

氏名	でうら いまり 出浦 伊万里
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第500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	Reduction of estrogen production by interleukin-6 in a human granulosa tumor cell line may have implications for endometriosis-associated infertility (IL-6 の卵巣顆粒膜細胞におけるエストロゲン産生抑制と子宮内膜症合併不妊への関与)
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

不妊症患者の 20-25%に子宮内膜症が存在するが、本症が不妊を惹き起こす機序については未だ十分に解明されていない。教室ではこれまでに、子宮内膜症合併不妊症患者の腹水中には高濃度の IL-6 が存在し、IL-6 は精子運動能および胚発育を抑制することを明らかにしてきた。一方で、子宮内膜症を有する不妊女性の卵巣顆粒膜における性ステロイドホルモン産生能の低下や、これら女性の卵胞液中 IL-6 濃度は高いといった成績が報告されている。したがって本研究では、IL-6 が卵巣顆粒膜細胞のエストロゲン産生およびアロマターゼ活性に及ぼす影響と MAPK 系の関与について検討した。

方法

ヒト卵巣顆粒膜細胞腫由来の KGN 細胞を対象とした。KGN 細胞における IL-6、IL-6 受容体および gp130 遺伝子の発現を RT-PCR で検索した。IL-6 (0.1-10ng/ml) 添加後の培養上清中の E2 濃度を EIA で測定した。IL-6 添加がアロマターゼ遺伝子発現およびアロマターゼ活性に及ぼす影響を、RT-PCR およびトリチウム水遊離法で検討した。IL-6 の細胞内シグナル伝達について、リン酸化 ERK1/2、Stat3 および p38MAPK の発現を Western blot 法で検討した。

結 果

KGN 細胞において IL-6、IL-6 受容体および gp130 遺伝子の発現を認めた。E2 の測定に際して、KGN 細胞では E2 の基礎産生量が微量であるため、基質としてテストステロンを添加した。培養上清中の E2 濃度は hMG 刺激により増加し、IL-6 (10ng/ml) 添加は hMG により増加した E2 濃度を 40%低下させた。IL-6 添加はアロマターゼ遺伝子発現を抑制し、hMG 刺激により上昇したアロマターゼ活性を 50%低下させた。IL-6 はリン酸化 ERK1/2 の発現を増強させたが、リン酸化 Stat3 と p38MAPK のレベルには影響を与えなかった。MEK1/2 阻害剤である U0126 の併用添加は、IL-6 によるアロマターゼ遺伝子発現の抑制とアロマターゼ活性の低下を解除し、リン酸化 ERK1/2 の発現を著明に減弱した。

考察と結論

卵巣や卵管に広範な癒着を伴う重症子宮内膜症では、排卵や卵管による卵子の捕獲が障害されて不妊症となる。しかしながら、癒着を伴わない腹膜病変を主体とする軽症子宮内膜症がどのような機序で不妊を惹き起こすかは明らかでない。軽症子宮内膜症患者の体外受精時に卵胞液より分離培養した顆粒膜細胞では、アロマターゼ活性およびプロゲステロン産生の低下が報告されている。最近の体外受精成績のメタアナライシスでは、子宮内膜症を有する不妊女性の妊娠率は低いことが明らかとなり、妊孕能低下の一因として卵の質の低下が示唆されている。一方で、子宮内膜症合併不妊症患者の血中および卵胞液中 IL-6 濃度は高いとの報告がある。したがって本研究では、卵巣顆粒膜細胞腫由来の KGN 細胞を用いて IL-6 がエストロゲン産生に及ぼす影響を検討した。

KGN 細胞において、IL-6 はエストロゲン産生に必須の酵素であるアロマターゼ遺伝子発現を抑制し、アロマターゼ活性を低下させ、E2 産生を抑制した。IL-6 は ERK1/2 のリン酸化を促進することが知られている。IL-6 添加は KGN 細胞のリン酸化 ERK1/2 の発現を増強した。ERK1/2 の上流にある MEK1/2 の阻害剤 U0126 の併用添加は、リン酸化 ERK1/2 の発現を著明に減弱し、IL-6 によるアロマターゼ遺伝子発現の抑制とアロマターゼ活性の低下を解除した。以上の成績から、IL-6 は MAPK 経路を介して卵巣顆粒膜細胞のアロマターゼ活性を低下させ、エストロゲン産生を抑制するものと考察された。

本研究成績より、卵胞液中に高濃度存在する IL-6 によるエストロゲン産生の低下が子宮内膜症合併不妊の一因となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

子宮内膜症合併不妊症患者では卵巣顆粒膜における性ステロイドホルモン産生能は低下し、卵胞液中IL-6濃度は高いといった成績が報告されている。本研究では、IL-6が卵巣顆粒膜細胞のエストロゲン産生およびアロマトラーゼ活性に及ぼす影響とMAPK系の関与について検討した。その結果、IL-6はMAPK経路を介してKGN細胞のアロマトラーゼ活性を低下させ、エストロゲン産生を抑制した。したがって、卵胞液中に高濃度存在するIL-6によるエストロゲン産生の低下が子宮内膜症合併不妊の一因となる可能性が示唆された。

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。