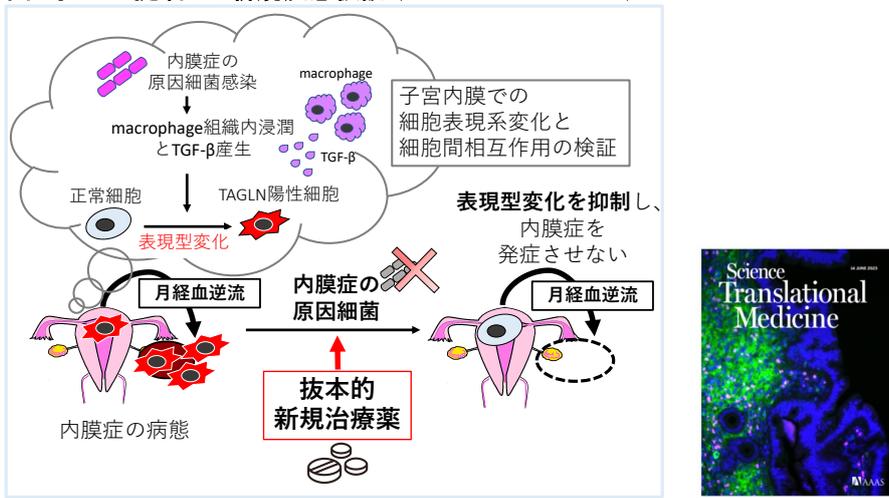


子宮内膜症に対する新規治療開発と予防戦略の構築

名古屋大学医学部附属病院
産婦人科 総合周産母子医療センター
村岡 彩子

子宮内膜症の発症メカニズムとして子宮内膜症を引き起こす一要因となる子宮内膜内の細菌 (*Fusobacterium*) を新規に発見し、2023年6月に *Science Translational Medicine* に報告(図1)したことから発展し、今回の研究は病態に即した子宮内膜症に対する新規治療開発と予防戦略の構築を目指した。子宮内膜症の再発予測モデルの構築と子宮内膜症の新規診断法の確立に向けて研究を展開したため報告する。

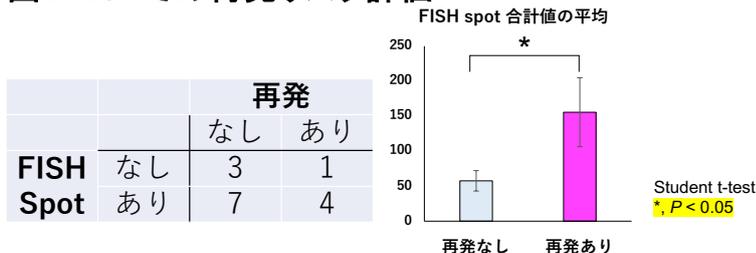
図1 我々の提唱した新規疾患仮説 (*Sci Trans Med* 2023)



1) 子宮内膜症再発予測モデルの構築

子宮内膜症の治療法として卵巣に発症した病変部を手術で摘出する卵巣嚢腫摘出術がある。子宮内膜症は子宮内膜が卵管を通して月経時に逆流し、卵巣等で生着して病変を形成する。我々の提唱した新規子宮内膜症発症仮説では子宮内膜内の *Fusobacterium* の存在が子宮内膜内の微小環境に作用し、病変の主座である子宮内膜線維芽細胞に対して遺伝子発現変化 (transgelin: TAGLN発現の亢進) を起こし、子宮内膜症を引き起こしやすい表現系を獲得する。そのような子宮内膜線維芽細胞が逆流月経血と共に腹腔内に至り、卵巣等で病変を形成する。つまり、すでに出来た病変を摘出するのみでは術後の月経に伴い病変の再形成が考えられる。疫学的には卵巣子宮内膜症性嚢胞摘出術後に月経が再開している患者では1年間で17%、術後5年までで50%相当の患者が卵巣子宮内膜症を再発すると報告されている。この高い再発率に対して、手術で複数回卵巣嚢腫を摘出すると、正常の卵巣組織も同時に切除されてしまい、完全なる正常卵巣組織の温存は難しく、卵巣機能が廃絶し妊娠が困難となる症例も多い。そこで、卵巣子宮内膜症性嚢胞摘出術後の再発を減少させる目的で、子宮内膜症の病態に即して考察すると、逆流する月経血中の子宮内膜線維芽細胞が表現系変化を起こさないよう、根本原因と考えられる子宮内膜内の *Fusobacterium* を除菌する方法が考えられる。そこで、まず、この再発予防策を講じて利益を得られる患者層を発掘するため、臨床検体を用いた子宮内膜サンプリングによる子宮内膜症再発予測モデルの構築を検証した。当院で卵巣子宮内膜症性嚢胞摘出術を施行し、術後1年以内に再発を画像的に確認した患者5名(再発群)と、同手術後1年経過時点で再発を認めなかった患者10名(非再発群)で検討した。患者背景として年齢、手術時の月経周期、妊娠歴に優位差を認めなかった。手術検体に対して fluorescence in situ hybridization (FISH法) を用いて組織内の *Fusobacterium* 同定を行った。病変部のFISHスポット陽性率は我々の既報と同程度の73%であった。再発あり群は再発なし群と比較して病変のFISHスポット数が多く、つまり病変部の菌体数が多いほど再発しやすいことを示唆する結果となった (Student's t-test, $P < 0.05$, 図2)。

図2 FISHでの再発リスク評価



今後症例数を増やして検証していきたい。さらに、手術検体からの再発予測は術前からの再発予測が不可能であることから、他のバイオマーカーの探索が必要と考えられた。我々は血清中細菌由来細胞外小胞 (extracellular vesicles: EVs) 搭載核酸に着目した再発予測バイオマーカーの確立と治療標的としての検討を計画している。子宮内膜症患者の術前後保存血清に対して血清からEVsを超遠心法で分離し、small RNA シークエンスを施行して分画内のEVs搭載核酸情報を得る。これとは別に *Fusobacterium* を培養し、液体培地中バクテリアEVs (BEVs) を同様に超遠心法で分離し、small RNA シークエンスを施行して分画内のBEVs搭載核酸情報を得る。これらの核酸配列を比較して子宮内膜症再発患者で術後再発時に上昇してくる核酸、かつBEVs内搭載核酸と合致するものがないか検証することで *Fusobacterium* の産生するBEVsに着目した新規再発予測バイオマーカーが創出可能と考えている。

2) 子宮内膜症の新規診断法の確立

子宮内膜症の一般的な診断方法は画像での病変検出であり、経膈エコーやmagnetic resonance imaging (MRI) が用いられることが多い。この診断法のデメリットとして産婦人科への受診が必要なこと、若年患者では特に検査へのハードルが高いこと、病変がある程度の大きさにならないと画像評価できないため早期発見の遅れ、などが考えられる。そこで、子宮内膜症の病態に即した新規治療法の確立を目指し、以下の2サンプルについて検証を行った。まず、月経血のサンプリングから子宮内膜症を診断できないか検討した。対象は子宮内膜症のない患者からの月経血43人分と子宮内膜症患者の月経血13人とした。なお、この研究は名古屋大学医学部付属病院の生命倫理委員会IRBに承認された上で行った (承認番号: 2021-0178)。これら月経血のサンプリングは検体のコンタミネーションを極力避けるために産婦人科外来受診時に内診台で腔内に貯留した月経血を採取した。 *Fusobacterium* に対するプライマーを設計し、これらの月経血からDNAを抽出してPCR法にて菌体の存在を確認した。結果は子宮内膜症なしの患者で *Fusobacterium* 陰性が26名 (60.5%)、陽性が17名 (39.5%)、子宮内膜症ありの患者で *Fusobacterium* 陰性が6名 (46.2%)、陽性が7名 (53.8%) となった (Fisher's exact test, $P = 0.52$, 図3)。これらの結果からは感度特異度が低いため月経血中の *Fusobacterium* の存在は子宮内膜症特異的ではない可能性が考えられ、新規診断法として臨床応用が難しい結果となった。次に、腔内スワブ検体のサンプリングから子宮内膜症を診断できないか検討した。対象は子宮内膜症のない患者からの腔内スワブサンプル17人分と子宮内膜症患者の腔内スワブサンプル21人とした。月経血と同様の方法で腔内スワブサンプルからDNAを抽出し、PCR法にて菌体の存在を確認した。結果は子宮内膜症なしの患者で *Fusobacterium* 陰性が8名 (47.1%)、陽性が9名 (52.9%)、子宮内膜症ありの患者で *Fusobacterium* 陰性が4名 (19.0%)、陽性が17名 (81.0%) となった (Fisher's exact test, $P = 0.087$, 図3)。

図3 月経血と腔内swabサンプルを用いた新規診断法の検証

月経血 サンプル 内膜症なし月経血① 43人
内膜症患者の月経血② 13人

	①	n	%	②	n	%
陰性		26	60.5	陰性	6	46.2
陽性		17	39.5	陽性	7	53.8

Fisher's exact test
 $P = 0.52$

腔内swab サンプル 内膜症なし腔内swab① 17人
内膜症患者の腔内swab② 21人

	①	n	%	②	n	%
陰性		8	47.1	陰性	4	19.0
陽性		9	52.9	陽性	17	81.0

Fisher's exact test
 $P = 0.087$

次に同様の患者群で病変部のTAGLN発現量を免疫組織化学染色 (IHC) で評価した。病変部のIHC陽性率は我々の既報と同程度の100%であったが、染色強度は様々であり、再発あり群は再発なし群と比較して病変のIHCスコアでは両者に優位差を認めなかった (Student's t-test, $P > 0.05$)。これらの結果からFISH法を用いた再発リスク評価は検証の余地があり

この結果から腔内スワブサンプルは子宮内膜症の診断として用いることができる可能性が考えられたが、子宮内膜症なし患者での陽性率が高く、偽陽性率が高いことが懸念された。こちらの研究結果もサンプリングを血液として考えると、血清中BEVs搭載核酸を用いた新規診断法への応用も検討している。現在、BEVs内small RNAシークエンスと子宮内膜症患者血清及び子宮内膜症組織中からのそれぞれのEVsを抽出、シークエンスを実施している。血清中と組織中でどちらにも発現するBEVs搭載small RNA候補を抽出し、患者血清サンプルを増やして再検予定である。