

氏名	ほりえ さやこ 堀江 さや子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第506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	Progesterone and progestational compounds attenuated tumor necrosis factor α -induced interleukin-8 production via nuclear factor κ B inactivation in endometriotic stromal cells (子宮内膜症間質細胞においてプロゲステロンおよびプロゲステロン誘導体はNF- κ Bを介して TNF α による IL-8 産生誘導を減弱する)
学位論文審査委員	(主査) 能勢隆之 (副査) 神崎 晋 寺川直樹

学位論文の内容の要旨

子宮内膜症の病因はいまだ明らかではないが、腹腔内局所の炎症が重要な役割を果たすことが示唆されている。教室ではこれまでに、子宮内膜症患者腹水中には TNF α と IL-8 が高濃度に存在すること、TNF α は転写因子 NF- κ B を介して内膜症間質細胞からの IL-8 産生を誘導し、IL-8 が内膜症間質細胞の増殖を促進することを明らかにしてきた。また、エストロゲンは TNF α による IL-8 産生誘導を促進し、Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) アゴニスト治療による低エストロゲン状態は IL-8 産生を減弱した。したがって、子宮内膜症におけるエストロゲンの増殖・進展機序の一つとして、IL-8 産生に対する促進効果が挙げられた。本研究では、子宮内膜症間質細胞における TNF α の IL-8 産生誘導に対する内膜症治療薬プロゲステロンとダナゾールおよびジェノゲストの影響について検討した。

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より分離培養した子宮内膜症間質細胞を対象とした。TNF α (0.1 ng/ml) とエストラジオール (E2 10^{-7} M) 存在下に、プロゲステロン (10^{-6} M)、プロゲステロン誘導体であるダナゾール (10^{-6} M) またはジェノゲスト (10^{-7} M) を添加した後、培養上清中の IL-8 濃度を ELISA で測定した。IL-8 遺伝子発現を Northern blot 法で検討した。NF- κ B の活性化を Electrophoretic mobility shift assay にて検索した。内膜症間質細

胞の増殖能は 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) assay で検討した。

結 果

TNF α と E2 の添加は、NF- κ B の活性化と IL-8 遺伝子ならびに蛋白発現を増強した。プロゲステロン、ダナゾールおよびジェノゲストの添加は、TNF α と E2 によって誘導される NF- κ B の活性化と IL-8 遺伝子ならびに蛋白発現を減弱した。プロゲステロン受容体拮抗剤である RU486 (10^{-6} M) の併用添加は、プロゲステロン添加による NF- κ B 活性化と IL-8 遺伝子発現への作用を抑制した。TNF α と E2 の添加は BrdU の取り込みを促進したが、プロゲステロン、ダナゾールおよびジェノゲストによる細胞増殖への影響は観察されなかった。

考察と結論

子宮内膜症間質細胞において、TNF α は転写因子 NF- κ B の活性化を介して IL-8 の産生を促し、IL-8 は内膜症細胞の増殖を促進することを明らかにしてきた。また、エストロゲンは TNF α による IL-8 産生を増強することで、内膜症の増殖・進展に関与するものと考えられた。一方、プロゲステロンの細胞増殖への影響については、これまで正所性の子宮内膜細胞を用いて研究が行われてきたが、一定の成績は得られていない。内膜症間質細胞を用いた本研究では、プロゲステロンおよびプロゲステロン誘導体による細胞増殖への影響はみられなかった。この理由としては、*in vivo* の状態に近づけるために E2 との併用添加がなされたことから、増殖に及ぼす両者の作用が相殺された可能性も考えられた。

17 α -ethinyltestosterone の誘導体であるダナゾールは、子宮内膜症の代表的な治療薬の一つである。ダナゾールは、ゴナドトロピンの分泌低下作用とともに、子宮内膜上皮細胞のサイトカイン産生を抑制すること、アンドロゲン、プロゲステロンおよびグルココルチコイド受容体を介して子宮内膜や内膜癌細胞の増殖を抑制することが報告されている。ジェノゲストは 19-nortestosterone の誘導体で、内膜症治療薬として開発中の薬剤である。ジェノゲストは、血管新生の抑制、腹水中のナチュラルキラー細胞の活性化、マクロファージから産生される炎症性サイトカイン減少などの作用が報告されている。最近では、子宮内膜間質細胞に対する増殖抑制作用も示されている。

本研究において、プロゲステロン受容体を介して作用を発揮すると考えられるプロゲステロン、ダナゾールおよびジェノゲストは、転写因子 NF- κ B の活性化を抑制することで、TNF α による IL-8 遺伝子ならびに蛋白発現の誘導を抑制することが明らかとなった。以上の成績より、プロゲステロンおよびプロゲステロン誘導体はエストロゲンの IL-8 産生促進作用に拮抗することで、子宮内膜症の増殖抑制に関与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

子宮内膜症間質細胞において、 $TNF\alpha$ は転写因子 $NF-\kappa B$ を介して IL-8 産生を誘導し、細胞増殖を促進することが示されており、エストロゲンは IL-8 産生を促すことで内膜症の増殖・進展に関わることが示唆されている。本研究では、内膜症間質細胞における $TNF\alpha$ の IL-8 産生誘導に対する子宮内膜症治療薬プロゲステロンとダナゾールおよびジェノゲストの影響について検討した。その結果、プロゲステロンとプロゲステロン誘導体は $NF-\kappa B$ の活性化を抑制することで、 $TNF\alpha$ による IL-8 遺伝子ならびに蛋白発現の誘導を抑制することが明らかとなった。したがって、これら子宮内膜症治療薬はエストロゲンの IL-8 産生促進作用に拮抗することで、本症の増殖抑制に関与す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。