

氏 名	やまうち のぶひろ 山 内 延 広
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	甲第483号
学位授与年月日	平成16年 9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学 位 論 文 題 目	Tumor necrosis factor α induced the release of interleukin-6 from endometriotic stromal cells via the nuclear factor κ B and mitogen-activated protein kinase pathways (子宮内膜症間質細胞における NF- κ B と MAPK を介する TNF α の IL-6 産生誘導)
学位論文審査委員	(主査) 大野 耕 策 (副査) 井 藤 久 雄 寺 川 直 樹

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

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ない。近年、子宮内膜症患者の腹腔内環境が本症の病態に関与することが示唆されている。著者らは、子宮内膜症合併不妊症患者の腹水中には高濃度の Tumor necrosis factor α (TNF α) および Interleukin-6 (IL-6) が存在すること、TNF α は子宮内膜症間質細胞に作用して IL-6 産生を誘導することを報告してきた。IL-6 は初期胚発生や精子運動能を低下させ、妊孕性低下に関与することが示唆されている。TNF α は TNF α 受容体を介して転写因子 NF- κ B を活性化する経路と、MAPK を活性化する経路によって作用を発揮することが知られている。したがって本研究では、子宮内膜症間質細胞の IL-6 産生における TNF α のシグナル伝達機構について検討した。

研究対象と方法

患者の同意のもと、手術時に採取した卵巣チョコレート嚢胞壁から内膜症間質細胞を Osteen らの方法を用いて分離培養した。TNF α (0.1ng/ml)の単独添加、NF- κ B 阻害剤である TPCK (10^{-5} M)または MAPK 阻害剤である U0126 (10^{-5} M)の併用添加後の培養間質細胞における IL-6 産生を ELISA で検討した。シグナル伝達については、I κ B α のリン酸化と degradation および Erk1/2 のリン酸化を Western blotting で検索した。MAPK 経路の主要な核内転写因子である AP-1 の活性化を Electrophoretic mobility shift assay で検討した。

成 績

TNF α の添加は内膜症間質細胞のIL-6産生を誘導した。TPCKならびにU0126の添加は、TNF α 添加によるIL-6産生誘導を抑制した。TNF α 添加5分から20分後に、I κ B α のリン酸化とdegradationが観察された。TNF α 添加5分後よりERK1/2のリン酸化がみられた。TNF α 添加によりAP-1の発現が誘導され、U0126の併用添加はその発現を低下させた。

考察と結論

TNF α は種々の細胞においてサイトカイン誘導作用を有する。TNF α の作用は炎症のキーマediatorであるTNF α を介することが知られている。NF- κ Bは細胞質内ではI κ B α と複合体を形成し、核移行シグナルはマスクされる。炎症性刺激によりI κ B α がリン酸化されると、NF- κ Bは遊離して核内に移行し、炎症性サイトカインや活性酸素産生に働く酵素の遺伝子発現を誘導する。子宮内膜症細胞において、TNF α の添加はIL-8遺伝子と蛋白発現を増加させ、NF- κ Bを活性化することを以前に報告した。

今回、内膜症間質細胞のIL-6産生におけるTNF α のシグナル伝達機構を明らかにするため、NF- κ BとMAPK経路について検討した。TNF α の添加によりIL-6蛋白の産生は増加し、TNF α とNF- κ B阻害剤またはMAPK阻害剤の併用添加はIL-6蛋白の産生を抑制した。MAPK経路にはいくつかの経路が知られているが、本研究ではERK1/2を介する経路について検討した。TNF α 添加によりERK1/2のリン酸化が認められ、さらにMAPK経路の核内転写因子のひとつであるAP-1の活性化が観察された。その活性化はERK1/2阻害剤であるU0126添加により減弱したことから、TNF α によるIL-6の産生はNF- κ Bを介する経路だけではなく、MAPK経路も関与することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

炎症性サイトカインであるTNF α は子宮内膜症病変においてIL-6の産生を誘導し、IL-6は初期胚発生や精子運動能を阻害することで妊孕性低下に関与することが示唆されている。本研究では、子宮内膜症間質細胞のIL-6産生におけるTNF α のシグナル伝達機構を検討した。その結果、TNF α は転写因子NF- κ Bを活性化する経路とMAPKを活性化する経路を介して内膜症間質細胞のIL-6産生を誘導することが明らかとなった。

本研究は新知見に富むものであり、その結果は生殖内分泌学研究に貢献するとともに学術の水準を高めたものと認める。