

平成 21 年 3 月

## 宮本綾子 学位論文審査要旨

主 査 神 崎 晋  
副主査 紀 川 純 三  
同 原 田 省

### 主論文

TNF $\alpha$  gene silencing reduced lipopolysaccharide-promoted proliferation of endometriotic stromal cells

(子宮内膜症細胞におけるTNF $\alpha$ 遺伝子の抑制はLPS誘導性の細胞増殖を低下させる)

(著者：宮本綾子、谷口文紀、田頭由紀子、渡邊彩子、原田省、寺川直樹)

平成21年 American Journal of Reproductive Immunology 掲載予定

# 学 位 論 文 要 旨

## TNF $\alpha$ gene silencing reduced lipopolysaccharide-promoted proliferation of endometriotic stromal cells

(子宮内膜症細胞におけるTNF $\alpha$ 遺伝子の抑制はLPS誘導性の細胞増殖を低下させる)

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関与することが示唆されている。これまでに内膜症患者の腹水中には Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) などの炎症性サイトカインが高濃度に存在することを報告した。また、炎症惹起作用のある lipopolysaccharide (LPS) は培養子宮内膜症間質細胞の増殖を促進することを明らかとした。

本研究では、内膜症間質細胞においてTNF $\alpha$ 遺伝子の発現抑制が、LPS添加により誘導される遺伝子発現と細胞増殖に与える影響を検討した。

### 方 法

患者の同意を得て、卵巣チョコレート嚢胞壁および摘出子宮より内膜症間質細胞と子宮内膜間質細胞を分離培養した。LPS (10 ng/ml) を添加した際の、内膜症間質細胞におけるTNF $\alpha$ の遺伝子発現量をreal time RT-PCRで、培養上清中の蛋白発現量をELISAで測定した。Lipofectine法によりTNF $\alpha$ に特異的なsmall interfering RNA (siRNA) を内膜症間質細胞に導入した。LPSを添加した内膜症間質細胞においてTNF $\alpha$ 遺伝子を抑制した際の、84のシグナル伝達経路関連遺伝子の発現をcDNA-PCRアレイを用いて網羅的に検索した。TNF $\alpha$ 遺伝子の抑制により発現の低下を認めた遺伝子の発現量をreal time RT-PCRで、蛋白発現量をELISAにて検討した。細胞増殖能はBrdU-ELISAにより評価した。

### 結 果

LPSの添加は、内膜症間質細胞におけるTNF $\alpha$ 遺伝子および蛋白発現を増加させたが、TNF $\alpha$ -siRNAの導入により、TNF $\alpha$ 遺伝子および蛋白発現は対照と比較して有意に低下した。LPSを添加した内膜症間質細胞における遺伝子発現の検索では、TNF $\alpha$ 遺伝子の抑制により10のシグナル関連遺伝子の発現が減弱した。そのうちNuclear factor kappa B (NF $\kappa$ B) 経路関連遺伝子であるInterleukin-8 (IL-8) とcellular Inhibitor of apoptosis protein-2

(cIAP-2) について着目した。LPS添加で増加したIL-8遺伝子と蛋白発現ならびにcIAP-2の遺伝子発現は、TNF $\alpha$ -siRNA導入により有意に低下した。LPSの添加およびTNF $\alpha$ 遺伝子の抑制は、他のIAPファミリー(cIAP-1、XIAP、survivin)の遺伝子発現には影響を及ぼさなかった。内膜症間質細胞でみられたLPS誘導性のIL-8およびcIAP-2遺伝子発現の増加は、子宮内膜間質細胞ではみられなかった。LPS添加により促進された内膜症間質細胞のBrdU取り込み量は、TNF $\alpha$ 遺伝子の抑制により低下した。

## 考 察

子宮内膜症の病因として、腹腔内マクロファージから産生されるサイトカインの増加が知られている。著者らは、培養子宮内膜症細胞自体からもIL-8等の炎症性サイトカインが産生されることを見出した。さらに、炎症性サイトカインの産生誘導にはTNF $\alpha$ の作用とその下流のNF $\kappa$ B経路の活性化が重要であることを報告した。また、子宮内膜症細胞はアポトーシス抵抗性を有し、このことが異所性生存に有利に働くと考えられている。

本研究では、TNF $\alpha$ 遺伝子の抑制により、内膜症細胞増殖促進作用のあるIL-8の発現ならびに抗アポトーシス作用のあるcIAP-2の発現が減少し、さらには細胞増殖が低下した。したがってTNF $\alpha$ 、IL-8およびcIAP-2遺伝子の発現は、内膜症細胞の異所性生存に関与する可能性が示された。

抗TNF $\alpha$ 抗体はすでに臨床応用され、炎症性疾患である関節リウマチやクローン病の新しい治療法となっている。またヒヒの内膜症モデルにおいて、病変縮小効果が報告されている。これらの成績や知見により、抗TNF $\alpha$ 療法が子宮内膜症に対する新たな治療法となる可能性が示唆された。

## 結 論

TNF $\alpha$ はNF $\kappa$ B経路を介して炎症性サイトカインや抗アポトーシス因子を産生し、子宮内膜症の増殖・進展を促すと考えられた。