

[ 別紙 2 ]

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 広 田 泰

本研究は、卵巣における排卵および子宮内膜における月経という生理的炎症、また子宮内膜と関連して異所性子宮内膜組織を形成し骨盤内を中心とした腹腔内炎症疾患である子宮内膜症という病的炎症における、トロンビン、トリプターゼ、トリプシンなどのセリンプロテアーゼをリガンドとする G 蛋白共役型受容体である protease-activated receptor (PAR) の関与について明らかにするため、

1. 卵巣における PAR1 の意義についての検討
  2. 子宮内膜における PAR2 の意義についての検討
  3. 子宮内膜症の病態における PAR1、PAR2 の関与についての検討
- を行い、下記の結果を得ている。

1. 体外受精・胚移植施行患者からインフォームドコンセントのうえ採卵時に採取した卵胞液から分離培養した顆粒膜細胞を用いて、トロンビンの受容体である PAR1 mRNA の発現を確認した。また、トロンビンにより PAR1 を介して白血球遊走作用を持つ IL-8、MCP-1 産生が誘導された。この作用はエストロゲンにより増強された。さらに、排卵を促進するプロテアーゼである MMP-2 および MMP-9 の活性を亢進させた。以上の結果から、卵巣顆粒膜細胞における PAR1 の白血球遊走、卵胞壁の融解作用が推測され、PAR1 が排卵に促進的に作用することが示唆された。

以上より、排卵期卵胞では活性化されたトロンビンが種々の炎症関連因子を誘導し、排卵に関与していること、そしてこれらの因子の制御に PAR1 が関わっていることが示された。

2. インフォームドコンセントのうえ手術時に採取したヒト子宮内膜を実験に使用した。ヒト子宮内膜組織における PAR2 の存在を示し、PAR2 の発現に周期性があり、月経期に発現上昇を認めることを明らかにした。また、培養子宮内膜間質および上皮細胞では PAR2 の活性化により、炎症性サイトカイン IL-8 の産生亢進、上皮の組織再構築に関与する MMP-7 の産生亢進、子宮内膜間質細胞の増殖、肥満細胞を誘導、活性化する因子である stem cell factor (SCF) の発現亢進などの作用を示した。この事実により、トリプターゼ、プロテイナーゼ 3、エラスターゼなどの白血球由来のプロテアーゼが、PAR2 を介して月経時の炎症と月経後の組織修復過程に関与している可能性が示された。

3. インフォームドコンセントのうえ手術時に採取した子宮内膜症性卵巣嚢胞壁から分離培養した子宮内膜症細胞をトロンビンで刺激すると、白血球遊走能を有するIL-8、MCP-1 や血管収縮、子宮筋収縮に作用するプロスタグランジンの合成酵素であるcyclooxygenase-2 (COX-2) などの炎症関連物質の発現亢進および細胞増殖マーカーであるPCNAの陽性細胞率の増加を認め、さらにトロンビンおよびIL-8の刺激により凝固系でトロンビンの上位に位置する物質であるtissue factor発現増加を認めた。組織因子によりさらにトロンビンが活性化するというポジティブ・フィードバックの存在が子宮内膜症という炎症性疾患の病態形成の一因になっていると考えられた。また、子宮内膜症細胞をPAR2アゴニストペプチドで刺激したところ、IL-6、IL-8などの炎症性サイトカインの発現が亢進し、PCNA陽性細胞の増加を認めた。これらのことから、肥満細胞が分泌するトリプターゼや、好中球が分泌するエラスターゼやプロテイナーゼ3が、PAR2を介して炎症性サイトカインの産生をさらに促進し、さらなる白血球遊走を誘導するというポジティブ・フィードバック機構の存在が想定された。また、PAR1およびPAR2を介した子宮内膜症細胞増殖による病変の進展機構も明らかとなった。

以上、本論文は生殖臓器における生理的および病理的局面でのPARの関与を明らかにした。生殖臓器におけるPARに関する新しい知見が得られたことは、排卵、月経という生理的現象や子宮内膜症の病態形成における機序の解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。