

## 分担課題:着床障害マウスモデルを用いた不育症の成因に関する基礎的研究 及び不育症治療と thrombophilia に関する臨床的研究

研究分担者 木村 正 大阪大学大学院医学系研究科産科学婦人科学 教授  
研究協力者 筒井 建紀 大阪大学大学院医学系研究科産科学婦人科学 講師

### 研究要旨

不育症の原因の一つである黄体機能不全による着床不全の観点から、プロゲステロンと子宮内膜の STAT3 発現との関連について、マウスモデルを用いた基礎的検討を行った。また臨床的な見地から、続発性反復流産患者についての後方視的な検討から、反復流産・習慣流産の原因としての thrombophilia が、同一個体でも常に変動している可能性が示唆された。さらに、不育症患者の治療法としてしばしば選択される抗血小板療法／抗凝固療法の適応や治療期間について、全国の周産期施設・不妊治療施設への郵送によるアンケート調査を実施し、不育症治療としての低用量アスピリン療法やヘパリン療法についての現況について調査し、これらの治療法の適応や有効性について、さらに検討を必要とすることが示唆された。

### A. 研究目的

不育症の原因と治療法について、マウスを用いた基礎的検討、および臨床データおよびアンケートを用いた臨床的検討を行い、その解明を試みた。

### B. 研究方法

①マウス子宮内膜に HVJ-E ベクターを用いた一過性遺伝子導入法により、STAT3 デコイを着床期子宮内膜に強制発現させ、プロゲステロン発現と着床との関係について検討した。②1回以上の自然妊娠・分娩歴があるにも関わらず、その前後に2回以上の自然流産を繰り返した続発性反復流産患者についての検討を行った。③不育症に対する抗血小板療法／抗凝固療法の実情に関する全国アンケート調査を行った。

### C. 研究結果

①着床期子宮内膜への STAT3 デコイの導入により、子宮内膜 STAT3 活性は約 50%抑制され、デコイ導入群では約 75%以上のマウスで妊娠を認めなかった。血中プロゲステロン値、プロゲステロン受容体の発現に差を認めなかった。②自然妊娠・分娩歴のある反復流産患者6症例のう

ち、3症例に抗リン脂質抗体やプロテイン S の異常を認めた。うち、1症例は、抗血小板療法にて妊娠・分娩に至った。また以前指摘された抗リン脂質抗体症候群を、現在は全く認めず、無治療で妊娠・分娩に至った1症例も経験した。③約 80%以上の施設で低用量アスピリン療法が施行され、約 50%以上の施設でヘパリン療法が施行されていた。免疫学的検査・血液凝固系検査に異常を認めなくても、約 30%の施設で低用量アスピリン療法が施行されていた。低用量アスピリン療法の開始時期は、施設により黄体期或は尿妊娠反応陽性時が選択されていた。ヘパリン療法開始時期は、約 60%の施設で尿妊娠反応陽性時が選択されていた。低用量アスピリン療法終了時期は、約 30%の施設で妊娠 22 週～28 週、約 50%の施設で妊娠 29～36 週であった。また、ヘパリン療法終了時期は、約 40%の施設で陣痛発来時であった。

### D. 考察

①STAT3 がマウス着床期の子宮内膜に発現し、チャック症に重要な役割を果たしていることが示唆された。しかし、STAT3 の発現は、プロゲステロンやその受容体の発現とは関連を認めなかった。②性成

熟期の女性において、流産の原因となりうる thrombophilia の状態は、同一個体においても常に変動し、流産になりやすい時期と生産をもたらす時期が、時間の経過とともに移り変わる可能性が示唆された。③免疫学的検査や血液凝固系検査で異常を認める不育症だけでなく、原因不明不育症に対しても低用量アスピリン療法やヘパリン療法が行われ、さらに治療効果があると判断される症例が存在する場合は認められた。原因不明不育症のうち、母体による胎児の拒絶反応に関わる未同定の免疫学的機序や血液凝固因子異常が存在する可能性が示唆された。

## E. 結論

①マウス子宮内膜の STAT3 は、胚の着床現象に重要な役割を果たしていることが示唆された。②過去に thrombophilia を認めた個体においてもその状態は常に変動しており、流産の起こりやすい時期と起こりにくい時期がある可能性が示唆された。これは、thrombophilia が原因と考えられる原発性習慣流産患者が無治療で生産に至ったり、生産歴のある女性がその後 thrombophilia と考えられる流産を繰り返したりする現象の理論的裏付けとなる可能性を示唆するものである。③不育症に対する治療として、低用量アスピリン療法やヘパリン療法は、その適応が必ずしも明確でないにもかかわらず、広く行われていることが判明した。これらの治療法の適応や治療期間、有効性についてさらに検討する必要があると考えられた。

## F. 健康危険情報 特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) The human tumor-associated antigen RCAS1 in pregnancies complicated by pre-eclampsia. Tskitishvili, E., Komoto, Y., Kinugasa, Y., Kanagawa, T., Song, M., Mimura, K., Tomimatsu, T., Kimura, T., Shimoya, K. Journal of Reproductive Immunology 77:100-108,2008.
- 2) Immunisation with a plasmid DNA vaccine encoding gonadotrophin releasing hormone (GnRH-1) and T-helper epitopes in saline suppresses rodent fertility. Khan, M.A.H.,

Ogita, K., Ferro, V.A., Kumasawa, K., Tsutsui, T., Kimura, T. Vaccine 26:1365-1374, 2008.

- 3) Two multipotential transcription factors, NF-kappaB and Stat-3, play critical and hierarchal roles for implantation Tadashi Kimura, Kazuhide Ogita, Keiichi Kumasawa, Shinsuke Koyama, Tateki Tsutsui, and Hitomi Nakamura Indian J Physiol Pharmacol, 54, 27-32; 2010.
- ## 2. 学会発表
- 1) 北村梨紗、筒井建紀、田畑知沙、熊澤恵一、渡辺宜信、根来英典、朝野久美子、張慶、李楠、荻田和秀、木村正 自然妊娠・分娩歴のある反復流産症例についての検討 第52回日本生殖医学会 平成19年10月25-26日 秋田
  - 2) 子宮局所における一過性遺伝子導入方法を用いた着床不全マウスモデルの作製 香山晋輔、中村仁美、谷口武、荻田和秀、熊澤恵一、張慶、筒井建紀、金田安史、木村正 第53回日本生殖医学会 平成20年10月24日 神戸
  - 3) 着床期子宮局所におけるSTAT-3活性の
  - 4) 役割 中村仁美、香山晋輔、谷口武、荻田和秀、熊澤恵一、張慶、筒井建紀、古山将康、杉野法広、田村博史、金田安史、木村正 第13回日本生殖内分泌学会 平成20年11月29日 大阪
  - 5) 一過性遺伝子導入方法を用いた着床現象の検討 中村仁美、香山晋輔、谷口武、荻田和秀、熊澤恵一、張慶、筒井建紀、古山将康、杉野法広、田村博史、金田安史、木村正 第23回日本生殖免疫学会 平成20年12月6~7日 富山
  - 6) 不育症に対する抗血小板療法／抗凝固療法に関するアンケート調査 田畑知沙、筒井建紀、林正美、中村仁美、大八木知史、若林敦子、瀧内剛、正木秀武、香山晋輔、木村正 第136回日本生殖医学会関西支部集談会 平成23年3月5日 大阪

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tskitishvili , E., Komoto, Y., Kinugasa, Y., Kanagawa, T., Song, M., Mimura, K., Tomimatsu , T., <u>Kimura ,T.</u> Shimoya, K.	The human tumor-associated antigen RCAS1 in pregnancies complicated by pre-eclampsia.	Journal of Reproductive Immunology	77	100-108	2008
Khan, M.A.H., Ogita, K., Ferro, V.A., Kumasawa, K., Tsutsui ,T., <u>Kimura, T.</u>	Immunisation with a plasmid DNA vaccine encoding gonadotrophin releasing hormone (GnRH-1) and T-helper epitopes in saline suppresses rodent fertility.	Vaccine	26	1365-1374	2008
<u>Tadashi Kimura,</u> Kazuhide Ogita, Keiichi Kumasawa, Shinsuke Koyama, <u>Tateki Tsutsui,</u> and Hitomi Nakamura,	Two multipotential transcription factors, NF-kappaB and Stat-3, play critical and hierarchal roles for implantation	Indian J Physiol Pharmacol	54	27-32	2010