

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670714

研究課題名(和文) 妊娠成立における低酸素および低酸素応答の生理的意義

研究課題名(英文) Physiological roles of hypoxia and hypoxia inducible factor in embryo implantation

研究代表者

大須賀 穰 (OSUGA, YUTAKA)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：80260496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：着床前のヒト子宮内膜表面は低酸素状態であることが報告されている。低酸素の際の主要な転写調節因子である低酸素誘導因子HIFの着床時の子宮における機能はこれまで不明であったため、子宮および胚の低酸素応答の重要性をin vivoの実験系で検討した。研究の結果、着床時のマウス子宮内膜が低酸素であること、HIF2aが妊娠初期の子宮内膜の低酸素を調節する機能的に主要なHIFであり、脱落膜形成およびその後の妊娠維持に重要であることが示された。本研究の成果は、将来の不妊症の病態解明や避妊薬の開発、妊娠高血圧症候群などの周産期合併症の原因解明・早期診断・治療につながる基礎データとなると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Although it has been reported that human pregnant endometrium is in hypoxic condition, it remains unclear whether hypoxia is important for successful implantation. The aim of this study is to evaluate the role of hypoxia and hypoxia inducible factor, a major transcriptional factor induced by hypoxia, in embryo implantation. We found that the mouse endometrium is in hypoxic condition in the periimplantation period, and that mouse HIF2a is critical for embryo implantation, especially in embryo attachment and decidualization. These findings suggest that endometrial hypoxia may induce HIF2a and accomplish successful implantation.

研究分野：産婦人科学、生殖医学、生殖生物学

キーワード：低酸素 低酸素誘導因子 着床 転写調節 妊娠 マウスモデル

1. 研究開始当初の背景

着床時のヒト子宮内膜表面は子宮内膜内部と比べて相対的な低酸素状態であることが報告されている。着床直後の子宮内膜に VEGF などの血管新生因子や低酸素で誘導される転写因子 HIF が胚周囲に発現し、その後急速に血管新生が進み、子宮内膜の酸素化が促され胎盤が形成される。これらのことから、着床期の子宮内膜とそこに存在する胚は生理的な低酸素状態であることが推測される。しかしながら、子宮の生理的な低酸素状態による子宮や胚の低酸素応答が、着床や胚発育、胎盤形成にどのような影響を及ぼしているかは明らかでない。

2. 研究の目的

本研究では、着床期の子宮内膜が低酸素状態であることが正常な着床・胚発育・胎盤形成に重要であるという仮説のもと、着床期の子宮内膜が低酸素状態であるかどうか、子宮内膜の低酸素応答、特に低酸素誘導因子 HIF が着床、胎盤形成、胚発育に貢献しているかどうかについて、子宮特異的遺伝子改変マウスおよびヒトの検体を用いて検討した。

3. 研究の方法

- (1) 着床時のマウス子宮内膜が低酸素であることを明らかにするため、低酸素プローブであるピモニダゾールを野生型マウスに投与後に子宮を採取し、抗ピモニダゾール抗体による免疫染色を行った。
- (2) 低酸素応答性の転写因子である HIF に着目し、子宮特異的な HIF 欠損マウスモデルを作成し、マウス生体での HIF の機能解析を行った。これまでの知見から、HIF1 α および HIF2 α がマウス子宮に強く発現しているため、この 2 つの HIF α をターゲットに研究を進めた。
- (3) ヒト子宮内膜組織を用いて、HIF の発現解析を行った。

4. 研究成果

- (1) 着床時のマウス子宮内膜が低酸素であることを明らかにする目的で低酸素プローブであるピモニダゾールを用いた検討をおこなった。着床直前の妊娠 4 日目において、受精卵の近傍の子宮内膜上皮および間質においてピモニダゾールが取り込まれていることが確認され、着床直前の子宮は低酸素であることが明らかとなった。
- (2) 次に子宮特異的に HIF1 α および HIF2 α が欠損したマウス (HIF1 α -loxP:Pgr-cre および HIF2 α -loxP:Pgr-cre) を作成し妊

娠の表現型を検討した。HIF1 α 欠損マウスでは分娩仔数に変化がなかったが、HIF2 α 欠損マウスでは着床が起こる妊娠 5 日目において着床は認められるものの、その後の脱落膜化が顕著な妊娠 8 日目においては着床部位が小さく、さらに胎盤形成後の妊娠 12 日目ではすべてのマウスで流産することが明らかとなった。遺伝子欠損マウスの解析結果から、子宮に発現している HIF2 α が妊娠の成立・維持に重要であることが明らかとなった。

- (3) ヒト子宮内膜組織・妊娠脱落膜において、HIF2 α が発現していることを PCR で確認した。

以上の結果から、子宮内膜間質細胞 (脱落膜細胞) に局在していることから、HIF2 α が妊娠初期の子宮内膜の低酸素を調節する主要な HIF α であり、脱落膜形成およびその後の妊娠維持において必須である可能性が示された。

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 28 件)

1. Santoso EG, Yoshida K, Hirota Y, Aizawa M, Yoshino O, Kishida A, Osuga Y, Saito S, Ushida T, Furukawa KS. Application of detergents or high hydrostatic pressure as decellularization processes in uterine tissues and their subsequent effects on in vivo uterine regeneration in murine models. PLoS One. 査読有, Vol.9, 2014, pp. e103201. DOI: 10.1371/journal.pone.0103201.
2. 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-1 β increases expression of tryptophan 2,3-dioxygenase and stimulates tryptophan catabolism in endometrioma stromal cells. Am J Reprod Immunol. 査読有, Vol.72, 2014, pp.496-503. DOI: 10.1111/aji.12282.
3. 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. 査読有, Vol.155, 2014, pp.3079-3087, DOI: 10.1210/en.2014-1025.
4. 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.
Mol Endocrinol. 査読有, Vol.28, 2014, pp.1108-1117, DOI: 10.1210/me.2014-1097.
 5. 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. 査読有, Vol.72, 2014, pp.192-205, DOI: 10.1111/aji.12258.
 6. 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. 査読有, Vol.30, 2014, pp.726-729, DOI: 10.3109/09513590.2014.926882.
 7. 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. 査読有, 2014 Vol.30, pp.644-648, DOI: 10.3109/09513590.2014.911279.
 8. 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. 査読有, Vol.40, 2014, pp.1431-1435, DOI: 10.1111/jog.12365.
 9. Nagamatsu T, Iwasawa-Kawai Y, Ichikawa M, Kawana K, Yamashita T, Osuga Y, Fujii T, Schust DJ.
Emerging roles for lysophospholipid mediators in pregnancy. Am J Reprod Immunol. 査読有, Vol.72, 2014, pp.182-191, DOI: 10.1111/aji.12239.
 10. 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. 査読有, Vol.21, 2014, pp.772-777, DOI: 10.1177/1933719113518988.
 11. 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. 査読有, Vol.40, 2014, pp.770-778, DOI: 10.1111/jog.12252.
 12. 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. 査読有, Vol.40, 2014, pp. 495-500, DOI: 10.1111/jog.12189.
 13. 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. 査読有, Vol.21, 2014, pp. 477-482, DOI: 10.1177/1933719113503411.
 14. Saito A, Koga K, Osuga Y, Harada M, Takamura Y, Yoshimura K, Yano T, Kozuma S.
Individualized management of umbilical endometriosis: a report of seven cases. J Obstet Gynaecol Res. 査読有, Vol.40, 2014, pp. 40-45, DOI: 10.1111/jog.12118.
 15. Abrão MS, Petraglia F, Falcone T, Keckstein J, Osuga Y, Chapron C.
Deep endometriosis infiltrating the recto-sigmoid: critical factors to consider before management. Hum Reprod Update. 査読有, Vol.21, 2015, pp. 329-339, DOI: 10.1093/humupd/dmv003
- 〔学会発表〕(計2件)
1. 大須賀穰. 子宮内膜症の Update 病態についての新たな展開. 第24回臨床内分泌代謝 Update(招待講演) 2014年11月28日, 大宮ソニックシティ(さいたま).
 2. 大須賀穰. ART 時代の子宮内膜症治療.

第 17 回 IVF 学会 (招待講演) . 2014 年 09
月 13 日, 大阪国際会議場 (大阪) .

〔その他〕

ホームページ :

<http://square.umin.ac.jp/tkyobgyn/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

大須賀 穰 (OSUGA, Yutaka)
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号 : 80260496

(2) 研究分担者

廣田 泰 (HIROTA, Yasushi)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号 : 40598653