

氏名	いばゆみこ 井庭裕美子
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第489号
学位授与年月日	平成16年 9月30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	Lipopolysaccharide promoted proliferation of endometriotic stromal cells via induction of tumor necrosis factor $\alpha$ and interleukin-8 expression (子宮内膜症間質細胞における LPS の TNF $\alpha$ および IL-8 の産生誘導と増殖促進作用)
学位論文審査委員	(主査) 清水英治 (副査) 井藤久雄 寺川直樹

## 学位論文の内容の要旨

疼痛と不妊を主症状とする子宮内膜症の病態はいまだ明らかではないが、腹腔内局所の炎症が本症の増殖・進展に関与することが示唆されている。これまでに、子宮内膜症患者腹水中には TNF $\alpha$  や IL-8 といった炎症性サイトカインが高濃度に存在すること、これらサイトカインは内膜症間質細胞の増殖を促進すること、その機序として、TNF $\alpha$  は転写因子 NF- $\kappa$ B を介して内膜症間質細胞からの IL-8 産生を誘導することを明らかにしてきた。本研究では、グラム陰性菌の菌体成分である LPS が内膜症間質細胞のサイトカイン産生と増殖に及ぼす影響について検討した。

### 研究対象と方法

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。LPS の作用を検討するにあたり、LPS の受容体である Toll-like receptor 4 (TLR4) の発現を RT-PCR と免疫染色で検索した。抗 TNF $\alpha$  抗体を用いて免疫染色を行った。LPS を添加したのち、培養上清中の TNF $\alpha$  と IL-8 濃度は ELISA で測定し、内膜症間質細胞の増殖能は MTT assay で検討した。LPS の作用機序については NF- $\kappa$ B の阻害剤である TPCK と IL-8 antisense oligonucleotide を用いて検討した。

### 成績

子宮内膜症間質細胞に TLR4 の発現が確認された。免疫染色にて間質細胞の細胞質に TNF $\alpha$

発現を認めた。LPS (1-100ng/ml) の添加は、培養上清中の TNF $\alpha$  および IL-8 蛋白濃度を濃度および時間依存性に増加させた。LPS の添加により細胞増殖能は有意に促進され、この促進効果は抗 TNF $\alpha$  抗体あるいは抗 IL-8 抗体の併用添加で中和された。LPS による IL-8 蛋白産生と細胞増殖促進効果は、IL-8 antisense oligonucleotide または TPCK の併用添加でキャンセルされた。

## 考察と結論

病原による Toll-like receptor の活性化はペプチドシグナル伝達物質であるサイトカインの産生を促し、炎症反応に貢献する。サイトカインはその受容体を介して標的細胞の増殖や機能分化に働くことも示されている。子宮内膜症患者腹水中に存在する炎症性サイトカインの産生源は主として腹腔マクロファージであるとされているが、教室では内膜症細胞自身もこれらサイトカインを産生・分泌することを見出し、報告してきた。LPS はグラム陰性菌の細胞壁構成物質であり、炎症反応を惹起する。本研究では、LPS を用いた炎症による内膜症間質細胞のサイトカイン産生や増殖に及ぼす影響について検討した。

LPS の添加は内膜症間質細胞の TNF $\alpha$  および IL-8 発現を誘導し、増殖を促進した。免疫染色の結果から、本研究において TNF $\alpha$  も内膜症間質細胞で産生されることが初めて明らかとなった。これまでに、TNF $\alpha$  は IL-8 の産生を誘導することで内膜症細胞の増殖を促進することを明らかにしている。今回、転写因子 NF- $\kappa$ B の活性化の阻害や IL-8 の遺伝子発現を阻害すると、LPS による IL-8 蛋白の産生は抑制され、細胞増殖の促進はキャンセルされた。したがって、LPS による IL-8 産生や細胞増殖は NF- $\kappa$ B の活性化を介するものと考えられた。以上の成績から、LPS は内膜症間質細胞の TLR4 を介して TNF $\alpha$  産生を促し、TNF $\alpha$  は TNF 受容体を介して NF- $\kappa$ B を活性化し、IL-8 産生を誘導すること、IL-8 はオートクリンファクターとして働き、細胞増殖を促進するものと考察された。

本研究成績より腹腔内局所の炎症が子宮内膜症の増殖・進展に関与する可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

腹腔内局所の炎症が子宮内膜症の病変に関与することが示唆されている。本研究では、炎症反応を惹起する LPS が内膜症間質細胞のサイトカイン産生と増殖に及ぼす影響について検討した。その結果、LPS は内膜症間質細胞の TLR4 を介して TNF $\alpha$  を産生し、TNF $\alpha$  は NF- $\kappa$ B を活性化して IL-8 産生を促し、IL-8 はオートクリン作用で細胞増殖を促進することが明らかとなった。したがって、腹腔内局所の炎症が本症の増殖・進展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。