

胚が子宮内膜に浸潤する着床のメカニズムを解明 ～胚浸潤を可能にする子宮内膜の低酸素誘導因子 HIF2 α の作用～

1. 発表者：

廣田 泰（東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科 講師）
藤田 知子（東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科 特任研究員）
武田 憲彦（東京大学医学部附属病院 循環器内科 助教 [特任講師（病院）]）
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：

- ◆妊娠の過程である着床において、子宮内膜の低酸素誘導因子が作用して、胚が子宮内膜へ入り込み成長する過程を調節していることが明らかになりました。
- ◆これまでは胚が子宮内膜に接着したのちどのように子宮内膜に入り込むのか不明でしたが、今回の研究でそのメカニズムが世界で初めて明らかになりました。
- ◆子宮のなかで起こる着床の仕組みが明らかになり、着床障害による不妊が起こる機序の一因が解明されました。今後は不妊症の診断・治療法開発への応用が期待されます。

3. 発表概要：

着床障害は生殖医療の大きな課題となっていますが、有効な診断・治療法は確立していません。着床（注1）は、子宮内に入ってきた胚が子宮内膜（注2）と接着する過程（胚接着）と、その後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および図2）。着床の成立にはこれらの過程において子宮と胚の精妙な相互作用が必須と考えられてきましたが、その仕組みの詳細はこれまでわかっていませんでした。東京大学医学部附属病院の廣田泰講師らは、遺伝子改変マウスを用いた研究を行い、低酸素で誘導される転写因子（注3）である低酸素誘導因子（注4、HIF）が子宮内膜で作用して胚浸潤の過程を調節していること、子宮内膜間質のHIFが重要な働きを持っており、子宮内膜管腔上皮をはがして子宮内膜間質を露出させ胚が子宮内膜間質に入り込みやすくすると同時に、子宮内膜間質が胚とじかに接することによって胚が生存できるよう働きかけていることを明らかにしました。この結果、子宮というブラックボックスのなかで起こる着床の仕組みが解明され、着床障害による不妊の一因が明らかとなりました。今後ヒト子宮内膜におけるHIFの作用を検討することで、今回の研究が着床障害の新規診断・治療法の開発につながっていくことが期待されます。

4. 発表内容：

【研究の背景】

生殖医療において体外受精・胚移植（注5）の技術の進歩は目覚ましく、日本では出生児の約20分の1が体外受精・胚移植による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取り組みは少子化に対する有効性の高い対策と考えられます。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。

着床の成立には子宮と胚の精妙な相互作用が必要と考えられてきましたが、その仕組みの詳細はこれまでわかっていませんでした。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および図2）。着床の調節に関わっている子宮内膜は、胚と最初に接する子宮内膜管腔上皮とその直下の子宮内膜間質、着床に必要な物質を分泌する子宮内膜腺上皮で構成されています。着床の成立には子宮内膜管腔上皮・間質と胚の精妙な相互作用が必要と考えられてきましたが、その仕組みの詳細はこれまでわかっていませんでした。今回、低酸素で誘導される転写因子である低酸素誘導因子（HIF）を子宮特異的に欠損したマウスを作成し、着床に与える影響を検討しました。

【研究内容】

HIFの構成要素のうち、着床期の子宮での発現が報告されているHIF1 α およびHIF2 α に着目し検討しました。子宮全体のHIF1 α およびHIF2 α が欠損しているマウスを作成したところいずれも産仔が減少し、特に子宮全体のHIF2 α 欠損マウスからは一匹の産仔も得られず完全な不妊であることがわかりました（図3A）。子宮全体のHIF2 α 欠損マウスの不妊の原因を調べたところ、着床障害が不妊の原因であることがわかりました（図3B）。このHIF2 α 欠損マウスの着床障害を治すために、妊娠に必須のホルモンであるプロゲステロンや胚接着に必須のサイトカインとして知られる白血球阻止因子（LIF、注6）の補充を行いました。着床障害は改善しませんでした。

次に、子宮全体のHIF2 α 欠損マウスの着床障害の原因を調べるために、着床部位の組織を調べたところ、正常なマウスでは胚と接着した子宮内膜管腔上皮の一部が生きたまま剥がれて消失することで胚が子宮内膜間質に進入するのが可能になり（図4および図5）、胚の生存・活性化の指標であるAKTシグナル経路（注7）が活性化すること、子宮全体のHIF2 α 欠損マウスでは子宮内膜管腔上皮の消失が起こらないため子宮内膜間質への胚浸潤がみられず（図4）、胚生存シグナル経路は活性化せず、胚の細胞死が起こること、が明らかになりました。これらの結果から、子宮内膜のHIF2 α が胚浸潤に必須の因子であることがわかりました。

さらに、このHIF2 α の作用が子宮内膜間質によるものなのか、子宮内膜管腔上皮によるものなのかを明らかにするため、子宮内膜間質のHIF2 α 欠損マウスと子宮内膜管腔上皮のHIF2 α 欠損マウスという子宮内膜の部位特異的な遺伝子欠損マウスを作成したところ、子宮内膜間質のHIF2 α 欠損マウスが不妊であった一方、子宮内膜管腔上皮のHIF2 α 欠損マウスからは正常な産仔が得られたことから、子宮内膜間質のHIF2 α が機能的に重要で、子宮内膜間質からの管腔上皮の剥離を誘導し、じかに胚と接することで胚の生存を促し、胚浸潤を可能にしていることがわかりました（図6）。

着床において、胚浸潤の過程を調節する因子についてはこれまでほとんど研究されておらず、生体を用いて胚浸潤調節因子を同定する研究はありませんでした。本研究により、胚浸潤を調節している必須の因子としてHIFを見いだすことができました。つまり、胚浸潤の調節因子の同定に成功したという点で、世界で初めての研究といえます。また、胚浸潤の際に胚と接する子宮内膜管腔上皮が消失することは知られていましたが、細胞死はほとんど検出できず、どのように管腔上皮が消失するのかはこれまで不明でした。子宮内膜間質からの作用により管腔上皮が生きたまま剥離することを見いだした、という点でも、本研究は新規性の高い研究といえます。子宮内膜表面は生理的な低酸素状態であることが推測され、このことが子宮内膜のHIFを誘導している可能性が推測されますが、今後の検討が必要です。

【社会的意義・今後の予定】

本研究により、着床の過程において、胚接着に続いて起こる胚浸潤というステップが存在し、その調節因子が存在することを示すことができ、着床が連続性のある多段階の過程からなることが明らかとなりました。各過程における子宮内膜の機能調節因子の異常が着床障害へつながっていることが推測でき、各過程の調節因子を対象とした着床障害の診断・治療法の開発の可能性が考えられます。胚浸潤の過程では HIF がその機能調節因子となります。

本研究はマウスモデルを用いた研究であるため、ヒトの着床において子宮内膜の HIF の働きを調べていく必要があります。今後は、マウスモデルを用いた研究で得られたデータをもとに研究を進展させ、ヒトの着床障害における子宮内膜の HIF の作用の影響を調べ、着床障害の新規診断・治療法の開発につなげていきたいと考えています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Journal of Clinical Investigation」（オンライン版：6月19日）

論文タイトル：HIF2 α in the uterine stroma permits embryo invasion and luminal epithelium detachment

著者：松本玲央奈、廣田泰*、藤田知子、武田憲彦、田中智基、平岡毅大、赤枝俊、藤田英俊、清水良子、伊賀上翔太、松尾光徳、原口広史、金谷真由子、藤井知行、大須賀穰
(*責任著者)

DOI 番号：10.1172/JCI98931

アブストラクト URL：<https://www.jci.org/articles/view/98931>

6. 問い合わせ先：

<研究内容に関するお問合せ>

東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科

講師 廣田 泰 (ひろた やすし)

電話 03-3815-5411 (内線：30531) FAX 03-5800-9799

E-mail：yhirota-tky@umin.ac.jp

<取材に関するお問い合わせ>

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) 着床

卵子は精子と受精すると、受精卵(胚)として分割したあと胚盤胞となります。胚は子宮に到達すると、子宮内膜管腔上皮との胚対位、胚接着、胚浸潤が起こり、胚全体が子宮内膜にすべて覆われて生着します。この過程を包括して着床と呼びます。この過程のなかで胚から分化した栄養膜芽層から発生した栄養膜細胞は子宮内膜管腔上皮と密接な位置に向き合い(胚対位)、子宮内膜と胚の双方から多様な機構が作用して胚接着し、そして子宮内膜間質層に胚浸潤します。

(注2) 子宮内膜

子宮内腔を覆う粘膜組織のこと。組織学的には管腔上皮、腺上皮、間質、血管から成ります。月経により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・肥厚して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) 転写因子

DNA の特定の配列部分に結合し、DNA の遺伝情報を RNA に転写する過程を促進したり抑制したりするたんぱく質のこと。

(注4) 低酸素誘導因子 (Hypoxia inducible factor、HIF)

細胞に対する酸素供給が不足した場合に誘導されてくるたんぱく質のこと。転写因子として種々の遺伝子の転写を促進します。HIF α には HIF1 α 、HIF2 α 、HIF3 α が存在し、いずれも HIF1 β とヘテロ二量体として結合して作用を発揮します。細胞の低酸素ストレスへ適応するためのタンパク質として、赤血球形成、血管新生、代謝などの生体の機能を調節していることが知られています。

(注5) 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6) 白血病阻止因子 (Leukemia inhibitory factor、LIF)

白血病細胞の最終分化を誘導することで見いだされた IL-6 ファミリーのサイトカインの1つ。幹細胞の分化を抑制する。マウスでは子宮が産生する LIF が胚接着に必須の因子であることが知られている。

(注7) AKT

シグナル伝達ネットワークの中心的な因子。成長因子、サイトカイン、インスリンによって活性化される PI3 キナーゼの下流の因子で、細胞増殖や細胞の生存能の調節をしています。癌、糖尿病、神経変性疾患などの多様な疾患において、AKT の過剰発現や不適切な活性が報告されています。主に細胞死の阻害と細胞増殖促進の2つの役割があります。

8. 添付資料 :

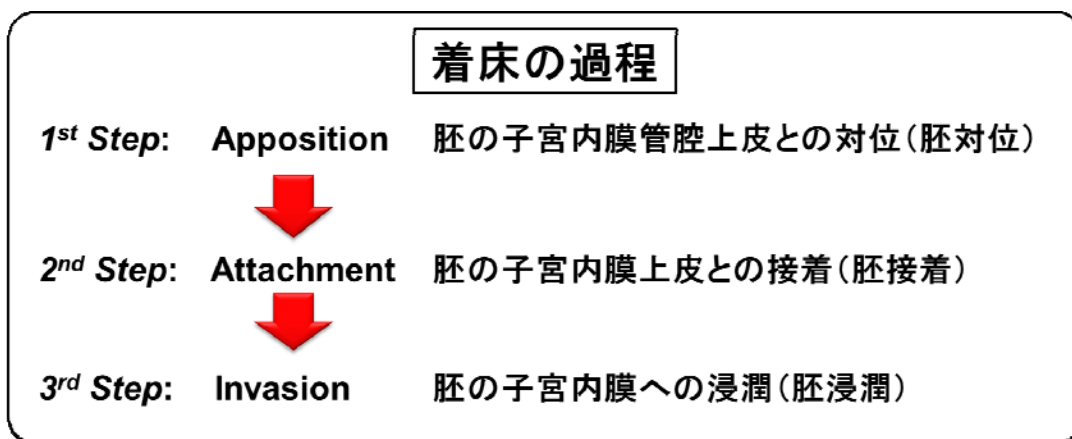


図1. 着床の過程

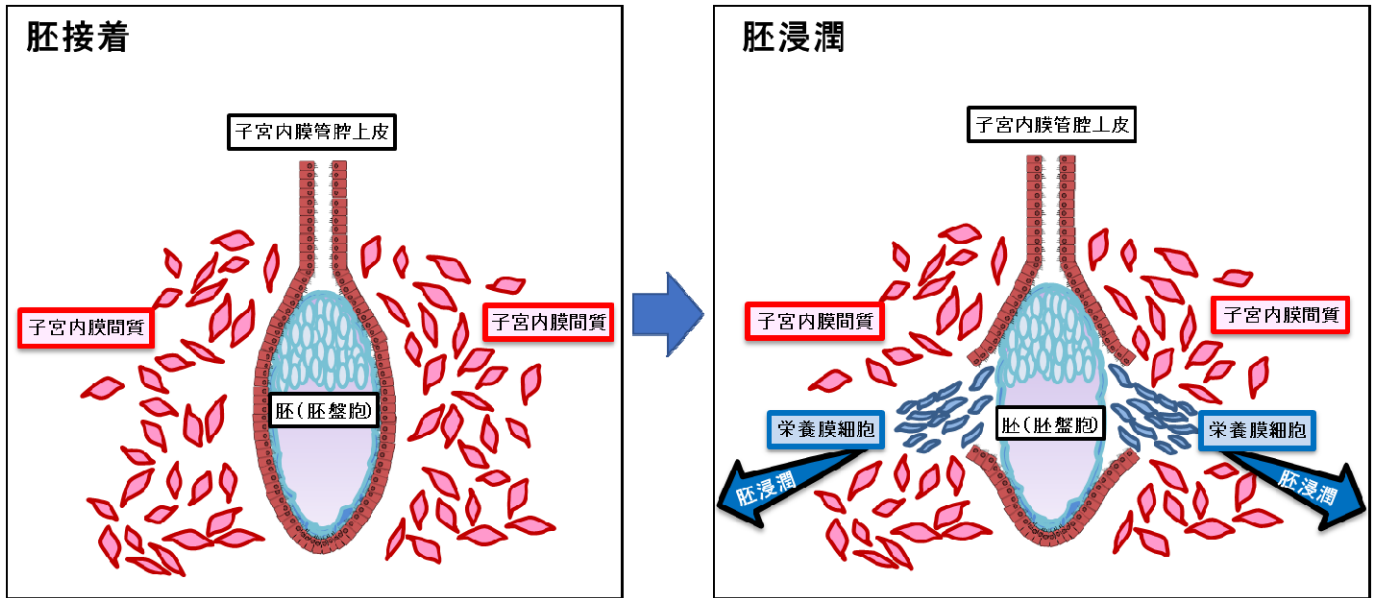


図2. 胚接着および胚浸潤の過程

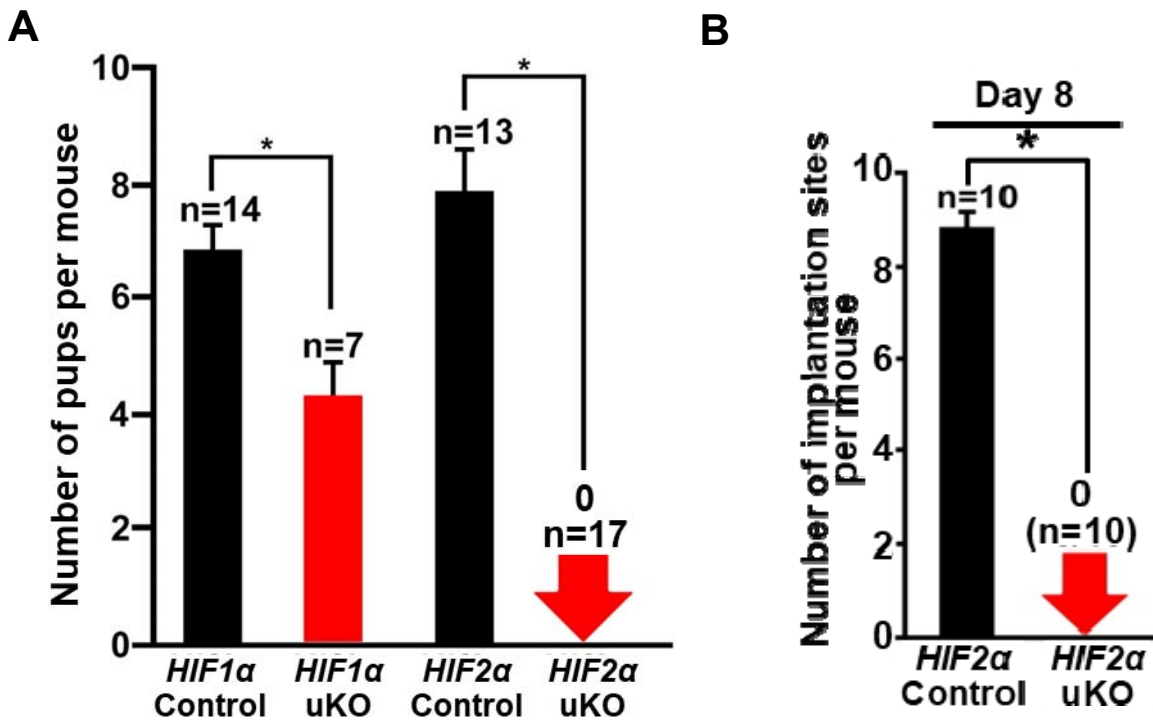


図3. HIF2 α 欠損マウスは着床障害で完全な不妊となる

A 子宮全体の HIF1 α および HIF2 α 欠損マウスの分娩仔数、B HIF2 α 欠損マウス子宮での着床数。HIF1 α uKO = 子宮全体の HIF1 α 欠損マウス、HIF2 α uKO = 子宮全体の HIF2 α 欠損マウス、HIF1 α control および HIF2 α control = それぞれのマウスのコントロール（正常群）。

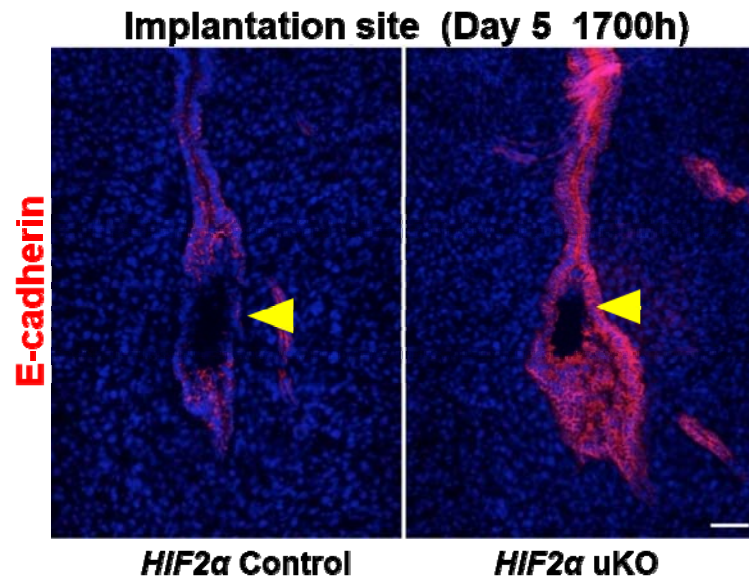


図4. 胚浸潤開始時期に HIF2 α 欠損マウスの子宮内膜管腔上皮は消失しない
E-cadherin (子宮内膜上皮) のマーカーによる蛍光免疫染色。HIF2 α uKO = 子宮全体の HIF2 α 欠損マウス、HIF2 α control =コントロール群 (正常群)、黄色矢頭=胚。

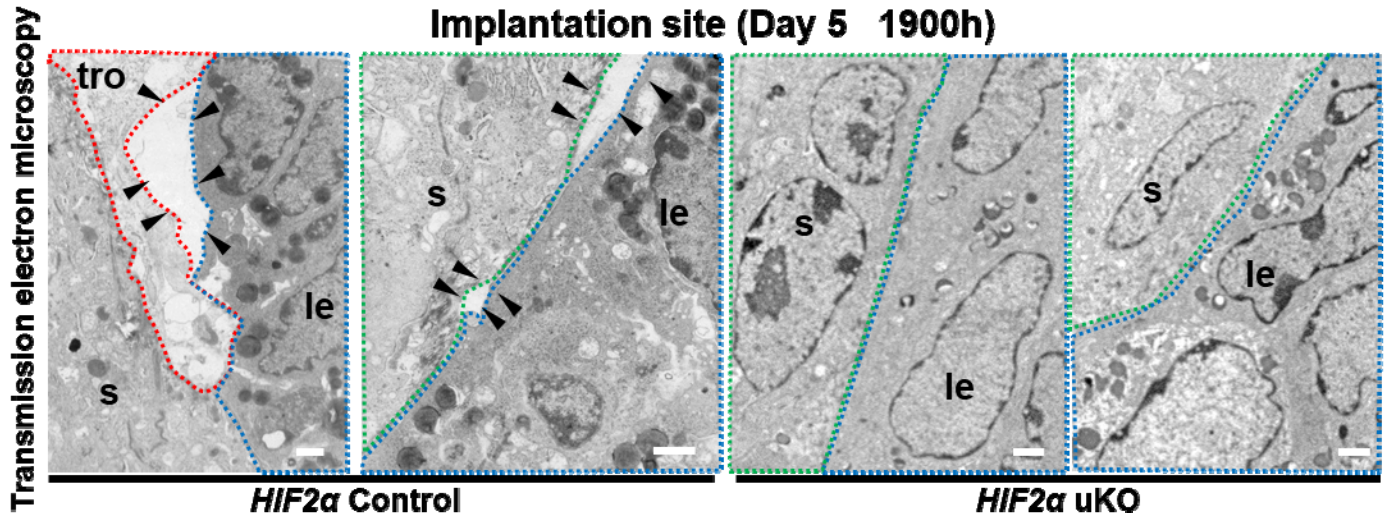


図5. 胚浸潤開始時期に HIF2 α 欠損マウスの子宮内膜管腔上皮は間質から剥離しない
透過型電子顕微鏡の観察では、正常なコントロール群では上皮と間質の間に空隙ができるが HIF2 α 欠損マウスではできない。HIF2 α uKO = 子宮全体の HIF2 α 欠損マウス、HIF2 α control =コントロール群 (正常群)、黒色矢頭=上皮と間質の間の空隙、le=子宮内膜管腔上皮、s=子宮内膜間質、tro=栄養膜細胞。

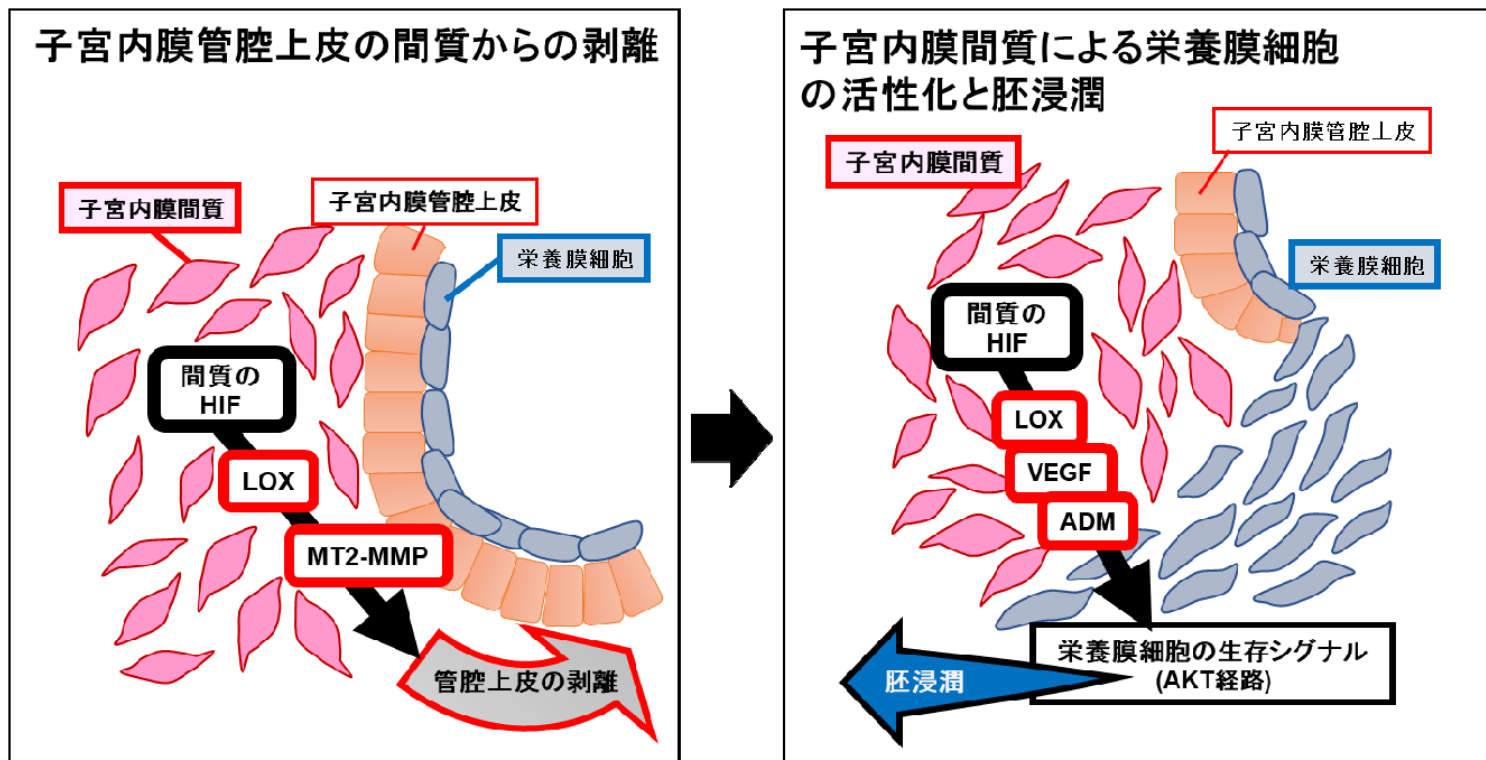


図6. 子宮内膜間質による管腔上皮の剥離と栄養膜細胞活性化と胚浸潤誘導 (本研究の結果)
 LOX=lysyl oxidase、MT2-MMP=membrane-type 2 matrix metalloproteinase、VEGF=vascular endothelial growth factor、ADM=adrenomedullin。