

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2012～2013
課題番号：24791687
研究課題名(和文) 子宮内膜症におけるブラジキニンに関する検討

研究課題名(英文) the bradykinin system in endometriosis

研究代表者

吉野 修 (Yoshino, Osamu)

富山大学・大学院医学薬学(医学)・准教授

研究者番号：00466757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：子宮内膜症の治療と不妊治療を同時期に行うことができる優れた薬物療法の開発が必要となります。そこで、子宮内膜症の新たな治療戦略を見出すことを目的に検討を行ってきました。培養子宮内膜症細胞にIL-1 β 、TNF- α 刺激により誘導される因子の解析を網羅的に行ったところ、ブラジキニン受容体(I型およびII型)が著明に誘導されることを見出した。また、機能解析により誘導されるブラジキニン受容体はfunctional であること、同受容体阻害剤であるHOE-140が子宮内膜症の治療薬に成り得ることを示した。

研究成果の概要(英文)：In the treatment for endometriosis, a new technique which contains therapy for both endometriosis and infertility is required. In the present study, we found bradykinin system is involved in endometriosis. Also, we found that the suppression of bradykinin receptor might be a new therapy for endometriosis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：子宮内膜症 ブラジキニン

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は、病理学的には良性疾患であるが疼痛や不妊の原因となること、また卵巣癌の発生母地になることから、女性の健康を著しく損なう疾患として注目されている。その罹患率は生殖年齢女性の 10%と言われ、女性のライフスタイル向上のためには、是非にも制御すべき疾患と言える。従来、同疾患の治療法として内分泌療法、手術療法などが施行されているが、いまだ十分に確立したものが無いと言わざるを得ない。我々は、経口避妊薬の子宮内膜症に対する有用性を発表してきたが (Takamura, Yoshino et al. Hum Reprod. 2009)、同治療は排卵を抑制するため、妊娠を希望する症例に使用することができない。即ち、子宮内膜症の治療と不妊治療を同時に行える優れた薬物療法の開発が待たれているところである。挙児希望のある女性には現況では NSAIDs を多用するが、効果は限定的であることが多い。また、外科的手法として子宮内膜症病巣切除術により、ある程度の疼痛改善効果を期待できる。しかし、子宮内膜症の好発部位である卵巣病変を切除することで、正常卵巣機能が低下することが知られており、妊孕能温存という観点からは疑問が残る治療法である。そこで、疼痛および炎症を制御する新たな治療法の開発が求められている。

2. 研究の目的

今回、疼痛および炎症を制御することを目的にブラジキニンに注目した。

ブラジキニンは生体内でもっとも強い「発痛物質」であり、NSAIDs の対象物質であるプロスタグランジンよりも発痛作用は格段に強いことが知られている。加えて、最近ブラジキニン受容体の拮抗薬 icatibant (薬物名: HOE-140) が遺伝性血管性浮腫に対して有効であるとの臨床治験の報告があり

(Cicardi et al. N Engl J Med. 2010) 今後、ブラジキニン受容体に対する拮抗薬が臨床応用される可能性が高いと予想される。本研究は、子宮内膜症におけるブラジキニンシステムの役割および、ブラジキニン受容体の拮抗薬の子宮内膜症への作用を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

婦人科手術時に得られた子宮内膜症病変および子宮内膜症性細胞を実験に使用した。

1. In vivo 実験

子宮内膜症におけるブラジキニンシステムの発現に関する検討

ヒト子宮内膜症病変におけるブラジキニン受容体発現に関して免疫染色を行った。

2. in vitro 実験

A. ブラジキニン受容体の発現調節およびその機能に関する検討

培養子宮内膜症性細胞にブラジキニンペプチドを培養子宮内膜症細胞に炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α) 添加し、ブラジキニン受容体の発現を検討した。また、IL-1 β 刺激 24 時間後にブラジキニンを 8 時間添加し、子宮内膜症の炎症に関与するケミカルメディエーター (IL-6, COX-2 mRNA) および疼痛に関連する物質 (エンドセリン mRNA) 発現の作用を定量的 PCR 法にて検討した。

B. ブラジキニン受容体の阻害剤の作用

上記実験系にブラジキニン受容体の阻害剤である HOE-140 を添加し、IL-6, COX-2, エンドセリン mRNA を検討した。

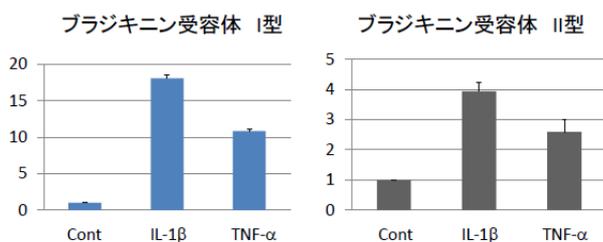
4. 研究成果

1. In vivo 実験

免疫染色により、子宮内膜症病変ではブラジキニン受容体 (II 型) の発現を上皮および間質に認めた。

2. In vitro 実験

まず、子宮内膜症細胞自体にブラジキニンを生産するか、ブラジキニン産生酵素であるキニノーゲンの発現を mRNA で検討したところ、その発現は多くなかった。ブラジキニンは内皮細胞で産生され、血液を介して全身に循環する。そこで、ブラジキニン受容体を有する組織がブラジキニンをケミカルメディエーターとして利用する。これまでの多くの研究により子宮内膜症を有する患者の腹腔内環境は向炎症性サイトカインやケモカインが上昇していることから、子宮内膜症は炎症性疾患として捉えられている。特に、我々は向炎症性サイトカイン IL-1 β 、TNF- α が MAPK を介して、種々のサイトカイン、ケモカインを誘導することで、病態の進展に寄与していることを示してきた (Yoshino et al. Am J Reprod Immunol. 2004)。培養子宮内膜症細胞に IL-1 β 、TNF- α 刺激によりブラジキニン受容体 (I 型および II 型) が著明に誘導されることを見出した。



誘導されたブラジキニン受容体が機能的であるか検討するため、IL-1 β 刺激 24 h 後にブラジキニン (1 μ M) を 8 h 添加したところ、IL-1 β 単独刺激よりも、IL-1 β +ブラジキニン刺激でさらに COX-2 および IL-6 発現が誘導された (図 2)。尚、ブラジキニン単独刺激では、これら mRNA 発現は誘導されなかった。IL-6 は炎症を惹起し、また COX-2 により誘導されるプロスタグランジンは痛みの閾値を低下させることが知られている。

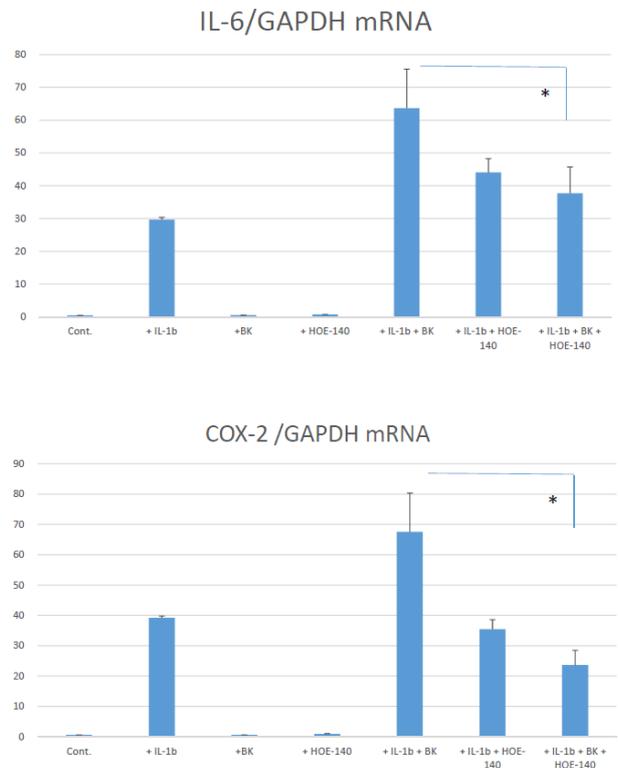


図 2 IL-1 β 添加 24 時間後に BK (ブラジキニン) および HOE-140 を 8 時間添加し mRNA を検討した。

また、同実験系において、ブラジキニン受容体阻害剤である HOE-140 添加により、IL-1 β +ブラジキニン刺激群において、BK により誘導された分の発現量が抑制された。さて、ブラジキニンは生体内でもっとも強い「発痛物質」であると言われているが、その機序の 1 つとして、組織からエンドセリンを誘導することが知られている。我々の実験系においても、IL-1 β +ブラジキニン刺激群でエンドセリンが誘導されることが明らかになった (データは示さず)。本研究を介して、慢性炎症性疾患である子宮内膜症病変では、ブラジキニン受容体の発現が亢進していること、またブラジキニンは子宮内膜症病変において、ケミカルメディエーターとして作用することが明らかとなった。加えて、ブラジキニン受容体の拮抗薬 icatibant が子宮内膜症の治療になり得る可能性を示すことができた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1: Tokura Y, Yoshino O, Ogura-Nose S, Motoyama H, Harada M, Osuga Y, Shimizu Y, Ohara M, Yorimitsu T, Nishii O, Kozuma S, Kawamura T. The significance of serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels in patients over age 40 in first IVF treatment. J Assist Reprod Genet. 2013 Jun;30(6):821-5. 査読あり

2: Urata Y, Osuga Y, Akiyama I, Nagai M, Izumi G, Takamura M, Hasegawa A, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Yoshino O, Koga K, Kozuma S. Interleukin-4 and prostaglandin E2 synergistically up-regulate 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in endometrioma stromal cells. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Apr;98(4):1583-90. 査読あり

3: Zhao Y, Koga K, Osuga Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Yoshino O, Inoue S, Fujii T, Kozuma S. Cyclic stretch augments production of neutrophil chemokines and matrix metalloproteinases-1 (MMP-1) from human decidual cells, and the production was reduced by progesterone. Am J Reprod Immunol. 2013 May;69(5):454-62. 査読あり

4: Zhao Y, Koga K, Osuga Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Yoshino O, Fujii T, Kozuma S. Cyclic stretch augments production of neutrophil chemokines and matrix metalloproteinase-1 in human uterine smooth muscle cells. Am J Reprod Immunol. 2013 Mar;69(3):240-7.

査読あり

5: Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, Izumi G, Urata Y, Hirota Y, Hirata T, Harada M, Koga K, Ogawa K, Kozuma S. Follistatin is induced by IL-1 and TNF- α in stromal cells from endometrioma. Reprod Sci. 2013 Jun;20(6):675-9. 査読あり

6: Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, Shi J, Hirota Y, Hirata T, Harada M, Koga K, Fujimoto A, Yano T, Taketani Y. The localization and regulation of proprotein convertase subtilisin/kexin (PCSK) 6 in human ovary. Am J Reprod Immunol. 2012 Dec;68(6):491-8. 査読あり

7: Takamura M, Osuga Y, Izumi G, Yoshino O, Koga K, Saito A, Hirata T, Hirota Y, Harada M, Hasegawa A, Taketani Y. Interleukin-17A is present in neutrophils in endometrioma and stimulates the secretion of growth-regulated oncogene-1 (GRO-1) from endometrioma stromal cells. Fertil Steril. 2012 Nov;98(5):1218-24.e1-2. 査読あり

8: Urata Y, Osuga Y, Izumi G, Takamura M, Koga K, Nagai M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Yoshino O, Taketani Y. Interleukin-1 α stimulates the secretion of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) from endometrioma stromal cells: possible involvement of TSLP in endometriosis. Hum Reprod. 2012 Oct;27(10):3028-35. 査読あり

9: Zhao Y, Koga K, Osuga Y, Nagai M, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirota Y, Yoshino O, Taketani Y. Thrombin enhances soluble Fms-like tyrosine kinase 1

expression in trophoblasts; possible involvement in the pathogenesis of preeclampsia. Fertil Steril. 2012 Oct;98(4):917-21. 査読あり

10: Ogura-Nose S, Yoshino O, Osuga Y, Shi J, Hiroi H, Yano T, Taketani Y. Anti-Mullerian hormone (AMH) is induced by bone morphogenetic protein (BMP) cytokines in human granulosa cells. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 Sep;164(1):44-7. 査読あり

11: 吉野 修 子宮内膜症におけるブラジキニンに関する検討 産科と婦人科 vol. 80 No 11, 1509-1510, 2013年 査読なし

〔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)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

吉野 修 (OSAMU YOSHINO)

富山大学・大学院医学薬学(医学)

・准教授

研究者番号 : 00466757