

子宮内膜上皮の細胞増殖の持続が着床障害を起こす ～黄体ホルモンによる着床成立のメカニズム解明～

1. 発表者：

廣田 泰 (東京大学大学院医学系研究科 産婦人科学講座 准教授)
赤枝 俊 (東京大学医学部附属病院 女性外科 特任臨床医)
藤井 知行 (東京大学大学院医学系研究科 産婦人科学講座 教授)
大須賀 穰 (東京大学大学院医学系研究科 産婦人科学講座 教授)

2. 発表のポイント：

- ◆着床障害による不妊症が起こる仕組みの一つを明らかにしました。
- ◆着床において子宮内膜上皮の細胞増殖停止状態が胚浸潤に必要であることを示しました。
- ◆今後、不妊症・不育症の診断・治療への臨床応用が期待されます。

3. 発表概要：

生殖医療において体外受精・胚移植（注1）の技術の進歩は目覚ましく、日本では出生児16人に1人が体外受精・胚移植妊娠によるものとなっています。体外受精・胚移植の成功率を高めることは少子化に対する1つの対策になります。体外受精で得られた良好胚を子宮内に移植しても反復して不成功することを着床障害と呼びますが、着床障害に対する有効な診断・治療法が確立していないため、生殖医療の大きな課題となっています。

東京大学大学院医学系研究科の廣田泰准教授、赤枝俊特任臨床医、大須賀穰教授らは、子宮内膜（注2）において子宮内膜上皮（注3）の細胞増殖（注4）が停止した状態になることが胚浸潤（注5）に必要であることを、遺伝子改変マウスやヒト着床期子宮内膜を用いた研究を行って明らかにしました。黄体ホルモン（注6）の作用によって、子宮側の最初のバリアである子宮内膜上皮が細胞増殖を停止させ、自ら細胞死を起こして消失し、胚が子宮内膜に入り込むことができることを示したのは世界初です。本研究成果は着床障害の新規診断・治療法の開発につながると期待されます。

4. 発表内容：

【研究の背景】

着床は、子宮内に入ってきた胚が子宮内膜と接着する過程（胚接着）と、その後に胚が子宮内膜に入り込む過程（胚浸潤）を経て成立します（図1）。着床期の子宮内膜の細胞増殖の状態はダイナミックに変化し、排卵から着床期に入る前までは子宮内膜上皮は細胞増殖が高まった状態ですが、着床期には急にブレーキがかかり停止状態となります。着床期の子宮内膜の最適な状態がどのように着床を制御しているか、細胞増殖の状態の急激な変化がどのように着床を支えているか、これまで分かっていませんでした。本研究で、細胞増殖抑制因子である網膜芽細胞腫遺伝子（RB）（注7）を子宮特異的に欠損したマウスを用いて着床期の子宮内膜上皮の細胞増殖が持続する動物モデルを作成して着床に与える影響を検討し、さらに着床期ヒト子宮内膜を用いてヒト妊娠に必要な細胞増殖の状態を調べました。

【研究内容】

子宮のRB欠損マウスは新生仔をほとんど産まず不妊になりました。着床を観察したところ、子宮内膜への胚接着は子宮のRB欠損マウスでも正常に起きていましたが、胚浸潤はコントロールマウスでは胚と接する部分の子宮内膜上皮が消失し胚浸潤が認められた一方で、RB欠損マウスでは子宮内膜上皮は消失せず胚が子宮内膜に進入できないことが分かりました（図2）。着床期子宮の細胞増殖の状態は、正常な子宮機能を有するコントロールマウスでは子宮内膜上皮の細胞増殖が抑制されていた一方で、RB欠損マウスでは子宮内膜上皮の細胞増殖が持続していました（図3）。胚浸潤の時期の着床部位を電子顕微鏡および免疫蛍光染色で観察したところ、コントロールマウスの着床部位では子宮内膜上皮がネクロトシス

(注8) というプログラムされた細胞死を起こし胚側の細胞である栄養膜細胞(注9)の貪食作用(注10)により除去されていること(図4)、RB欠損マウスではネクロトーシスや栄養膜細胞による貪食作用を認めず子宮内膜上皮が除去されないままになっていること、コントロールマウスでは着床部位の胚や子宮内膜にはサイトカインであるTNF α (注11)が産生され子宮内膜上皮のTNF α 受容体を刺激してネクロトーシスが起るがRB欠損マウスではTNF受容体の発現が低下してネクロトーシスが起らないこと、を見出しました。

次に妊娠の成立に必須の卵巣ホルモンである黄体ホルモン(プロゲステロン)を着床前にのみRB欠損マウスに投与したところ、着床期の子宮内膜上皮の細胞増殖が停止し、その後の子宮内膜上皮のネクロトーシスと栄養膜細胞による貪食作用も正常に認められ、胚浸潤が正常におこり正常な産仔数が得られ、不妊が完全に解消されることが分かりました(図5)。以上の結果から、黄体ホルモンの作用により、胚浸潤において子宮側の最初のバリアである子宮内膜上皮が細胞増殖を停止したのちネクロトーシスを起こし、死んだ子宮内膜上皮を胚が貪食作用により除去し子宮内に進入するという着床の仕組みが示されました。

さらに不妊患者の着床期子宮内膜において細胞増殖の状態を検討したところ、その後の胚移植で妊娠した群では子宮内膜上皮の細胞増殖が停止している一方で、妊娠しなかった着床障害群では子宮内膜上皮の細胞増殖が持続していることがわかり(図6)、子宮内膜上皮の細胞増殖停止がヒト着床においても重要な働きをしていることが明らかになりました。

【社会的意義・今後の予定】

本研究の結果、黄体ホルモン作用により着床期子宮内膜上皮の細胞増殖が停止状態になることが、胚に対する子宮側の最初のバリアとなる子宮内膜上皮の消失に必要な変化であり、胚の子宮内への進入を許可する仕組みになっていることが判明し(図7)、黄体ホルモンによる着床誘導機序の詳細を解明することができました。今後の展開として、着床期子宮内膜の細胞増殖能の評価が着床能の指標として利用できる可能性、子宮内膜の細胞増殖の状態を改善させる何らかの治療法を開発することで不妊症・不育症が克服できる可能性などが期待され、不妊症や不育症における臨床応用に向けてさらに研究を発展・継続していく予定です。

5. 発表雑誌:

雑誌名: 「*EMBO Reports*」 (オンライン版: 1月5日)

論文タイトル: Retinoblastoma protein promotes uterine epithelial cell cycle arrest and necroptosis for embryo invasion

著者: Shun Akaeda, Yasushi Hirota*, Yamato Fukui, Shizu Aikawa, Ryoko Shimizu-Hirota, Tetsuaki Kaku, Mona Gebril, Tomoyuki Hirata, Takehiro Hiraoka, Mitsunori Matsuo, Hirofumi Haraguchi, Mayuko Saito-Kanatani, Norihiko Takeda, Tomoyuki Fujii, and Yutaka Osuga

DOI 番号: 10.15252/embr.202050927

アブストラクト URL: <https://www.embopress.org/doi/10.15252/embr.202050927>

6. 問い合わせ先:

<広報担当者連絡先>

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当: 渡部、小岩井

電話: 03-5800-9188 (直通) E-mail: pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) 体外受精・胚移植 (In-vitro fertilization and embryo transfer、IVF-ET)

不妊治療の1つ。採卵手術により排卵前に体内から取り出した卵子と精子の受精を体外で行う治療を体外受精と呼びます。また体外で受精が正常に起こり細胞分裂を順調に繰り返して発育した良好胚を子宮内に移植することを胚移植と呼びます。最近では胚の凍結融解技術が進歩したため、良好胚を一旦凍結し別の月経周期に融解して胚移植する凍結融解胚移植法による妊娠件数が年々増加しています。

(注2) 子宮内膜

子宮内腔を覆う粘膜組織のこと。管腔上皮、腺上皮、間質、血管から成ります。月経で内腔側の機能層が剥脱しますが、その後着床期に向けて機能層が造成・肥厚し妊娠に適した変化をとげ着床が起こる場となります。

(注3) 子宮内膜上皮

子宮内膜は主に、単層の円柱上皮細胞からなる管腔上皮と腺上皮、および間質により構成されます。ここでいう子宮内膜上皮は子宮内膜の表面の緻密層の内腔側の被覆する管腔上皮のことを指しています。管腔上皮は着床の際に最初に胚と接する子宮内膜の構成組織です。

(注4) 細胞増殖

細胞の成長と分裂により細胞の数が増加すること。1つの細胞が2つの娘細胞を生み出す現象をさし、その過程で細胞のDNA複製、細胞分裂が起こります。一般的には、細胞がプログラムされた細胞死を起こす際には細胞増殖停止を認めます。

(注5) 胚浸潤

着床の過程の中で、受精卵(胚)が子宮内膜上皮と接着したあとに、子宮内膜内に入り込んでいく現象のこと。胚浸潤によって胚全体は子宮内膜に入り込み、子宮内膜にすべて覆われて生着します。

(注6) 黄体ホルモン (プロゲステロン)

プロゲステロンはステロイドホルモンの一種であり、卵巣の黄体から分泌されるため黄体ホルモンとも呼ばれます。ヒトにおいては胎盤からも分泌されます。子宮内膜や子宮筋に作用し、着床や妊娠維持の機能を持っています。不妊治療の黄体補充薬として臨床で使用されています。

(注7) 網膜芽細胞腫遺伝子 (RB)

主な働きとして細胞増殖を抑える作用をもっている遺伝子です。網膜芽細胞腫の原因遺伝子として発見され、がん抑制遺伝子としても知られています。

(注8) ネクロトーシス (ネクロプトーシス、Necroptosis)

アポトーシスなどと同様に細胞自体に制御された細胞死 (programmed cell death) の1つ。形態的には壊死 (ネクローシス) と似た細胞死です。潰瘍性大腸炎などの免疫疾患や生体内での多様な場所でネクロトーシスが起きていることが報告されています。腫瘍壊死因子 (TNF) の刺激によりネクロトーシスが誘起されます。

(注9) 栄養膜細胞

胚盤胞となった受精卵の外側を覆う胚由来の細胞で、子宮内膜と最初に直接接して胚が着床するのを助け、その後胎盤を形成します。

(注 10) 貪食作用

細胞が菌・ウイルスなどの異物、異常代謝物、死細胞を細胞内へ取り込み分解する作用のこと。好中球、マクロファージなどが代表的な貪食作用を持つ細胞として知られています。

(注 11) TNF α

細胞から分泌されるたんぱく質であるサイトカインの1種。TNF α は主にマクロファージなどから産生されており、TNF受容体に結合し、固形がんに対して出血性の壊死を生じさせるサイトカインとして発見されました。細胞死の誘導作用や炎症メディエーター産生作用などの感染防御や抗腫瘍効果があることが知られています。

8. 添付資料：

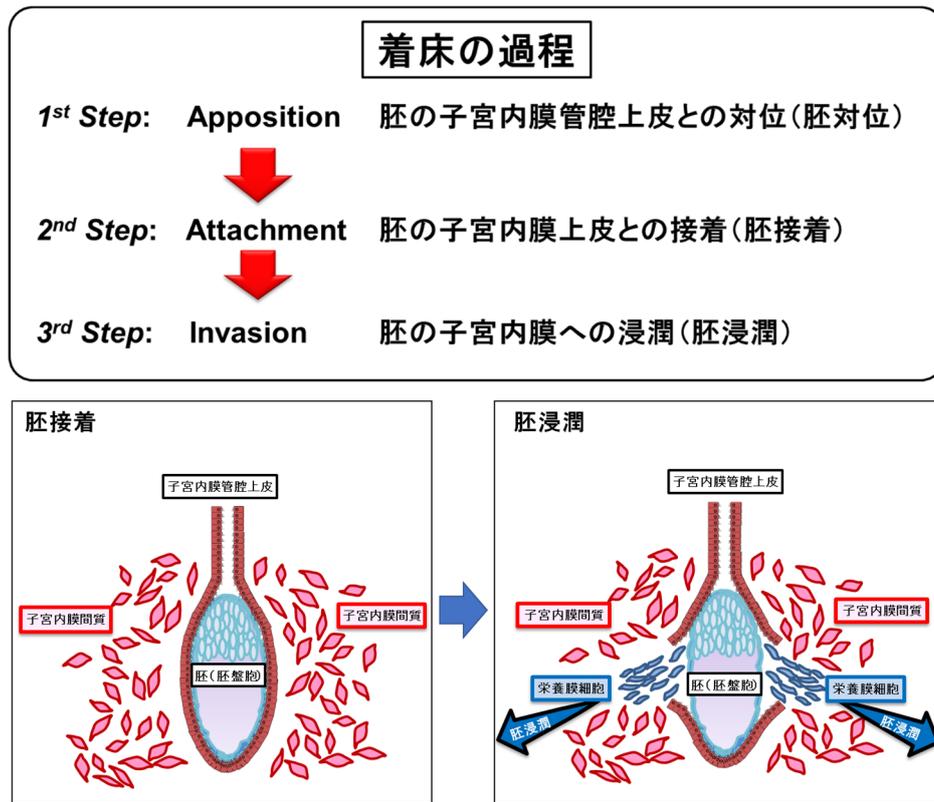


図 1. 着床の過程 胚接着の過程で、胚と子宮は栄養膜細胞と子宮内膜 (管腔) 上皮が接した状態となり、胚浸潤の過程で、子宮内膜上皮の一部が消失し栄養膜細胞が子宮内膜間質内に進入する。

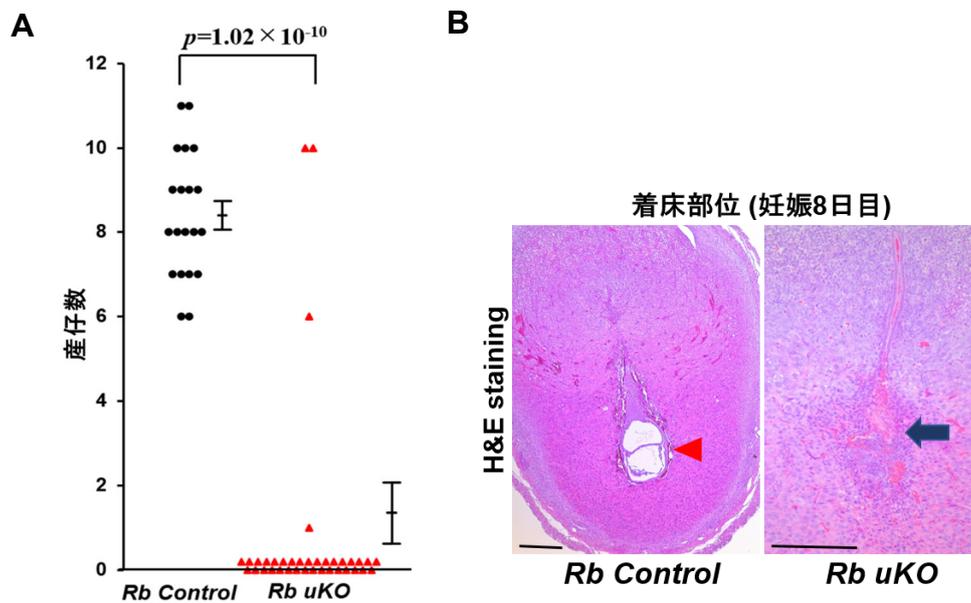


図 2. 子宮の RB 欠損マウスは着床障害で不妊となる 子宮の RB 欠損マウスは不妊となり (A)、妊娠 8 日目の RB 欠損マウスの着床部位には胚発育が認められず胚は吸収され消失していた (B)。Rb Control = コントロール (正常) マウス、Rb uKO = 子宮の RB 欠損マウス、H&E staining = ヘマトキシリン・エオジン染色、矢頭 = 胚、矢印 = 吸収され消失した胚。

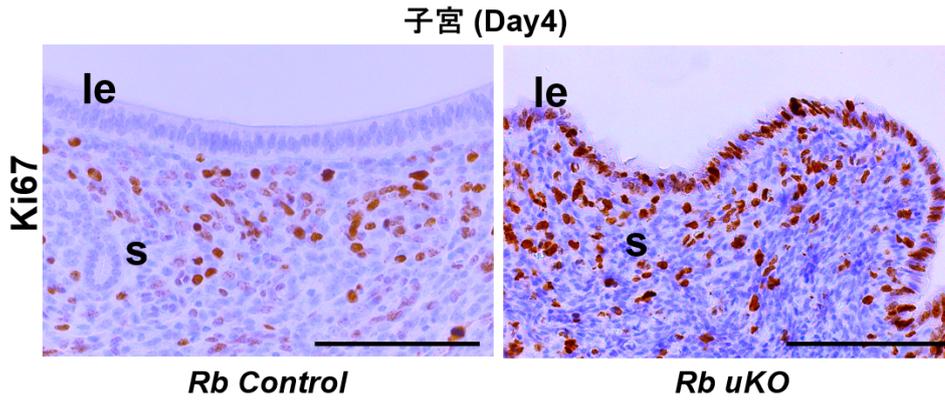


図3. 子宮のRB欠損マウスは着床期の子宮内膜上皮の細胞増殖が持続する 着床期マウス子宮について細胞増殖の指標であるKi67の免疫組織染色を行ったところ (Ki67陽性細胞が茶色に染色)、コントロール (正常) マウスの子宮内膜上皮のKi67は消失し細胞増殖が停止状態だったが、RB欠損マウスでは強くKi67が発現し細胞増殖が持続していた。le = 子宮内膜上皮、s = 子宮内膜間質。

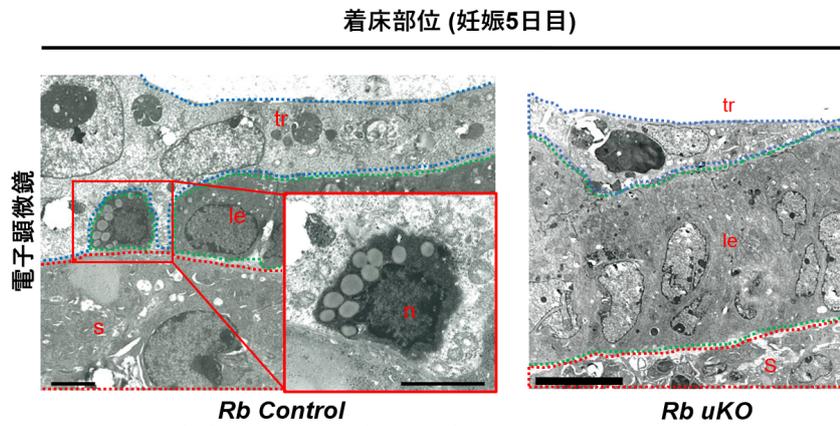


図4. 着床部位の胚による子宮内膜上皮の死細胞の貪食作用 コントロールマウスでは子宮内膜上皮細胞が栄養膜細胞に貪食され取り込まれていたが、RB欠損マウスでは子宮内膜上皮は胚と接触しているが貪食されなかった。tr = 栄養膜細胞、le = 子宮内膜上皮、s = 子宮内膜間質、n = 細胞核。

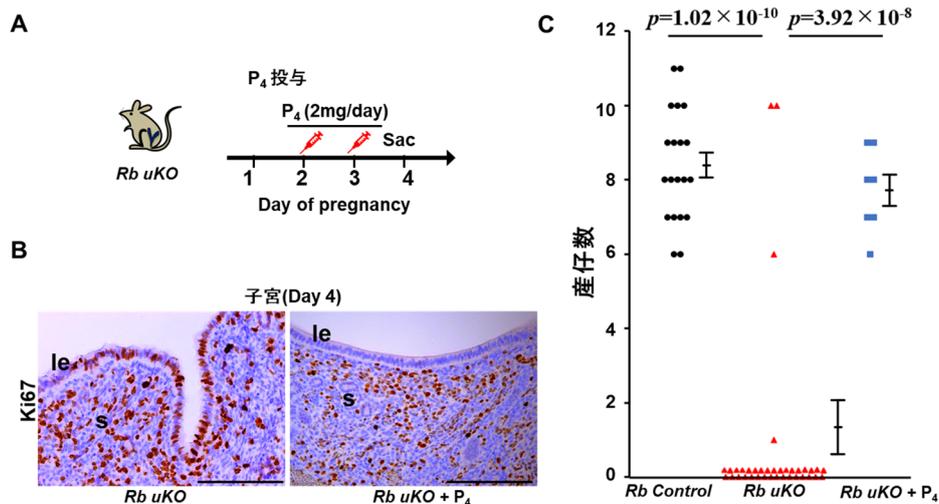


図5. 黄体ホルモン投与によりRB欠損マウスの着床期子宮内膜上皮の細胞増殖停止が正常化する A. 黄体ホルモン (P₄)を着床前に投与した。B. P₄投与によりRB欠損マウスの子宮内膜上皮のKi67が消失し細胞増殖の停止が認められた。le = 子宮内膜上皮、s = 子宮内膜間質。C. P₄投与によりRB欠損マウスの産仔数が正常化した。

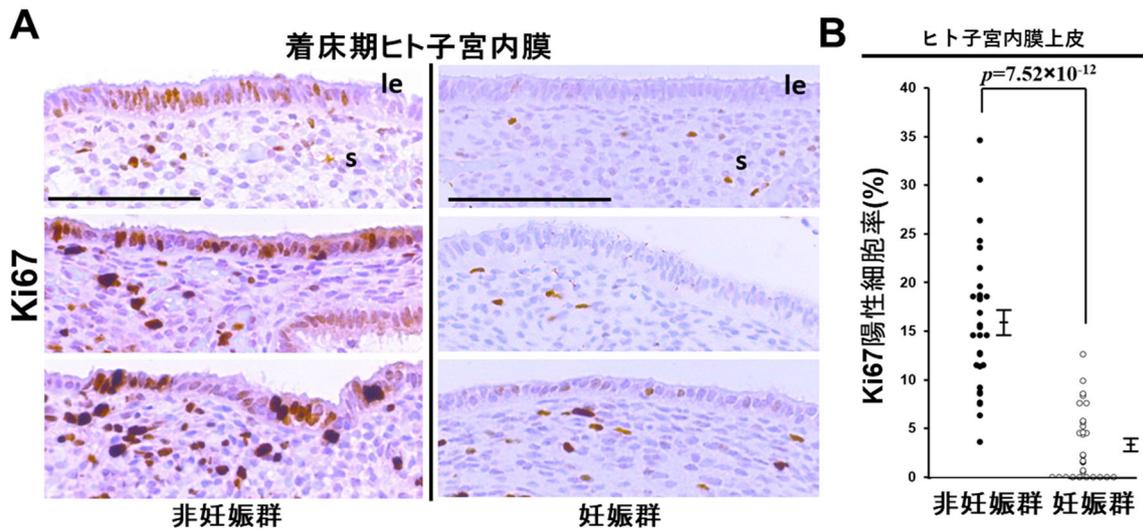


図6. 着床期ヒト子宮内膜において着床障害（非妊娠群）の子宮内膜上皮の細胞増殖は抑制される 着床期ヒト子宮内膜に Ki67 免疫組織染色を行い細胞増殖の状態を評価した(A)。その後の胚移植で妊娠した群（妊娠群）と妊娠しなかった群（非妊娠群）に分け、Ki67 陽性細胞率を検討したところ、非妊娠群に比べて妊娠群での Ki67 陽性細胞率は低かった(B)。

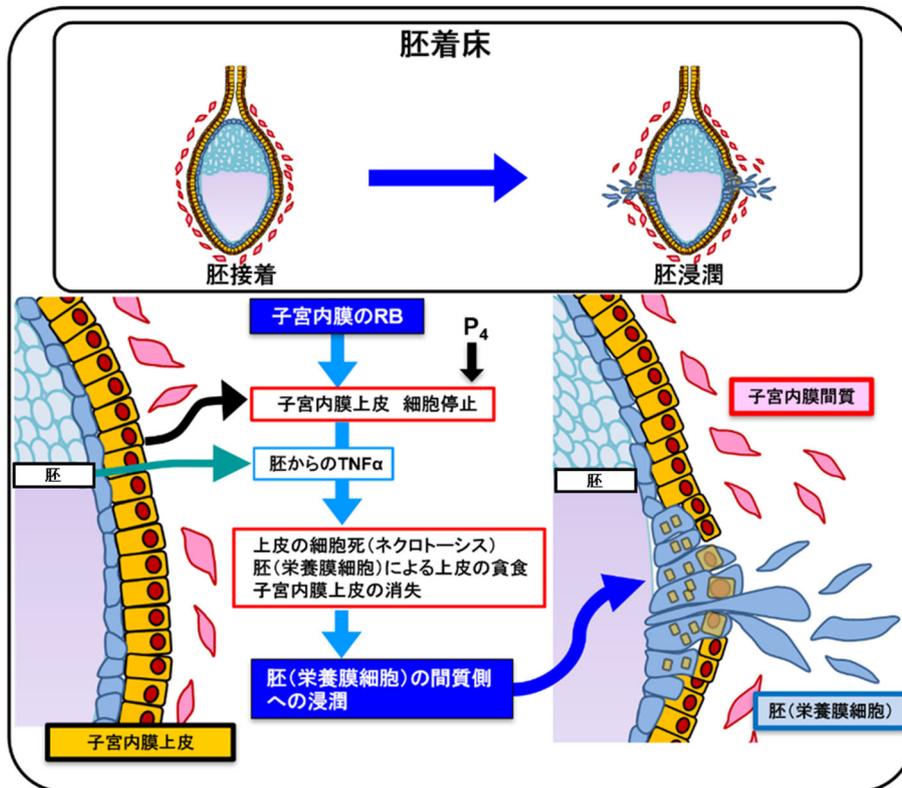


図7. 子宮内膜上皮の細胞増殖の停止と胚の貪食作用による胚浸潤の成立（本研究の結果）