

令和 2年 2月

柳樂慶 学位論文審査要旨

主 査 稲 垣 喜 三
副主査 汐 田 剛 史
同 原 田 省

主論文

Tokishakuyakusan, a kampo medicine, attenuates endometriosis-like lesions and hyperalgesia in murine with endometriosis-like symptoms

(漢方薬の当帰芍薬散は、子宮内膜症様症状を伴うマウスの子宮内膜症様病変と痛覚過敏を軽減する)

(著者：柳樂慶、谷口文紀、中村和臣、常田洋平、土屋直子、Khine Yin Mon、原田省)

令和元年 American Journal of Reproductive Immunology DOI:10.1111/aji.13182

参考論文

1. 帝王切開癒痕症候群の4例

(著者：柳樂慶、谷口文紀、平川絵莉子、東幸弘、上垣崇、出浦伊万里、原田省)

平成27年 現代産婦人科 64巻 235頁～239頁

2. Lipopolysaccharide promotes the development of murine endometriosis-like lesions via the nuclear factor-kappa B pathway

(リポポリサッカライドはNF- κ B経路を介してマウスの子宮内膜症様病巣の進展を促進する)

(著者：東幸弘、谷口文紀、中村和臣、柳樂慶、Khine Yin Mon、木山智義、上垣崇、伊澤正郎、原田省)

平成29年 American Journal of Reproductive Immunology DOI : 10.1111/aji.12631

3. New insights into the efficacy of SR-16234, a selective estrogen receptor modulator, on the growth of murine endometriosis-like lesions

(マウスの子宮内膜症様病巣の増殖におけるSR-16234 (選択的エストロゲン受容体調節剤) の効果に対する新しい知見)

(著者 : Khine Yin Mon、谷口文紀、柳樂慶、中村和臣、大林徹也、尾崎充彦、原田省)

平成30年 American Journal of Reproductive Immunology DOI : 10.1111/aji.13023

学 位 論 文 要 旨

Tokishakuyakusan, a kampo medicine, attenuates endometriosis-like lesions and hyperalgesia in murine with endometriosis-like symptoms

(漢方薬の当帰芍薬散は、子宮内膜症様症状を伴うマウスの子宮内膜症様病変と痛覚過敏を軽減する)

子宮内膜症は、子宮外で子宮内膜組織が異所性に発育・進展する疾患である。生殖可能女性の約10%が罹患しているとされ、月経困難症や不妊の原因となる。本症に対する薬物治療は、主にホルモン製剤が適応されるが、副作用による投与期間の制限や、薬剤に抵抗性のある症例もある。思春期から周閉経期に至る長期的な治療を要する慢性疾患であることから、副作用が軽微で、安全性の高い薬剤が望まれる。

月経困難症に対して用いられてきた漢方薬としては、当帰芍薬 (Tokishakuyakusan: TSS)、芍薬甘草湯、および桂枝茯苓丸があげられる。主なTSSは、6種 (当帰、川芎、芍薬、茯苓、蒼朮、沢瀉) の生薬が配合された薬剤であり、婦人科疾患に対して広く処方されている。しかしながら、子宮内膜症患者に対するTSSの治療効果に関する研究は少ない。本研究では、子宮内膜症モデルマウスにおけるTSSによる病巣縮小ならびに鎮痛効果について検証した。

方 法

同系マウスの子宮組織を腹腔内へ移植し、子宮内膜症モデルマウスを作製した。炎症惹起を目的として、移植時に腹腔内へ少量のリポポリサッカライド (LPS) を投与した。治療群はTSSの連日口腔内投与とし、対照群は通常の食餌とした。2週間の投与終了後、疼痛試験 (ホットプレートテスト) を行い、熱刺激に対する逃避行動を起こすまでの潜時を測定した。開腹後、正所性子宮組織および子宮内膜症様病巣の評価を行った。炎症関連遺伝子 (単球走化性因子、インターロイキン6、インターロイキン33、シクロオキシゲナーゼ2、血管内皮増殖因子およびインターロイキン1 β) の発現をRT-PCRで定量した。病巣嚢胞液および血清において、炎症性サイトカイン (インターフェロン γ 、インターロイキン1 β 、インターロイキン6、インターロイキン10、単球走化性因子、腫瘍壊死因子およびインターロイキン33) の蛋白量を測定した。

結 果

TSS投与は、マウスあたりの病巣の数と総重量を有意に減少させたが、子宮重量に差はみられなか

った。ホットプレートテストでは、TSS投与群では非投与群に比べ、有意に熱刺激への潜時が延長した。血清中の炎症性サイトカイン蛋白量は、子宮組織移植後3日目に上昇し、2週間後には移植前のレベルまで低下した。TSS投与によって、血清中のサイトカイン濃度の低下に差はみられなかった。

TSS投与により、子宮内膜症様組織におけるインターロイキン33遺伝子の発現が有意に抑制された。単球走化性因子およびインターロイキン6遺伝子の発現は減少傾向にあった。一方、正所性子宮組織では疼痛増強に関連するシクロオキシゲナーゼ2遺伝子の発現が有意に減少した。病巣嚢胞液においては、単球走化性因子、インターロイキン6およびインターロイキン33の蛋白量が顕著に高かったが、TSS投与後には低下した。

考 察

ヒト子宮内膜症の骨盤内炎症を模したモデルマウスを用い、TSSによる子宮内膜症様病巣形成の抑制および疼痛閾値の改善を明らかにした。本研究では、マウス病巣における遺伝子発現や免疫組織化学染色による従来の実験に加え、病巣嚢胞液中の微量蛋白の測定に初めて成功し、定量的な評価を行った。

腹腔内マクロファージや子宮内膜症細胞から放出される炎症性サイトカインは、病巣の進展に密接に関与することが知られている。近年、インターロイキン33は慢性炎症と関連し、病巣の線維化、血管新生や細胞増殖を引き起こす因子として注目されており、子宮内膜症患者の血清および腹水中で、インターロイキン33が上昇することが報告がされている。TSS投与は、子宮内膜症様組織におけるインターロイキン33遺伝子の発現ならびに蛋白量を減少させることを示した。しかし、蛋白濃度において、嚢胞液の検体量および蛋白濃度は微量で、検体数も十分ではなかったことから、統計学的な有意差がみられなかった可能性が考えられた。

子宮内膜症に関連した疼痛の発症には、末梢性の神経障害および中枢性の神経過敏が関連していると考えられている。芍薬に含まれる成分が中枢性に疼痛を抑制するという報告もみられることから、TSSによる病巣形成の抑制に加え、神経障害性疼痛に対する抑制効果も示唆される。さらに、正所性子宮のシクロオキシゲナーゼ2遺伝子発現の低下がみられたことから、TSS投与が疼痛の改善に寄与したと推測される。本マウスにおいて、TSS投与による体重減少などの明らかな有害事象を認めなかった。今後、TSSに含まれる生薬における薬理作用ならびに長期的な副作用について検討することが課題である。

結 論

子宮内膜症モデルマウスにおいて、TSSが疼痛過敏を改善し、病巣組織における炎症反応および病巣形成を抑制することが示された。TSSは子宮内膜症による月経困難症患者に対して、副作用が軽微で安全で有効な治療薬になりうると考えられた。