

# 子宮因子による着床障害の病態解明と新規診断・治療法の開発

Elucidation of the pathophysiology in implantation failure caused by uterine factors and development of new diagnostic and therapeutic tools

東京大学大学院医学系研究科 産婦人科学講座 准教授 廣田 泰

## 要 約

生殖補助医療において、良好な胚を移植しても妊娠しない着床障害（反復着床不全）は治療が難しい不妊症の状態である。着床の生理学的機序、着床障害の病態生理学的機序は科学的に十分解明されておらず、生殖医療の成績向上のためには、着床障害の克服が喫緊の課題といえる。本稿では子宮因子で起こる着床障害の原因解明に向けたこれまでの研究成果を提示し、今後の研究の方向性について述べる。

着床障害を呈する遺伝子改変マウスモデルを用いて研究を行い、胚対位、胚接着、胚浸潤の着床過程における子宮の機能調節因子を見出した。胚対位ではプロゲステロン (P<sub>4</sub>)-P<sub>4</sub>受容体シグナルと『子宮内膜分化・増殖スイッチ』（proliferation - differentiation switching, PDS）、胚接着ではサイトカインLIF-LIF受容体-転写因子STAT3経路、胚浸潤では低酸素誘導因子HIF、細胞周期抑制因子RB、ヒストン修飾に関わるEZH2-PRC2-H3K27me3経路を見出した。また着床期ヒト子宮内膜において、着床障害群で子宮内膜管腔上皮の細胞増殖能が持続しPDS異常が生じていることを明らかにした。生児獲得に向けて重要な子宮の妊娠維持機構に関する研究を行い、子宮の細胞老化とmTORシグナルと早産の関連性、P<sub>4</sub>投与とmTORシグナル阻害薬投与による早産予防の可能性を明らかにした。着床能回復の新たな手法として、子宮組織の部分再生によって着床能回復を可能にする脱細胞化担体移植法を開発した。着床障害をきたす子宮腺筋症に関して、病変や正所性子宮内膜に高頻度のKRAS変異が認められプロゲステン抵抗性の病態形成へ関与することや、恒常的なSTAT3活性化が病変形成に関与していることを明らかにした。これまでの研究の成果により、着床能マーカー、早産予防薬、子宮腺筋症治療薬のシーズを見出した。不妊症、不育症、早産などの妊娠関連疾患や子宮腺筋症で苦しむ女性と生まれてくる子どものための一助になるように、今後基礎研究の成果を臨床研究へ展開していきたい。

## 1. はじめに

日本産科婦人科学会は不妊症の定義として、『生殖年齢の男女が妊娠を希望し、ある一定期間、避妊することなく通常の性交を継続的に行っているにもかかわらず、妊娠の成立をみない場合』としています。また、その『一定期間』とは一般的に1年とされ、妊娠のために医学的介入が必要な場合は期間を問わない、としています。国内データでは、不妊症の診療経験のある夫婦は約5.5組に1組の割合と報告されており、少子化が急速に進む社会情勢においては、国民の生殖医療への関心と重要性の認識が高まっている状況といえると思います。

不妊症に対する診療過程において、タイミング法

や人工授精による一般不妊治療が不成功である場合や、一般不妊治療では妊娠が困難と考えられる場合には、体外受精／顕微授精・胚移植という、いわゆる「生殖補助医療」が行われます。体外受精・胚移植 (IVF-ET) とは、採卵手術により排卵直前に体内から取り出した卵子を体外の培養液中で精子と受精させ、発育した受精卵 (胚) を子宮内に戻す治療のことです。体外受精・胚移植は英国のロバート・エドワーズ博士が1978年に世界で初めて成功させ、この業績によりノーベル生理学・医学賞を受賞されています。国内では、1983年に東北大学で体外受精・胚移植が成功し、日本初の体外受精児が誕生しています。また1990年代になると、精子を直接卵子に注

入することで受精を促す体外受精の方法として行われる顕微授精（ICSI）の技術が確立し発展しました。このように体外受精／顕微授精・胚移植の技術の進歩により、生殖補助医療が不妊治療の中心的地位を確かなものにしたといえます。その結果として、国内の生殖補助医療の実施件数は、2019年には年6万件を超えるまでに増加しています。

国内では人工授精および生殖補助医療がこれまで自由診療として行われてきたという社会背景が影響し、生殖医療は他の領域と比べて比較的新しい医学領域として捉えられており、十分なエビデンスが構築される前に新たな医療技術が実地診療に導入されるといった状態であったことから、診療ガイドラインの基盤となるエビデンス構築が十分進んできませんでした。昨今の生殖医療に対する社会的要請の高まりと生殖補助医療を含む不妊治療の保険適用の実現という政府方針のなかで、2021年に厚生労働科学研究班および日本生殖医学会により生殖医療ガイドラインが作成・刊行され、国内で初めて生殖医療の標準化が実施されました。私は厚生労働科学研究班および日本生殖医学会の関係者としてこの生殖医療の標準化の過程に関わる機会を頂きましたが、半年間という極めて短い期間のなかで生殖医療ガイドラインが刊行できたのは、ひとえに国内の生殖医療に関わる多くの先生方のご協力とご尽力によるものと考えています。この生殖医療ガイドラインをもとに、厚生労働省によって生殖医療の新たな保険制度が策定され、2022年度から実施されることになりました。結果として、人工授精および生殖補助医療が保険適用となりました。生殖医療標準化の過程においてエビデンスが十分でないかと判断された各種の医療技術については、この不妊治療の新たな保険制度においては保険適用となりませんでした。先進医療として申請されて実施され今後の保険適用に向けたエビデンス構築が期待されています。受精卵（胚）が子宮内腔に到達したのち、子宮内膜と接着し進入する過程を「着床」と呼びます。良好な胚を移植してもなかなか妊娠しない状態は、着床障害（反復着床不全）と呼ばれていますが、先進医療として申請された医療技術を俯瞰してみると、その多くが着床に関わる検査や治療に関するものであることがわかります。生殖補助医療の実施件数の増加に伴い生殖補助医療により妊娠に至る不妊患者が増えて一方、移植胚の約70%前後が着床できないことがわかっ

ています。これらの事実は、着床障害の克服に向けたエビデンス構築が生殖医療において現在最も重要な課題であることを示唆しています。現時点では着床障害に対する標準的な診断・治療は確立しておらず、着床障害の克服が現在の生殖医療における最大の目標であると考えられます。

着床障害の原因は、胚性因子と子宮因子に分けることができると思います。着床障害の胚性因子の例として、配偶子（卵子と精子）および胚の質の低下によるものが挙げられます。良好胚を選択する方法として一般にVeeck分類やGardner分類などの形態学選別方法が用いられていますが、最近ではタイムラプスインキュベーターや着床前胚染色体異数性検査（PGT-A）などの新しい医療技術が登場しています。着床障害の子宮因子の例としては、子宮筋腫、子宮腺筋症、子宮内膜ポリープ、慢性子宮内膜炎、子宮内膜の不十分な厚さなどが例として挙げられます。一方で、これらの因子が関与する着床障害の機序、それ以外の原因不明の着床障害の機序、いずれについても科学的に十分解明されておらず、胚が子宮内膜に着床する生理学的機序および着床障害の病態生理学的機序は解明されていない状況といえます。着床障害のうち特に子宮因子に着目して着床障害の原因解明に向けて、基礎的および臨床的知見の集積が喫緊の課題であると考えられます。本稿ではこれまでに行ってきた着床障害や関連する研究成果をお示しし、今後の研究の方向性について述べたいと思います。

## 2. これまでの研究成果

### 1) 胚対位、胚接着、胚浸潤の着床過程における子宮の機能調節因子

ヒトでは受精後約7日目に胚は将来胎児となる内細胞塊および将来胎盤となる栄養膜（トロホブラスト）を有する胚盤胞となり浮遊状態を解消して透明帯から脱出（ハッチング）し着床を開始します。このとき、内細胞塊側の栄養膜表面と子宮内膜管腔上皮が向き合う形となります。ハッチングした胚盤胞は子宮内膜管腔上皮と接着し、栄養膜細胞が子宮内膜内に進展します。栄養膜細胞は子宮内膜へ浸潤するとともに分化して胎盤が形成されることとなります。限定的に着床期を定義する場合には、胚盤胞と子宮内膜管腔上皮の接着開始から、栄養膜細胞の子宮内膜血管への浸潤開始までの過程を指すことが多く、

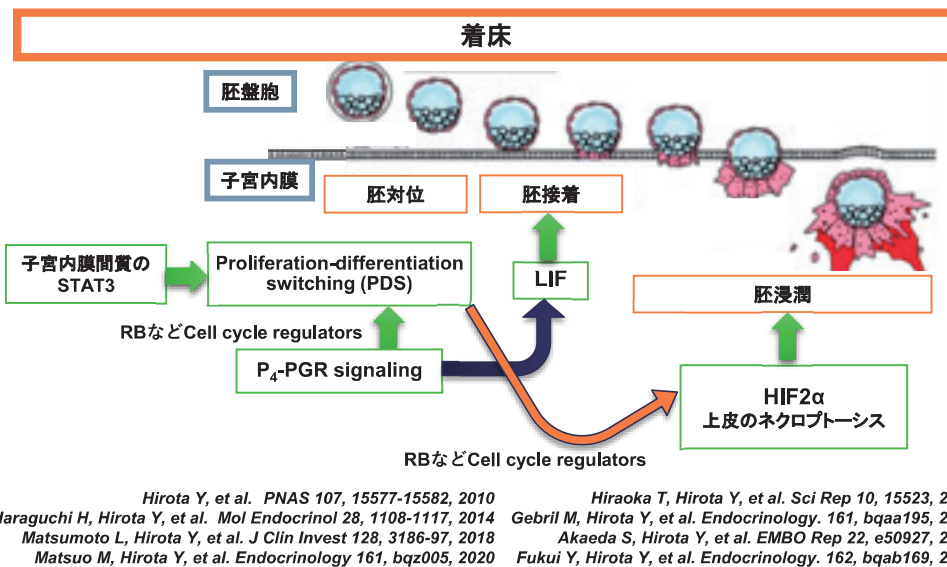


図1. 着床は、胚対位・胚接着・胚浸潤の過程で子宮内膜の機能調節分子が作用して成立する

胚盤胞と子宮内膜との位置関係から、着床の過程は通常、①胚対位、②胚接着、③胚浸潤、の3つに分けて表現されています（図1）。

胚対位の時期には、性ホルモンによる子宮内膜の分化という子宮の胚受容能（胚を着床させるために必要な子宮内膜に付与される機能のこと）のいわば第1段階を完了させ胚接着が可能になります。この過程において、子宮内膜上皮の増殖抑制・分化促進と、内膜間質の増殖促進が起こることを見出しており、『子宮内膜分化・増殖スイッチ』（proliferation-differentiation switching、PDS）と名付けました<sup>1</sup>。PDSが起こる際に子宮内膜間質においては、前脱落膜化という性ホルモン依存性の変化が起こります。胚接着の過程では、性ホルモンの作用と胚盤胞由来のシグナルが同調し、子宮内膜においては胚盤胞を取り囲む間質の血管透過性亢進と脱落膜化がもたらされることになります。脱落膜化とは、子宮内膜間質細胞が肥大化し細胞が密集した状態になる妊娠特有の形態変化のことです。胚浸潤の過程では、子宮内膜において、間質に進入した栄養膜細胞の活性化と間質の血管新生が起こり、胎盤形成へと進んでいくこととなります。過去の着床研究では、①胚対位、②胚接着、③胚浸潤、の過程に分けて、着床の機能的因子を明らかにする研究は行われてきませんでした。そこで、これらの過程ごとの機能的因子同定を目的として研究を進めました（図1）。

まず胚対位の過程について、卵巣ホルモン作用に着目して研究を行いました。排卵後卵巣の黄体から

分泌されるステロイドホルモンであるプロゲステロン（progesterone、P<sub>4</sub>）は、核内受容体プロゲステロン受容体（progesterone receptor、PGR）を介して子宮に作用し、着床およびその後の妊娠維持に作用しています。全身性のPGR欠損マウスは無排卵という卵巣の表現型を示すため、卵巣の表現型を示さず子宮のみのP<sub>4</sub>-PGRシグナルが減弱するマウスモデルとして、PGRコシヤペロンであるFKBP4欠損マウスおよび子宮内膜上皮特異的なPGR欠損マウスを用いた解析を行いました。その結果、P<sub>4</sub>がPGRを介してPDSを誘導していること、P<sub>4</sub>-PGRシグナルによるPDSと時間的に一致して子宮管腔がスリット状の形態となり狭小化することを見出しました（図2）<sup>1,2</sup>。マウス着床でみられるこれらの現象はヒト分泌期子宮内膜でも認められ<sup>1</sup>、PDS、前脱落膜化、間質の肥厚・浮腫、子宮管腔の狭小化の変化が起こっていることから、胚対位時のこれらの現象はマウス着床だけでなくヒト着床でも重要な変化であると考えられます。さらにマウスモデルを用いた検討により、P<sub>4</sub>-PGRシグナル以外のPDSに関わる因子として、ホメオボックス転写因子MSX、脂質受容体LPA3、細胞周期抑制因子RB、子宮内膜間質の転写因子STAT3を見出しました（図1、図2）<sup>1,3</sup>。重要なこととして、PDS異常をきたすマウスモデルはすべて着床障害をきたすことから、PDSは着床の成否を予測する指標になることが示されました。

次に胚接着についても研究を行いました。胚接着には、IL-6ファミリーのサイトカインLIF、LIF受容

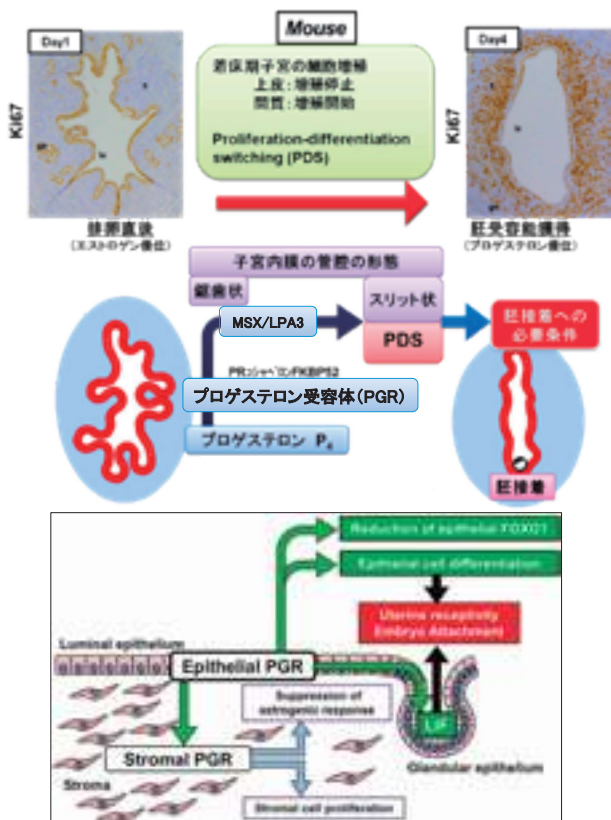


図2. 胚対位の過程でおこる『子宮内膜分化・増殖スイッチ』(PDS)は、プロゲステロン (P<sub>4</sub>) -プロゲステロン受容体 (PGR) シグナルによって調節される

体、転写因子STAT3が関与していることを明らかにしました (図1)<sup>35</sup>。LIF はLIF受容体、STAT3を活性化するサイトカインシグナルとして知られ、LIF-LIF受容体-STAT3経路がどのように着床のステップを制御しているかはこれまで十分わかっていなかったため、この経路に着目しマウスモデルで検討しました。子宮内膜上皮と間質のLIF受容体の着床における機能を子宮のLIF受容体欠損マウスで検討したところ、上皮のLIF受容体が「着床チャンバー」という着床に適した子宮内膜管腔形成を調節して胚着床を誘導すること、間質のLIF受容体は胚着床に関係しないことがわかりました (図3)<sup>5</sup>。さらに、子宮内膜の上皮・間質のSTAT3の着床における機能を子宮内膜上皮および間質のSTAT3欠損マウスで検討したところ、子宮内膜上皮のSTAT3が着床期の子宮内膜管腔のスリット状態変化を調節し、間質のSTAT3が子宮内膜上皮のエストロゲン応答と上皮細胞の増殖抑制によりPDSに関わっていること、上皮および間質のSTAT3がいずれも胚着床に必須であること、がわかりました (図3)<sup>3</sup>。つまり、子宮内膜腺

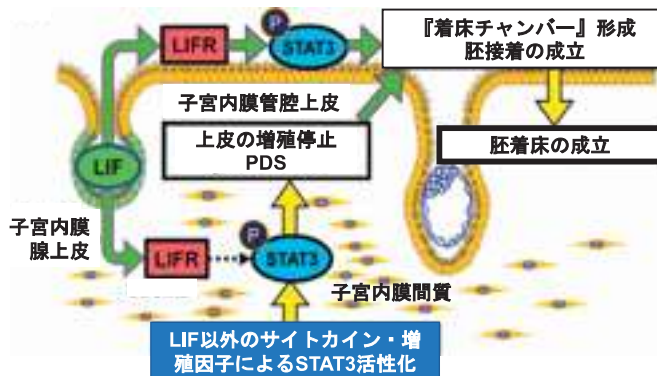


図3. LIF-LIF受容体 (LIFR)-STAT3 シグナルによる胚着床の調節

子宮内膜腺上皮から分泌されたLIFが子宮内膜管腔上皮のLIFR-STAT3経路を活性化し、子宮内膜間質においてはLIF以外のリガンドでSTAT3が活性化される。この上皮および間質のSTAT3活性化により、胚着床が制御されている。

上皮から分泌されたLIFによって子宮内膜管腔上皮ではLIFR-STAT3経路が活性化され、間質ではLIF以外のリガンドでSTAT3が活性化され、その両方で胚着床の制御が行われていることが明らかになりました (図3)。

次の着床の過程である胚浸潤については、これまでその仕組みは不明で機能的因子は同定されていませんでした。そこで、低酸素誘導因子HIF2 $\alpha$ と細胞増殖抑制因子RBに着目し、これらの分子が胚浸潤に関与していることを明らかにしました (図4)<sup>6,7</sup>。胚着床時に胚周囲の子宮内膜は低酸素となり低酸素誘導因子 (HIF) が発現しますが、子宮全体のHIF2 $\alpha$ 欠損マウスでは胚周囲の子宮内膜管腔上皮が消失せず、子宮内膜間質と胚の直接的な接触が起こらず胚の生存シグナルであるPI3K-AKT経路が抑制され、胚浸潤ができず不妊になることを見出ししました<sup>6</sup>。また子宮内膜間質のHIF2 $\alpha$ 欠損マウスでも胚浸潤が障害され、子宮内膜上皮のHIF2 $\alpha$ 欠損マウスは正常な着床を示したことから、胚浸潤における子宮内膜間質のHIF2 $\alpha$ の着床における重要性を明らかにすることができました<sup>6</sup>。本研究により、HIF2 $\alpha$ が子宮内膜で作用して胚浸潤を調節していること、子宮内膜間質のHIF2 $\alpha$ が子宮内膜管腔上皮を剥離し間質を露出させ胚が子宮内に入り込むのを可能にし、間質が胚とじかに接することによって胚の生存シグナルが活性化すること、が明らかになりました<sup>6</sup>。この成果により、これまで不明であった胚浸潤の仕組みと胚浸潤の異常による着床障害の機序を世界で初めて解明することができました。次に、子宮内膜のPDSに着目して研究を行いました。PDSは上記の

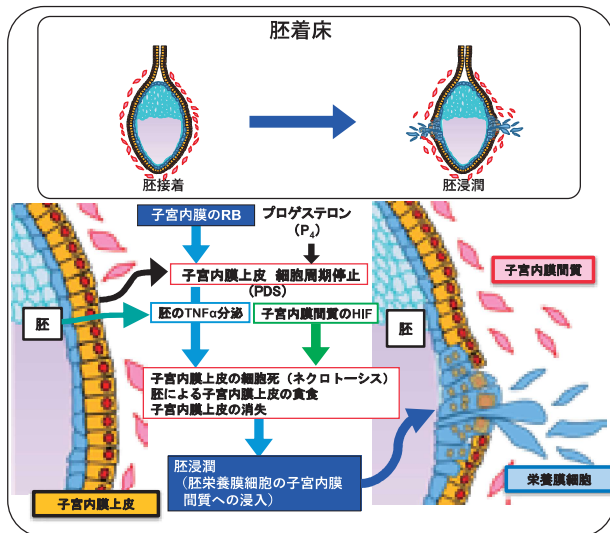


図4. 子宮内膜の細胞周期抑制因子RBおよびHIFによる胚接着の調節

プロゲステロン (P<sub>4</sub>) が子宮内膜上皮の細胞周期を止めることにより、子宮内膜上皮の細胞死が起こり、胚による貪食により子宮内膜上皮が消失する。これにより、子宮内膜上皮のバリアが消失し、胚が子宮内膜間質へ進入できるようになる

ように子宮内膜の胚受容能の指標と考えることができますが、着床に機能的に関与するかどうかは不明でした。そのため、子宮内膜の分化・増殖機構に着目し、細胞周期抑制因子であるRB（網膜芽細胞腫遺伝子）の子宮特異的遺伝子欠損マウスを作成し検討しました。その結果、RB 欠損マウスではPDSと胚浸潤が障害されること、RB 欠損マウスへのP<sub>4</sub>補充により子宮内膜上皮の細胞増殖能が抑制されPDSが改善し胚浸潤障害が改善すること、P<sub>4</sub>がPDS後の子宮内膜管腔上皮細胞死（ネクロトーシス）の誘導作用を有しており、P<sub>4</sub>によって誘導された管腔上皮の死細胞が栄養膜細胞によって貪食され胚周囲の管腔上皮のバリアが除かれること、を見出しました<sup>7</sup>。この結果から、子宮内膜のRBとP<sub>4</sub>が協調して子宮内膜に作用しPDS後の胚周囲の子宮内膜管腔上皮の細胞死を誘導し胚浸潤を起こしていること、胚対位時に認められるPDSはその後の胚浸潤の成立に機能的に関与していること、が明らかになりました(図4)<sup>7</sup>。

これらの研究成果から、胚対位、胚接着、胚浸潤のそれぞれの過程で着床を調節している機能因子があること、またこれらの機能因子が、胚対位→胚接着→胚浸潤の過程を密接に繋いでいることが示されました(図1)。今後の研究において、胚対位、胚接着、胚浸潤の機能分子や病態生理を考慮に入れて研究を進めることにより、ヒトの着床障害の解明や診断・治療への応用の際に役立つものと考えています。

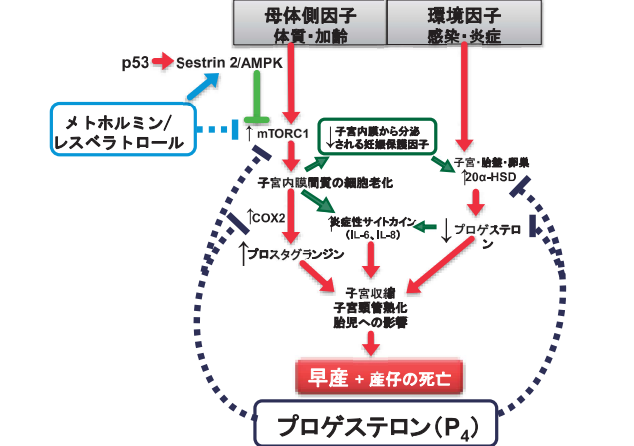
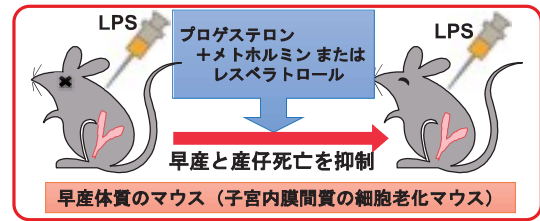


図5. 早産における子宮内膜のp53/sestrin 2/AMPK/mTORC1シグナルをターゲットとした新しい早産予防法の開発  
プロゲステロン (P<sub>4</sub>) とmTORC1を抑制するメトホルミンやレスベラトロールを用いて、mTOR抑制、子宮内膜間質の細胞老化、プロスタグランジン産生抑制を介した新しい早産予防法の可能性が示唆される

## 2) 着床後の妊娠維持のための子宮の機能調節因子

上記の着床過程の研究に加えて、生児獲得に向けて重要な子宮の妊娠維持機構に関する研究も行いました。不育症に関連して、子宮内膜のP<sub>4</sub>-PGRシグナルによって調節されるガレクチン1が流産を防止する機能があることを明らかにしました。P<sub>4</sub>で誘導されるTh2抑制作用をもつ糖鎖結合蛋白ガレクチン1を同定し、P<sub>4</sub>応答能の低下による流産をガレクチンが抑制できることを示しました<sup>8</sup>。さらに早産の研究も行いました。臨床的にはP<sub>4</sub>による早産予防効果が知られていますが<sup>9</sup>、その効果は現状十分ではありません。子宮内膜間質のp53/sestrin 2/AMPK/mTORC1シグナルが脱落膜の細胞老化と酸化ストレスおよびプロスタグランジン産生を抑制して早産を防止する作用を持つことを明らかにしました(図5)<sup>10-13</sup>。研究の成果として、P<sub>4</sub>に加えてメトホルミンまたはレスベラトロールを用いることが早産予防に繋がる可能性が示されました(図5)。ライフスタイルの変化から高年妊娠が増え早産のリスクが上昇している現状を考えると、母体の加齢が早産を起こしやすいという疫学的知見を加齢と関連の深い細胞老化という観点から明らかにした点で意義深く、また妊婦に使用可能なメトホルミンを用いた早産予防の可能性を示した点で臨床応用へつながら可能性がありま

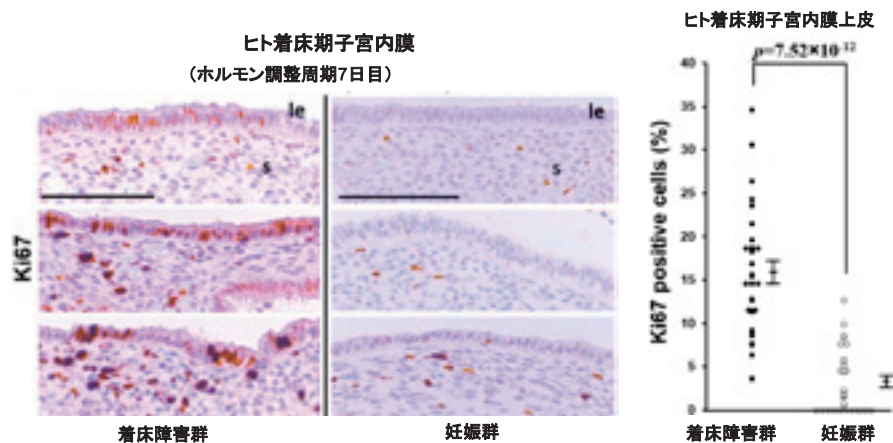


図6. ヒト着床期子宮内膜の細胞増殖 (PDS) は着床能評価に利用できる  
着床障害群では、ヒト着床期子宮内膜上皮の細胞増殖能が亢進する

す。その他に、血管内皮細胞のTLR4と早産との関連とIL-10による予防の可能性を見出しています。これらの研究により、いくつかの治療薬の候補が見出されましたので、今後の臨床研究への発展が期待できると考えています。

### 3) 着床障害の新たな診断法の開発

ヒト子宮内膜におけるPDSの評価として、着床期ヒト子宮内膜組織の細胞増殖をKi67染色で検討したところ、着床障害群で子宮内膜管腔上皮の細胞増殖が持続し、PDS異常が生じていることが明らかになりました(図6)<sup>7</sup>。この結果から、Ki67陽性細胞率を計測することで着床能が評価できる可能性を見出しました。着床期ヒト子宮内膜組織を用いた着床能の分子マーカーの同定を行ったところ、ヒストン修飾に関わるポリコーム複合体PRC2に関連する分子群に変化が認められました。PRC2のヒストンメチル化酵素であるEZH2発現が着床障害群で低下していました。機能解析のため子宮のEzh2欠損マウスを作成したところ着床障害を認めました。EZH2-PRC2-H3K27me3経路をヒト着床能の分子マーカーとして用いることができるかどうかを現在検証中です。次に着床障害の新たな診断方法として、子宮頸部細胞を用いた非侵襲的な着床能のバイオマーカーの確立を行いました。マウスおよびヒトの子宮頸部ではLIF発現が着床期で高いこと、着床障害マウスモデルでは子宮頸部のLIF発現が低下することを見出しており<sup>14</sup>、着床期の子宮頸部細胞を用いた新しい着床能評価法の可能性が明らかになりました。薬剤誘導性の着床障害マウスモデルを用いた着床期マウス子宮頸部細胞の網羅的な解析において着床能に特異的な

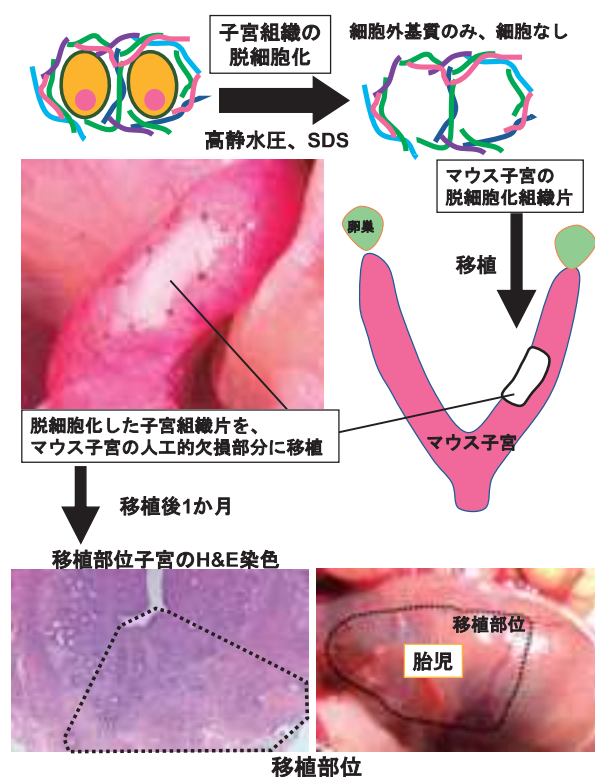


図7. 子宮脱細胞化担体の移植によるマウス子宮の再生法  
脱細胞化担体の移植部位の子宮は完全に再生し、その部位で妊娠が可能である

分子マーカーが同定できており、現在着床期ヒト子宮頸部細胞における着床能の分子マーカーを検討しています。

### 4) 着床障害の新たな治療法の開発

子宮機能が低下した子宮機能を再生し着床を可能にする新規の基盤技術として、高静水圧やSDSを用いて組織から細胞を除去し細胞外基質のみにした脱細胞化担体を用いた子宮再生法を確立しました(図



図8. 子宮腺筋症の病変および正所性子宮内膜における高頻度のKRAS遺伝子変異

7)<sup>15</sup>。脱細胞化担体を用いた再生子宮でも妊娠が正常に経過することや、子宮再生の過程に転写因子STAT3が重要な働きを持つことを明らかにしました。また着床障害の原因となる子宮内細菌叢と慢性子宮内膜炎に対する臨床研究として、子宮内フローラ異常と慢性子宮内膜炎を合併する着床障害患者への乳酸菌陰薬サプリメント投与による子宮内細菌叢改善効果を検証するランダム化比較試験を開始しています（臨床研究実施計画番号jRCTs031220184）。

#### 5) 子宮機能障害を引き起こす子宮腺筋症の研究

着床障害や、不育症・早産を引き起こす疾患として、子宮腺筋症に着目して研究を行いました。子宮腺筋症の網羅的ゲノム解析により、子宮腺筋症病変の6割に体細胞変異が認められ、4割にKRAS変異が認められたことから、子宮腺筋症がゲノム異常を伴う多クローン性増殖疾患であることが世界で初めて示されました（図8）<sup>16</sup>。また、子宮腺筋症患者の正所性子宮内膜の6割にKRAS変異が認められ（図8）<sup>16</sup>、腺筋症の病因・病態へのKRAS変異の関与も示唆されました。さらに、子宮内膜は妊娠・分娩歴があるとKRAS変異を高率に有することから妊娠・分娩とKRAS変異との関連性も明らかになりました。子宮腺筋症の病因として、①子宮内膜と筋層のバリアが破綻して子宮内膜が子宮筋層に浸潤してできるタイプ、②子宮内膜症が子宮漿膜側から子宮筋層へ浸潤してできるタイプ、③発生的なミューラー管由来細胞の遺残が化生して起こるタイプ、の3つが主要なものとして考えられています。子宮腺筋症として臨床的に多く認められるのは①と②であり、③は少数といわれています。臨床的には、③の主なものは筋層側壁に限局性に出血性嚢胞を形成する「嚢胞性子宮腺筋症」と考えられています。この嚢胞性子宮腺筋症をゲノム解析したところ、KRAS変異が認められ

ませんでした。この結果から、③の嚢胞性子宮腺筋症が①②と分子生物学的に異なる性質を持つことが推測されました。今後の子宮腺筋症のゲノム研究の進展により、子宮腺筋症の病因・病態の解析や診断・治療への応用が期待されます。また子宮腺筋症のそのほかの研究として、転写因子STAT3の活性化がヒト子宮腺筋症で恒常的に起こっており、子宮腺筋症マウスモデルでも病変部のSTAT3が活性化していることを見出しました。さらに、子宮のSTAT3欠損マウスを用いて子宮腺筋症マウスモデルを作成したところ病変形成が抑制されたことから、子宮腺筋症の病態形成にSTAT3活性化が関与していることが示されました<sup>17</sup>。抗寄生虫薬Niclosamideには子宮内膜症のSTAT3活性化を抑制する作用があることを見出しており、現在子宮腺筋症病変に対するNiclosamideの効果を検証中です。

### 3. これまでの研究のまとめと今後の展開

基礎研究を初めて学んだ大学院時代から留学前まで、武谷雄二教授および大須賀穰教授のご指導のもと、ヒト月経や排卵現象および子宮内膜症の病態に関わるプロテアーゼ受容体の機能、ヒト栄養膜細胞の子宮内膜への浸潤を調節するサイトカインの作用について研究を行いました。着床研究を追求したいと考えて米国留学し、受け入れ研究者のSudhansu K. Dey教授のもとでマウスモデルを用いて主に着床研究、それに加えて、子宮内膜症や子宮体癌など、産婦人科の広い分野の研究に従事いたしました。留学先では、思いがけず癌抑制遺伝子p53が子宮の生理的機能として分娩に関わることを見出し、そこから端を発して子宮の細胞老化とmTORシグナル、黄体ホルモンシグナルの早産への関与、黄体ホルモン投与とmTORシグナル阻害薬投与による早産予防の可能性を明らかにすることができました。留学後東京

大学に戻ってからは、着床と子宮腺筋症に主軸を置いて研究を行ってきました。着床研究では、胚対位、胚接着、胚浸潤の子宮内膜機能の調節分子を見出すことができました。胚対位ではP<sub>4</sub>-PGRシグナルとPDS、胚接着ではLIF-LIF受容体-STAT3経路、胚浸潤ではHIFとRBを見出しました。胚浸潤に関与する経路として見出したEZH2-PRC2-H3K27me3経路がヒト着床能の分子マーカーとして用いることができるかどうかを現在検証中です。また、着床能回復の新たな手法として、子宮組織の部分再生によって着床能回復を可能にする脱細胞化担体移植法を開発しました。子宮腺筋症に関しては、子宮腺筋症病変や正所性子宮内膜には高頻度にKRAS変異がありプロゲステロン抵抗性の病態形成へ関与していること、子宮腺筋症病変に恒常的なSTAT3活性化が認められ病変形成に関与していることを明らかにし、現在STAT3をターゲットとした治療法への臨床応用を検討しています。これまでの基礎研究の成果により、着床能マーカー、早産予防薬、子宮腺筋症治療薬のシーズを見出ししており、今後トランスレーショナルリサーチとしてこれらの有効性を調べる臨床研究へ発展させていきたいと考えております。これらの研究が、不妊症、不育症、早産などの妊娠関連疾患や子宮腺筋症で苦しむ女性と生まれてくる子どものための一助になるように、さらに研究を進めて参りたいと考えております。最後になりますが、この度の神澤医学賞の受賞にあたり、これまでご指導やご助言を頂いた先生方、共同研究をして頂いた先生方、研究室で一緒に研究を進めてくださった先生方など関係の皆様方すべてにこの場をお借りして深謝申し上げます。

#### 参考文献

1. Haraguchi H, Saito-Fujita T, Hirota Y, et al. MicroRNA-200a locally attenuates progesterone signaling in the cervix, preventing embryo implantation. *Mol Endocrinol.* 2014;28(7):1108-1117.
2. Gebril M, Hirota Y, Aikawa S, et al. Uterine Epithelial Progesterone Receptor Governs Uterine Receptivity Through Epithelial Cell Differentiation. *Endocrinology.* 2020;161(12).
3. Hiraoka T, Hirota Y, Fukui Y, et al. Differential roles of uterine epithelial and stromal STAT3 coordinate uterine receptivity and embryo attachment. *Sci Rep.* 2020;10(1):15523.
4. Matsuo M, Hirota Y, Fukui Y, et al. Levonorgestrel Inhibits Embryo Attachment by Eliminating Uterine Induction of Leukemia Inhibitory Factor. *Endocrinology.* 2020;161(2).
5. Fukui Y, Hirota Y, Saito-Fujita T, et al. Uterine Epithelial LIF Receptors Contribute to Implantation Chamber Formation in Blastocyst Attachment. *Endocrinology.* 2021;162(11).
6. Matsumoto L, Hirota Y, Saito-Fujita T, et al. HIF2alpha in the uterine stroma permits embryo invasion and luminal epithelium detachment. *J Clin Invest.* 2018;128(7):3186-3197.
7. Akaeda S, Hirota Y, Fukui Y, et al. Retinoblastoma protein promotes uterine epithelial cell cycle arrest and necroptosis for embryo invasion. *EMBO Rep.* 2021;22(2):e50927.
8. Hirota Y, Burnum KE, Acar N, et al. Galectin-1 markedly reduces the incidence of resorptions in mice missing immunophilin FKBP52. *Endocrinology.* 2012;153(5):2486-2493.
9. Hirota Y, Cha J, and Dey SK. Revisiting reproduction: Prematurity and the puzzle of progesterone resistance. *Nat Med.* 2010;16(5):529-531.
10. Hirota Y, Daikoku T, Tranguch S, et al. Uterine-specific p53 deficiency confers premature uterine senescence and promotes preterm birth in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(3):803-815.
11. Hirota Y, Cha J, Yoshie M, et al. Heightened uterine mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling provokes preterm birth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(44):18073-18078.
12. Cha J, Bartos A, Egashira M, et al. Combinatory approaches prevent preterm birth profoundly exacerbated by gene-environment interactions. *J Clin Invest.* 2013;123(9):4063-4075.
13. Deng W, Cha J, Yuan J, et al. p53 coordinates decidual sestrin 2/AMPK/mTORC1 signaling to govern parturition timing. *J Clin Invest.* 2016;126(8):2941-2954.
14. Fukui Y, Hirota Y, Aikawa S, et al. Uterine Receptivity is Reflected by LIF Expression in the Cervix. *Reprod Sci.* 2022;29(5):1457-1462.
15. Hiraoka T, Hirota Y, Saito-Fujita T, et al. STAT3 accelerates uterine epithelial regeneration in a mouse model of decellularized uterine matrix transplantation. *JCI Insight.* 2016;1(8).
16. Inoue S, Hirota Y, Ueno T, et al. Uterine adenomyosis is an oligoclonal disorder associated with KRAS mutations. *Nat Commun.* 2019;10(1):5785.
17. Hiraoka T, Hirota Y, Aikawa S, et al. Constant Activation of STAT3 Contributes to the Development of Adenomyosis in Females. *Endocrinology.* 2022;163(5).



## **Abstract**

The mechanism of implantation failure has not been fully elucidated. This article shows the results of our research team to elucidate the cause of implantation failure derived from uterine factors and discuss the direction of our future research. Using genetically modified mouse models, we revealed that progesterone signaling and proliferation-differentiation switching (PDS) in the peri-implantation endometrium are critical for the acquisition of uterine receptivity during embryo apposition. We also found that the LIF-LIF receptor-STAT3 signaling axis controls embryo attachment, and a hypoxia-inducible factor HIF2 $\alpha$  and a cell cycle suppressor RB regulate embryo invasion. In the human peri-implantation endometrium, we revealed that persistent epithelial cell proliferation, which means defected PDS, is associated with implantation failure. As a new technique for recovery of implantation failure, we have developed a decellularized matrix transplantation method that recovers uterine function by regeneration of myometrium. Regarding adenomyosis causing implantation failure, miscarriage and preterm birth, KRAS mutations are frequently observed in the lesion and eutopic endometrium, contributing to the formation of progestin resistance in adenomyosis. We also found that uterine cellular senescence and mTOR signaling cause preterm birth which is prevented by the administration of progesterone and an mTOR inhibitor. Thus, we have discovered the seeds of endometrial biomarkers of implantation capacity, a medical treatment for adenomyosis and therapeutics to prevent premature birth. Based on these findings, I would like to conduct translational research in the near future to help patients who suffer from pregnancy-related diseases such as infertility, miscarriage and premature birth.