

2008 22003A

厚生労働科学研究費補助金  
子ども家庭総合研究事業

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と  
社会に即した治療システムの開発

平成 20 年度 総括研究報告書

主任研究者 阿久津 英憲

平成 21 (2009) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金  
子ども家庭総合研究事業

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と  
社会に即した治療システムの開発

平成20年度 総括研究報告書

主任研究者 阿久津 英憲

平成21(2009)年4月

# 目 次

I 総括研究報告書	
超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と社会に即した 治療システムの開発	3
阿久津 英憲	
II 分担研究報告書	
1. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系に関する研究	13
佐藤 章	
2. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系の研究 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究	15
吉村 泰典 久慈 直昭	
3. 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究	19
矢野 哲 大須賀 穰	
4. 非閉塞性無精子症関連遺伝子の探索	23
井ノ上 逸朗	
5. 子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な生殖補助医療の治療体系に 関する研究	27
柳田 薫	
6. 卵細胞の質に係わる分子機構の解明に関する研究	31
岡部 勝	
III 研究成果に関する一欄表	37
IV 研究成果の刊行物・別冊	43

I 総括研究報告書

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と社会に即した  
治療システムの開発

阿久津 英憲



厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

総括研究報告書

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と社会に  
即した治療システムの開発（H18-子ども一般-004）

主任研究者 阿久津英憲

国立成育医療センター研究所 生殖医療研究部生殖技術研究室長

研究要旨：少子化・晩婚化を社会的背景に、本研究では、社会で活躍する年代の女性が罹患することが多い子宮内膜症等の生殖器疾患を対象に体系的に妊孕性改善に対する治療を検討し治療の最適化・標準化を図ることで生殖補助医療の質を上げることを臨床的ない目的とするとともに、子宮内膜症等の生殖器疾患の分子レベルでの挙動を解析し疾患メカニズムを明らかにしていく。同時に、現在の生殖医療において大変重要な課題である、女性の年齢と出生率低下の関係において加齢の卵細胞の質への影響に関して科学的裏付けのある確かなエビデンスを獲得すべく、実験動物マウスを用い、加齢・卵細胞質の発生への影響・胚性幹細胞機能への影響という3つをリンクさせた独自の研究システムにより生殖・再生医療分野に新たな解析方法を提供し新知見を得ていく。初年度は、子宮内膜症の病因メカニズムと不妊機序の解明に関して多角的で、新規的なアプローチにより取り組み、得られた成果は将来の治療法に対して新たな可能性を強く示唆するものであり、次年度は、子宮内膜症は、女性ホルモンが強く関与する疾患であるが新たな視点としてステロイドレセプターコファクター（SRC）に着目し、SRC FamilyのType-1が卵巣性子宮内膜症に強発現していることを突き止めるとともに、子宮内膜症組織と正常内膜組織とで異なる発現形式を取る関連遺伝子を突き止め国際学会誌等に報告してきた。これらの成果は、新たな治療法を展開する重要な基盤研究となっている。本年度は、免疫学的新知見を子宮内膜症の病態メカニズム解明に取り入れ病態進展機序を解明する新知見を得た。順次すすめる基礎研究成果を実際の臨床応用に反映するため、子宮内膜症の不妊症治療の最適化・標準化を平行して進め、ガイドラインとして報告していき。もう一つの課題として、生殖と加齢の問題がある。特に卵の質の低下に関して社会の中で理解の混乱があるため、まずは卵細胞の加齢への影響を示すエビデンスが必要とされている。加齢と卵細胞の質における基礎研究では、加齢卵が分化多能性へ影響を及ぼすことが実験動物マウスを使い提示でき今後この領域の研究を展開するために重要な研究ツールを提供可能となった。ライフスタイルの変化により出産時年齢は高齢化し生殖と加齢との関連性に係わる疾患や現象に対して、科学に基づいたエビデンスを与えこの社会に即した生殖医療システムを構築し国民に提供することを目指す。尚、各施設において行う臨床研究は機関内倫理審査委員会での承認の下に行う。ヒト細胞を使用した研究は倫理審査を受け、確認を受け遂行している。「ヒト幹細胞等を用いる臨床研究に関する指針」に従い、最新の社会的な影響を十分に考慮する。

分担研究者

- (1) 福島県立医科大学・産科婦人科学  
佐藤 章
- (2) 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室  
吉村 泰典
- (3) 東京大学医学部産科婦人科学教室  
矢野 哲
- (4) 東京大学医学部産科婦人科学教室  
大須賀 穰

- (5) 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室  
久慈 直昭
- (6) 東海大学医学部・基礎医学系分子生命  
科学  
井ノ上 逸朗
- (7) 国際医療福祉大学臨床医学研究セン  
ター  
柳田 薫
- (8) 大阪大学微生物病研究所 岡部 勝

## A.

### 研究目的

女性の生殖適齢期間は、より高齢へとシフトするわけではなく、出生数割合の年齢分布が30歳代半ばへとシフトし晩婚化により妊娠が可能である期間はより限られた短い期間となっている。社会で活躍する年代の女性に好発する子宮内膜症、多嚢胞性卵巣症候群等が、出産時年齢の上昇とともに不妊症の原因としても大きな割合を占めるにいたっている。本研究班では、初年度に子宮内膜症ではステロイドレセプターコファクターが特異的に発していることを突き止めた。更に、子宮内膜症では様々なケモカイン、サイトカインがその発症、増殖に関わることを報告してきた。19年度にはその基礎的研究成果をベースに血管新生抑制作用で知られるDienogestが内膜細胞の増殖を抑えることを専門誌に報告している。新たな治療法の展開へ着実に進んでいる。一方卵巣の疾患で排卵障害による不妊症となることが知られている多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)は、生殖補助医療において卵巣過剰刺激症候群を引き起こすことが多く、この合併症を予防するために十分な排卵誘発を行なえず妊娠率が低下することになってしまう。PCOS患者の不妊症治療では、排卵誘発の困難性と着床不全による不妊症治療成功率の低下が問題となっている。ヒト胚の着床時における内膜細胞の脱落膜化のAMPキナーゼ関与に着目しPCOSで着床不全がおこるメカニズムを分子レベルで解明してきた。本年度は、子宮内膜症合併不妊症に対する合理的で体系的な治療ストラテジーの確立を行った。加えて、卵巣活動を抑制せず、女性の社会的QOLを減じない治療法の獲得に向けて子宮内膜症メカニズムの解明とそれに基づく新たな治療薬の可能性を探ってきたが、今回は免疫学の領域で近年明らかになってきた新規メカニズムを子宮内膜症を対象に展開し新規的な機序を明らかにしてきた。

出産年齢が上昇していることより加齢と卵細胞の質への影響は早急に解明しなければならぬ問題である。実験モデルマウスを用いて、加齢モデル由来の胚より胚性幹(ES)細胞を樹立することに初めて成功し、幹細胞機能維持機能及び分化機能への影響

を解析したところ加齢卵子が分化動態へ影響を及ぼすことを突き止めた。これら、卵細胞質の加齢化を評価する新たな体外培養評価系であり、新知見を得るシステムを構築、評価し加齢と卵の質そしてES細胞の質をリンクさせてわが国の生殖医療と再生医療を結び付ける基盤研究である。

## B. 研究方法

### I. ヒト疾患を対象

#### 1) 子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な生殖補助医療の治療体系に関する研究

子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な生殖補助医療の治療体系について検索論文によるエビデンスから子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な治療指針を作成してきたことを背景に、臨床データをまとめ治療ストラテジーの検定を行った。更に、子宮内膜症が胚発生に及ぼす影響を検定した。

#### 2) 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究

これまでの成果として子宮内膜症の発症・進展にT細胞が関与すること突き止め、Th17細胞について検討したが、子宮内膜症ではアレルギー性の疾患が合併しやすいことなどから、Th2細胞の関与が示唆されているものの、これまで詳細は不明であった。インフォームドコンセントのもと、腹腔鏡手術時に卵巣子宮内膜症検体を採取し、凍結切片を作成によるIL-4の免疫組織染色を行った。他は、組織より子宮内膜症間質細胞を分離培養し、IL-4の細胞増殖に与える影響について検討した。また、IL-4受容体発現をRT-PCRにて調べた。

子宮内膜症におけるTRAIL誘導性アポトーシスの意義についての検討をおこなった。子宮内膜症の発症機序として子宮内膜細胞ならびに子宮内膜症細胞のアポトーシス抵抗性が示唆されている。Tumor necrosis factor-related apoptosis-induced ligand (TRAIL)はアポトーシスを誘導する代表的なサイトカインであり、腹腔内貯留液中にもその



存在が認められている。アポトーシスを惹起する TRAIL 受容体である DR5 の発現を検討するとともに、一部の腫瘍細胞で DR5 発現を促進することが知られているツニカマイシンの子宮内膜症細胞の TRAIL 誘導性アポトーシスに対する作用を検討した。適切なインフォームドコンセント手続きのもと手術で得られた子宮内膜症組織と正所性子宮内膜より子宮内膜症間質細胞と正所性子宮内膜間質細胞を分離培養して実験に供した。子宮内膜症間質細胞にツニカマイシン(2ug/ml)を添加し、TRAIL 受容体である DR5 mRNA の経時的発現を定量的 PCR にて測定した。子宮内膜症間質細胞および正所性子宮内膜間質細胞にツニカマイシン(2ug/ml)を16時間添加した後、TRAIL(200ng/ml)を24時間添加し、アポトーシスを flow cytometry にて定量した。また TRAIL 添加の1時間前に z-VAD-fmk(caspase 阻害剤, 30uM)を添加して同様の実験を施行した。さらに、DR5 siRNA(50nM)を24時間導入の後、同様の実験を施行した。

### 3) PCOS における子宮内膜のメトホルミン投与による変化

PCOS におけるインスリン抵抗性と高アンドロゲン血症に着目し、PCOS 患者へのメトホルミン投与前後において a) 血中内分泌・糖代謝パラメータ b) 子宮内膜性ステロイドレセプター及び性ステロイドに制御されていることが報告されている着床関連分子発現の変化について検討する。倫理委員会の承認を得、PCOS 患者のメトホルミン投与前後の検体を採取した。ER $\alpha$ 、AR、 $\alpha\beta$ 3integrin、HOXA10 について免疫染色法を用い解析した。

## II. モデル動物を対象

### 1) 卵細胞の質に係わる分子機構の解明に関する研究

卵子との融合に重要な精子上に存在する分子である IZUMO に注目して、実験動物マウスを用い以下の実験を行った。細胞間の相互作用に重要と言われている糖鎖が IZUMO に付加しているかどうかを知るために、in silico で予測される糖鎖

付加配列を検索した。実際、精子上の IZUMO に糖鎖が付加しているのかどうかを調べるために、グルコシダーゼ処理した後、ウエスタンブロットで分子量の変化を調べた。また、IZUMO における糖鎖の役割を調べるために、糖鎖付加配列を欠損したミュータント IZUMO を精巣特異的なカルメジンプロモーターで発現するトランスジェニックマウスを作製した。このトランスジェニックマウスの遺伝的背景を Izumo ノックアウトにすることで、糖鎖修飾をうけない IZUMO 精子が作られる。このマウスを用いて交配実験を行い、妊孕性を調べた。さらに、膜透過性の Hoechst33342 を卵子に封入して、糖鎖欠損 IZUMO をもつ精子を媒精し、卵子と融合するかどうかを検討した。また、IZUMO のモノクローン抗体を作製し、糖鎖の付加がなくなったとき蛋白質質量や分子量に変化が無いかどうかをウエスタンブロットティングによって調べた。

### 2) 受精障害卵に対する発生補助の可能性に関する検討

実験動物マウス(アルキル化イミノシユガー摂取マウス; 摂取後3週間で一過性の不妊マウスとなる)を用いて、卵細胞質内精子注入法(ICSI)によって受精にいたらない受精障害卵内での精子核の状態を観察し、精子頭部の変化と人為的卵活性化が与える影響について検討した。

### 3) 加齢化モデル由来胚の多分化能性解析

実験動物マウスを用いて行う。個体加齢と卵細胞質との慣例性について新たな評価系の構築と、卵細胞機能に関する新たな分子メカニズムの解明を行う。加齢モデルを構築し、卵細胞への影響を観察する実験システムは個体あるいはそれより得られるサンプルの希少性よりこれまで世界的にも十分な解析システムが構築されず、極限られた知見が得られるのみであった。本研究では、胚盤胞期胚の将来胎児となる内部細胞塊から樹立される ES 細胞を加齢化モデルの胚より樹立しその特性解析から加齢化卵の多分化能性へ寄与する性質を体外培養系で探る実験系を構築する。未

だ試みられていない方法であったが、私たちは72週齢という非常に高齢なマウスより卵を採取し、顕微授精を行い最終的に加齢卵由来のES細胞を複数株樹立することに成功した。この加齢ES細胞に対して行った網羅的遺伝子解析や分化挙動解析から、通常のES細胞と異なる遺伝子発現動態と分化傾向の変化を突き止めることが出来た。加齢卵の卵細胞本来の性質、全能性、について初めてアプローチ出来るシステムが構築でき、精力的に解析をおこなっている。バイオインフォマティクス解析により加齢卵由来のES細胞細胞特異的な分子の挙動を明らかにしていく。

## C. 研究結果

### I. ヒト疾患を対象

#### 1) 子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な生殖補助医療の治療体系に関する研究 (柳田)

平成19年度の「最適な不妊治療の選択指針」として報告した治療ストラテジーの検討を以下に行った。

##### 卵管因子存在

子宮内膜症は卵巣機能が活動性である間は経年的に病態が増悪していくため、種々の障害因子の存在で妊孕能が低下する。早期の腹腔鏡検査(手術)を行い、原因の確認と外科的治療を実施する。卵巣子宮内膜症性嚢胞が存在すればチョコレート嚢胞核出術を行う。腹腔鏡手術の後は、その所見よりIVFの適応であれば、IVFを選択する。IVFの選択がなければ、6ヶ月間のタイミング法および人工授精(AIH)を主とした治療を行い、妊娠しない場合にはIVFにステップアップする。IVFの実施で妊娠が得られなかった場合や、早急な薬物療法が望ましい場合には、IVFの前治療としてGnRHagonistなどの投与を考える。

##### 男性因子例および受精障害例

子宮内膜症を合併しているのであれば、腹腔鏡検査を実施する。ARTはIVFで受精障害が起こることが予測される場合にはICSIを予定する。症例によっては、ART実施の前に薬物療法を少なくとも2ヶ月間実施する。

#### 2) 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究 (矢野・大須賀)

子宮内膜症組織の間質にIL-4陽性細胞が認められ、その頻度は約14%であった。これらの細胞はCD3との蛍光2重染色によってTh2細胞であることが確かめられた。一方、子宮内膜症間質細胞にはIL-4受容体の遺伝子発現が確認された。IL-4(0.1-10ng/ml)添加により子宮内膜症間質細胞の細胞数とBrdU取り込みは用量依存性に有意に増加した。IL-4の増殖作用は抗IL-4受容体抗体により抑制された。IL-4はp38MAPK, JNK, ERKの各MAPキナーゼをリン酸化した。また、各MAPキナーゼの阻害剤はIL-4の子宮内膜症間質細胞増殖作用を抑制した。また、子宮内膜症患者腹腔内貯留液中にCD4陽性、CD17陽性のTh17が存在した。IL-17陽性細胞は、正常子宮内膜に比較し子宮内膜症病変に著明に多く存在し、腺上皮の直下に多く局在していた。培養子宮内膜間質細胞においてIL-17受容体mRNA、IL-17受容体が発現していた。子宮内膜症間質細胞は1ng/ml以上のIL-17刺激により有意にIL-8の産生を亢進した。また、IL-17受容体の中和抗体は、このIL-8産生を抑制した。IL-17刺激は、1ng/ml以上で子宮内膜症間質細胞のBrdUの取り込みを有意に増加させた。

子宮内膜症組織では正所性子宮内膜と比較してDR5の発現が40%程度と有意に低下していた。ツニカマイシンは子宮内膜症間質細胞におけるDR5 mRNAの発現を12時間で対照の3.7倍に増加させた。ツニカマイシンの前処置により子宮内膜症間質細胞におけるTRAIL誘導性アポトーシス(85.2%)は対照(6.1%)に比し著明に増加した。しかし、正所性子宮内膜間質細胞ではこのような増加は認めなかった。子宮内膜症間質細胞で認められた増加はz-VAD-fmk添加により29.8%まで抑制され、caspase依存性と考えられた。また、DR5 siRNA導入によりツニカマイシンによるDR5 mRNA発現の増加が抑制されるとともにTRAIL誘導性アポトーシスも33.5%まで有意に抑制された。

#### 3) プロテオーム解析による子宮内膜症における新たな関連分子の探索 (吉



村・久慈)

子宮内膜症のある患者腹水と子宮内膜症のない患者腹水のキャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析装置解析によって、合計 485 のピークが検出された。その中で、27 個が子宮内膜症特異的分子であると推定された。差が検出されたピークのなかで、子宮内膜症患者の方が濃度の高かったのは 2 ピークであり、子宮内膜症患者の方が低かったのは 25 ピークであった。これらのピークでは、子宮内膜症患者の腹水中よりも子宮内膜症がない患者腹水の方がピークが大きい傾向が認められた。

#### 4) PCOS における子宮内膜のメトホルミン投与による変化 (佐藤)

PCOS 子宮内膜では、正常周期子宮内膜に比べ、ER $\alpha$ 、AR の発現が亢進し  $\alpha\beta$ 3integrin、HOXA10 の発現は低下していた。PCOS に対しメトホルミンを 3 ヶ月投与した時点では、内分泌的・糖代謝的パラメーターについて、投与前と比較し有意差は認められなかったが、子宮内膜に関しては、メトホルミン投与後に ER $\alpha$ 、AR の発現低下、 $\alpha\beta$ 3integrin、HOXA10 の発現増加が認められた。

## II. モデル動物を対象

### 1) 卵細胞の質に係わる分子機構の解明に関する研究 (岡部)

精子に存在し卵子との融合に密接にかかわる分子である IZUMO には 4 か所の O 結合型糖鎖付加配列の存在が予測された。しかし、O 結合型グリコシダーゼ処理を行っても、分子量に変化がなかったことから、O 結合型糖鎖は付加されていないことが示された。また、免疫グロブリン様ドメイン内には、動物種間で高度に保存されている N 結合型糖鎖付加配列が存在し、N 結合型グリコシダーゼ処理によって、分子量が減少し、N 結合型糖鎖が付加されていることが明らかになった。

次に、IZUMO の N 結合型糖鎖の役割を調べるために、204 番目のアスパラギンをグルタミンに変異させたミュータントを精巢特異的に発現するトランスジェニックマウスを作製し、これらマウスを Izumo ノックアウトバックグラウンドに置き換え

ることで、精子上に存在する IZUMO の N 結合型糖鎖を完全に欠失させた (N204Q-IZUMO)。

N204Q-IZUMO の雄からの妊孕性は野性型の約 30%であった。この原因を探るために精子-卵子の融合解析を行ったところ、N204Q-IZUMO の精子はほとんど融合が成立していないことが分かった。

また、モノクローン抗体を用いて N204Q-IZUMO の精子のウエスタンブロット解析を行うと、野性型に比べ有意にタンパク質量が減少していることに加え、30 kDa と 35 kDa のフラグメント化したバンドが検出された。

### 2) 受精障害卵に対する発生補助の可能性に関する検討 (佐藤)

実験動物マウスを用いた結果、ICSI 後 6 時間では受精障害卵内で精子核の染色体分離を認め、人為的卵活性化刺激を加えると異常受精が高頻度に確認された。人為的卵活性化刺激を加えるタイミングにより受精卵の染色体に何らかの脆弱性が加わりその後の発生に大きく影響することが示唆された。

### 3) 加齢化モデル由来胚の多分化能性解析 (阿久津)

加齢卵由来のマウス ES 細胞を樹立し網羅的遺伝子発現解析を行った結果、通常の ES 細胞に比し、約 1000 の遺伝子に有意差が認められた。階層性解析から加齢卵由来マウス ES 細胞が特徴にグルーピングされることから、それを規定する遺伝子群の同定が行えることが示唆された。

## D. 考察

作成した子宮内膜症合併不妊症に対する治療指針が合理的かつ有効なものかを、実際の臨床成績から検証した。腹腔鏡手術時に確認された子宮内膜症の主体となる病変、子宮内膜症の広がりやを評価する revised-American Society for Reproductive Medicine classification (r-ASRM) 重症度分類、手術後の ART 治療の有無、腹腔鏡後の妊娠までの期間などを調査し、それぞれの調査項目から、子宮内膜症の臨床的な特徴と体外受精を実施した

時の子宮内膜症からの影響について調査・検討を加えた。作成した指標との整合性を整えて最終的なガイドラインを作成した(柳田)。子宮内膜症では妊孕能が低下し、時間経過とともに子宮内膜症が増悪すること、また卵巣(卵子)が加齢することから、よりテンポの早い治療計画が必要である。子宮内膜症の低下している妊孕能は腹腔鏡検査(手術)によって改善が期待できることから、まず腹腔鏡検査を計画することが望ましい。腹腔鏡手術とARTの必要性和タイミングを考慮しテンポアップし治療を行っていく(詳細は、分担研究者柳田の報告)。

子宮内膜症における TRAIL 誘導性アポトーシスの意義についての検討した結果、子宮内膜症組織では正所性子宮内膜と比較して DR5 の発現が 40%程度と有意に低下していた。ツニカマイシンは子宮内膜症間質細胞における DR5 mRNA の発現を 12 時間で対照の 3.7 倍に増加させた。ツニカマイシンの前処置により子宮内膜症間質細胞における TRAIL 誘導性アポトーシス(85.2%)は対照(6.1%)に比し著明に増加した。しかし、正所性子宮内膜間質細胞ではこのような増加は認めなかった。子宮内膜症の発症・進展における TRAIL 誘導性アポトーシスの意義を明らかにするとともに、DR5 を誘導することにより子宮内膜症を治療しえるという新たな概念を提唱できた(詳細は、分担研究者矢野・大須賀の報告)。

子宮内膜症患者のプロテオーム解析から子宮内膜症患者腹水中で減少していることが示された分子群は、血液中でも解析を行う必要がある。血液中でも変化が認められる分子が同定されることにより、疾患進行と治療のマーカーになる可能性があり、従来の CA125 と異なった指標が得られる可能性がある。また、これまでの子宮内膜症患者腹水に関する研究においては、IL-13 など一部のケミカルメディエーターは減少しているとの報告もあるが、子宮内膜症患者の腹水中のケミカルメディエーターは、患者において増加しているという報告が多くを占めている。本研究においては、子宮内膜症患者に減少している分子が多いことが示された。疾患特異的分子を探索する際には、特異的現症によって増加す

る物質に注目しがちであるが、抑制系が減少することや、一定の代謝経路が活性化することによる一部の分子の減少もあることが明らかとなった。今回検出された低分子分子のなかから、発症予防につながる分子を同定・機能解析を進めることにより、外科的治療後の再発抑制に貢献できる可能性があると考えられた。

本研究によって検出された分子は、腹腔内の子宮内膜症の進展にもなって現れた変化なのか、あるいは、子宮内膜症を誘発・維持することに関わっている分子なのかは明らかではない。今後、子宮内膜症の発症予測に使用できる分子が、今回検出されたピーク中に存在するかどうか、プロスペクティブな検討を施行していくことが必要であると考えられた(詳細は、分担研究者吉村・久慈の報告)。

PCOS における子宮内膜の性ステロイドホルモン環境とメトホルミン投与による変化について、PCOS 子宮に対してはメトホルミンが子宮血流の増加、子宮内膜厚改善、子宮内膜組織所見の改善、流産率の低下などに関与している報告がある。しかしながら、その分子生物学的検討は十分に行われていない。PCOS 子宮内膜では、正常周期子宮内膜に比べ、ER $\alpha$ 、AR の発現が亢進し  $\alpha v \beta 3$  integrin、HOXA10 の発現は低下していた。PCOS に対しメトホルミンを 3 ヶ月投与した時点では、内分泌的・糖代謝的パラメーターについて、投与前と比較し有意差は認められなかった。子宮内膜に関しては、メトホルミン投与後に ER $\alpha$ 、AR の発現低下、 $\alpha v \beta 3$  integrin、HOXA10 の発現増加が認められた。メトホルミンは直接作用及びインスリン抵抗性改善を介した間接作用により、高アンドロゲン血症を改善し、排卵周期を改善することが報告されており、これらの作用が子宮内膜における ER $\alpha$ 、AR 発現及び着床関連分子発現の変化をもたらしている可能性が示唆された(詳細は、分担研究者佐藤の報告)。

卵細胞の質に係わる分子機構の解明に関する研究について、細胞融合には糖鎖修飾が重要な役割を担っていることが報告されている。卵子との融合に必要な精子側の分子である IZUMO の糖鎖について調べ



たところ、N結合型糖鎖が精子上のIZUMOに存在しており、これを欠損させると受精能や融合能に影響することが示された。しかし、糖鎖をなくした精子上のIZUMOは精巣上体尾部において、一部がフラグメント化され、機能するIZUMOの絶対量が減少するために受精能や融合能に影響したと考えられた。すなわち、IZUMOのN結合型糖鎖の役割は精巣上体尾部でIZUMOをプロテアーゼ等から保護し、安定化することであり、膜融合機構に直接関与しているわけではないことが示唆された(詳細は、分担研究者岡部の報告)。

受精障害卵に対する発生補助の可能性に関する検討について、ヒトICSI後受精障害に関する研究において、その原因が卵活性化障害によると報告されている。しかし、受精障害卵を正常に発生させるための発生補助療法は確立されていない。実験動物マウスを用いて人為的卵活性化のタイミングなど臨床応用する場合に向けた基盤研究の展開を詳細にする必要性が示され、今後の課題と認識される(詳細は、分担研究者佐藤の報告)。

わが国において、出生率は人口置換水準を大きく下回る超少子化社会と認識されている。その中生殖補助医療(ART)を享受し、妊娠・出産に至る数は1万を超え、全体の1.5%を以上に達する。しかし、ARTは万能ではなく、数々の問題点が指摘されてきた。ヨーロッパ生殖医学会では、加齢に対する対応が今後の大きな課題であるとされている。少子化・晩婚化の中、わが国でも何らかの形で産婦人科医などの医療関係者、生命学者、あるいは国がこの問題に対応していることを示すことは社会に対してきわめて重要である。米国NIHでは、卵子の質に関する研究を大規模な国際プロジェクトとして遂行させている。先を見据えた基礎研究も重要である。超少子化時代となり社会の様々な方面に切実な問題を投げかけているが、その中でも生殖医療が関連する事象は重要であるが解明されていなかったり、国民への適切な啓蒙が不足している現状がある。例えば、卵子の質の低下に関しても、広く認識されていないが故に国民の一部に大きな誤解を招いている。基盤的、科学的データの裏付け

のある誠実な情報を提示することは我々研究者が社会に対して行うべき責務である。

## E. 結論

女性のライフスタイルに合わせ、これまでの社会的QOLを減らすような治療法とってかわる新規治療薬・法の臨床研究を行ってきた。分子レベルで子宮内膜症の一端を明らかにし、科学的エビデンスを構築し現在の社会に即した治療法を構築していく。さらなるデータの検討には、症例の積み重ねとメタ解析が必要となる。目的であった生殖器疾患合併不妊症の治療法の最適化・標準化に向けて、明確な治療ストラテジーを提示することができ、生殖医療ガイドラインとして提示できたことは社会に対しての大きな貢献と認識できる。本研究班により子宮内膜症に関して新たな分子メカニズムが解明でき、今後は更に基礎的研究を推進するとともに、臨床研究を治療法の最適化・標準化の確立に向け展開していく基盤が確立できた。

これまで、世界的にみても加齢と卵子の質に関する適切な実験系が存在しないためにその領域の研究が遅々としてすすまなかったが、本研究において、基盤となる研究システムの構築が整ってきた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 倫理面への配慮

### 1. 臨床研究に対する倫理面への配慮

各機関において、ヒト組織及び細胞を取り扱う際には、慶應義塾大学、東京大学、福島県立医科大学、東海大学医学部において、機関内倫理委員会にて承認済みである。なお、研究協力者に倫理専門家を加え、本研究遂行にあたって新たな倫理的問題が生じないように、常にモニタリングを行い、必要に応じて意見交換を行った。

### 2. 実験動物に対する倫理

実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施した(承認番号2003-002, 2005-003)。特に、動物愛護と



動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめ、またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなった。

#### H. 研究発表

##### 論文発表

Chen AE, Egli D, Niakan K, Deng J, Akutsu H, Yamaki M, Cowan C, Fitz-Gerald C, Zhang K, Melton DA, Eggan K. Optimal timing of inner cell mass isolation increases the efficiency of human embryonic stem cell derivation and allows generation of sibling cell lines. *Cell Stem Cell*. 2009; 4(2): 103-106.

Sullivan S, Ichida JK, Umezawa A, Akutsu H. Nuclear reprogramming and the control of differentiation in mammalian embryos. Elucidating nuclear reprogramming mechanisms: taking a synergistic approach. *Reprod Biomed Online*. 2008; 16(1):41-50.

Tanigawa M, Miyamoto K, Kobayashi S, Sato M, Akutsu H, Okabe M, Mekada E, Sakakibara K, Miyado M, Umezawa A, Miyado K. Possible involvement of CD81 in acrosome reaction of sperm in mice. *Mol Reprod Dev*. 2008;75(1):150-155.

Hamatani T, Yamada M, Akutsu H, Kuji N, Mochimaru Y, Takano M, Toyoda M, Miyado K, Umezawa A, Yoshimura Y. What can we learn from gene expression profiling of mouse oocytes? *Reproduction*. 2008;135(5):581-592.

Miyado K, Yoshida K, Yamagata K, Sakakibara K, Okabe M, Wang X, Miyamoto K, Akutsu H, Kondo T, Takahashi Y, Ban T, Ito C, Toshimori K, Nakamura A, Ito M, Miyado M, Mekada E, Umezawa A. The fusing ability of sperm is bestowed by CD9-containing vesicles released from eggs in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(35):12921-6.

#### I. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1) 特許取得

なし

##### 2) 実用新案登録

なし

##### 3) その他

なし

## II 分担研究報告書

1. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系に関する研究  
佐藤 章
2. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系の研究  
生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究  
吉村 泰典  
久慈 直昭
3. 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究  
大須賀 穰  
矢野 哲
4. 非閉塞性無精子症関連遺伝子の探索  
井ノ上 逸朗
5. 子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な生殖補助医療の治療体系に関する研究  
柳田 薫
6. 卵細胞の質に係わる分子機構の解明に関する研究  
岡部 勝

**研究要旨** 卵細胞質内精子注入法（Intracytoplasmic sperm injection:ICSI）は、重症男性不孕症患者が受精卵を得るための最も効果的な治療方法として広く臨床応用されているが、未だその受精率は70-80%に留まっている。2005年に国内で年間47,579周期に対しICSIが行われている現状から、相当数の未受精卵が生じ、貴重な生殖資源が失われていると推測される。ICSI後受精障害に対して基本的な治療方法はないが、唯一、卵活性化障害に対しては人為的卵活性化法の併用により研究的な治療が行われており、実際に妊娠・分娩例が報告されている。ただしこれらは、前2回以上の治療周期において完全なICSI後受精障害例（受精率0%）と診断された症例に対する治療であり、それ以外の症例（初回治療、低受精率症例など）に関しては治療法がない。今回の研究において、これら受精判定時に受精障害と判定されるヒトICSI卵をより早期に判定し、人為的卵活性化法の併用により発生を補助し、その後の正常な胚発生を促すことを目的とした。

#### A. 研究目的

ICSI後受精障害症例（ICSI症例中約1%程度と推定される）において、あるいは通常ICSIにおいても20%程度生じると推定される、ICSI後受精障害卵に対する治療方法（発生補助療法）は確立されていない。本研究では、ICSI後受精障害卵を早期に診断する方法につき検討を行い、さらに、その発生補助の可能性について検討を行った。

#### B. 研究方法

動物モデル（アルキル化イミノシュガー摂取マウス：摂取後約3週間で一過性の不妊マウスとなる）を用いて、ICSI後受精障害卵中での精子核の状態を経時的に観察し、精子頭部の変化とそれぞれの時期に卵活性化刺激を加えた場合の、精子染色体に及ぼす影響、その後の受精・発生過程に及ぼす影響について検討を行った。同検討において、ICSI後受精障害の診断時期、卵活性化併用の最適時期についての考察を行った。

また、上記結果をもとに、ヒトICSIにおけるICSI後受精障害の診断時期、卵活性化併用の最適時期についての検討を継続中である。

#### （倫理面への配慮）

本研究に関しては、当大学の倫理委員会の承認のもと、患者様に本研究の必要性の十分な理解を求めた。また、検体採取および研究的治療を行うにあたり同意書を患者から書面で頂いた。個人情報については漏洩のないようにすること、個人を特定出来ないようにすることを厳守した。

#### C. 研究結果

動物実験において、受精判定時（ICSI後6時間）では受精障害卵中で精子核の染色体分離を認め、そのタイミングで活性化刺激を加えると異常受精（多前核形成→染色体分離異常→染色体数異常）が高頻度に観察された。よって受精判定時では、卵活性化刺激によって受精障害卵の発生を補助するには遅すぎると考えられた。第2極体放出判定時（ICSI後2時間程度）までに活性化刺激を加えることにより、

その後の受精・発生障害を回避でき、その後受精障害となるICSI卵を正常受精へと救出できる可能性が示唆された。

上記結果をもとに、ヒトICSIにおける第2極体放出判定時期についての検討を行い、少数症例における予備実験的結果ではあるが、ヒトPiezo-ICSI（Piezo micro manipulatorを用いたICSI：マウスと同法）においては2時間程度、通常ICSI法では4時間程度、という結果を得た。

#### D. 考察

ヒトICSI後受精障害卵に関する研究において、その多くが卵活性化障害によることが報告されている。しかし、それら受精障害卵を正常発生させるための発生補助療法は確立されていない。本研究において、第2極体放出判定時期における卵活性化刺激による治療の可能性がマウスを用いた動物実験において示された。

また、ヒトICSIにおけるICSI後受精障害の早期診断の可能性を示した。

#### E. 結論

ICSI後受精障害卵の早期診断法、及び、治療の可能性が示された。今後、ヒトICSI卵におけるデータの蓄積を図り、最終的には貴重な生殖資源であるヒトICSI後受精障害卵の治療を目標としていく。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
現在、論文投稿準備中

2. 学会発表  
第59回 日本産婦人科学会学術講演会

第52回 日本生殖医学会学術講演会



H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。) 特になし

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
特になし

## 厚生労働省科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業) 分担研究報告

子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系の研究  
生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究

分担研究者 吉村泰典 慶應義塾大学産婦人科 教授  
久慈直昭 慶應義塾大学産婦人科 講師

### 研究要旨

子宮内膜症は妊孕能を障害するのみならず、月経困難症・過多月経などの女性のQOLを障害する疾患の一つである。晩婚化と挙児希望年齢の上昇に伴い、妊娠を希望する婦人における、子宮筋腫および子宮内膜症の発症頻度は増加し、妊孕能温存希望を持つ女性において、外科的治療後の再発に関する管理が重要となっている。

子宮内膜症の発症部位は、卵巣・子宮・腹膜をはじめとして、直腸・肺・鼠径部・膈部など多岐にわたるが、主たる病変存在部位は腹腔内である。本年度の研究においては、子宮内膜症が進展する環境である腹腔内環境に注目し、その進展や発症に関わる低分子化合物を探索することを計画した。低分子物質を網羅的に解析できるキャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析装置を用いて、子宮内膜症患者腹水と非子宮内膜症患者腹水の比較検討を行った。485のピークが検出され、そのなかで、27のピークが子宮内膜症特異的であった。検出された27のピークのなかで、子宮内膜症患者の腹水中濃度が高かったものは2ピークであり、子宮内膜症患者の腹水中の濃度が低かったものは25ピークであった。

今回の検討で検出された分子群は現在同定中であるが、これらの分子群の中には、今後、子宮内膜症の病態進行のあらたな指標、あるいは、治療および予防へ向けての手がかりとなる分子が含まれている可能性が高い。

### A. 研究目的

子宮内膜症は疼痛および不妊を発症する疾患の一つである。晩婚化と挙児希望年齢の高齢化に伴い、子宮内膜症の発症患者が妊娠希望者に増加し、妊孕能を障害する症例も増加してきている。子宮内膜症の発症に関しては多数の研究があるもののまだまだ不明な点が多い。過去の報告では、IL-8、TNF、PGE2などのケミカルメディエーターが子宮内膜症の発症と進展に寄与していることが指摘され、また、病勢を評価する指標の一つとしては、CA125があるものの、発症予測や治療にまで踏

み込むことができる手がかりはまだわずかであるのが現状である。

我々は、子宮内膜症の主たる進展部位として腹腔内環境に注目してきた。子宮内膜症の発症とその維持に対して、一定の腹腔内環境が影響をおよぼしていることが予測され、また、子宮内膜症の病勢と関連するメディエーターが血中でも一部は測定されていると報告されていることより、病態進行に関わる因子が子宮内膜症患者の腹水中に存在すると予測して本研究を計画した。

上記の理由より、子宮内膜症患者の腹水に注目し、子宮内膜症患者特異的腹水中低分子物質の探索を計画した。ゲノム解析が一つの終焉を迎え、現在、蛋白・糖鎖・発現後修飾などに注目されているが、現在種々の網羅的解析手法が開発されてきている。今回我々は、低分子物質の網羅的解析が可能である、キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析装置(CE-TOFMS)を用いて、子宮内膜症患者腹水と非子宮内膜症患者腹水の比較検討を行い、子宮内膜症特異的分子を探索することを目的とした。

## B. 研究方法

腹腔鏡で骨盤内を詳細に検討した症例のみを対象とし、腹腔内に子宮内膜症の存在した症例と子宮内膜症が発症していない症例において、腹水中の低分子物質を網羅的に解析し、2群間で比較検討をおこなった。腹水の採取は、当院倫理委員会にて承認された説明書をもとに説明を行い、承諾がえられた症例に対してのみ行った。子宮内膜症発症症例は23症例、子宮内膜症の非発症症例は21症例、計43症例を対象とした。CE-TOFMSによる網羅的低分子解析は、最新のメタボローム解析技術の一つであり、微量のサンプルから多数のイオン性低分子物質を包括的に測定することができる。腹水中の低分子物質で、疾患特異的な分子を探索した。

## C. 研究結果

子宮内膜症のある患者腹水と子宮内膜症のない患者腹水のCE-TOFMS解析によって、合計485のピークが検出された。その中で、27個が子宮内膜症特異的分子であると推定された。差が検出されたピークのなかで、子宮内膜症患者の方が濃度の高かったのは2ピークであり、子宮内膜症患者の方が低かったのは25ピークであった。図1に検出されたピークの例を示した。これらのピークでは、子宮内膜症患者の腹水中よりも子宮内膜症がない患者腹水

の方がピークが大きい傾向が認められた。また、図2に差が検出されたピークの一部を列記している。いずれも物質の同定はまだなされていないが、低分子化合物の同定と、その代謝経路の解析を今後施行する予定である。

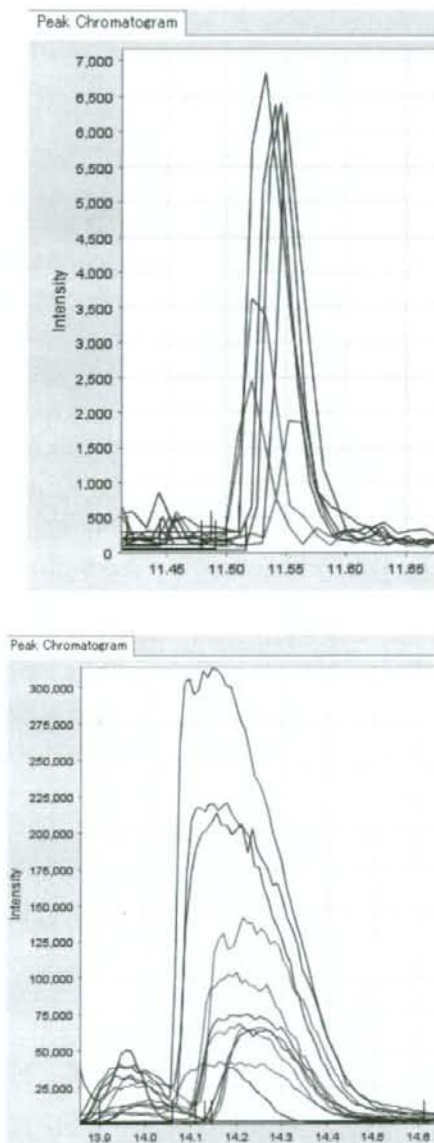


図1. 検出されたピーク分子の例



質量電荷比 (m/z)	患者腹水/非内膜症患者 腹水 (面積比)
143.1	0
209.0	0.04
103.0	0.254
173.0	0/372
101.0	0.432
103.0	0.593
115.0	3.126

図2. 子宮内膜症患者特異的代謝物質

#### D. 考察

今回検出された、子宮内膜症患者腹水中で減少していることが示された分子群は、血液中でも解析を行う必要がある。血液中でも変化が認められる分子が同定されることにより、疾患進行と治療のマーカーになる可能性があり、従来のCA125と異なった指標が得られる可能性がある。また、これまでの子宮内膜症患者腹水に関する研究においては、IL-13などの一部のケミカルメディエーターは減少しているとの報告もあるが、子宮内膜症患者の腹水中のケミカルメディエーターは、患者において増加しているという報告が多くを占めている。本研究においては、子宮内膜症患者に減少している分子が多いことが示された。疾患特異的分子を探索する際には、特異的現症によって増加する物質に注目しがちであるが、抑制系が減少することや、一定の代謝経路が活性化することによる一部の分子の減少もあることが明らかとなった。子宮内膜症の発症に伴い変化する腹腔内環境は多岐にわたるが、主として、慢性炎症によるものである。この変化による腹腔内分子は、炎症性変化を主たる要因として減少した因子と、疾患の発症に抑制的に働く因子が含まれている可能性がある。今回検出された低分子分子のなかから、発症予防につながる分子を同定・機能解析を進めることにより、外科的治療後の再発抑制に貢献できる可能性があると考えられた。

本研究によって検出された分子は、腹腔内の子宮内膜症の進展にともなって現れた変化なのか、あるいは、子宮内膜症を誘発・維持することに関わっている分子なのかは明らかではない。今後、子宮内膜症の発症予測に使用できる分子が、今回検出されたピーク中に存在するかどうか、プロスペクティブな検討を施行していくことが必要であると考えられた。

#### E. 結論

子宮内膜症患者の腹水と子宮内膜症がない患者腹水の網羅的比較検討により複数の疾患特異的低分子物質と推測されるピークが検出された。これらの検出されたピークは今後同定解析を行う必要があるが、新たな子宮内膜症特異的マーカーの検出と、子宮内膜症発症・再発予防に関与する分子同定の可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Asai S, Asada H, Furuya M, Ishimoto H, Tanaka M, Yoshimura Y. Pseudoaneurysm of uterine artery after laparoscopic myomectomy. *Fertil Steril*.2009;91: 929 e1-3

Maruyama T, Yoshimura Y. Molecular and cellular mechanisms for differentiation and regeneration of the uterine endometrium. *Endocr J*. 2008; 55: 795-810

Masuda H, Okano HJ, Maruyama T, Yoshimura Y, Okano H, Matsuzaki Y. In vivo imaging in humanized mice. *Curr Top Microbiol Immunol*.2008;324: 179-196

丸山哲夫, 吉村泰典, et al. (2008). "子宮内膜症の病因に関する基礎研究 子宮内膜症関連遺伝子同定のための新しいアプローチ." エンドメトリオージス研究会会誌 29: 42.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2008). "【子宮内膜症の診療】異所性子宮内膜症." 産婦人科治療 96(3): 241-247.

##### 2. 学会発表

丸山哲夫, 吉村泰典, et al. (2008). "子宮内膜症の病因に関する基礎研究 子宮内膜症関連遺伝子同定のための新しいアプローチ." 第 29 回エンドメトリオーシス研究会 (高知) 2008 年 1 月 19 日-20 日.

古谷正敬, 吉村泰典, et al. (2008). "精査により診断に至った重症慢性骨盤痛を伴う異所性子宮内膜症の 2 例." 第 29 回エンドメトリオーシス研究会 (高知) 2008 年 1 月 19 日-20 日.

梶谷 宇, 吉村泰典, et al. (2008). "子宮内膜症・腺筋症由来疼痛に関連する遺伝子の発現解析." 第 29 回エンドメトリオーシス研究会 (高知) 2008 年 1 月 19 日-20 日.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2008). "腹腔鏡下ダグラス窩子宮内膜症病巣切除術の疼痛緩和効果に関する検討." 第 48 回 日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会 (横浜) 2008 年 7 月 31 日-8 月 2 日.

古谷正敬, 吉村泰典, et al. (2009). "腸閉塞を来した回腸子宮内膜症の 2 例." 第 30 回 日本エンドメトリオーシス学会 (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

川田洋子, 吉村泰典, et al. (2008). "CE-TOFMS による子宮内膜症患者腹水のメ

タボローム解析." 第 30 回 日本エンドメトリオーシス学会 (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

辻 紘子, 吉村泰典, et al. (2008). "子宮内膜症の発症に対して EP300 および AHRR 遺伝子多型がおよぼす影響." 第 30 回 日本エンドメトリオーシス学会 (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

梶谷 宇, 吉村泰典, et al. (2008). "子宮内膜症組織におけるリポキシゲナーゼ経路関連遺伝子の発現解析." 第 30 回 日本エンドメトリオーシス学会 (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2008). "腹腔鏡下ダグラス窩子宮内膜症病巣切除術の定型化と疼痛緩和効果に関する検討." 第 30 回 日本エンドメトリオーシス学会 シンポジウム (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。



## 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究

研究分担者 大須賀 穰 東京大学医学部 講師  
矢野 哲 東京大学医学部 准教授

### 研究要旨

子宮内膜症は生殖年齢に好発し、不妊症の大きな原因となっている。本疾患は発症機序をはじめとして不明な点が多く、そのため治療にも苦慮している疾患である。この疾患の現時点での治療等における問題点を明らかにするとともに、今後の治療の向上にむけて病態解明をすすめることを本研究の目的とした。臨床における現状での子宮内膜症の治療予後を調査した結果、子宮内膜症卵巣のう胞において手術後の再発率が約30%と高いことが判明した。すなわち、手術療法のみでは長期の管理が不能であると考えられ、適切な薬物療法とのコンビネーションの必要性が示唆された。しかしながら、従来の薬物療法は副作用等の面でいまだ十分とは言えず、新規の薬剤の開発が期待される。そのためには、本疾患の発症機序を明確にする必要がある。本研究の基礎的な部分として、子宮内膜症発症機序について多くの新しい知見を得ることができた。さらに、アポトーシスやT細胞免疫に新たな分子標的を見出すことができ、不妊症の治療につながる子宮内膜症治療に新たな展開をもたらした。

### A. 研究目的

不妊症は女性のQOLを医学的、社会的、経済的など多くの側面から低下させる。現在の少子化の時代において不妊症の治療はますます重要となっているが、一方で、結婚年齢、出産年齢の高齢化にともない生殖年齢の期間に好発する子宮内膜症、子宮筋腫などの疾患が不妊症治療に影響を与えることが増えており、これらの疾患と不妊症の関係を適切にとらえて介入していくことが以前にもまして重要となっている。特に、子宮内膜症は種々の機序で妊孕性を低下させており、子宮内膜症を治癒させるべく種々に介入していくことが、妊娠率向上に大きく寄与することが示唆されている。不妊を主訴とした場合の治療については、1990年代のメタ解析の報告などにより、従来の薬物療法単独は効果がないとされており、腹腔鏡などの手術療法が有効であるとされている。このため、各種ガイドラインでは子宮内膜症合併不妊においては腹腔鏡手術が標準的治療となっている。しかしながら、手術後の再発が少なからず認められることが知られている。そこで、卵巣子宮内膜症性のう胞の術後再発率とその危険因子をあきらかにする目的で臨床研究をはじめに施行した。一方、薬物療法として子宮内膜症の治療はこれまでエストロゲンを抑制する方法が中心であったが、この方法は更年期症状や骨量減少などの副作用が強いため長期に使用することは不能であった。また、使用中は妊娠できないなどの制約があり、不妊症に対して効果の期待できないものであった。よって新たな治療法が期待されるわけであるが、子宮内

膜症の発症機序がほとんどわかっていないため、これまでは分子標的による治療戦略が立てられなかった。本研究では新たな治療法に向けて子宮内膜症の発症機序を探求するとともに可能性のある治療法についての基礎的評価を行った。

### B. 研究方法

1. 子宮内膜症性卵巣嚢胞の核出後の再発について検討した。腹腔鏡下に子宮内膜症性卵巣嚢胞の摘出術を施行し、少なくとも術後2年間の経過観察が可能であった224例を対象とした。再発の定義は超音波断層法により2cm以上の子宮内膜症性卵巣嚢胞を確認したものとした。再発に影響をおよぼす因子として年齢、不妊症、子宮筋腫、子宮腺筋症の有無、子宮内膜症に対する薬物療法既往、子宮内膜症性卵巣嚢胞の手術既往の有無、嚢胞が単数か複数か、最大嚢胞径、片側か両側か、rASRMスコア、術後薬物治療、術後妊娠の有無について検討した。解析は単変量解析をおこなった後、ステップワイズ法により因子を選択し、ロジスティック回帰分析を行った。
2. 培養子宮内膜症間質細胞を使用して、新規のプロゲステンであるジェノゲストとインスリン抵抗性改善薬であるメトフォルミンの子宮内膜症細胞に対する作用を検討した。
3. 正所性の子宮内膜、卵巣、子宮内膜症組織の切片をつくり、Th2細胞の特異的サイトカインであるIL-4とTh17細胞の特異的サイトカイン