

論文の内容の要旨

論文題目：「子宮内膜症における新規ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH II)の臨床的意義」

指導教官：武谷 雄二 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 14 年 4 月 入学

医学博士課程 生殖・発達・加齢医学専攻

氏名：森本 千恵子

要旨

【背景】ゴナドトロピン放出ホルモン (Gonadotrophin Releasing Hormone ; GnRH) はすべての脊椎動物に存在するホルモンであり、哺乳類では生殖機能を中枢性に調節している。GnRH は視床下部から律動的に分泌され、卵巣を介して種々の相互フィードバックシステムを介して性機能を調節している。一方、これらの中枢における作用とは異なり、GnRH は末梢組織で GnRH 受容体を介した作用が示唆されており、子宮内膜、胎盤、卵巣顆粒膜細胞などでオートクライン/パラクライン作用を発現し細胞機能を調節しているといわれている。また、卵巣癌、子宮体癌、乳癌、前立腺癌など、多くの悪性腫瘍においても存在しているといわれている。GnRH には従来の GnRH I と、おもに哺乳類以外の脊椎動物にみられる GnRH II の 2 種類がある。唯一例外は霊長類で、ヒトではニワトリと同様の GnRH II が発現していることが最近わかってきた。ヒト GnRH II は、中枢組織と同様に末梢組織においても広く発現しており、生殖組織においては子宮内膜、胎盤、卵巣顆粒膜細胞での発現が認められている。子宮体癌や卵巣癌においては、GnRH II の増殖抑制作用は、GnRH I のそれに比べて強いことが示唆されている。

子宮内膜症は、子宮内膜あるいはそれと類似の組織が、骨盤腹膜など子宮内腔以外の部位に異所性に増殖する疾患で、病理組織学的には良性であるにもかかわらず、増殖、浸潤し、周囲臓器と強固な癒着を形成する。本疾患は生殖年齢層に発症し、月経痛・慢性骨盤痛など様々な疼痛の原因ともなり、また不妊症をしばしば合併することにより生殖能の低下の原因疾患ともなっている。発生機序には諸説があり、病態に関しては不明な点が多い。

主な病態生理の現象として、子宮内膜症患者の正所性子宮内膜は、非子宮内膜症のそれと比較して異なる特性があると考えられている。また、子宮内膜症患者の腹腔内環境が病態に関与しており、腹腔内貯留液や子宮内膜症間質細胞においてインターロイキン(IL)-8 やシクロオキシゲナーゼ(COX)-2 が増加するという報告がなされている。子宮内膜症はエストロゲン依存性の発育を示すことから、内分泌療法の一つとして、GnRH アナログ療法が用いられている。その作用機序は、強力なゴナドトロピン抑制作用により低エストロゲン環境を惹起し、閉経後に類似したホルモン環境をつくり子宮内膜症病変を萎縮させることにある。さらに、子宮内膜症組織に対する GnRH I や GnRH アナログの直接作用が示唆されるようになり、生殖組織から発生する悪性腫瘍に対しての増殖抑制作用も報告されている。

先述のように、GnRH II は生殖組織やいくつかの悪性腫瘍において、増殖抑制などの直接作用が示唆されているが、子宮内膜症に対する作用は不明である。そこで、子宮内膜症における GnRH II の直接作用を検討した。GnRH II が子宮内膜症間質細胞においてインターロイキン(IL)-8 やシクロオキシゲナーゼ(COX)-2 などの発現に与える影響について検討した。さらに、子宮内膜症の有無により、GnRH II とその受容体の発現の違いを検討することにより、GnRH II が子宮内膜症の病態にどのように関与しているかを考察した。また、GnRH II が主に作用すると考えられている GnRH I および II 受容体の子宮内膜症での発現について検討した。

【実験方法】患者の同意のもと手術時に得られた子宮内膜症性卵巣嚢胞の間質細胞(ESC)を分離培養し、以下の検討を行った。①子宮内膜症組織およびESCにおける GnRH I、GnRH II、GnRH I 受容体および GnRH II 受容体の mRNA 発現を RT-PCR 法を用いて検討した。②GnRH II(10⁻¹²M~10⁻⁶M)を ESC に 24 時間添加培養し 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)取り込み能の変化を検討した。③ESC に GnRH I アンタゴニストである Antide(10⁻⁸M)を 1 時間添加培養後、GnRH II を添加し、24 時間後の BrdU 取り込み能を検討した。④ESC を IL-1β(5ng/ml)により刺激した後、GnRH II を添加培養し、2 時間後の COX-2 mRNA および 4 時間後の IL-8 mRNA 発現を定量的 RT-PCR 法を用いて調べた。

⑤ ④と同様に ESC を IL-18 により刺激した後、GnRH II を添加し、24 時間後の IL-8 蛋白産生を ELISA 法を用いて測定した。一方、子宮内膜症患者 26 人(平均 32.9 ± 5.7 歳)より正所性子宮内膜と子宮内膜症性卵巣嚢胞を、また非子宮内膜症患者 21 人(平均 35.9 ± 8.5 歳)より正所性子宮内膜を採取し、⑥GnRH I、GnRH II、GnRH I 受容体および GnRH II 受容体 mRNA の発現を定量的 RT-PCR 法で測定した。

【結果】①子宮内膜症組織および ESC において、GnRH I、GnRH II、GnRH I 受容体および GnRH II 受容体の mRNA 発現が認められた。② 10^{-12} M 以上の GnRH II 添加で BrdU 取り込み能は有意に減少し、 10^{-6} M で非添加群の 72%にまで低下した。また GnRH I と比較したところ、GnRH II では強い抑制傾向がみられ、 10^{-6} M においては GnRH II において有意に BrdU 取り込み能を抑制した。③Antide で前培養した ESC では、GnRH II による BrdU 取り込み能の抑制は認められなかった。④IL-18 刺激で誘導される IL-8 mRNA、COX-2 mRNA 発現は GnRH II 添加で抑制され、GnRH II 10^{-6} M においては各々非添加群の 68%、33%まで低下した。⑤IL-18 刺激で誘導される IL-8 蛋白産生は、GnRH II 添加で抑制され、GnRH II 10^{-6} M においては非添加群の 62%まで低下した。⑥子宮内膜症患者の正所性子宮内膜と子宮内膜症性卵巣嚢胞における GnRH II mRNA レベルは、非子宮内膜症患者の正所性子宮内膜と比較し、増殖期・分泌期ともに有意に低下していた。一方、GnRH I、GnRH I 受容体および GnRH II 受容体 mRNA レベルは分泌期においてのみ有意に低下していた。

【考察】本研究により、GnRH II は、子宮内膜症において発現しており、ESC の増殖を抑制することが示唆され、その作用は GnRH I 受容体を介している可能性が考えられた。また、GnRH II は ESC において、向炎症因子 (IL-8、COX-2) 発現の抑制に直接作用することが示唆された。子宮内膜症患者において正所性子宮内膜ならびに子宮内膜症性卵巣嚢胞での GnRH II の発現は月経全周期において低下していた。

GnRH I および GnRH アゴニストによる、子宮内膜症および正所性子宮内膜の増殖抑制作用やアポトーシス作用と同様、GnRH II が子宮内膜症の病態の進展に影響を与えている可能性が考えられる。また、正所性子宮内膜において GnRH I による増殖抑制作用やアポ

トーシス作用は、Antide で阻害されたことから GnRH I 受容体を介しているという報告と同様、本研究においても GnRH II の子宮内膜症での作用は GnRH I 受容体を介している可能性が考えられた。GnRH II が作用すると考えられる GnRH 受容体は GnRH I 受容体および GnRH II 受容体と様々な報告がある。ヒト卵巣顆粒膜細胞では、GnRH II によるプロゲステロンの分泌抑制作用は Antide で阻害されるという報告がある一方で、子宮体癌や卵巣癌細胞では、GnRH II の作用は GnRH I 受容体を介さないという報告もなされている。

子宮内膜症患者の正所性子宮内膜は、非子宮内膜症のそれと比較して異なる特性があるといわれており、正常からの逸脱が病因と病態生理の主な原因と考えられている。本研究において、子宮内膜症の正所性子宮内膜での GnRH II の発現が有意に減少しており、同様に子宮内膜症細胞においても正常の子宮内膜に比し、GnRH II の発現が減少していた。この結果は、GnRH II が子宮内膜症細胞の増殖を抑制するという結果と合致している。

また、子宮内膜症の進展には、増殖に加えて炎症が重要な役割を果たしている。子宮内膜症患者の腹腔内貯留液では、IL-18 が増加しており、それが IL-8 や COX-2 の増加を誘導し病態の進展に影響を与えると報告されている。本研究では、ESC において GnRH II が IL-18 により誘導される IL-8 や COX-2 の発現を抑制したことから、GnRH II の発現が、子宮内膜症の病態の進展を阻害するという別のメカニズムの存在の可能性が考えられた。

GnRH 受容体の発現は、タイプ I・II 受容体ともに子宮内膜症患者での分泌期の子宮内膜において有意に減少しており、GnRH II の発現の低下とともに、子宮内膜症の病態に関与している可能性が考えられた。

【まとめ】

GnRH II は、細胞増殖の抑制および向炎症因子 (IL-8, COX-2) 発現の抑制を介して子宮内膜症組織における増殖や炎症を調節している可能性が考えられた。また、子宮内膜症患者において正所性子宮内膜ならびに子宮内膜症性卵巣嚢胞での GnRH II 発現が低下していたことより、局所での GnRH II 産生を介した自己制御作用の障害が子宮内膜症の発症・進展に影響を与えていることが示唆された。