

ヒト子宮内膜間質細胞の分化および浸潤能に対する
制御機構の解析

—子宮内膜症の進展におけるその意義—

(研究課題番号 13671708)

平成13年度～平成14年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書



平成15年5月

研究代表者 巽 啓司

(京都大学医学研究科助手)

ヒト子宮内膜間質細胞の分化および浸潤能に対する

制御機構の解析

—子宮内膜症の進展におけるその意義—

(研究課題番号 13671708)

平成13年度～平成14年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成15年5月

研究代表者 巽 啓司

(京都大学医学研究科助手)

はしがき

本研究は平成13、14年度文部科学省科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））の助成のもとに行われた。当初の研究目的に対する一定の成果が得られ、現在さらに研究を継続中である。本報告書を発刊するに当たり、2年間にわたり御協力をいただいた関係各位に心よりお礼申し上げます。

課題番号 13671708

研究課題 ヒト子宮内膜間質細胞の分化および浸潤能に対する制御機構の解析
—子宮内膜症の進展におけるその意義—

研究組織

研究代表者 : 巽 啓司 (京都大学医学研究科助手)
研究分担者 : 樋口 壽宏 (京都大学医学研究科助手)
研究分担者 : 藤原 浩 (京都大学医学研究科講師)

研究経費（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	1,900	0	1,900
平成14年度	1,600	0	1,600
総計	3,500	0	3,500

研究発表

(1) 学会誌等

Egawa H, Fujiwara H, Hirano T, Nakayama T, Higuchi T, Tatsumi K, Mori T, Fujii S.

Peripheral blood mononuclear cells in early pregnancy promote invasion of human choriocarcinoma cell line, BeWo cells.

Hum. Reprod. 17: 473-480, 2002

Nakayama T, Fujiwara H, Maeda M, Inoue T, Yoshioka S, Mori T, Fujii S.

Human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in early pregnancy promote embryo invasion in vitro: HCG enhances the effect of PBMC.

Hum. Reprod. 17: 207-212, 2002

Sato Y, Fujiwara H, Higuchi T, Yoshioka S, Tatsumi K, Maeda M, Fujii S.

Involvement of dipeptidyl peptidase IV in extravillous trophoblast invasion and differentiation.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 87: 4287-4296, 2002

Kosaka K, Fujiwara H, Tatsumi K, Yoshioka S, Sato Y, Egawa H, Higuchi T, Nakayama T, Ueda M, Maeda M, Fujii S.

Human chorionic gonadotropin (HCG) activates monocytes to produce interleukin-8 via a different pathway from luteinizing hormone/HCG receptor system.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 87: 5199-5208, 2002

Fujiwara H, Yoshioka S, Tatsumi K, Kosaka K, Satoh Y, Nishioka Y, Egawa M, Higuchi T, Fujii S.

Human endometrial epithelial cells express ephrin A1: possible interaction between human blastocysts and endometrium via Eph-ephrin system.

J. Clin. Endocrinol. Metab. 87: 5801-5807, 2002

Kosaka K, Fujiwara H, Tatsumi K, Yoshioka S, Higuchi T, Sato Y, Nakayama T, Fujii S.

Human peripheral blood mononuclear cells enhance cell-cell interaction between human endometrial epithelial cells and BeWo-cell spheroids.

Hum. Reprod. 18 : 19-25. 2003

Fujiwara H, Kosaka K, Hamanishi S, Hiraka J, Higuchi T, Tatsumi K, Yoshioka S, Fujii S.

Acute elevation of plasma D-dimer levels associated with rupture of an ovarian endometriotic cyst: Case report.

Hum. Reprod. 18 : 338-341. 2003

(2) 口頭発表

江川晴人、藤原 浩、平野 剛、中山貴弘、樋口壽宏、巽 啓司、藤井信吾
妊娠時ヒト末梢血単核球の BeWo 細胞に対する浸潤促進作用の解析
第 53 回日本産科婦人科学会学術講演会、平成 13 年 5 月 12-15 日、札幌

小阪謙三、巽 啓司、吉岡信也、中山貴弘、藤原 浩、藤井信吾
培養末梢血単核球の IL-8 産生に対する hCG の促進作用
第 53 回日本産科婦人科学会学術講演会、平成 13 年 5 月 12-15 日、札幌

巽 啓司

着床期に誘導される子宮内膜-胚相互作用関連物質の分子生物学的解析
第 46 回日本不妊学会シンポジウム 平成 13 年 11 月 8-9 日 東京

小阪謙三、巽 啓司、吉岡信也、藤原 浩、藤井信吾
培養ヒト子宮内膜上皮細胞(EEC)の接着能評価モデル作成の試み-末梢血単核球
(PBMC)より分泌される液性因子の EEC 接着能促進の可能性について-
第 54 回日本産科婦人科学会学術講演会 平成 14 年 4 月 6-9 日、東京

小阪謙三、吉岡信也、江川美保、西岡良泰、佐藤幸保、巽 啓司、樋口壽宏、
藤原 浩、藤井信吾
当科において腹腔鏡下手術が適応となった不妊症症例における術後妊娠率と子
宮内膜症の関連についての検討
第 80 回近畿産婦人科学会内分泌・生殖研究部会 平成 14 年 6 月 16 日 大阪

Human peripheral blood mononuclear cells enhance endometrial
receptivity in vitro

Kenzo Kosaka, Hiroshi Fujiwara; Keiji Tatsumi, Shinya Yoshioka,
Toshihiro Higuchi, Yukiyasu Sato, Takahiro Nakayama and Shingo Fujii
18th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and
Embryology 平成 14 年 6 月 30 日-7 月 3 日 ウィーン

研究成果

子宮内膜は月経周期の期間に増殖と剥離、脱落を繰り返す特殊な組織であり、胚着床、妊娠において重要な役割を担っている。またその異常としての子宮内膜症は、成人女性に好発する疾患で、進展した子宮内膜症による月経困難症等の症状は患者の QOL を著しく損なっている。子宮内膜症病変部位において周辺の正常組織に接している細胞は子宮内膜間質様細胞であり、また免疫系細胞も存在し、これらの細胞が内膜症病変部において重要な役割を果たしている可能性がある。そこで子宮内膜間質細胞の機能、特にその浸潤能に着目して子宮内膜症を分析することが、子宮内膜症の進展機構を解析する上で重要な切り口になると考え、その局所的な浸潤機構を明らかにするために、増殖期子宮内膜間質細胞を用いた浸潤モデルの系を新しく作成し、*in vitro* での浸潤能を観察した。また免疫系細胞による子宮内膜間質細胞の浸潤能の制御について検討した。また現在行われている薬物療法の作用機序は排卵と月経を止めることに基づいており、副作用や治療後の再燃・悪化などの欠点があるのが現状である。正常子宮内膜間質細胞の浸潤能の制御に関する情報は、新しい観点からの子宮内膜症の治療法の糸口となる可能性がある。そこで本研究では、増殖期の子宮内膜基底部の間質細胞の生理機能、中でも浸潤能に焦点をあてて種々の解析を行い、子宮内膜症病変部での進展機構に関する新しい情報を得るとともに、子宮内膜症の新しい治療法開発につながる基盤をつくることを目的として、子宮内膜間質細胞の浸潤モデルの系を用いて、浸潤機構に関わる因子の検討を試みた。

1. ヒト子宮内膜間質細胞の培養と浸潤能の検討 (担当 巽・樋口)

患者の同意を得て婦人科手術時に採取された子宮から得た内膜組織を酵素処理して細胞浮遊液を作成した。これから子宮内膜間質細胞を分離し表面マーカーによるフローサイトメトリーでその純度を検定した。*invasion assay* に供した結果、増殖期の内膜間質細胞が *in vitro* では浸潤能を有することが観察された。正常組織内ではむしろその浸潤能が何らかの機序で抑制されている可能性が示唆された。

2. ヒト子宮内膜間質細胞の浸潤能に対する薬剤の影響の検討

(担当 巽・藤原)

この invasion assay 系にステロイドホルモン、ダナゾール、プロテアーゼインヒビター、抗炎症剤、サイトカイン、抗インテグリン抗体を種々の濃度で添加して子宮内膜間質細胞の浸潤能に対する作用を観察し、浸潤制御に関わる因子やその抑制に効果が期待できる薬剤および因子を検討したが、明らかな浸潤能の変化は観察されなかった。

3. ヒト子宮内膜間質細胞の浸潤能に対する免疫系細胞の効果の検討

(担当 巽・藤原)

正常子宮内膜間質培養細胞をヒト末梢血単核球 (PBMC) と共培養すると子宮内膜間質細胞の浸潤能が有意に亢進することが明らかとなった。また上記の薬剤が PBMC 共培養下の子宮内膜間質細胞の浸潤能に及ぼす影響を検討したが有意な変化は認められなかった。

4. ヒト子宮内膜間質細胞の浸潤能に対する生体内環境の影響の検討

(担当 巽・樋口)

子宮内膜腺細胞との共培養や、子宮内膜症患者腹水の添加による子宮内膜間質培養細胞の浸潤に対する効果を調べたが、有意な変化は認められなかった。

5. 浸潤能獲得に伴うヒト子宮内膜間質細胞の遺伝子変化の検討

(担当 巽・樋口)

浸潤能を獲得する前後での子宮内膜間質細胞で変化する mRNA を同定するために、子宮内膜間質細胞を PBMC と共培養の有無で 2 群に分け、それぞれより RNA を抽出した。DNA array 法を用いて両群間で差のあった分子につき Northern Blot 法で mRNA 発現の変化を検討した。これまでのところ有意に発現変化する分子は同定できていないが、今後発現変化する分子を同定できた場合、正常子宮内膜および子宮内膜症組織における発現を調べ、更なる解析を行う予定である。

以上の結果より、本研究により正常ヒト子宮内膜間質細胞も浸潤能を有し、その浸潤能を制御する機構の1つとしてヒト末梢血単核球（PBMC）との共培養によりその浸潤能が亢進することが明らかとなった。今回の研究期間では子宮内膜間質細胞の浸潤をコントロールする因子を同定し、解析を行うことはできなかったが、今後さらに研究を進めることにより子宮内膜間質細胞の浸潤制御の分子機構を解明するための新たな知見が得られる可能性がある。将来的にはこれらの知見をもとにして子宮内膜症の進展機序を明らかにし、さらに子宮内膜症の進行を制御することができる可能性があると期待される。

なお、本項に述べられている研究成果の詳細については本書の後半にまとめられている発表論文を御参照頂きたい。