

の黄体中期に、腔内消毒後子宮頸部より 10Fr 吸引チューブを挿入し、子宮腔内を生理食塩水 5ml で洗浄(flushing)後、吸引して回収する。回収液は、1500rpm、10 分間の遠心により細胞を沈降させた後、上清を-80℃で保存した。

子宮内腔洗浄液の分析としては、最初にMMPについて zymography による半定量を行った (Inagaki N et al, Hum Reprod 2003;18(3):608-615)。ポジティブ・コントロール ( pro-MMP2, active-MMP2, pro-MMP9, active-MMP9, 2 量体 MMP9)と比較することにより、各検体の MMP それぞれの濃度を、Inagakiらの方法により半定量(スコアリング)した。陽性例には抗生物質とプレドニゾロン 10mg を 10 日間投与した。

移植胚数については、平成 18 年より原則として単一胚盤胞移植を目指した。しかし、胚の状態によっては 2 個移植を行うこともあった。また、採卵数の少ない場合は採卵後培養3日目に移植を行った。胚移植 10 日後に血中 hCG を測定して妊娠の有無を判定した。統計処理には、 $\chi^2$  乗検定を用いた。

## (2) CD9

(i) 国立成育医療研究センターの生殖・細胞医療研究部・宮戸健二室長との共同研究として、マウス子宮内膜における CD9 の発現を免疫染色で検討した。また、子宮腔内洗浄液をウェスタンブロットに供し、子宮腔内への CD9 分泌量を検討した。(ii) さらに、性交 120 分後に CD9 ノックアウトマウスにおける受精状況を観察し、正常マウスの場合と比較した。

(iii) 前述の MMP 被験者 549 名を対象に、ヒト子宮内腔洗浄液中の CD9 濃度をウェスタンブロット解析し、被験者を CD9 の陽性例と陰性例の 2 群に分け、MMP2 との相関、妊娠予後との相関を検討した。

## (3) HMGPI

一方、胚の質的診断に有用なバイオマーカーを探索することを目的に、マウス着床前期胚の遺伝子発現プロファイリング・データの *in silico* 解析を行った。その結果、着床前期胚に特異的に発現する新規遺伝子 *Hmgpi* が発見されたので、詳細な発現解析と機能解析を行った。

(i) 定量的リアルタイム逆転写 PCR、ウェスタンブロット、免疫染色

(ii) 受精卵への siRNA 注入による *Hmgpi* 発現抑制が着床前期および着床周辺期の胚発生に与える影響を検討した。

## I. 研究結果

(1) MMP 陰性例は 496 例 [90.3%] (I 群)、陽性例は 53 例 [9.7%] であった。陽性例のうち、内服治療後の再検で陰性となった例が 50 例 [94.3%] (II 群)、治療後も陰性であった例は 3 例 [5.7%] (III 群)。

平均年齢は、I 群で  $36.71 \pm 4.11$ 、II 群で  $36.34 \pm 4.12$ 、III 群で  $38.33 \pm 0.57$  と有意な差は認められなかった。

検査後に妊娠した例は、I 群で 223 例 [45.0%]、II 群で 27 例 [54.0%]、III 群で 1 例 [33.3%] であったが、

妊娠までの移植回数および平均移植胚数に差は認められなかった。しかし、流産率は、I 群で 123 例 [55.2%]、II 群で 7 例 [25.9%]、III 群で 0 例であった。すなわち、MMP 陰性例よりも、MMP 陽性で治療後に陰性化した例の方が流産率は低かった。

## (2) CD9

(i) 国立成育医療研究センターの生殖・細胞医療研究部・宮戸健二室長との共同研究により、マウス子宮内膜腺上皮で CD9 の強発現が認められ(図 1)、さらに子宮腔内への CD9 の分泌も認められた(図 2)。(ii) また、CD9 ノックアウトマウスでは、子

宮を遡上して卵管に到達する精子数が減少していた(図3)。子宮内のCD9が精子の誘導に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

(iii) 現在は549例中68例しか解析できていないが、CD9陽性例(26例)で7例(26.9%)の妊娠を認めたのに対し、CD9陰性例(42例)では、MMP2陰性例(39例:92.9%)が多く(図4)、妊娠例(18例:42.9%)も多く認められた(図5)。

### (3) マウス着床前期胚特異的遺伝子 *Hmgpi* の発現・機能解析

(i) *Hmgpi*はhigh mobility group boxドメインを2個持つ転写因子をコードすることが推定され、そのmRNAは2細胞期～胚盤胞、また胚性幹細胞で、タンパク質レベルでは4細胞期～胚盤胞、胚性幹細胞で発現が認められたが、胎生7日齢～成獣ではいかなる臓器においても発現は認められなかった。4細胞期～桑実胚では細胞質のみに発現し、培養液中への分泌も示唆された。一方、胚盤胞および胚性幹細胞では核内にも局在を認めた。

(ii) 受精卵へのsiRNA注入により、*Hmgpi*は着床周辺期に至るまで発現が抑制された。その結果、着床前期胚発生が抑制される胚を認め(桑実胚で発生停止)、胚盤胞に至った胚でも、その後の着床およびout growthが阻害された。

## J. 考察

Inagakiらは、16例の反復着床不全例に対し、子宮内腔洗浄液中のMMPs活性が高いことを報告している(Inagaki N et al, Hum Reprod 2003;18(3):608-615)。今回我々は、子宮内腔洗浄液中のMMP活性が高い症例に対して、抗生剤とプレドニゾロンの内服治療がMMP活性の正常化に著効を示し(94.3%で陰性化)、妊娠率の改善にも有用である可能性を示した(妊娠率:I群, 45.0%;

II群, 54.0%;III群, 33.3%)。興味深いことに、妊娠率あるいは流産率のいずれについても、I群でII群よりも良好な結果が得られている(流産率:I群, 55.2%;II群, 25.9%)。このことから、I群ではMMP以外に反復着床不全の原因が存在すると考えられるものの、II群では、MMP活性の上昇が反復着床不全に寄与していたが、MMPの正常化により反復着床不全が一部あるいは完全に解消できたことを示していると考えられる。

今後は、子宮内腔におけるCD9の液性因子としての役割についてマウスを用いた基礎的検討をさらに進めるとともに、今後はヒト子宮内腔洗浄液中のCD9濃度と妊娠率との相関を症例数を増やして検討する。

一方、着床前期胚特異的遺伝子 *Hmgpi*は正常な初期胚発生に必須であり、そのHMGPIタンパクの培養液中への分泌を観察することが胚の質的診断に有用である可能性が示唆された。

## K. 結論

子宮内腔洗浄液中の液性因子と妊娠予後の相関を検討することにより、着床における新たな臨床的指標を発見できると考えられた。

胚からのパラクライン因子HMGPIが胚の質的診断に有用である可能性が示唆された。

L. 健康危険情報           なし

## M. 研究発表

論文発表

Yamada M, Hamatani T, Akutsu H, Chikazawa N, Kuji N, Yoshimura Y, Umezawa A. Involvement of a novel preimplantation-specific gene encoding the high mobility group box protein *Hmgpi* in early embryonic development. Hum Mol

Genet. 19(3):480-93, 2010.

Toyoda M, Hamatani T, Okada H, Matsumoto K, Saito H, Umezawa A. Defining cell identity by comprehensive gene expression profiling. *Curr Med Chem.* 17(28):3245-52, 2010..

Tarín JJ, Hamatani T, Cano A. Acute stress may induce ovulation in women. *Reprod Biol Endocrinol.* 26;8:53, 2010.

Hamatani T. Spermatozoal RNA profiling towards a clinical evaluation of sperm quality. *Reprod BioMed Online* 22(2): 103-105, 2011

学会発表

持丸佳之, 久慈直昭, 山田満稔, 奥村典子, 高野光子, 浜谷敏生, 阿久津英憲, 浅田弘法, 末岡浩, 青木大輔, 吉村泰典. マウス単一卵子のDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析とその応用. 第62回日本産科婦人科学会学術講演会, 東京, 2010年4月23日

山田満稔, 浜谷敏生, 阿久津英憲, 奥村典子, 持丸佳之, 浅田弘法, 久慈直昭, 青木大輔, 吉村泰典. 着床前期特異的新規遺伝子 Hmgp による着床周辺期発生の制御機構. 第62回日本産科婦人科学会学術講演会, 東京, 2010年4月23日

山田満稔, 浜谷敏生, 阿久津英憲, 小川誠司, 奥村典子, 持丸佳之, 高野光子, 浅田弘法, 久慈直昭, 青木大輔, 梅澤明弘, 吉村泰典. 着床前期胚特異的新規遺伝子 Hmgpi による着床周辺期発生の制御機構. 第51回日本哺乳動物卵子学会, 新潟, 2010年5月30日

Yamada M, Hamatani T, Akutsu H,

Chikazawa N, Kuji N, Yoshimura Y, Umezawa A. Identification of a novel gene encoding a high mobility group box protein and its specific expression and essential role during preimplantation development. The First SKLRB Symposia on Frontiers in Periimplantation Biology, the Beijing Friendship Hotel, Beijing, May 8-12, 2010, 5.

Yamada M, Hamatani T, Akutsu H, Chikazawa N, Kuji N, Yoshimura Y, Umezawa A. Identification of a novel gene encoding a high mobility group box protein and its specific expression and essential role during preimplantation development. The 26th Annual meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology, Rome, Italy, 2010, 6.

近澤奈々, 津村秀樹, 山田満稔, 浜谷敏生, 阿久津英憲, 久慈直昭, 梅澤明弘, 吉村泰典. 着床前期および未分化維持に関わる新規 zinc finger 遺伝子の解析. 第28回受精着床学会・学術講演会, 横浜, 2010年7月28日

福永朝子, 浜谷敏生, 山田満稔, 阿久津英憲, 井上治, 小川誠司, 菅原かな, 奥村典子, 近澤奈々, 浅田弘法, 久慈直昭, 吉村泰典. マウス卵子における排卵後加齢による遺伝子発現変化の解析. 第55回日本生殖医学会・学術講演会, 徳島, 2010年11月11日

近澤奈々, 浜谷敏生, 山田満稔, 阿久津英憲, 奥村典子, 久慈直昭, 吉村泰典. 着床前期胚に特異的な発現が予想された新規 zinc finger 遺伝子の発現・機能解析. 第55回日本生殖医学会・学術講演会, 徳島, 2010年11月11日

山田満穂, 浜谷敏生, 阿久津英憲, 井上治, 福永朝子, 小川誠司, 菅原かな, 奥村典子, 近澤奈々, 浅田弘法, 久慈直昭, 吉村泰典. マウス卵子における加齢によるテロメア長短縮とテロメラーゼ活性の

変化 第55回日本生殖医学会・学術講演会, 徳島, 2010年11月11日

N. 知的財産権の出願・登録状況 なし

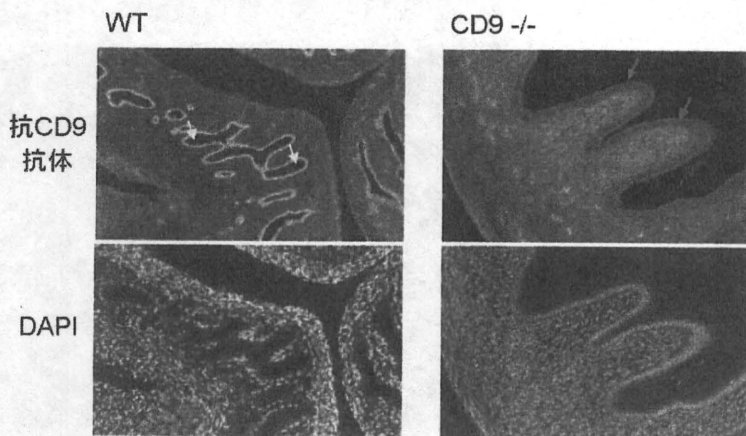


図1 抗CD9抗体、DAPIで染色した子宮断面の蛍光像

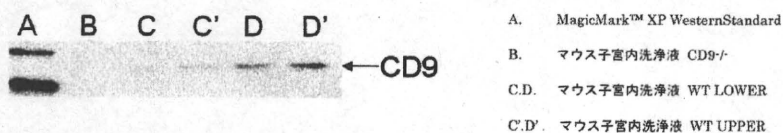


図2 遠心分離した子宮内洗浄液のウェスタンプロット結果

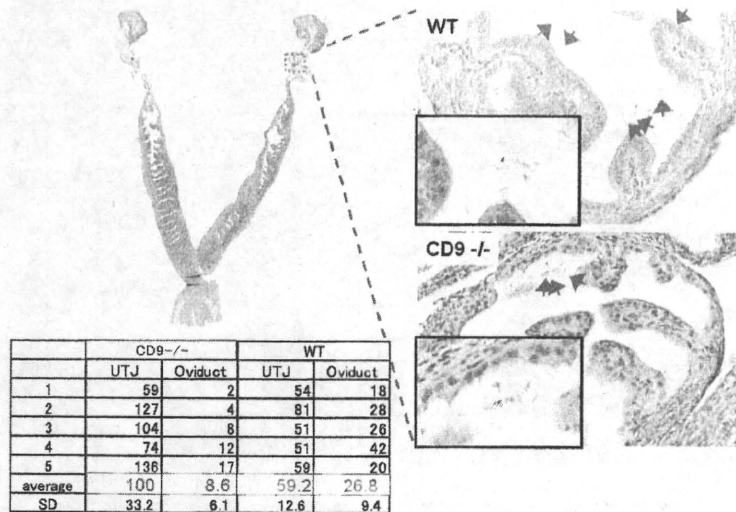


図3 HEにより染色した、交配後120分後の子宮・卵管断面図



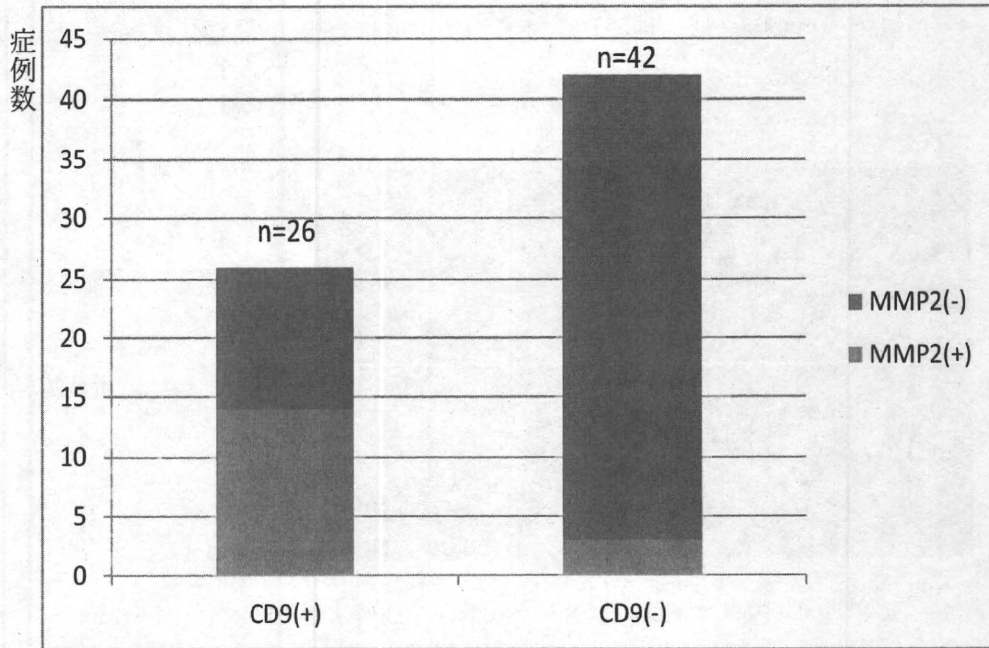


図 4. 子宮腔内洗浄液中の CD9 と MMP の相関

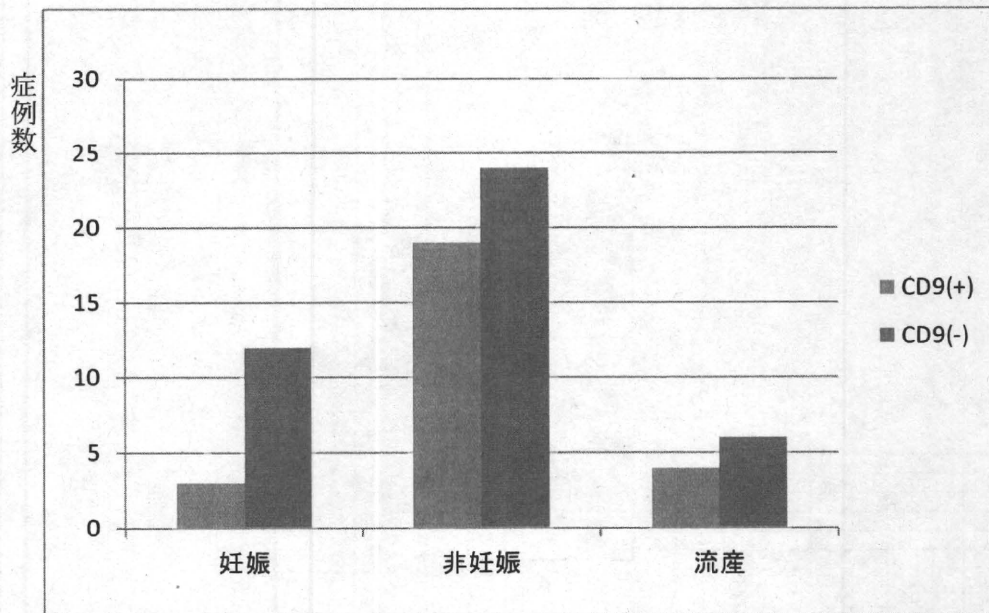


図 5. 子宮腔内洗浄液中の CD9 と妊娠予後

研究分担者 順天堂大学医学部放射線医学教室准教授

堀 正明

A. 研究目的

本研究の目的は、女性生殖器における妊孕能の客観的な評価法の確立であるが、そのうち画像診断に関して、前年度同様かつ前年度からの継続として、特に磁気共鳴画像(以下、MRI)によって得られたデータからの総括および評価法の確立を目的とした。

MRIは本来骨盤部女性生殖器(子宮、卵巣等)の疾患や病態の評価において、良い適応であり、実際の臨床現場でも多数施行されている。その理由としては、MRIにより得られる画像が、他の画像検査(CT、あるいは超音波、X線写真等)に比し、組織間あるいは組織内のコントラストに優れ、かつ遊離X線の被曝は皆無であり、検査を行う術者の力量に影響が少ない、客観的評価可能な結果が得られるということが大きい。従って、本研究の主題に沿った評価方法の確立としては、上記条件を考慮するとMRIによる手法による確立を目指したのは当然である。

したがって妊孕能の客観的な評価法にMRIを用いることに対しては一般的な見地から異論のないものと思われるが、実際の遂行において具体的にどのような方法で撮像を行うかという点では、確立されたものはない。現在本邦のみならず世界的に広く施行されている臨床現場におけるMRI検査は、例えば卵巣を例に挙げると、その目的としては、卵巣腫瘍の大きさ、位置を調べる、他疾患との鑑別

診断を行う、その伸展範囲や浸潤の程度を確認するといったものであり、まず器質的病的背景ありきであり、いわば正常な状態に対して通常では存在しない異常信号あるいは異常構造といったものの、正常と思われる構造との対比あるいはその関係を検査するというのが常である。

しかし、妊孕能というものは、子宮筋腫等の疾患が存在すれば病的状態としての低下という状態の報告は既にあるが、筋腫が存在する場合でも、物理的な妊孕能を阻害する因子以上の意義が考えうる。また、器質的疾患が指摘しえない場合が多数在るとされる。また、むしろ、いわゆる器質的疾患がなく、妊孕能の低下がある場合におけるMRIによる機能的評価の確立、いわば正常である被験者の機能的評価方法を考慮しなければならない。従来の子宮の画像診断における検査手法と、大きく検査概念そのものを再考すべき部分が多数ある。

本研究の開始にあたって、他分野におけるMRI検査が大きく発展している分野、例えばMRIを用いた疾患の評価方法として、視覚的評価ではなく、画像統計解析や、PC上における自動処理、あるいは定量的評価といった手法を考慮した。例示していくと、まず画像統計解析に関しては、いわゆる標準(臓器、例、標準脳)といわれる状態から、信号強度あるいは形態的变化が統計学的にどの程度の偏位があるのかを評価する手法である。具体的に

は、脳神経の分野で特に顕著な発展を認め、アルツハイマー病における早期発見、あるいは高リスク群における統合失調症の発症前評価が可能であるとされている。これら疾患の脳の形態的变化はごく軽微なもので人間の目による視覚的評価では、仮に経時的データが存在しても認識しえない程度のものである。また、PC 上における自動処理としては、特に周期的な運動を行う器官において、視覚的評価以上の情報を同一データより取得することができる。この分野では、特に心拍動時における心筋の奇異運動がそれに相当する。最後に定量的評価としては、従来から MR spectroscopy による成分分析や T2 値の測定といった得られた画像からの徳的部位等における定量的数値による解析手法がある。過去においては、これらの撮像方法は施行に要する時間がかかり長く、研究的側面が強く臨床応用はやや非現実的なものとの認識の強いものが多かったが、近年の MRI 装置の進歩により、かなり短時間での施行が可能となっている。例えば T2 値の測定は関節（膝関節等）において、早期より軟骨の変性を指摘可能であるといった有用性の報告がある。

したがって本分担研究の目的は、上記のような従来とは異なる撮像手法を用いつつ、MRI を使用して女性生殖器における妊孕能の客観的な評価法の確立を目指すことである。

## B. 研究方法

目的の項で示したとおり、本研究では骨盤部撮像の MRI として、臨床で多く用いられている骨盤部撮像法とは異なる撮像を試み、解析を行う

### 1 対象

不妊症を有する女性被験者であれば、特に

撮像における制限はない。

ただし、一般的な MRI 撮像の禁忌がないこと（閉所恐怖症、体内金属等）は事前に確認する必要がある。また、今回の研究では、特に造影剤を使用する予定はないため、本薬剤に対するアレルギーの有無の確認は不要である

### 2 撮像方法

まず、通常の臨床で多く用いられている骨盤部のルーチン撮像、具体的には骨盤部の T2 強調像矢状断、横断像、T1 強調像の横断像にてそれぞれ数イメージ撮像を行い、MRI で指摘可能な器質的疾患の除外を行う。（ただし、子宮筋腫は不妊症と大きく関係していることが既に報告があるので、筋腫があっても対象群からは除外しない）

その後研究の撮像手法として、前年度同様

- ① 子宮全体の三次元ボリューム撮像
- ② 子宮の連続的時間差撮像、いわゆるシネ MRI 撮像
- ③ 子宮内膜の T2 値測定

を昨年に継続して行った。それぞれの撮像手法に関しては、実際の撮像開始前に撮像パラメーターの至適化を行う

### 3 データ解析

上記により得られた画像について、可能であれば画像統計解析を行うが、そもそもその解析手法そのものが確立されたものはなく、そこから検討を行う必要がある。

また、シネ MRI に関しても、子宮にての定量的解析手法は現時点ではなく、その検討も必要であり。T2 値測定も正常子宮内膜の正常値というものは存在せず、撮像手法の妥当性（正しく T2 値が測定されているか、被験者

周囲に生理食塩水等の対照物を置く)のみが確認可能であり、その結果の解釈は他の要素との比較検討を行う。また、本年度は研究開始より3年目にあたり、2回めの検査施行症例群に関しては、経時的変化の対比を行う。

#### (倫理面への配慮)

被験者より得られたデータは全て匿名化し、いわゆるインターネットと接続のない専用のPC内に保存してあり、解析を行っている。すなわち、将来的には、本研究の結果は個々の事例において益するべき必要性があるが、現時点、すなわち検査方法の確立段階においては、個々の差異よりは共通すべき点を抽出し、かつ統計学的な普遍的なベースラインとしての性格をより有していると思われ、それ以上の意味を持たないため匿名化されたデータで研究遂行上、実際的な支障は来たさないものと確信できる。

### C. 研究結果

1 撮像を考慮された対象群は95人であったが、実際に器質的疾患がなく、研究対象の検討可能な被験者は、昨年度分とあわせ51人であった。子宮の蠕動運動とその後の妊孕能に関しては、ある程度の相関が見られた。T2値は、筋腫のある症例に関して、筋腫の切除後には内膜のT2値の低下が見られた。(詳細は添付論文を参照のこと)。

#### 2 研究的撮像手法の各々について

##### ① 子宮全体の三次元ボリューム撮像

子宮内膜、筋層、筋腫(もしあれば)が比較的明瞭に区別できる三次元T2強調像の撮像が可能であった。ただし個人差(年齢差も含む)は大きく、このデータから各部分を抽出し、その容積を統計学

的に処理するような手法の開発までには至らなかった。



約  $1.3 \times 1.3 \times 1.3$  mm のボクセルサイズで撮像した三次元ボリューム撮像の1断面例

##### ② 子宮の連続的時間差撮像、いわゆるシネMRI撮像

子宮の矢状断面像のシネMRIの撮像は可能であり、データの収集は行うことができた。しかしながら、現段階では解析手法の確立にはいたらず、データの評価としては、子宮の蠕動運動を視覚的に評価するのみである。

##### ③ 子宮内膜のT2値測定

筋腫が直接接していない部位においても、その関連性が見られた。今後、妊孕能のバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。



#### D. 考察

本年度は昨年度に継続して解析対象となりうる症例およびデータの収集が可能であった。しかしながら、研究遂行の上での施設間の諸事情（例：統一されていない撮像方法等）によるデータの不均一さは第一の反省点であると考えられる。しかしながら、この点に関しては画像研究がかなり進んでいる分野、例えば脳研究においても解決困難であるとの指摘がある。実際アルツハイマー病の大規模な縦断、横断研究でも、MRI 装置の製造メーカー毎での撮像標準化の方向に動きつつある。

さて、個々の撮像方法についてのデータについて考察する。まず子宮全体の三次元ボリューム撮像であるが、約  $1.3 \times 1.3 \times 1.3 \text{mm}$  のボクセルサイズで撮像可能であり、画質も良好であったが、臨床用の MRI 装置を使用している都合上、すべての施設で撮像が可能であるという訳ではない。現在、画像統計解析を目的とした脳の volumetric scan が約  $1 \times 1 \times 1 \text{mm}$  の T1 強調像で撮像されていることを考えると今回の撮像で得られたものも十分高空間分解能といえるが、本年度は、以前にも指摘した正常像の確立の問題の解説に至らず、よってこのデータから何らかの結果を得ることは不可能であった。今後の方針としては、同一被験者を複数回撮像し、その差分上の変化を解析する、あるいは筋腫がある場合に筋腫の子宮全体に対する容積等による検討であれば十分可能であるし、そこから何らかの定量的評価可能な基準が見出せると確信している。ただ、子宮は年齢とともに委縮するという現実を考慮すると、いわゆる標準子宮画像を作成するためには、相当数（おそらく 1000 を超える）の正常子宮データが必要になると予想される。

また、いわゆるシネ MRI 撮像に関しては、

既報がいくつか存在するが単発的であり、今回のわれわれの検討でも蠕動運動の頻度あるいは異常運動（全体的、部分的）なものが妊孕能に関連しているのという結論が限られたデータの範囲でも示されたことは、エビデンスを基とする医療を遂行する上で本領域における大きな進歩であり今後は解析手法の確立をさらに迅速に行うのを目標とすべきである。

子宮内膜の T2 値測定に関しては、やはり個人差が大きいという指摘があるが、個人内における経時的変化を考慮した場合、その値はバイオマーカーとなりうることを示された。今後は他の定量的な MRI 撮像（例：拡散強調画像や MR スペクトロスコピー）による試みも、従来の形態的 MRI 撮像と異なる情報が得られ、期待できるものと思われる。

総括として、MRI の新たな撮像手法とその画像の妥当性に関しては、現時点で問題なく、かつ将来的に期待できるものである。特にシネ MRI および内膜の T2 値測定はその有用性を示すことが可能であったので、この手法の傾向を内包したさらなる画像研究の発展が望まれる。

## E. 結論

本年度においても、データ収集方法としてのMRIの撮像方法に確立はほぼなしかと考える。得られたデータからの有用性は限られた範囲とは言え示されたものと思われ、今後も同種の機能的、定量的画像検査手法による妊孕能の評価研究の発展が望まれる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Yoshino O, et al: Decreased pregnancy rate is linked to abnormal uterine peristalsis caused by intramural fibroids Human reproduction. 2010.

Yoshino O, et al: Myomectomy reduces endometrial T2 relaxation times.

Fertility and sterility 2011

### 2. 学会発表

特になし

本年度においては、ある程度の症例を収集し、その結果を査読あり英文誌に限られた範囲とは言え、発表することが可能であった。

課題番号: H20-子ども-若手-011

課題名: 成育疾患克服等次世代基盤研究事業「女性生殖器における妊孕能の客観的な評価法の確立」

主任研究者: 吉野 修 (東京大学 産婦人科)

分担課題: CINE MRI による骨盤内臓器癒着の評価

分担研究者: 慶應義塾大学医学部産婦人科 浅田 弘法

## 研究要旨

骨盤内癒着の存在は不妊の原因となりうる。また腹腔鏡手術を行う際にも手術操作を困難にする要因となる。したがって非侵襲的な骨盤内癒着の評価は不妊原因の診断および手術計画の面で有意義である。我々はCINE MRIによる骨盤内癒着の評価について検討を行った。FIESTA法によるCINE MRI撮影を行い、卵巣周囲およびダグラス窩周囲の癒着の評価を行った。卵巣周囲癒着に関しては感度80%、特異度85%で癒着の有無を評価することが可能であった。一方、ダグラス窩周囲癒着に関しては感度80%、特異度93%で癒着の有無を診断することができた。CINE MRIは非侵襲的で撮影時間の延長があるものの患者に与える負担は軽微であり、骨盤内癒着を客観的に評価できる有用な検査であることがわかった。

### A. 研究目的

骨盤内癒着は不妊、腹痛など病的問題を引き起こす要因となりうる。また、手術、特に腹腔鏡手術を行う際には手術手技を困難にし、手術時間の延長や合併症発生の危険を増加させる。したがって非侵襲的に骨盤内の癒着を評価できれば術前の診断、術前準備および手術リスクに関する患者へのインフォームドコンセントなどの点で有用である。これまで骨盤内の癒着の評価は内診による子宮および付属器の可動性の確認や超音波断層検査による検査プローブの圧迫による骨盤内臓器の可動性の確認などにより行われてきた。前者は簡便かつ迅速に行える利点がある一方、診察医の主観によるところが大きいという欠点がある。後者は比較的客観性に優れ、かつ迅速、簡便に行える利点があるものの、肥

満、子宮腫大などの要因によって診断が困難となることも少なくないという欠点がある。

近年、MRI検査機器の進歩により画像解像度が向上し、撮影時間も短縮された。これによりCINE MRIという新たな検査手法が臨床応用されている。我々はFIESTA法によるCINE MRIで骨盤内癒着がどの程度診断できるかを検討した。また、骨盤内を占拠する病巣が存在した場合に癒着診断に与える影響についても検討を行うこととした。

### B. 研究方法

対象は当院にて腹腔鏡手術が予定され、術前にMRI検査を必要とした患者62名である。疾患は子宮筋腫、子宮内膜症、卵巣嚢腫、卵管留水症、卵管閉塞である。MRI検査に先立ちCINE MRI施



行についての説明を行い、同意を得た。

通常のルチーン撮像 (T2 強調水平断像、矢状断像、T1 協調水平断像) 終了後に FIESTA 法で矢状断像および冠状断像の撮影を行った。1 秒に 1 枚の速度で経時的な撮像を行い、CINE 像を作成した。” 深吸气-呼気-深吸气-呼気での息止め” を繰り返す間に、1 断面につき合計 12 枚の画像を取り込んだ。これを卵巣および子宮を含む範囲で撮影した。

撮影画像を 1 名の放射線診断医が読影し、左右卵巣周囲およびダグラス窩周囲の癒着の有無について以下の 5 段階に評価した。1 癒着なし、2 癒着の可能性が低い、3 癒着の可能性が高い、4 癒着あり、5 不明と分類し、1, 2 を癒着なし群、3, 4 を癒着あり群とした。卵巣周囲癒着は左右それぞれの卵巣と周囲の臓器、もしくは骨盤壁とのずれの有無により評価した。ダグラス窩周囲癒着の評価は子宮後面とそれに接する腸管、直腸もしくは小腸とのずれの有無を評価した。これらの読影結果と実際の手術時の腹腔内所見との整合性を検討した。

### C. 研究結果

左右卵巣を区別し、卵巣周囲癒着を評価したところ、126 卵巣において CINE MRI にて癒着ありと診断されたものは 64 卵巣、癒着なしと診断されたものは 55 卵巣であった。評価できなかったものは 7 卵巣であった。手術中に癒着を認めたものは 74 卵巣で、そのうち MRI でも癒着を診断できたものは 57 卵巣であり、不明例を除外し感度は 80% (57/71) であった。手術にて癒着を認めなかったものは 52 卵巣で、そのうち MRI でも癒着なしと診断したものは 41 卵巣であり、不明例を除外し特異度は 85% (41/48) であった。

ダグラス窩周囲癒着の評価では 62 症例において癒着ありと診断されたものは 15 例、癒着なしと診断されたものは 44 例、評価できなかったものは 3 例であった。手術中に癒着を認めた症例は

16 例で、そのうち MRI でも癒着を診断できたものは 12 例であった。不明例を除外し、感度は 80% (12/15) であった。一方手術で癒着を認めなかった症例は 46 例で、そのうち MRI で癒着なしと診断されたものは 41 例であった。不明例を除外し、特異度は 93% (41/44) であった。

#### <卵巣周囲癒着・卵巣左右別>

		手術所見	
		なし	あり
MRI読影	なし	41	14
	あり	7	57
	不明	4	3

sensitivity : 80% (57/71)  
specificity : 85% (41/48)

#### <ダグラス窩癒着>

		手術所見	
		なし	あり
MRI読影	なし	41	3
	あり	3	12
	不明	2	1

sensitivity : 80% (12/15)  
specificity : 93% (41/44)

表 1 癒着評価 (全症例)

### 卵巣

周囲癒着に関しては、子宮内膜症に用いられる rASRM スコアの中の付属器癒着の項目に準じて点数をつけ、付属器癒着スコアと MRI 診断の整合性についても検討した。図のスポットの直径は症例数を表している。この図より rASRM 癒着スコアが 10 点以上あれば 100% の症例で癒着を診断できた。しかし、癒着スコアが 10 点未満の低い症例においては MRI で診断できた症例も多くあるものの、MRI で癒着を診断することができなかった症例も数例存在した。

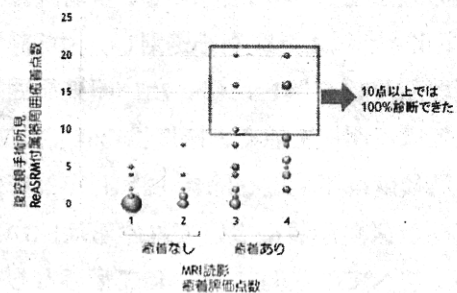


図 1 卵巣周囲癒着 ASRM スコアとの関係

### 癒着

を評価する際に骨盤内を占拠するような病変があれば癒着の評価を困難にすることが考えられるため、骨盤内に占拠性病変を有する症例において CINE MRI の診断精度の評価を行った。

まず直径5 cm以上の卵巣嚢腫がある場合をみると、卵巣周囲癒着は25卵巣においてMRIにて癒着ありと診断されたものは16例で、癒着なしと診断したものは7例、評価できなかったものは2例であった。手術中に癒着を確認したものは18例で、そのうちMRIでも癒着を診断できたものは16例で、感度は89%であった。一方手術で癒着を認めなかったものは7例で、不明例を除外し、特異度は100%(5/5)であった。ダグラス窩癒着に関しては手術で癒着が確認されたものは11例で、そのうちMRIで診断ができたものは7例、不明例を除き感度は70%(7/10)であった。また手術で癒着がなかった症例は17例で、そのうちMRIで診断ができたものは15例、不明例を除き特異度は100%(15/15)であった。

<卵巣周囲癒着>

		手術所見	
		なし	あり
MRI読影	なし	5	2
	あり	0	16
	不明	2	0

Sensitivity 89%(16/18)  
specificity 100%(5/5)

<ダグラス窩癒着>

		手術所見	
		なし	あり
MRI読影	なし	15	3
	あり	0	7
	不明	2	1

Sensitivity 70%(7/10)  
specificity 100%(15/15)

表2 占拠性病変がある場合の癒着評価；卵巣腫大ありの場合（卵巣嚢腫 5 cm以上）

さらに子宮腫大があった症例においてCINE MRIの癒着診断の精度を検討した。摘出子宮筋腫重量が合計で100gを超えた症例を選別し、術前診断と術中癒着所見の有無を比較した。卵巣周囲癒着については不明例を除くと感度は66%(2/3)であった。特異度は不明例を除き92%(11/12)であった。ダグラス窩癒着については癒着症例がなかったが、すべての症例でMRIにて癒着なしと診断できた。すなわち特異度は100%(9/9)であった。

<卵巣周囲癒着>

		手術所見	
		なし	あり
MRI読影	なし	11	1
	あり	1	2
	不明	3	1

sensitivity : 66% (2/3)  
specificity : 92% (11/12)

<ダグラス窩癒着>

		手術所見	
		なし	あり
MRI読影	なし	9	0
	あり	0	0
	不明	0	0

specificity : 100% (9/9)

表3 占拠性病変がある場合の癒着評価；子宮腫大ありの場合（子宮筋腫重量100g以上）

D. 考察

今回の我々の検討により卵巣周囲およびダグラス窩の癒着評価にCINE MRIが有用であることが示された。また、卵巣嚢腫や子宮筋腫といった骨盤内を占拠するような病巣が存在している場合にもCINE MRIによる癒着の評価が可能であることも示された。

産婦人科領域では日常的に内診による触角に頼った骨盤内癒着の評価が行われているが、診察所見については客観性に乏しいという欠点があった。また、肥満や内診時に患者が過度に緊張することなどが要因となって診断に苦慮することも少なくない。産婦人科診療では経膈超音波検査は広く普及しており、これを用いた癒着の評価についても報告されている。経膈超音波検査は検査時の苦痛も少なく、迅速かつ簡便に行えるという利点があるが、骨盤内に占拠する病巣がある場合は評価が難しくなる。すなわち評価すべき部位がプローベの位置から遠く存在する場合はプローベの圧迫を行っても対象物の可動性を評価することが難しい。

近年MRI検査機器の性能向上により、画像を短時間に取得することが可能となった。これにより経時的に撮影した画像から動画を作成し、対象物の動きを評価するCINE MRIという手法が各分野で応用されている。CINE MRIは通常のMRI検査に追加して、非侵襲的に行える手法であり、骨場内臓器を広く評価でき、肥満や患者の状態などに影響を受けにくいという利点があり、結



果の解析の客観性に優れている。これまでに報告された CINE MRI による付属器周囲癒着、腸管癒着に関する検討では感度 72.5%、特異度 87.4%であった (Katayama ら、2001 年)。また腹腔内全体の腸管癒着を検討した報告では感度 31~75%、特異度 65~92% (Sonja ら、2008 年)であった。今回の我々の検討においても卵巣周囲癒着に関しては感度 80%、特異度 85%、ダグラス窩癒着に関しては感度 80%、特異度 93%であり、これまでの報告同様に CINE MRI による卵巣周囲癒着およびダグラス窩癒着の術前評価が可能であった。

先に述べたとおり、骨盤内に占拠性病変がある場合には内診所見や経膈超音波検査での癒着評価が困難となることがあるが、今回の検討では CINE MRI により癒着評価が可能であった。ただし、卵巣腫大がある場合はダグラス窩癒着の検出が難しくなる傾向が認められた。また、症例数が少ないものの子宮腫大がある場合は卵巣周囲癒着の検出が難しくなる可能性が示唆された。MRI 検査は一般に非侵襲的で患者に与える苦痛もほとんどない。CINE MRI を行う際に通常の MRI と異なる点は検査時間が延長することである。今回の検討では全症例において 10 分以内の検査時間の延長で試行可能であったが、まれに閉所恐怖症など検査時間の延長が問題となる症例も否定はできないことや検査症例数の制限などの短所もあり、今後検討しなければいけない課題である。

#### E. 結論

骨盤内臓器の癒着評価において、骨盤内占拠性病変がある場合にも CINE MRI は癒着を客観的に捉えられる有用な検査であることが示された。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Okuda S, Oshio K, Shinmoto H, Tanimoto A, Asada H, Fujii T, Yoshimura Y, Kuribayashi S. Semiquantitative assessment of MR imaging in prediction of efficacy of gonadotropin-releasing hormone agonist for volume reduction of uterine leiomyoma: initial experience. *Radiology*. 2008;248 (3) :917-924.

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

Arase T, Uchida H, Kajitani T, Ono M, Tamaki K, Oda H, Nishikawa S, Kagami M, Nagashima T, Masuda H, Asada H, Yoshimura Y, Maruyama T. The UDP-glucose receptor P2RY14 triggers innate mucosal immunity in the female reproductive tract by inducing IL-8. *J Immunol*. 2009 Jun 1;182 (11) :7074-7084.

Asada H, Yagihashi T, Furuya M, Kosaki K, Takahashi T, Yoshimura Y. Association between patient age at the time of surgical treatment for endometriosis and aryl hydrocarbon receptor repressor polymorphism. *Fertil Steril*. 2009;92 (4) :1240-1242.

辻 紘子, 浅田弘法, 浅井 哲, 古谷正敬, 内田 浩, 浜谷敏生, 丸山哲夫, 小崎健次郎, 柳橋達彦, 羽田智則, 安藤正明, 田島敏秀, 木挽貢慈, 吉村泰典. 子宮内膜症の発症に対して、EP300 遺伝子多型が及ぼす影響. *日本エンドメトリオーシス学会会誌* 2009 ; 30 : 110-111

Tsuji H, Miyoshi S, Ikegami Y, Hida N, Asada H, Togashi I, Suzuki J, Satake M, Nakamizo H, Tanaka M, Mori T, Segawa K, Nishiyama N, Inoue J, Makino H, Miyado K, Ogawa S, Yoshimura Y, Umezawa A. Xenografted human amniotic

membrane-derived mesenchymal stem cells are immunologically tolerated and transdifferentiated into cardiomyocytes. *Circ Res.* 2010 May 28;106(10):1613-23.

Yoshino O, Hayashi T, Osuga Y, Orisaka M, Asada H, Okuda S, Hori M, Furuya M, Onuki H, Sadoshima Y, Hiroi H, Fujiwara T, Kotsuji F, Yoshimura Y, Nishii O, Taketani Y. Decreased pregnancy rate is linked to abnormal uterine peristalsis caused by intramural fibroids. *Hum Reprod.* 2010;25(10):2475-2479

Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, Arase T, Oda H, Uchida H, Asada H, Ito M, Yoshimura Y, Maruyama T, Okano H. Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PLoS One.* 2010 Apr 28;5(4):

浅田弘法、古谷正敬、梶谷宇、内田浩、丸山哲夫、吉村泰典、升田博隆、岸郁子、田島敏秀、寺西貴英、木挽貢慈。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。日本エンドメトリオーシス会誌 2010; 31 : 39-43

岸郁子、浅田弘法、田島敏秀、木挽貢慈、河西朋代、小野寺成実、亀井清。左水腎症にて判明した尿管子宮内膜症の1例。日本エンドメトリオーシス会誌 2010; 31 :146-150

川田陽子、島田友恵、浅田弘法、杉本昌弘、平山明由、阿部しのぶ、古谷正敬、内田浩、浜谷敏生、梶谷宇、丸山哲夫、久慈直昭、吉村泰典、曾我朋義、富田勝。腹水と血清中における代謝物質の網羅的分析による子宮内膜症特異的な代謝物質の探索。日本エンドメトリオーシス会誌 2010; 31 : 210-212

有馬宏和、杉山重里、高野光子、古谷正敬、浅田弘法、青木大輔、吉村泰典、森昌玄、星野健。

cineMRI、経腹超音波による術前腸管癒着評価が役立った肝移植後の子宮内膜症性嚢胞の一例。日本産科婦人科内視鏡学会雑誌 2010; 26(2) : 401-404

飯沼繭、橋本志歩、植木有紗、持丸佳之、古谷正敬、浅田弘法、青木大輔、吉村泰典、安藤正明。子宮頸部筋腫に対して腹腔鏡下手術を施行した2例。日産婦東京会誌 2010; 59(3) : 428-432.

Asai S, Ishimoto H, Yabuno A, Asada H, Seki M, Iwata S. Laparoscopic cystectomy of ovarian teratoma in anti-NMDAR encephalitis: 2 case reports. *J Minim Invasive Gynecol.* 2011;18(1):135-137.

## 2. 学会発表

Hiroko Tsuji, Yukinori Ikegami, Shunichiro Miyoshi, Naoko Hida, Nobuhiro Nishiyama, Ikuko Togashi, Hikaru Nakamizo, Hironori Asada, Taro Uyama, Mamoru Tanaka, Kaoru Segawa, Junko Inoue, Satoshi Ogawa, Yasunori Yoshimura, Akihiro Umezawa. Xenografted human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cells acquired immunologic tolerance and transdifferentiated into cardiomyocytes in vivo. *European Society for Human Reproduction and Embryology*, 2008, July, Barcelona

浅田弘法、古谷正敬、梶谷宇、内田浩、丸山哲夫、吉村泰典、升田博隆、岸郁子、田島敏秀、寺西貴英、木挽貢慈。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(仙台), 2009年1月。

梶谷宇、丸山哲夫、浅田弘法、内田浩、各務真紀、小田英之、西川明花、山崎彰子、吉村泰典。子宮内膜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.

川田陽子、浅田弘法、杉本昌弘、平山明由、阿部しのぶ、古谷正敬、内田浩、浜谷敏生、梶谷宇、丸山哲夫、吉村泰典、曾我朋義、冨田勝. 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.

辻 紘子、浅田弘法、浅井 哲、古谷正敬、内田浩、浜谷敏生、丸山哲夫、小崎健次郎、柳橋達彦、羽田智則、安藤正明、木挽貢慈、吉村泰典. 子宮内膜症の発症に対して、EP300およびAHRH 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.

古谷正敬、浅井哲、芥川英之、辻紘子、浅田弘法、篠田昌宏、長谷川博俊、吉村泰典. 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. 有馬宏和、杉山重里、高野光子、古谷正敬、浅田弘法、青木大輔、吉村泰典、森昌玄、星野健. cineMRI、経腹超音波による術前腸管癒着評価が役立った肝移植後の子宮内膜症性嚢胞の一例. 第49回日本産科婦人科内視鏡学会(高知)2009年9月

Hiroko Tsuji, Yukinori Ikegami, Shunichiro Miyoshi, Naoko Hida, Nobuhiro Nishiyama, Ikuko Togashi, Hikaru Nakamizo, Hironori Asada, Taro Uyama, Mamoru Tanaka, Kaoru Segawa, Junko Inoue, Kazuhiro Minegishi, Hitoshi Ishimoto, Satoshi Ogawa, Yasunori Yoshimura, Akihiro Umezawa. Xenografted human amniotic membrane-derived mesenchymal stem cell acquired immunological tolerance and transdifferentiated to cardiomyocyte in vivo. American Heart Association, 2009, November, Neworleans.

浅田弘法、古谷正敬、升田博隆、鎌田可奈子、有馬好美、後藤孝明、今井樹、丹羽眞一郎、本田律生、片淵秀隆、吉村泰典、佐谷秀行. 子宮内膜腺上皮細胞における EMT 関連マーカーの免疫組織化学的検討. 第54回日本生殖医学会(金沢)2009年11月

古谷正敬、浅田弘法、升田博隆、鎌田可奈子、有馬好美、後藤孝明、今井樹、丹羽眞一郎、本田律生、片淵秀隆、吉村泰典、佐谷秀行. 子宮内膜症病巣腺上皮細胞における EMT 関連マーカーの免疫組織化学的検討. 第54回日本生殖医学会(金沢)2009年11月

持丸佳之、浅田弘法、古谷正敬、有馬宏和、青木大輔、吉村泰典、浅井哲. 巨大子宮筋腫症例に対する腹腔鏡下子宮全摘術の適応に関する考察. 第352回日本産科婦人科学会東京地方部会例会(東京)2009年12月.

浅田弘法、古谷正敬、有馬宏和、内田浩、浜谷敏生、久慈直直昭、吉村泰典、岸郁子、田島敏秀、寺西貴英、木挽貢慈、安藤正明. 子宮内膜症病巣切除術の術式別合併症とその対策に関する検討. 第31回日本エンドメトリオーシス学会(京都)2010年1月

古谷正敬、浅田弘法、升田博隆、内田浩、鎌田可奈子、有馬好美、後藤孝明、今井樹、丹羽眞一郎、本田律生、片淵秀隆、吉村泰典、佐谷秀行. 子宮内膜症病巣腺上皮における EMT 関連物質の免疫組織学的解析. 第31回日本エンドメトリオーシス学会(京都)2010年1月

飯沼蘭、橋本志歩、植木有紗、持丸佳之、古谷正敬、浅田弘法、青木大輔、吉村泰典、安藤正明. 子宮頸部筋腫に対して腹腔鏡下手術を施行した2例. 第354回日本産科婦人科学会東京地方部会例会(東京)2010年5月.

古谷正敬、伊藤嘉佑子、辻紘子、奥田茂男、浅田弘法、内田浩、浜谷敏生、橋場剛士、丸山哲夫、久慈直昭、末岡浩、吉村泰典. 術前癒着評価に対する CINE MRI の有用性の検討. 第50

回日本産科婦人科内視鏡学会（東京）2010年7月

辻紘子、伊藤嘉佑子、古谷正敬、内田浩、浜谷敏生、浅田弘法、丸山哲夫、久慈直昭、末岡浩、吉村泰典。腹腔鏡下にて治療可能であった卵

第50回日本産科婦人科内視鏡学会（東京）2010年7月

Kayuko Ito, Hironori Asada, Hiroko Tsuji, Masataka Furuya, Ikuko Kishi, Koji Kobiki, Yasunori Yoshimura. Comparison of effect and pain relief between intravenous fentanyl citrate and interval analgesia after laparoscopic myomectomy. 19<sup>th</sup> Annual congress ESGE, 2010, September, Barcelona.

辻紘子、伊藤嘉佑子、古谷正敬、浅田弘法、吉村泰典、木挽貢慈。女性医師にとっての腹腔鏡下手術の問題点。第23回内視鏡外科学会総会（横浜）。2010年10月

泌尿器科医との連携により対応した膀胱子宮内膜症の一例。第120回日本産科婦人科学会関東連合地方部会（筑波）。2010年11月

伊藤嘉佑子、辻紘子、古谷正敬、内田浩、浅田弘法、吉村泰典。子宮内膜症性嚢胞の発現遺伝子に対するジェノゲスト投与の影響。第32回日本エンドメトリオーシス学会（東京）。2011年1月

管間質部妊娠の3例。第50回日本産科婦人科内視鏡学会（東京）2010年7月

伊藤嘉佑子、辻紘子、古谷正敬、内田浩、浜谷敏生、浅田弘法、丸山哲夫、久慈直昭、末岡浩、吉村泰典。腹腔鏡下筋腫核出術後のフェンタニル持続静注による疼痛管理についての検討。

伊藤嘉佑子、辻紘子、古谷正敬、浅田弘法、末岡浩、吉村泰典、木挽貢慈。腸管子宮内膜症への外科的アプローチの検討。第23回内視鏡外科学会総会（横浜）。2010年10月

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

該当事項なし。

2. 実用新案登録

該当事項なし。

3. その他

該当事項なし。

分担課題:

分担研究者: 大須賀 穰 (東京大学 産科婦人科)

(要約) 妊娠初期における低酸素状態は絨毛膜細胞より分泌するサイトカインを調節する。

妊娠初期絨毛膜細胞における低酸素状態において上昇するサイトカイン、ケモカインについて検討を行った。

C. 研究目的

ヒトの発生において胚の着床・子宮内膜への浸潤が成立し機能的胎盤形成が成功すると、妊娠の成立・健常児を得る事が出来る。これらに失敗すると不妊症・流産・胎児発育不全 (IUGR) や子癩前症を起こす事となり得る。また、成人病胎児期発症説でも知られている様に、胎内環境の悪化によって、児の心疾患・糖尿病・高血圧症などといった生活習慣病発症への関与が示唆されている。現在、夫婦の 1/10 に不妊症があると言われ、その内 25% が原因不明不妊とされている。また、妊娠が成立した内の 30% が初期流産し、また 3-5% が子癩前症・IUGR、早産、さらには母体死亡となる事がある。これらの事を踏まえ、どの分子経路が着床を制御しているかを発見することが重要であると考えられる。

正常妊娠成立過程において排卵後にはプロゲステロン値の上昇によって、様々な細胞の分化が引き起こされ、子宮内膜上皮はラセン動脈の発達を特徴とする分泌腺となり、内膜間質細胞は脱落膜化を起こす。一方受精卵では分裂が進んで桑実胚となり、受精から 5 日後子宮へと到着し、胚盤胞へと変化する。受精から 6-7 日後、胚盤胞はハッチングの後、対位・接着・浸潤し着床する。

正常妊娠成立過程において絨毛細胞の増殖・分化・浸潤 (胎盤形成) に関与している調節因子の一つとして、着床後 syncytiotrophoblast から分泌される hCG と言ったホルモン因子、その下流の growth factors や cytokine と言ったものの他、浸潤する cytotrophoblast より産生される MMP9 と言ったプロテアーゼ、それと同時に脱落膜で産生される活性型インヒビターや TGF- $\beta$  などがある。これらによって、浸潤部位を調節されている。また、内膜間質部細胞のプロスタグランジン合成酵素 COX-2 の発現により子宮内膜の血管透過性を亢進するためのプロスタグランジン産生が調整されている。その他の調節因子として、局所の酸素濃度 (oxygen tension) が言われている。これはトロホプラストの浸潤によってラセン動脈の構造変化が生じ、それら周囲の酸素濃度が変化する (絨毛膜内腔を O<sub>2</sub> 濃度 3-5% にする) ことにより生ずる。妊娠の成立には、母児間の免疫応答異常・遺伝的な背景・環境因子が複合的に関与しているが、免疫担当細胞を局所に誘導するためには、サイトカイン、ケモカインの発現が重要である。また、絨毛細胞自らがケモカイン受容体を持つことで、絨毛細胞が子宮内膜上皮側から深部側への遊走能獲得が可能となる。さて、胚は着床過程において、一時的に慢性的低酸素環境に曝されると考えられる。今回、低酸素状態で刺激を受けた



絨毛細胞の各種 cytokine および受容体発現に関して検討を行った。

#### D. 研究方法

human first trimester trophoblast cell linesとしてHTR8 cells (H8)を使用し低酸素状態(酸素濃度1%)における各種サイトカインとそのレセプターの移行を検討した。

#### 実験) CXCL12/CXCR4・CXCR3・MIF のヒト絨毛膜細胞における発現の変化 (in vitro)

不死化したヒト初期絨毛膜細胞 (H8) を用い、CXCL12/CXCR4・CXCR3・MIF mRNA の低酸素状態下での発現を real time PCR を用いて検討した。

#### C. 結果

#### 実験) CXCL12/CXCR4・CXCR3・MIF のヒト絨毛膜細胞における発現の変化 (in vitro)

図1にH8と絨毛細胞の低酸素状態におけるにおけるCXCL12/CXCR4・CXCR3・MIF発現の変化を示す。CXCR4・CXCR3の発現量は低酸素下で多く、CXCL12では平常酸素濃度(20%O<sub>2</sub>)と比較し発現の変化を有意に認めなかった。また、MIF mRNAの発現は低酸素刺激で軽度上昇した。

#### H. 考察

正常妊娠成立過程において絨毛細胞の増殖・分化・浸潤(胎盤形成)に関与している調節因子の一つとして、oxygen tensionがあるが、今回の実験によりCXCR4・CXCR3の発現量は低酸素下で多く、CXCL12およびMIFでは平常酸素濃度(20%O<sub>2</sub>)と比較し発現の変化を有意に認めなかった。サイトカインの発現量は変化しないものの、各種サイトカインレセプターが低酸素状態で発現が増加する事は、絨毛細胞の走化性に作用する事が考えられる。

#### E. 結論

着床時～妊娠初期における絨毛細胞は低酸素下でCXCR4やCXCR3といったサイトカインレセプター発現を上昇させ、それらが妊娠の成立の作用機序に関与している可能性を見出した。

#### F.健康危険情報 なし

#### G.研究発表

<論文発表>

1: Kodama A, Yoshino O, Osuga Y, Harada M, Hasegawa A, Hamasaki K, Takamura M, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Takemura Y, Yano T, Taketani Y. Progesterone decreases bone morphogenetic protein (BMP) 7 expression and BMP7 inhibits decidualization and proliferation in endometrial stromal cells.

Hum Reprod. 2010 Mar;25(3):751-6.

2: Wada-Hiraike O, Yamamoto N, Osuga Y, Yano T, Kozuma S, Taketani Y.

Aberrant implantation and growth of uterine leiomyoma in the abdominal wall after laparoscopically assisted myomectomy.

Fertil Steril. 2009 Nov;92(5):1747.e13-5.

3: Shi J, Yoshino O, Osuga Y, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Yano T, Nishii O, Taketani Y.

Bone morphogenetic protein-6 stimulates gene expression of follicle-stimulating hormone receptor, inhibin/activin beta subunits, and anti-Müllerian hormone in human granulosa cells. Fertil Steril. 2009 Nov;92(5):1794-8.

4: Koga K, Hiroi H, Osuga Y, Nagai M, Yano T, Taketani Y. Autoamputated adnexa presents as a peritoneal loose body.

Fertil Steril. 2010 Feb;93(3):967-8.

5: Shi J, Yoshino O, Osuga Y, Nishii O, Yano T, Taketani Y. Bone morphogenetic protein 7 (BMP-7) increases the expression of follicle-stimulating hormone (FSH) receptor in human granulosa cells. Fertil Steril. 2010 Mar 1;93(4):1273-9.

6: Koizumi M, Momoeda M, Hiroi H, Hosokawa Y, Tsutsumi R, Osuga Y, Yano T, Taketani Y. Expression and regulation of cholesterol sulfotransferase (SULT2B1b) in human endometrium. Fertil Steril. 2010 Mar 15;93(5):1538-44.

7: Hasegawa A, Yoshino O, Osuga Y, Kodama A, Takamura M, Nishii O, Taketani Y. Hyaluronic acid reagent suppressed endometriotic lesion formation in a mouse model. Fertil Steril. 2010 Mar 30.

8: Hirota Y, Acar N, Tranguch S, Burnum KE, Xie H, Kodama A, Osuga Y, Ustunel I, Friedman DB, Caprioli RM, Daikoku T, Dey SK. Uterine FK506-binding protein 52 (FKBP52)-peroxiredoxin-6 (PRDX6) signaling protects pregnancy from overt oxidative stress. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Aug 31;107(35):15577-82.

9: Mori M, Kitazume M, Ose R, Kurokawa J, Koga K, Osuga Y, Arai S, Miyazaki T. Death effector domain-containing protein (DEDD) is required for uterine decidualization during early pregnancy in mice. J Clin Invest. 2011 Jan 4;121(1):318-27.

I. 知的財産権の出願・登録状況           なし