

子宮内膜症とアポトーシス抵抗性

－ アポトーシス阻害因子(IAP)の関与 －

谷口 文紀¹⁾、 原田 省²⁾

1) 鳥取大学医学部 生殖機能医学 講師

2) 鳥取大学医学部 生殖機能医学 教授

はじめに

子宮内膜症(endometriosis)は、子宮内膜あるいはその類似組織が子宮外で発育・増殖する疾患であり、主に月経痛と不妊症を引き起こす。子宮内膜症は生殖年齢女性のおよそ10%に発生し、少子・晩婚化と密接に関連する。良性疾患であるにもかかわらず、子宮内膜組織が本来は存在するはずのない異所性(子宮内腔以外の場所)に増殖・進展し、周囲組織と強固な癒着を形成する類腫瘍性格をもつ奇異な疾患である。また、子宮内膜症は、一部の卵巣がんの発生母地になると考えられている。

私どもは、子宮内膜症細胞の異所性生存の合目的「アポトーシス抵抗性」に着目した。子宮内膜症細胞は、正所性子宮内膜細胞に比べて、増殖能が高くアポトーシスを起こしにくい^{1,2)}。生体のホメオスタシス維持に必要な細胞死システム、すなわち、正常の子宮内膜細胞でみられるアポトーシス調節機構の破綻が、子宮内膜症細胞における増殖能や異所性生存の一因と考えられる。子宮内膜症組織では、正常子宮内膜組織よりも、抗アポトーシス因子であるIAP(inhibitor of apoptosis protein)ファミリーの発現が亢進しており、細胞増殖やアポトーシス抵抗性に関与することを報告した^{3,4)}。本稿では、将来の新しい治療ストラテジーの展開を期待して、IAPを分子標的とする薬物療法の可能性について述べる。

子宮内膜症の発症機序と薬物療法

子宮内膜症の発症機序は、いまだ明らかではないが、腹腔内に逆流した月経血中の子宮内膜組織が生着し増殖するという移植説⁵⁾が広く支持されている。異所性の子宮内膜細胞のうちアポトーシスに陥るべき細胞が減少した結果として、子宮内膜症病変が形成されるという機序は合目的的である。しかしながら、移植説だけでは説明できない症例もあり、骨盤腹膜の化生説、血行性・リンパ行性の転移説、あるいはミューラー管遺残説が想定される場合がある。最近では、骨髄由来の幹細胞が子宮内膜細胞に分化することによって発生するという仮説も提唱されている⁶⁾。

子宮内膜症の最も典型的な病変である卵巣チョコレート嚢胞、腹膜病変、直腸・膣周囲の深部内膜症病変が、それぞれ異なる機序によって発生するという説もあり、本症の発生・進展メカニズムを一元的に論ずるのは妥当でない。

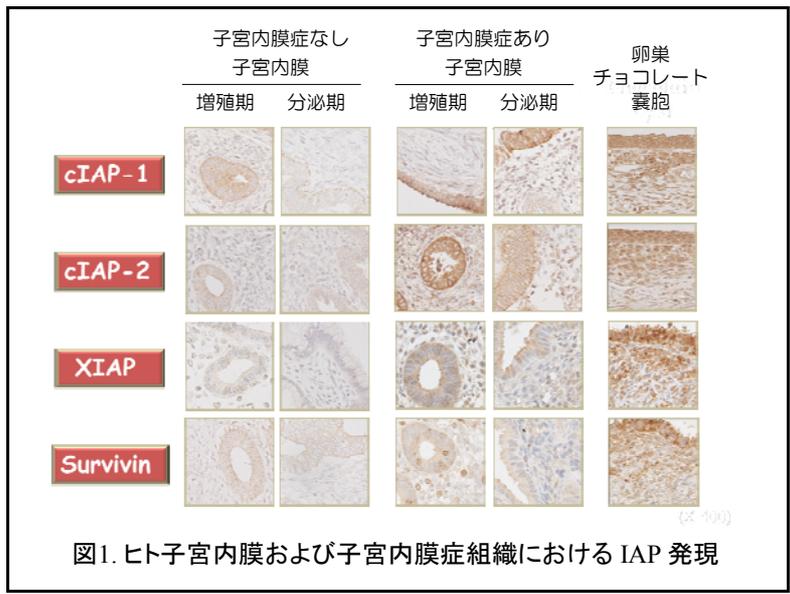
本症はエストロゲン依存性疾患であることから、薬物療法としては、血中エストロゲンの低下や拮抗作用を目的とした GnRH アゴニストによる偽閉経療法や、低用量ピルあるいはプロゲスチン製剤などのホルモン療法が主体である。LEP (low dose estrogen and progestin) 製剤やジェノゲストの登場により、薬剤の選択肢が拡大されたが、いずれも根治性は低いことから長期的な管理が求められる。偽閉経療法では、卵巣欠落症状のために長期投与が難しいこと、本症は再発率が高く難治性であることから、副作用の少ない新しい治療薬の登場が待たれる。

炎症性サイトカイン TNF α と IAP

子宮内膜症は慢性炎症性疾患と考えられている。内膜症患者の腹水中に高濃度存在する炎症性サイトカインの一つである TNF (tumor necrosis factor) α が、子宮内膜症間質細胞の増殖を促進することや、TNF α が誘導する転写因子 NF (nuclear factor) κ B 経路の活性化による IL (interleukin)-8 産生が重要であることを明らかにしてきた^{7,8)}。子宮内膜症組織では IAP ファミリーが発現亢進しており、アポトーシス抵抗性に IAP が重要な役割を有することが考えられた。そこで、ヒト子宮内膜症組織、培養間質細胞、およびマウス内膜症組織における IAP 阻害剤の効果を検討した。さらには、TNF α による IAP 発現に及ぼす影響や NF κ B 経路を介した発現調節について評価した。

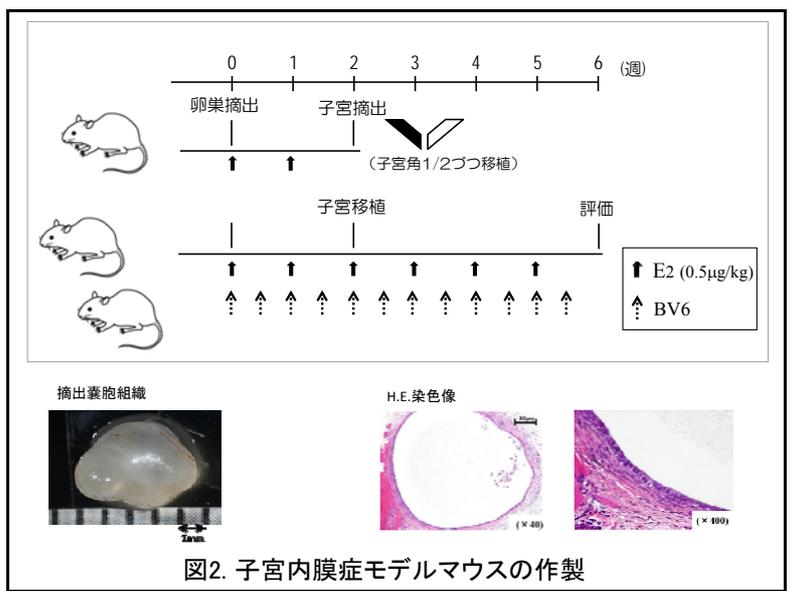
(1) 子宮内膜症組織における IAP 発現

手術時に採取した子宮内膜症を有さない女性の正所性子宮内膜組織、卵巣チョコレート嚢胞を有する内膜症患者の正所性子宮内膜組織、および卵巣チョコレート嚢胞組織を対象とした。各組織における IAP ファミリー (cIAP-1, cIAP-2, XIAP および Survivin) の遺伝子発現量を RT-PCR で、蛋白発現は免疫組織化学染色で評価した。卵巣チョコレート嚢胞組織では正所性子宮内膜組織に比して IAP の発現レベルが高く、チョコレート嚢胞を有する患者の子宮内膜では、内膜症病変を有さない子宮内膜に比べて発現が強かった。免疫組織染色においても、RT-PCR による結果とほぼ同様の成績を得た (図 1)。



(2) モデルマウスを用いた検討

性ホルモン動態を同調させた同系マウスを用いて、子宮組織の腹腔内移植による子宮内膜症動物モデルを作製した。マウス腹腔には、直径 2-8 mm 大のヒト子宮内膜症初期病変に類似した嚢胞状の病巣が形成された⁹⁾。IAP 阻害剤(BV6)を4週間投与したのちに開腹し、腹腔内に形成された子宮内膜症様病巣について評価した(図2)。病巣組織における IAP ファミリーの発現と、BV6 投与によるそれらの発現の抑制を確認した⁴⁾。BV6 投与は、病巣を対照の約 50%に縮小させ、細胞増殖能を示す Ki67 陽性細胞比率を低下させた(図3)。



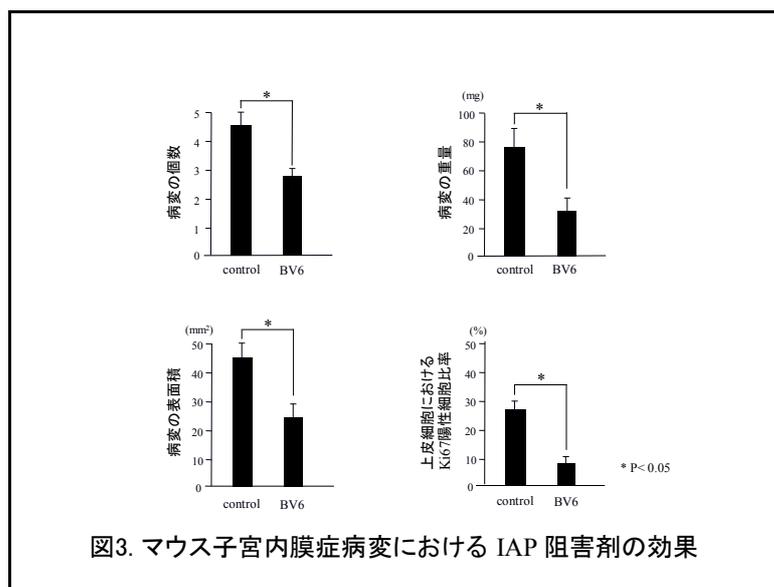


図3. マウス子宮内膜症病変における IAP 阻害剤の効果

(3) 培養子宮内膜症細胞における IAP 発現とその阻害効果

最近、IAP が TNF α 受容体を介して NF κ B と MAPK 経路の活性化を調節することが報告された¹⁰⁾。卵巣チョコレート嚢胞壁由来の内膜症間質細胞培養系への TNF α の添加は、cIAP-2 発現を著明に増加させた (図 4)。BV6 添加による IAP 阻害は、cIAP-1、TNF α が誘導する cIAP-2、および NF κ B の活性化を表す I κ B のリン酸化を抑制した (図 5-AB)。cIAP-2 蛋白は NF κ B 阻害剤 (TPCK) 添加により発現抑制されたが、他のシグナル伝達因子である P38MAPK, ERK1/2 および JNK 阻害剤添加の影響はみられなかった。BV6 添加は、TNF α が誘導する IL-8 蛋白産生と細胞増殖を抑制した (図 6-AB)¹¹⁾。

これらの成績から、IAP ファミリー発現の亢進が、子宮内膜症組織の異所性生存の一因であり、TNF α がその調節を担っていることが示唆された。

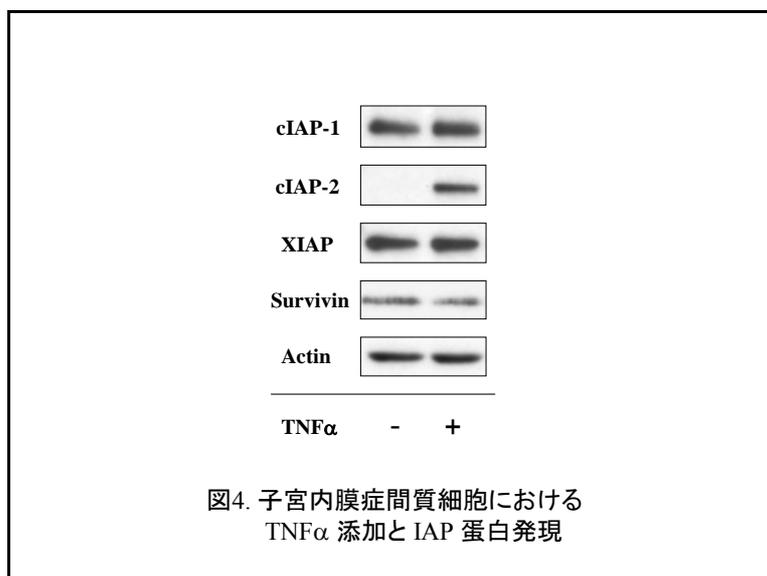
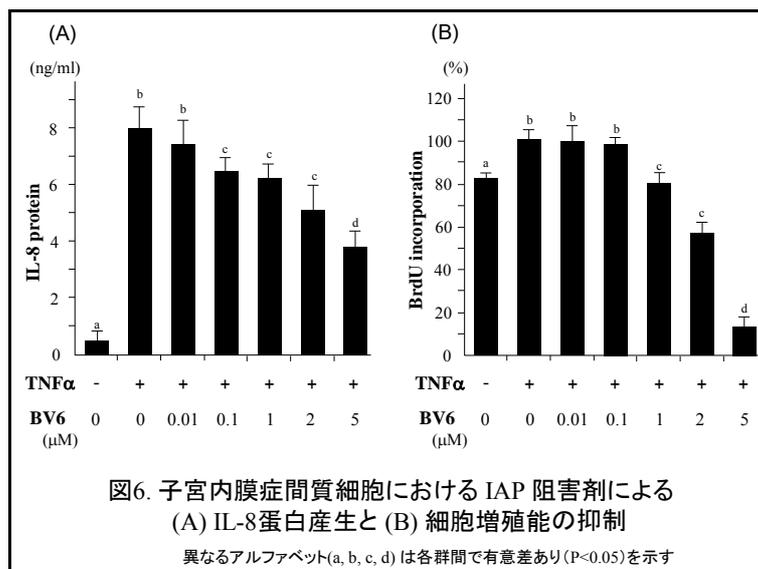
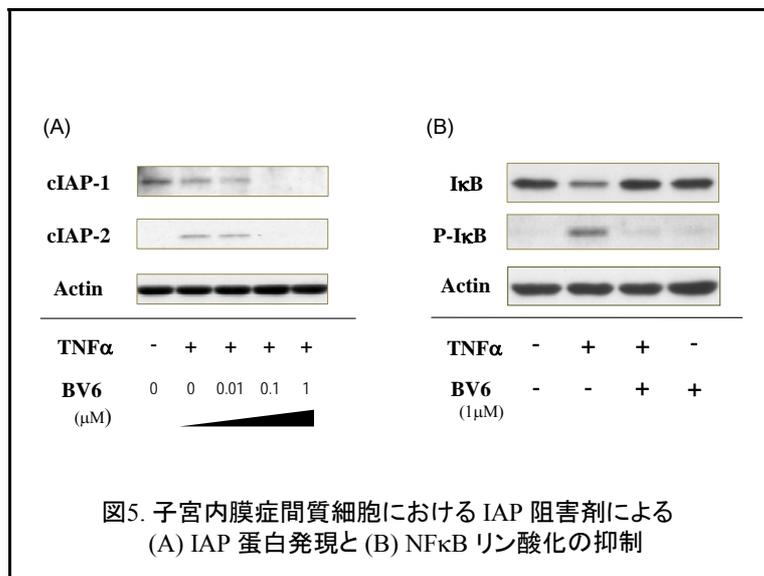


図4. 子宮内膜症間質細胞における TNF α 添加と IAP 蛋白発現



考 察

様々な疾患の発症や進行と、アポトーシス制御機構の異常が関連していることから、アポトーシス関連分子は創薬のターゲットとして注目されている。アポトーシス阻害タンパク質群である IAP ファミリーは、多くの癌組織では過剰発現しており、抗癌剤耐性やアポトーシス抵抗性と相関がある。IAP ファミリーは BIR (baculovirus IAP repeat) ドメインと、ユビキチン化反応・プロテアソームによる分解促進に関与する UBC ドメインを共通して有するアポトーシス阻害タンパク質群である。

一般に、IAPファミリーは正常組織ではほとんど発現がみられず、癌細胞に過剰発現している。また、癌細胞ではカスパーゼ阻害活性が強く、抗癌剤耐性やアポトーシス抵抗性と相関する。図1に示したように、IAPは正所性子宮内膜には、ほとんど発現がないが、子宮内膜症組織では発現が高いことから、癌組織に類似した性格を有すると推測される。子宮内膜症組織が異所性に生着し、病変が形成されてからIAP発現が亢進したのか、あるいは、元々、IAP発現が強くアポトーシス抵抗性を有する子宮内膜組織が、腹腔に逆流して生着したのかは分からないが、いずれにしてもIAPは、子宮内膜症組織で発現亢進しており、病変の生存と発育に促進的に働いていると考えられる。

米国では、前立腺癌や悪性黒色腫などの悪性腫瘍に対して、少なくとも5件のIAP阻害剤の臨床試験が進められており、薬剤の副作用は軽微であったことが報告されている^{12, 13)}。IAP阻害剤の一つであるBV6は、ホルモン作用を有さず、主にcIAP-1, cIAP-2 およびXIAPの発現を阻害する。これら3つのIAPは、ヒト子宮内膜症組織で発現が高いことから（図1）、BV6は子宮内膜症治療薬として期待できる。また、IAPノックアウトマウスは表現型にほとんど異常がなく、IAP阻害剤では大きな副作用は報告されていない。

本研究では、ヒト子宮内膜症組織および培養間質細胞系に加えて、モデルマウスを用いてIAP阻害剤の効果を検証した。未だ悪性腫瘍に対する検討しかなされていないが、子宮内膜症の新たな治療戦略の一つとして、IAP阻害による薬物療法が期待できると考えられた。良性疾患である子宮内膜症治療においては、副作用が少なく、卵巣毒性のない薬剤が理想的であるが、これは大きな障壁である。これらを克服して新規薬剤を開発するためには、子宮内膜症の病態と薬物の作用機序を詳しく検討することが必要である。

【引用文献】

- 1) Taniguchi F, et al. Apoptosis and endometriosis. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011, 1; 3: 648-62.
- 2) Izawa M, et al. Drug-induced apoptosis was markedly attenuated in endometriotic stromal cells. *Hum Reprod*. 2006; 21 (3): 600-4.
- 3) Watanabe A, Taniguchi F, et al. The role of survivin in the resistance of endometriotic stromal cells to drug-induced apoptosis. *Hum Reprod*. 2009; 24(12): 3172-9.
- 4) Uegaki T, Taniguchi F, et al. Inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) may be effective therapeutic targets for treating endometriosis. *Hum Reprod*. 2015, 30(1): 149-58.
- 5) Sampson, JA: Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 1927, 14: 422-69.
- 6) Du H, et al. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. *Stem Cells* 2007, 25: 2082-86.
- 7) Kaponis A, et al. The role of NF κ B in endometriosis. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011, 1; 4: 1213-34.
- 8) Sakamoto Y, et al. Tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 (IL-8) expression in endometriotic stromal cells, probably through NF- κ B activation: gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced IL-8 expression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 730-5.
- 9) Takai E, Taniguchi F, et al. Parthenolide reduces cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis in human endometriotic stromal cells and inhibits development of endometriosis in the murine model. *Fertil Steril*. 2013, 100(4): 1170-8.
- 10) Varfolomeev E, et al. Cellular inhibitors of apoptosis are global regulators of NF- κ B and MAPK activation by members of the TNF family of receptors. *Sci Signal*. 2012, 20; 5 (216): ra22.
- 11) Taniguchi F, et al. The cellular inhibitor of apoptosis protein-2 is a possible target of novel treatment for endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2014; 71: 278-85.
- 12) Almagro MC, et al. Inhibitor of apoptosis (IAP) proteins are critical regulators of signaling pathways and targets for anti-cancer therapy. *Exp Oncol*, 2012, 34 (3): 200-11.
- 13) Fulda S, et al. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11: 109-24.