

着床における子宮の胚受容能獲得の分子機構の解明

東京大学 医学部 産婦人科
廣田 泰

1. はじめに

排卵、受精、着床、その後の妊娠の維持、分娩という一連の生理学的過程がいずれも正常であることが「正常妊娠」には必須である。この一連の過程のうち、着床とその後の妊娠の維持の過程においては、受精卵が母体である子宮内膜に着床してその一部は胎盤を形成し、胎児は胎盤を介して母体から栄養を受け成長する。免疫学的には、胎児は母体にとって異物であるにもかかわらず、胎児は母体による拒絶反応を受けることなく子宮内で発育し分娩に至る。このメカニズムの解明のため多くの研究がこれまで進められてきた。最近の研究により、子宮局所において母体免疫系が活性化し多くのサイトカインをはじめとする生理活性物質が産生されていること、これらの物質が胎児由来のトロホブラスト（栄養膜）細胞の分化・増殖因子となっていること、生理活性物質のネットワークを介した母体由来細胞と胎児由来細胞の相互作用により妊娠が維持されていることが分かってきた¹⁻²⁾。また、これらの機構にプロゲステロンを中心としたステロイドホルモンの働きが必須であることもわかってきた。着床や胎盤形成などの妊娠初期のイベントの異常が早流産・妊娠高血圧症候群などの妊娠関連疾患の原因となっている可能性を示す知見が増えていることから、着床の分子・細胞生物学的理解によって、妊娠に伴う上記疾患の病態の理解、究極的には予防法・治療法の開発が可能になると思われる。

黄体ホルモンとして知られるプロゲステロンは「妊娠ホルモン」とも呼ばれ、妊娠成立に関わる排卵、受精、着床という過程だけでなく、その後の妊娠の維持から分娩まですべての妊娠過程で重要な役割を担っている³⁾。ヒトの不妊症診療では、着床期にプロゲステロンの血中濃度が低い黄体機能不全の症例や体外受精・胚移植の症例に対するプロゲステロン製剤の投与が行われ、臨床的な観点でも着床におけるプロゲステロンの有効性は知られている。本研究では、着床、特に子宮の胚受容能獲得におけるプロゲステロンの作用機序についてのマウスモデルを用いて検討した。

2. 方法

プロゲステロンは核内受容体であるプロゲステロン受容体（progesterone receptor; PR）を介して作用する。プロゲステロンはPRを介して遺伝子転写を活性化し、排卵、着床など生殖現象を調節している。PR機能はPRシャペロン複合体によっても調節を受ける。複合体構成因子のうち、PRコシャペロンFKBP52には、複合体の立体構造を調節しプロゲステロンとPRの結合を強化することでPR機能を最大限に保つ働きがある。PR複合体は、受容体単量体、シャペロン蛋白Hsp90二量体、p23およびHsp90との結合に必要なTPR配列を含む4つのコシャペロンのうちの1つで構成される。FKBP52はその4つのコシャペロンの一つであり、Hsp90とPRの両者に結合しPR複合体の構造を安定化させることでプロゲステロンとPRの結合を強化し、プロゲステロン-PRシグナルを増強する。一方FKBP52欠損時にはPRの下流のシグナルは低下するが、両者の結合自体は最低限保たれているので、シグナルは低下するものの最低

限保たれている。そのため大量のプロゲステロンを投与することによってシグナルを強化することができ、FKBP52欠損のメスマウスは、排卵および卵巣からのプロゲステロン分泌などの卵巣の表現型が正常である一方、子宮ではプロゲステロン応答能が低下するため、相対的にエストロゲン作用が増強し、着床直前の適切な子宮内膜の分化・増殖の状態が得られず、着床障害をきたす⁴⁾。この着床障害はプロゲステロンの補充により救済される⁴⁾。さらに、FKBP52欠損マウスに対して少量のプロゲステロンを投与した際には着床が救済されるものの、その後の妊娠は継続できず流産してしまう。しかし大量のプロゲステロンを投与した際には、正常な妊娠・分娩が可能になる⁴⁾。このようにFKBP52欠損マウスは子宮のプロゲステロンに対する反応が低下した状態を有するモデルマウスとして、プロゲステロン研究には有用なin vivoの系であるといえる。本研究ではまず、このFKBP52欠損マウスを用いて研究を行った。次に、子宮頸部と体部の着床能の違いに着目して、野生型マウス子宮を用いて研究を行った。

3. 結果

FKBP52欠損マウスの子宮を用いたプロテオミクス解析から、プロゲステロン依存的に子宮内膜間質に誘導されるgalectin-1という糖結合性蛋白分子が見出され⁵⁻⁶⁾、さらに、galectin-1の補充によってFKBP52欠損マウスでプロゲステロン機能が低下したため起こる流産を抑制できることが判明した。

着床直前の子宮内膜では、上皮の細胞増殖が止まって細胞分化が開始し、間質の細胞増殖が開始することが知られており、各種の着床不全マウスモデルの結果から、この子宮内膜の分化-増殖状態の劇的な変化が子宮の胚受容能の指標になると考えられている。FKBP52欠損マウスにおいてこの子宮内膜の分化-増殖の変化が欠失しており、プロゲステロン補充によりこの変化が認められるようになることが判明し、プロゲステロン依存的な変化であることが明らかとなった。

着床は子宮体部の子宮内膜で起こり、子宮頸部や頸管部分では起こりにくい。子宮体部と子宮頸部のプロゲステロン・シグナルの違いがあるのではないかと、その両者の分子機構を比較することで着床に重要な仕組みがあぶり出せるのではないかと考えて、野生型マウス子宮体部と頸部の着床直前の分子変化を比較した。子宮頸部では子宮体部に比べてPRシグナルが低下しており、micro RNA (miR)-200aによってPR発現が抑制されていることが明らかになった⁷⁾。miR-200aはStat5低下を介してプロゲステロン代謝酵素である20 α -hydroxysteroid dehydrogenase (20 α -HSD)を増加させることが報告されており、本研究でも子宮頸部でのStat5低下と20 α -HSD増加が確認された⁷⁾。これらの検討から、子宮頸部では子宮体部に比較してmiR-200aが増加しており、PR低下と局所でのプロゲステロン代謝促進を介して、プロゲステロン・シグナルが低下している可能性が示された⁷⁾。さらに、子宮体部の子宮内膜において着床直前にmiR-200a発現が低下することが明らかとなった。

4. 考察

galectin-1はT細胞、特にTh1細胞のアポトーシスを誘導しTh2免疫寛容を誘導すること、galectin-1欠損マウスではストレス誘導性の流産が増加することが知られていることから、プロゲステロンがgalectin-1を介してTh2優位の妊娠維持に有利な免疫環境を誘導している可能性が示唆される。

着床期子宮内膜においてはmiR-200a低下によってプロゲステロン・シグナルが強化されている可能性が示唆された。このように、子宮におけるmicro RNAを介した新たなプロゲステロン・シグナル調節による着床の分子機構も明らかになりつつある。

プロゲステロンおよびPRによる時間・空間的な分子調節の詳細を明らかにすることで、子宮の胚受容能を規定しているしくみの全貌が明らかになると思われる。そして、マウスで得られた知見の蓄積

に伴って、ヒトの組織や細胞でもマウスの知見がヒトでも応用できるかどうかを検証する必要性がさらに増している。最終的にはヒトにおける不妊治療への応用や新たな避妊法の開発に結び付くよう、今後も研究を継続する予定である。

5. 発表論文、参考文献

- 1) **Hirota Y**, Osuga Y, Hasegawa A, Kodama A, Tajima T, Hamasaki K, Koga K, Yoshino O, Hirata T, Harada M, Takemura Y, Yano T, Tsutsumi O and Taketani Y. 2009. Interleukin (IL)-1beta stimulates migration and survival of first-trimester villous cytotrophoblast cells through endometrial epithelial cell-derived IL-8. **Endocrinology**. 150: 350-356.
- 2) **Hirota Y**, Osuga Y, Koga K, Yoshino O, Hirata T, Morimoto C, Harada M, Takemura Y, Nose E, Yano T, Tsutsumi O and Taketani Y. 2006. The expression and possible roles of chemokine CXCL11 and its receptor CXCR3 in the human endometrium. **J Immunol**. 177: 8813-8821.
- 3) **Hirota Y**, Cha J and Dey SK. 2010. Revisiting reproduction: Prematurity and the puzzle of progesterone resistance. **Nat Med**. 16: 529-531.
- 4) Tranguch S, Wang H, Daikoku T, Xie H, Smith DF and Dey SK. 2007. FKBP52 deficiency-conferred uterine progesterone resistance is genetic background and pregnancy stage specific. **J Clin Invest**. 117: 1824-1834.
- 5) **Hirota Y**, Acar N, Tranguch S, Burnum KE, Xie H, Kodama A, Osuga Y, Ustunel I, Friedman DB, Caprioli RM, Daikoku T and Dey SK. 2010. Uterine FK506-binding protein 52 (FKBP52)-peroxiredoxin-6 (PRDX6) signaling protects pregnancy from overt oxidative stress. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 107: 15577-15582.
- 6) **Hirota Y**, Burnum KE, Acar N, Rabinovich GA, Daikoku T and Dey SK. 2012. Galectin-1 markedly reduces the incidence of resorptions in mice missing immunophilin FKBP52. **Endocrinology**. 153: 2486-2493.
- 7) *Haraguchi H, *Saito-Fujita T, ***Hirota Y (corresponding author, * equal contribution)**, Egashira M, Matsumoto L, Matsuo M, Hiraoka T, Koga K, Yamauchi N, Fukayama M, Bartos A, Cha J, Dey SK, Fujii T and Osuga Y. 2014. MicroRNA-200a locally attenuates progesterone signaling in the cervix, preventing embryo implantation. **Mol Endocrinol**. 28: 1108-1117.