

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462478

研究課題名(和文)子宮内膜症の病因病態における腹腔内貪食細胞の関与

研究課題名(英文)The role of phagocytes in the pathogenesis of endometriosis

研究代表者

甲賀 かをり (KOGA, KAORI)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10396723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、子宮内膜症患者の樹状細胞では、マンノースレセプター陽性MDC1細胞が多いこと、樹状細胞は逆流子宮内膜中の死細胞を貪食しており、マンノースレセプターをブロックするとそれが抑制されること、さらに樹状細胞が子宮内膜を貪食するとIL6, IL1 の分泌が増えることが明らかとなった。以上のことから、子宮内膜症患者の腹腔内樹状細胞はマンノースレセプターを介して逆流子宮内膜細胞を貪食し、子宮内膜症の増悪に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that the proportion of mannose receptor (MR) positive - myeloid DC type 1 was higher in endometriosis samples than in controls. The blocking of MR reduced phagocytosis of dESC by Mo-DC. Mo-DC cultured with dESC expressed higher levels of interleukin (IL)-1 and IL-6 than controls.

According to these findings, we suggested that peritoneal DC in endometriosis tissue express high levels of MR, which promotes phagocytosis of dead endometrial cells, and thereby contributes to the etiology of endometriosis.

研究分野：産婦人科学

キーワード：子宮内膜症 マクロファージ 樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

子宮内膜症は、痛み・不妊などを引き起こすことで女性の生活の質(QOL)を著しく低下させる疾患だが、その病因病態は不明な点が多く、治療法もホルモン療法に限られ、効果は限定的である。本症の患者では、腹腔内で貪食細胞、すなわちマクロファージ・樹状細胞により貪食されるべき逆流月経血中の死細胞/debris が貪食されずに排除されない、あるいは貪食により惹起される炎症反応が慢性化する、といった現象が生じ、それが本症の病因病態の一端を担っていると考えられているが、その分子学的機構は明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究は、臨床検体を用いた観察研究、細胞培養および動物実験を用いた検証実験などから、その機構を明らかにし、貪食細胞の制御により子宮内膜症を制御するというあらたな治療戦略に結びつけることを目的に計画した。

3. 研究の方法

はじめに、子宮内膜症患者の腹腔内マクロファージ・樹状細胞の subpopulation を、非子宮内膜症対照者と比較した。ここではまず、磁気ビーズあるいはFACSを用いて個々の患者および対照者の腹腔内貯留液から貪食細胞を単離し、RNA あるいは培養上清タンパクを回収し、アレイなどで患者・対照の比較を網羅的に行った。次に腹腔内の死細胞(子宮内膜由来と考えられる)と樹状細胞の共培養、貪食実験を行った。さらに子宮内膜症間質細胞とマクロファージの共培養も行った。

4. 研究成果

◆ 樹状細胞について

子宮内膜症患者の腹腔内樹状細胞を、対象群と比較した。MDC1, MDC2, PDC1の割合に両群で差を認めなかった。次に細胞表面マーカーとして CD83, DEC205, CD169, CD163, CD206 (マンノースレセプター)の発現を両群で比較したところ、マンノースレセプターの発現以外では両群で差を認めなかったが、マンノースレセプターの発現は子宮内膜症群で高値であった。

次に、子宮内膜症死細胞と樹状細胞を共培養したところ、樹状細胞が子宮内膜症死細胞を貪食することがわかり、さらにこの貪食によって IL6 などの炎症性サイトカインの分泌が上昇することが明らかになった。またこの貪食はマンノースレセプターをマスクすることによって抑制されることが明らかとなった。

◆ マクロファージについて

子宮内膜症患者の腹腔内マクロファージを、対象群と比較した。M1M2 マクロファージのマーカーである CD163, CD206 の発現頻度発現強度と

もに両群で差はなかった。そこで両群のマクロファージをマイクロアレイで比較したところ、子宮内膜症患者のマクロファージでは血管新生を促進させる VEGF の発現が高く、抑制させる IP10 の発現が低く、T 細胞を TH1 系に促進させる CCL5、好中球を遊走させる CXCL2, 3, CXCL8 の発現が上昇、一方抗原提示を担当する HLRDR の発現は低下していることがわかった。これらの傾向は新規サンプルを用いたバリデーションアッセイでも確認できた。

さらに子宮内膜症間質細胞と子宮内膜症を有しない女性の腹腔内マクロファージを共培養したところ、上記のような子宮内膜症患者のマクロファージのプロフィールを獲得した。この現象は子宮内膜間質細胞の上清を添加した場合には認めず、共培養による子宮内膜症細胞との相互作用が必要であることが示唆された。さらにこの相互作用にはプロスタグランジンが必要であることを示した。

これらの所見より、子宮内膜症の腹腔内では貪食細胞である樹状細胞、マクロファージが本症の発症進展にかかわり、樹状細胞による細胞貪食や、マクロファージが子宮内膜症病巣と相互作用を起こす際のプロスタグランジン産生などが本症の治療ターゲットとなりうることを示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 41 件) 全て査読有

1. Izumi G, Koga K, Takamura M, Bo W, Nagai M, Miyashita M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Yoshino O, Fujii T, Osuga Y. Oil-Soluble Contrast Medium (OSCM) for Hysterosalpingography Modulates Dendritic Cell and Regulatory T Cell Profiles in the Peritoneal Cavity: A Possible Mechanism by Which OSCM Enhances Fertility. *J Immunol* 2017; 10.4049/jimmunol.1600498
2. Saito A, Hirata T, Koga K, Takamura M, Fukuda S, Neriishi K, Pastorfid G, Harada M, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Preoperative assessment of factors associated with difficulty in performing total laparoscopic hysterectomy. *J Obstet Gynaecol Res* 2017; 43:320-329.10.1111/jog.13198
3. Makabe T, Koga K, Miyashita M, Takeuchi A, Sue F, Taguchi A, Urata Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Drospirenone reduces inflammatory cytokines, vascular endothelial growth factor (VEGF) and nerve growth factor (NGF) expression in human endometriotic stromal cells. *J Reprod Immunol* 2017; 119:44-48.10.1016/j.jri.2016.12.002

4. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Zhao L, Azhary JM, Yoshino O, Izumi G, Hirata T, [Koga K](#), Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. A Potential Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Progesterone Deficiency in Obese Women. *Endocrinology* 2017; 158:84-97.10.1210/en.2016-1511
5. Takahashi N, Yoshino O, Hiraike O, Maeda E, Nakamura M, Hori M, Harada M, [Koga K](#), Saito S, Fujii T, Osuga Y. The assessment of myometrium perfusion in patients with uterine fibroid by arterial spin labeling MRI. *Springerplus* 2016; 5:1907.10.1186/s40064-016-3596-0
6. Takeuchi A, [Koga K](#), Miyashita M, Makabe T, Sue F, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y. Dienogest reduces proliferation, NGF expression and nerve fiber density in human adenomyosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016; 207:157-161.10.1016/j.ejogrb.2016.10.053
7. Fujii T, Wada-Hiraike O, Nagamatsu T, Harada M, Hirata T, [Koga K](#), Fujii T, Osuga Y. Assisted reproductive technology pregnancy complications are significantly associated with endometriosis severity before conception: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol* 2016; 14:73.10.1186/s12958-016-0209-2
8. Izumi G, [Koga K](#), Takamura M, Makabe T, Nagai M, Urata Y, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y. Mannose receptor is highly expressed by peritoneal dendritic cells in endometriosis. *Fertil Steril* 2017; 107:167-173 e162.10.1016/j.fertnstert.2016.09.036
9. Haraguchi H, [Koga K](#), Takamura M, Makabe T, Sue F, Miyashita M, Urata Y, Izumi G, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Oda K, Kawana K, Fujii T, Osuga Y. Development of ovarian cancer after excision of endometrioma. *Fertil Steril* 2016; 106:1432-1437 e1432.10.1016/j.fertnstert.2016.07.1077
10. Yoshida M, Taguchi A, Kawana K, Adachi K, Kawata A, Ogishima J, Nakamura H, Fujimoto A, Sato M, Inoue T, Nishida H, Furuya H, Tomio K, Arimoto T, [Koga K](#), Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu T, Kiyono T, Osuga Y, Fujii T. Modification of the Tumor Microenvironment in KRAS or c-MYC-Induced Ovarian Cancer-Associated Peritonitis. *PLoS One* 2016; 11:e0160330.10.1371/journal.pone.0160330
11. Takamura M, [Koga K](#), Izumi G, Urata Y, Nagai M, Hasegawa A, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Neutrophil depletion reduces endometriotic lesion formation in mice. *Am J Reprod Immunol* 2016; 76:193-198.10.1111/aji.12540
12. Takahashi N, Yoshino O, Maeda E, Naganawa S, Harada M, [Koga K](#), Hiraike O, Nakamura M, Tabuchi T, Hori M, Saito S, Fujii T, Osuga Y. Usefulness of T2 star-weighted imaging in ovarian cysts and tumors. *J Obstet Gynaecol Res* 2016; 42:1336-1342.10.1111/jog.13056
13. Hirano M, Wada-Hiraike O, Fu H, Akino N, Isono W, Sakurabashi A, Fukuda T, Morita Y, Tanikawa M, Miyamoto Y, Nishi Y, Yanase T, Harada M, Oishi H, Yano T, [Koga K](#), Oda K, Kawana K, Fujii T, Osuga Y. The Emerging Role of FOXL2 in Regulating the Transcriptional Activation Function of Estrogen Receptor beta: An Insight Into Ovarian Folliculogenesis. *Reprod Sci* 2016; 10.1177/1933719116651150
14. Miyashita M, [Koga K](#), Izumi G, Sue F, Makabe T, Taguchi A, Nagai M, Urata Y, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Effects of 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 on Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101:2371-2379.10.1210/jc.2016-1515
15. Takahashi N, Harada M, Hirota Y, Zhao L, Yoshino O, Urata Y, Izumi G, Takamura M, Hirata T, [Koga K](#), Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. A potential role of endoplasmic reticulum stress in development of ovarian hyperstimulation syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2016; 428:161-169.10.1016/j.mce.2016.03.032
16. Taguchi A, [Koga K](#), Kawana K, Makabe T, Sue F, Miyashita M, Yoshida M, Urata Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Resveratrol Enhances Apoptosis in Endometriotic Stromal Cells. *Am J Reprod Immunol* 2016; 75:486-492.10.1111/aji.12489
17. Sato M, Harada M, Oishi H, Wada-Hiraike O, Hirata T, Nagasaka K, [Koga K](#), Fujii T, Osuga Y. Vaginal Stenosis

- After Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Therapy During Treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Low Genit Tract Dis* 2016; 20:e11-13.10.1097/LGT.000000000000175
18. Arakawa I, Momoeda M, Osuga Y, Ota I, Tanaka E, Adachi K, Koga K. Cost-Effectiveness of Recommended Medical Intervention for Treatment of Dysmenorrhea and Endometriosis in Japan Setting. *Value Health* 2015; 18:A736-737.10.1016/j.jval.2015.09.2824
19. Takamura M, Koga K, Izumi G, Hirata T, Harada M, Hirota Y, Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Simultaneous Detection and Evaluation of Four Subsets of CD4+ T Lymphocyte in Lesions and Peripheral Blood in Endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2015; 74:480-486.10.1111/aji.12426
20. Koga K, Takamura M, Fujii T, Osuga Y. Prevention of the recurrence of symptom and lesions after conservative surgery for endometriosis. *Fertil Steril* 2015; 104:793-801.10.1016/j.fertnstert.2015.08.026
21. Harada M, Nose E, Takahashi N, Hirota Y, Hirata T, Yoshino O, Koga K, Fujii T, Osuga Y. Evidence of the activation of unfolded protein response in granulosa and cumulus cells during follicular growth and maturation. *Gynecol Endocrinol* 2015; 31:783-787.10.3109/09513590.2015.1062862
22. Hirata T, Nakazawa A, Fukuda S, Hirota Y, Izumi G, Takamura M, Harada M, Koga K, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Four Cases of Postoperative Pneumothorax Among 2814 Consecutive Laparoscopic Gynecologic Surgeries: A Possible Correlation Between Postoperative Pneumothorax and Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2015; 22:980-984.10.1016/j.jmig.2015.04.023
23. Miyashita M, Koga K, Izumi G, Makabe T, Hasegawa A, Hirota Y, Hirata T, Harada M, Fujii T, Osuga Y. Drospirenone induces decidualization in human eutopic endometrial stromal cells and reduces DNA synthesis of human endometriotic stromal cells. *Fertil Steril* 2015; 104:217-224 e212.10.1016/j.fertnstert.2015.03.023
24. Wang B, Fang Y, Wu Y, Koga K, Osuga Y, Lv S, Chen D, Zhu Y, Wang J, Huang H. Viperin is induced following toll-like receptor 3 (TLR3) ligation and has a virus-responsive function in human trophoblast cells. *Placenta* 2015; 36:667-673.10.1016/j.placenta.2015.03.002
25. Harada M, Takahashi N, Hirata T, Koga K, Fujii T, Osuga Y. Laparoscopic excision of ovarian endometrioma does not exert a qualitative effect on ovarian function: insights from in vitro fertilization and single embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32:685-689.10.1007/s10815-015-0457-7
26. Izumi G, Koga K, Nagai M, Urata Y, Takamura M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Ogawa K, Inoue S, Fujii T, Osuga Y. Cyclic stretch augments production of neutrophil chemokines, matrix metalloproteinases, and activin in human endometrial stromal cells. *Am J Reprod Immunol* 2015; 73:501-506.10.1111/aji.12359
27. Samejima T, Koga K, Nakae H, Wada-Hiraike O, Fujimoto A, Fujii T, Osuga Y. Identifying patients who can improve fertility with myomectomy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2015; 185:28-32.10.1016/j.ejogrb.2014.11.033
28. Yamamoto N, Koga K, Akahane M, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Temporary balloon occlusion of the uterine arteries to control hemorrhage during hysterectomy in a case of uterine arteriovenous fistula. *J Obstet Gynaecol Res* 2015; 41:314-318.10.1111/jog.12515
29. Urata Y, Koga K, Hirota Y, Akiyama I, Izumi G, Takamura M, Nagai M, Harada M, Hirata T, Yoshino O, Kawana K, Fujii T, Osuga Y. IL-1beta increases expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and stimulates tryptophan catabolism in endometrioma stromal cells. *Am J Reprod Immunol* 2014; 72:496-503.10.1111/aji.12282
30. Hirata T, Izumi G, Takamura M, Saito A, Nakazawa A, Harada M, Hirota Y, Koga K, Fujii T, Osuga Y. Efficacy of dienogest in the treatment of symptomatic adenomyosis: a pilot study. *Gynecol Endocrinol* 2014; 30:726-729.10.3109/09513590.2014.926882
31. Fu H, Wada-Hiraike O, Hirano M, Kawamura Y, Sakurabashi A, Shirane A, Morita Y, Isono W, Oishi H, Koga K, Oda K, Kawana K, Yano T, Kurihara H, Osuga Y, Fujii T. SIRT3 positively regulates the expression of folliculogenesis- and luteinization-related genes and progesterone secretion by manipulating oxidative stress in human luteinized granulosa

cells. *Endocrinology* 2014;
155:3079-3087.10.1210/en.2014-1025

32. Haraguchi H, Saito-Fujita T, Hirota Y, Egashira M, Matsumoto L, Matsuo M, Hiraoka T, Koga K, Yamauchi N, Fukayama M, Bartos A, Cha J, Dey SK, Fujii T, Osuga Y. MicroRNA-200a locally attenuates progesterone signaling in the cervix, preventing embryo implantation. *Mol Endocrinol* 2014; 28:1108-1117.10.1210/me.2014-1097

33. Miyashita M, Koga K, Takamura M, Izumi G, Nagai M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y. Dienogest reduces proliferation, aromatase expression and angiogenesis, and increases apoptosis in human endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2014;
30:644-648.10.3109/09513590.2014.911279

34. Hirata T, Fujimoto A, Koga K, Wada-Hiraike O, Fujii T, Osuga Y. Concomitant ovarian drilling and oocyte retrieval by laparoendoscopic single-site surgery led to live birth using in vitro maturation of oocyte and transfer of frozen-thawed blastocyst in woman with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40:1431-1435.10.1111/jog.12365

35. Koga K, Izumi G, Mor G, Fujii T, Osuga Y. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy complications. *Am J Reprod Immunol* 2014;
72:192-205.10.1111/aji.12258

36. Taguchi A, Kawana K, Tomio K, Yamashita A, Isobe Y, Nagasaka K, Koga K, Inoue T, Nishida H, Kojima S, Adachi K, Matsumoto Y, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Kang JX, Arai H, Arita M, Osuga Y, Fujii T. Matrix metalloproteinase (MMP)-9 in cancer-associated fibroblasts (CAFs) is suppressed by omega-3 polyunsaturated fatty acids in vitro and in vivo. *PLoS One* 2014;
9:e89605.10.1371/journal.pone.0089605

37. Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, Shi J, Takamura M, Harada M, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Fujii T, Saito S, Kozuma S. The role of bone morphogenetic protein 6 in accumulation and regulation of neutrophils in the human ovary. *Reprod Sci* 2014;
21:772-777.10.1177/1933719113518988

38. Taguchi A, Wada-Hiraike O, Kawana K, Koga K, Yamashita A, Shirane A, Urata Y, Kozuma S, Osuga Y, Fujii

T. Resveratrol suppresses inflammatory responses in endometrial stromal cells derived from endometriosis: a possible role of the sirtuin 1 pathway. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40:770-778.10.1111/jog.12252

39. Terao M, Koga K, Fujimoto A, Wada-Hiraike O, Osuga Y, Yano T, Kozuma S. Factors that predict poor clinical course among patients hospitalized with pelvic inflammatory disease. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40:495-500.10.1111/jog.12189

40. Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, Shi J, Harada M, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Fujii T, Saito S, Kozuma S. Bone morphogenetic protein 7 increased vascular endothelial growth factor (VEGF)-a expression in human granulosa cells and VEGF receptor expression in endothelial cells. *Reprod Sci* 2014; 21:477-482.10.1177/1933719113503411

41. Saito A, Koga K, Osuga Y, Harada M, Takemura Y, Yoshimura K, Yano T, Kozuma S. Individualized management of umbilical endometriosis: a report of seven cases. *J Obstet Gynaecol Res* 2014;
40:40-45.10.1111/jog.12118

〔学会発表〕(計6件)

1 甲賀かをり, 思春期子宮内膜症の診断と治療ガイドライン、第38回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会、2017.1.22、東京コンベンションホール(東京都、中央区)

2 甲賀かをり, 子宮内膜症合併不妊の取り扱い: 不妊クリニックと手術施設の連携を目指して、第34回日本受精着床学会総会・学術講演会、2016.9.15、軽井沢プリンスホテル(長野県、軽井沢)

3 甲賀かをり, 患者のライフステージを考えた子宮内膜症の管理法、第131回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会、2016.6.19、都市センターホテル(東京、千代田区)

4 甲賀かをり, 子宮内膜症の治療選択と患者説明のポイント、第141回東北連合産科婦人科学会総会・学術講演会、2016.6.18、ホテルメトロポリタン盛岡(岩手、盛岡)

5 甲賀かをり, 患者のライフステージを考えた子宮内膜症の管理法、第73回九州連合産科婦人科学会/第67回九州ブロック産婦人科医会、2016.5.22、ホテルニュー長崎(長崎、長崎)

6 Koga Kaori, The recurrence of endometrioma after conservative surgeries: prevalence, impact on QOL, and

prevention, Asian Conference on Endometriosis, 2016.9.22,

Osaka, JAPAN

〔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〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

甲賀かをり (KOGA Kaori)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10396723

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし