

平成23年2月

周防加奈 学位論文審査要旨

主査 汐田剛史
副主査 渡邊達生
同 原田省

主論文

Apigenin inhibits tumor necrosis factor α -induced cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by inactivating NF κ B in endometriotic stromal cells
(アピゲニンはTNF α により誘導される子宮内膜症間質細胞の増殖とプロスタグランジンE2産生をNF κ Bの不活化により抑制する)

(著者：周防加奈、谷口文紀、田頭由紀子、木山智義、寺川直樹、原田省)

平成23年 Fertility and Sterility 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Apigenin inhibits tumor necrosis factor α -induced cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by inactivating NF κ B in endometriotic stromal cells
(アピゲニンはTNF α により誘導される子宮内膜症間質細胞の増殖とプロスタグランジン E2産生をNF κ Bの不活化により抑制する)

疼痛と不妊を主症状とする子宮内膜症の病因は未だ明らかではないが、腹腔内局所の炎症が本症の病態に重要な役割を果たすと考えられている。これまでに、内膜症合併不妊症患者の腹水中には、tumor necrosis factor α (TNF α)、interleukin-6 (IL-6)、IL-8などの炎症性サイトカインが高濃度に存在すること、TNF α は転写因子nuclear factor kappa B (NF κ B) を介して子宮内膜症間質細胞からのIL-8産生を誘導することにより、細胞増殖を促進することを報告してきた。

植物性フラボノイドの一つであるapigeninが、細胞増殖や炎症の抑制といった多彩な作用を有することが注目されている。本研究では、apigeninが子宮内膜症間質細胞の増殖と、疼痛の原因となるprostaglandin E2 (PGE2) 産生に及ぼす影響について検討することを目的とした。

方 法

倫理委員会の承認と患者の同意を得て、手術時に採取した卵巣チョコレート嚢胞壁から子宮内膜症間質細胞を分離培養した。Apigenin (10-100 μ M) で前処理した子宮内膜症間質細胞にTNF α (0.1 ng/ml) を添加、培養した。細胞増殖への影響はBrdU-ELISAにより評価した。IL-8とcyclooxygenase-2 (COX-2) の遺伝子発現量はreal-time RT-PCR法で定量した。培養上清中のIL-8とPGE2の蛋白濃度はELISAで測定した。また、細胞内シグナル伝達分子であるinhibitor NF κ B (I κ B)、c-Jun N-terminal protein kinase1/2 (JNK1/2)、P38 mitogen-activated protein kinase (P38MAPK)、およびextracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) のリン酸化をWestern blot法で、NF κ Bの活性化は核内p65蛋白濃度をELISAで測定して評価した。

結 果

apigeninを添加すると、TNF α により誘導された子宮内膜症間質細胞の増殖は有意に抑制

された。apigenin添加は、TNF α 誘導性のIL-8遺伝子ならびに蛋白発現を低下させ、COX-2遺伝子およびPGE2蛋白発現を抑制した。なお、COX-1遺伝子発現には、TNF α およびapigenin添加の影響はみられなかった。また、apigeninは、TNF α により増強されたリン酸化JNK1/2、P38、およびERK1/2蛋白発現には影響を及ぼさなかったが、リン酸化I κ B蛋白発現を減弱させ、核内p65蛋白濃度を減少させた。

考 察

子宮内膜症の薬物治療としては、gonadotropin releasing hormone (GnRH) アゴニスト、低用量ピル、あるいはプロゲステロン製剤などが用いられているが、治療後の再発率が高く、副作用としての卵巣欠落症状や骨量減少などが問題となっている。そこで、副作用がなく長期にわたって使用できる新しい薬物療法が求められている。

近年、植物性フラボノイドの疾病予防および治療効果が注目されている。apigeninはパセリ、セロリ、オレンジ、ハーブなど様々な野菜や果物に含まれるフラボノイドの一つであり、細胞増殖抑制作用、抗炎症作用あるいは抗酸化作用を有することが知られている。最近、myricetinやluteolinなどの5種類のフラボノイドを摂取させた検討で、apigenin摂取群のみで卵巣癌の発症リスクが低下したという興味深い報告がなされた。一方で、フラボノイドを豊富に含む食事の摂取量と、卵巣癌発生率との間には関連がなかったという報告もあり、更なる研究成績の蓄積が必要である。これまでに、乳癌、大腸癌あるいは皮膚癌においてapigeninの細胞増殖抑制効果が示されている。その分子メカニズムとしては、COX-2やTNF α 発現の抑制、G2/M停止による細胞周期の調節などが知られている。しかしながら、子宮内膜症細胞におけるフラボノイドの効果を検討した成績は報告されていない。

本研究では、TNF α がNF κ B経路を介して、子宮内膜症間質細胞由来のCOX-2遺伝子とPGE2蛋白産生を促進することを初めて示した。さらに、apigeninは子宮内膜症間質細胞のIL-8発現を低下させ細胞増殖抑制作用を示すこと、COX-2-PGE2経路を抑制し抗炎症効果を有することを明らかにした。apigeninの添加がリン酸化I κ B蛋白発現を抑制し、p65蛋白の核内移行を抑制したことにより、apigeninの作用はNF κ B経路を介して作用することが示唆された。

結 論

apigeninはNF κ B経路を介して子宮内膜症間質細胞の増殖を抑制すること、COX-2発現を減弱させてPGE2産生を抑制することを初めて明らかにした。これらの成績から、apigeninが子宮内膜症に対する新規治療薬となる可能性が示唆された。