

子宮内膜症における PGRMC1の発現と プロゲステロン反応性への関与

和泉 祐子, 垂水 洋輔, 沖村 浩之, 片岡 恒, 伊藤 文武, 森 泰輔

京都府立医科大学大学院医学研究科 女性生涯医科学

はじめに

子宮内膜症は、子宮腔外に子宮内膜様組織が異所性に存在することを特徴とする疾患であり、月経困難症、慢性骨盤痛、不妊症を引き起こす。生殖年齢女性の約10%が罹患し、治療はホルモン療法、手術、不妊治療などが症状やライフステージに応じて選択される。エストロゲン依存性疾患のため、薬物療法としてはエストロゲン産生を抑制するホルモン療法が用いられ、副作用が比較的軽微なことから主にプロゲステリン系治療—低用量エストロゲン・プロゲステリン配合薬や各種プロゲステリン製剤—が使用されるが、奏効率は約66%、術後再発率は22-56%と、治療抵抗性や術後再発を認める症例は多い¹⁾。この治療抵抗性は子宮内膜症病巣のプロゲステロン反応性の低下（プロゲステロン抵抗性）によるものとされ、プロゲステロン受容体（PR）の発現低下や脱落膜化刺激およびプロゲステリン刺激への反応性低下が要因となる。PR発現異常のメカニズムについてはプロモーターのメチル化によるPR-Bの発現低下²⁾などが原因として示唆される。プロゲステロン反応性の低下は、インスリン様成長因子結合タンパク質1（IGFBP1）やプロラクチン（PRL）などのプロゲステロン標的遺伝子の転写異常、脱落膜化刺激に対する細胞の形態変化の欠如が特徴とされ³⁾コシヤペロンFKBP57などのPR活性化を補助する因子の低下⁴⁾やmicroRNAの発現異常⁵⁾、シグナル伝達経路の異常⁶⁾などいくつかの要因が提唱されている。しかし、プロゲステロン抵抗性は依然として治療上の大きな障壁であり、新たな視点が求められる。

膜型プロゲステロン受容体である Progesterone Receptor Membrane Component 1 (PGRMC1) は、分子量25 kDa、195のアミノ酸から成る膜一回貫通型タンパク質で、膜関連PRファミリーに属し、プロゲステロン(P4)への親和性を有する⁷⁾。胚細胞系・体細胞系の幅

広い細胞に分布し、細胞膜、粗面小胞体、ミトコンドリア、核、核小体に局在し⁸⁾、細胞増殖、ステロイド合成調節、酸化ストレス応答など多様なシグナル経路に関与することから、がん、内分泌・代謝疾患、さらには生殖細胞領域などでも研究対象として近年注目を集めている⁹⁾。ヒト正常子宮内膜間質細胞では、PGRMC1の発現は増殖期に上昇し、分泌期に低下する¹⁰⁾。また、*in vitro*の実験系において、子宮内膜間質細胞のPGRMC1を阻害しプロゲステロンやcAMPによる脱落膜化刺激を与えるとIGFBP-1、PRLなどの脱落膜化マーカーの発現が亢進することが報告されている^{11,12)}。このことは、PGRMC1が子宮内膜の脱落膜化過程におけるプロゲステロンシグナルを調節し、PGRMC1の抑制がプロゲステロン応答性を亢進させることを示唆するものであるが、子宮内膜症におけるPGRMC1の発現と役割についてはほとんど明らかになっていない。本研究は子宮内膜症におけるPGRMC1のプロゲステロン応答性への関与について解明することを目的とし、卵巣子宮内膜症(ovarian endometrioma; OE)におけるPGRMC1の発現および局在を、正常子宮内膜(normal endometrium; NE)および子宮内膜症患者の子宮内膜(endometrium of endometriosis; EE)と比較して解析した。さらに、*in vitro*でPGRMC1を阻害した際の卵巣子宮内膜症間質細胞(OESCs)のプロゲステロン反応性について検証した。

正常子宮内膜および子宮内膜症患者の子宮内膜、 卵巣子宮内膜症における PGRMC1の発現

NE、EE、OEにおける上皮(ECs)および間質(SCs)、月経周期ごとの発現の違いを検討するため、手術検体を用いて免疫組織化学染色を行った。その結果、NESCsでのPGRMC1の発現は増殖期に増加し分泌期に有意に低下した。一方でEESCesではPGRMC1の発現は増殖期に有意に増加するが、分泌期には低下しにくい傾向があり、これらは以前に報告された結果と同様であった¹⁰⁾。これに対し、OESCsでは月経周期を通じてPGRMC1の

連絡先：和泉祐子 京都府立医科大学大学院医学研究科
女性生涯医科学
〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路 梶井町465
E-mail: tamuray@koto.kpu-m.ac.jp

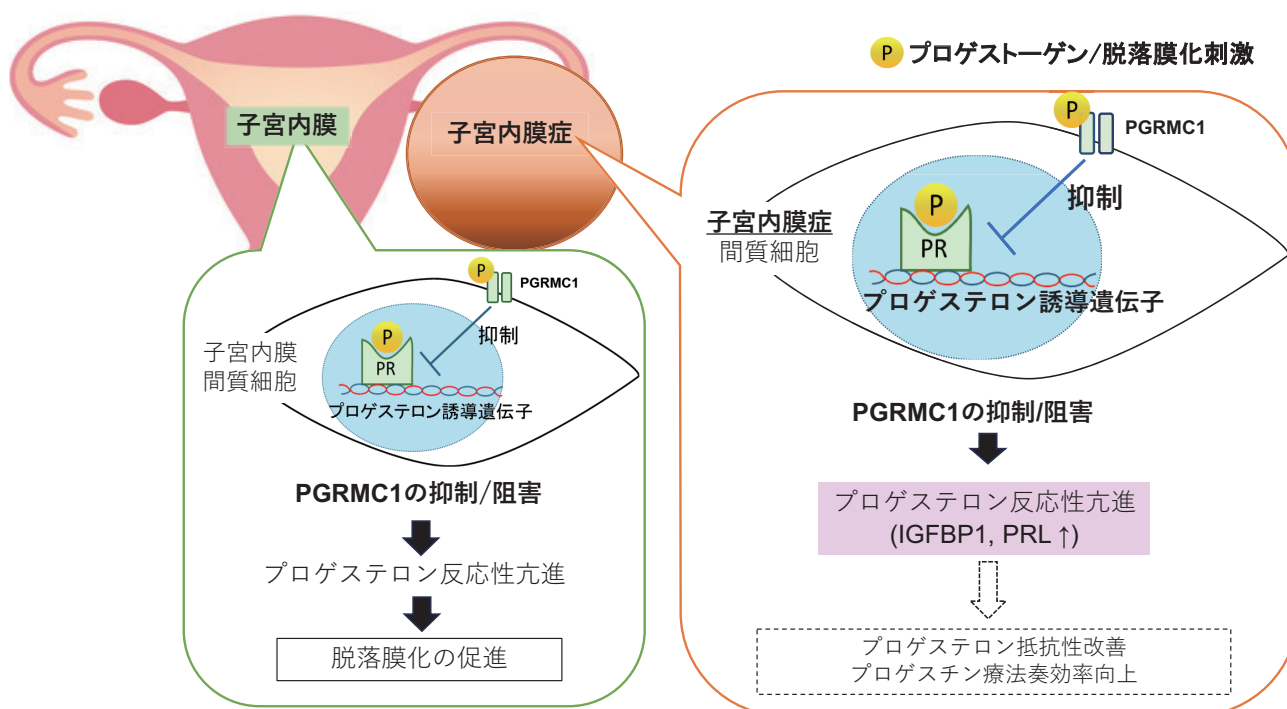


図1 正常子宮内膜と子宮内膜症における PGRMC1 のプロゲステロン反応性への関与

発現が一定であり増殖期の上昇も分泌期の減少も認められず月経周期のいずれにおいても差がなく、恒常的な発現であった。上皮においては NE, EE, OE のいずれの群でも月経周期を通じて PGRMC1 の発現に有意差は認められなかった。また、OESCs において PGRMC1 と PR の発現に相関関係は認められなかった。

卵巣子宮内膜症間質細胞(OESCs)におけるPGRMC1の抑制/阻害はプロゲステロン誘導遺伝子の発現を亢進させる

免疫染色の結果より、OESCs では NE および EESCs と異なり、月経周期を通じた PGRMC1 は発現に差がなく、その恒常的な発現がプロゲステロン抵抗性に関与している可能性が考えられた。この仮説を検証するため、卵巣子宮内膜症細胞より初代培養した間質細胞を用いて *in vitro* の検証を行った。siRNA による knock down または PGRMC1 阻害薬 (AG205) を用いて PGRMC1 発現を抑制/阻害した後、dienogest (DNG) と cAMP を併用して刺激を行った。その結果、PGRMC1 を抑制/阻害した状態で DNG+cAMP 刺激を加えると、プロゲステロン誘導遺伝子である IGFBP1 および PRL の発現レベルはいずれも有意に増加した。このことから、OESCs において PGRMC1 の抑制および阻害はプロゲステロン

反応性を亢進させる可能性が示唆された。

OESCs において PGRMC1 抑制/阻害によるプロゲステロン誘導遺伝子の発現亢進は PR 依存的な変化である

次に PR と PGRMC1 の関係について明らかにするため、PR 阻害剤 (RU486) を併用してプロゲステロン刺激 (DNG 単独添加) を行った。RU486 は PR アンタゴニストであるが cAMP 存在下ではアゴニスト様作用を示すことがわかっているため、プロゲステロン刺激は DNG 単独で実施した。また、長期培養では siRNA の効果維持が困難なため、PGRMC1 抑制には AG205 のみを使用した。その結果、DNG 刺激下において AG205 による PGRMC1 阻害は IGFBP1 発現を有意に上昇させたが、RU486 で PR を阻害すると、この IGFBP1 発現上昇は認められなかった (図1)。このことから、PGRMC1 は PR にプロゲステロンが作用した後の反応を阻害している可能性が示された。

まとめ

子宮内膜症の病態形成およびプロゲステロン抵抗性において、PR の役割についてはさまざまな報告があるが、

子宮内膜症における PGRMC1 の役割はほとんど解明されていない。NESC s では PGRMC1 の発現亢進によりプロゲステロン誘導遺伝子の発現が低下し、脱落膜化障害をきたすことが知られている。さらに PGRMC1 を抑制すると逆の変化が生じることも報告されており、PGRMC1 はプロゲステロンシグナルを調整する因子であり、PGRMC1 の抑制は、プロゲステロン応答性を高める可能性が示唆されている。今回の検討において OESC s では月経周期による PGRMC1 の周期的な発現低下が見られないことがわかり、このことがプロゲステロン反応性の低下に寄与しているのではないかと考える。実際、OESC s を用いた *In vitro* 実験系でも、PGRMC1 の抑制・阻害は PR 依存的にプロゲステロン誘導遺伝子の発現を亢進させた。以上から、子宮内膜症においても PGRMC1 の抑制がプロゲステロン応答性を亢進させ、子宮内膜症病巣のプロゲステロン抵抗性を改善する可能性が示唆された。

引用文献

1. Tang HC, Lin TC, Wu MH, Tsai SJ (2024) Progesterone resistance in endometriosis: A pathophysiological perspective and potential treatment alternatives. *Reprod Med Biol.* 23 (1) : e12588.
2. Toshio M Igarashi I, Kaylon L Bruner-Tran, Grant R Yeaman, Bruce A Lessey, Dean P Edwards, Esther Eisenberg, Osteon KG (2005) Reduced expression of progesterone receptor-B in the endometrium of women with endometriosis and in cocultures of endometrial cells exposed to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fertil Steril.* 84 (1) : 67-74.
3. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, Innes J, Kim JJ (2006) Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol.* 248 (1-2) : 94-103.
4. Hirota Y, Tranguch S, Daikoku T, Hasegawa A, Osuga Y, Taketani Y, Dey SK (2008) Deficiency of immunophilin FKBP52 promotes endometriosis. *Am J Pathol.* 173 (6) : 1747-57.
5. Aoyagi Y, Nasu K, Kai K, Hirakawa T, Okamoto M, Kawano Y, Abe W, Tsukamoto Y, Moriyama M, Narahara H (2017) Decidualization Differentially Regulates microRNA Expression in Eutopic and Ectopic Endometrial Stromal Cells. *Reprod Sci.* 24 (3) : 445-55.
6. Dutta S, Lee J, Banu SK, Arosh JA (2024) Dual inhibition of AKT and ERK1/2 pathways restores the expression of progesterone Receptor-B in endometriotic lesions through epigenetic mechanisms. *Mol Cell Endocrinol.* 592 : 112290.
7. Wendler A, Wehling M (2022) Many or too many progesterone membrane receptors? Clinical implications. *Trends Endocrinol Metab.* 33 (12) : 850-68.
8. McGuire MR, Espenshade PJ (2023) PGRMC1: An enigmatic heme-binding protein. *Pharmacol Ther.* 241 : 108326.
9. Pedroza DA, Rajamanickam V, Subramani R, Bencomo A, Galvez A, Lakshmanaswamy R (2020) Progesterone receptor membrane component 1 promotes the growth of breast cancers by altering the phosphoproteome and augmenting EGFR/PI3K/AKT signalling. *Br J Cancer.* 123 (8) : 1326-35.
10. Thieffry C, Van Wynendaele M, Samain L, Tyteca D, Pierreux C, Marbaix E, Henriot P (2022) Spatiotemporal expression pattern of Progesterone Receptor Component (PGRMC) 1 in endometrium from patients with or without endometriosis or adenomyosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 223 : 106153.
11. Tsuru A, Yoshie M, Kojima J, Yonekawa R, Azumi M, Kusama K, Nishi H, Tamura K (2022) PGRMC1 Regulates Cellular Senescence via Modulating FOXO1 Expression in Decidualizing Endometrial Stromal Cells. *Biomolecules.* 12 (8).
12. Salsano S, Quinonero A, Perez S, Garrido Gomez T, Simon C, Dominguez F (2017) Dynamic expression of PGRMC1 and SERBP1 in human endometrium: an implication in the human decidualization process. *Fertil Steril.* 108 (5) : 832-42 e1.