

氏名	つきはら さとる 月原 悟
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第497号
学位授与年月日	平成17年 3月11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	Interleukin-1 β -induced expression of IL-6 and production of human chorionic gonadotropin in human trophoblast cells via nuclear factor- κ B activation (ヒト絨毛細胞における NF- κ B を介する IL-1 β の IL-6 発現と hCG 産生誘導)
学位論文審査委員	(主査) 神崎 晋 (副査) 重政千秋 寺川直樹

学位論文の内容の要旨

ヒト胎盤は様々なホルモンや成長因子およびサイトカインを産生する。ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) は初期絨毛から産生される最も重要なホルモンのひとつであり、その産生分泌は GnRH や性ステロイドホルモンおよびサイトカインにより調節されている。IL-1 β は絨毛細胞の IL-6 産生を促すことにより hCG 産生を誘導することが報告されているが、その調節機序については不明である。転写因子 NF- κ B は炎症反応の主要なメディエーターであり、サイトカインの産生は NF- κ B を介して行われる。本研究では、絨毛細胞の hCG 産生におけるこれらサイトカインの作用と NF- κ B の関与について検討した。

研究対象と方法

ヒト絨毛癌細胞株 BeWo を絨毛細胞モデルとした。BeWo 細胞における IL-1 β 、IL-1 受容体、IL-6 受容体および gp130 の遺伝子発現を RT-PCR で検索した。IL-1 β (0-10ng/ml) の単独、IL-1 β (10ng/ml) と IL-1 受容体アンタゴニスト (IL-1Ra) あるいは NF- κ B 阻害剤 (TPCK) または抗 IL-6 抗体とを併用添加し、培養細胞上清中の IL-6 濃度を ELISA で、hCG 産生を RIA で測定した。IL-1 β 添加後のリン酸化 I κ B の発現を Western blotting で、NF- κ B の活性化を Electrophoretic mobility shift assay で検討した。

成績

BeWo 細胞において IL-1 β の遺伝子発現は観察されなかったが、IL-1 受容体、IL-6 受容体および gp130 の遺伝子発現を認めた。IL-1 β の添加濃度依存性に培養上清中の IL-6 濃度は増加し、IL-1Ra または TPCK の併用添加で IL-1 β の効果は中和された。IL-1 β はリン酸化 I κ B の発現を誘導し、NF- κ B を活性化した。IL-1 β の添加濃度依存性に培養上清中の hCG 濃度は増加し、この増加作用は IL-1Ra または抗 IL-6 抗体あるいは TPCK の併用添加で中和された。

考察と結論

IL-1 β は種々の細胞においてサイトカイン誘導作用を有し、その作用は転写因子 NF- κ B を介することが知られている。NF- κ B は細胞質内で I κ B と複合体を形成し、核移行シグナルはマスクされている。IL-1 β により I κ B がリン酸化されると、NF- κ B は遊離して核内に移行し、サイトカインなどの標的遺伝子発現を誘導する。

栄養膜細胞の増殖によって絨毛は妊娠初期に急速に発育する。BeWo 細胞は絨毛癌細胞であるが栄養膜細胞としての性質を保有しているため、初期絨毛のモデルとして用いた。IL-1 β はヒトの子宮内膜に発現しており、卵母細胞から胎芽期に至るまで胚発育に関与していることが知られている。IL-1 β は初期絨毛を分化させ、IL-6 を介して hCG 産生を促進することが示されているがその詳細は不明であった。

BeWo 細胞をヒト絨毛細胞モデルとした本研究において、IL-1 β は I κ B のリン酸化を誘導し、NF- κ B を活性化した。IL-1 β による IL-6 の産生増加は NF- κ B 阻害剤を併用添加することで抑制されたことから、IL-1 β の作用は NF- κ B を介することが示された。IL-1 β による hCG 産生誘導も NF- κ B 阻害剤および抗 IL-6 抗体の併用添加で抑制されたことから、ヒト絨毛細胞において、IL-1 β は NF- κ B を活性化することにより IL-6 産生を誘導し、hCG 産生を促すことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) は初期絨毛から産生される最も重要なホルモンのひとつであるが、hCG 産生の調節機序については不明である。本研究では、BeWo 細胞を絨毛細胞モデルとして、hCG 産生におけるサイトカインの作用と転写因子 NF- κ B の関与について検討した。その結果、IL-1 β の添加は I κ B のリン酸化を促進し、NF- κ B を活性化した。NF- κ B 阻害剤の併用添加は、IL-1 β による IL-6 および hCG の産生を抑制した。したがって、ヒト絨毛細胞において IL-1 β は NF- κ B を活性化することで IL-6 産生を誘導し、hCG 産生を促すことが示唆された。

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。