮内膜症の増殖・分化・アポトーシスといった制御メカニズムの解明が的確な治療方法を開発する鍵になると考えられる。子宮内膜症は免疫システム異常やダイオキシンなど環境因子に誘発される可能性も指摘されている (Hastings & Fazleabas, 2003) が、我々は子宮内膜症の誘発因子として「光環境」に着目している。本研究の目的は、現代社会に特徴的な恒明環境、つまり生理学的因子としての光環境が、エストロゲン・シグナルを介し子宮内膜症を増殖・癌化させるメカニズムを、動物モデルを用いて解明することである。

3. 研究の方法

本研究では、子宮内膜症マウスモデルに Bmal1 (光環境センサー遺伝子) :: luc 遺伝子導入を行った in vivo/in vitro 系を用い、以下の点を明らかにする。

(1) Bmal1 遺伝子マーカーをもつヒト子宮内膜症細胞の作成

ヒト子宮内膜症細胞にレンチウイルスを用い、Bmal1 プロモーターに発光遺伝子ルシフェラーゼを結びつけた DNA 構成物 (コンストラクト; 実験協力者 Dr. Ueil Schibler, スイス・ジュネーブ大学の提供; 下図参照) を

通常のプロトコールに従い遺伝子導入する。この作業によりエストロゲン受容体に影響すると考えられる光環境の影響をルシフェラーゼの発光計測により単一細胞レベルで間接的に評価することが可能となる。

(2) 子宮内膜症マウスモデルの作成

Bmal1 遺伝子レポーターシステムを導入した子宮内膜症組織を免疫不全マウスに移植し、子宮内膜症マウスモデルを作成する。

(3) 実験プロトコール

子宮内膜組織を免疫不全マウスに移植し3週間後（移植手術の影響が安定した時点）、モデルマウスを明期12時間・暗期12時間の合計24時間の明暗サイクルで2週間飼育し、飼育環境を整える（準備期間）。その後、以下の3種類の環境で行動リズムを記録（赤外線センサーにて）しながら56日間飼育（ヒト月経周期2サイクル分）を飼育し、移植した子宮内膜症組織の評価を行う。

①明暗環境（コントロール群）；準備期間と同じ明期12時間・暗期12時間の明暗サイクル（n = 6）

②恒明環境（実験群1）；24時間明期が継続する光環境。照度を6段階（0.01, 0.10, 1.0, 10, 100, 200W/cm²）に分けて設定した（各照度でn=6, 合計n=36）

③明暗環境（実験群2）；松果体を取り除きメラトニン分泌を完全に抑えた状態のラットを明期12時間・暗期12時間の明暗サイクルで飼育する（n = 6）

(4) データ採取と解析

子宮内膜症の進行を評価する目的で、マウス断頭後、移植子宮内膜症組織において以下の

指標を計測し、3実験群比較する

①肉眼計測及びBmal1:luc発光計測(in vivo imaging)による移植子宮内膜症組織のサイズ計測

②細胞増殖指標；Ki-67抗体陽性細胞数

③細胞アポトーシス指標；ssDNA抗体陽性細胞数

④血管増殖指標；von Willebrand factor陽性血管数、VEGF抗体陽性細胞数

次に、恒明環境がエストロゲン・シグナル機構に与える影響を評価する目的で以下の指標を計測し3実験群で比較する

①子宮内膜症組織のエストロゲン受容体(ER α ・ β)の発現レベル；quantitative RT-PCR/Western blotを用いて確認

②血液サンプルからの血中エストロゲン(E1/E2)濃度

そして、子宮内膜症組織の細胞周期・増殖機構を検討する目的で以下の検討を行う

①Bmal1発現レベルの測定；レポーター活性の測定。

②Cyclin D1の発現レベルの確認

上記の実験を通して、以下の点を明らかにする。

①恒明環境の下で、移植ヒト子宮内膜症組織の増殖・分化スピードが促進すること

②恒明環境がメラトニン分泌を低下させ子宮内膜症組織のエストロゲン受容体を増加かつER α /ER β の割合を変化させること

③恒明環境の下で増加したエストロゲン受容体が子宮内膜症組織の細胞周期に影響し、細胞増殖・分化を起こす分子生物学的メカニズム

また、本研究を通し、子宮内膜症予防のため夜間過度の人工光下で生活しない環境が有効である可能性を提言し、産婦人科領域の公衆衛生に貢献する。

4. 研究成果

夜間照明が子宮内膜症の癌化傾向が増進する可能性を、移植ヒト子宮内膜組織のサイズ、血中エストロゲン(E1・E2)濃度の上昇を指標として確認した。

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 1 件)

①Hanita, Ohta, et al (4名、2番目).
Monitoring preterm infants' vision development with light-only melanopsin is functional.
Journal of Pediatrics (査読有) 155 ; 596-596 (2009)

[学会発表] (計 0 件)

[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]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡村 州博 (OKAMURA KUNIHIRO)

東北大学・大学院医学系研究科・名誉教授

研究者番号 : 90124560

(2) 研究分担者

太田 英伸 (OHTA HIDENOBU)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号 : 80422103

千坂 泰 (CHISAKA HIROSHI)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号 : 40323026