

審査の結果の要旨

氏名 欧陽 卓

子宮内膜症の発症機序において免疫反応が重要であることが示唆されている。子宮内膜症にアレルギー性の疾患が合併しやすいことなどから、Th2 細胞の関与が示唆されているものの、これまで詳細は不明であった。本研究は Th2 細胞の主要な特異的サイトカインである IL-4 について、子宮内膜症の進展における役割を明らかにしようとしたものである。また、子宮内膜症に関する免疫ネットワークで IL-4 は他の細胞因子と相関関係はまだ不明であるため、本研究では IL-4 が ESC からの Eotaxin の分泌に与える影響を検討した。さらに、Eotaxin は子宮内膜症の病態生理において何らかの役割を演じることが推測され、子宮内膜症組織で Eotaxin の局在を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 子宮内膜症性卵巣の嚢胞で連続凍結切片を作製し、IL-4 及び Eotaxin の免疫組織化学染色を行った。子宮内膜症組織の間質に IL-4 陽性細胞が認められ、その頻度は約 14%であった。これらの細胞は CD3 との蛍光抗体法二重染色によって Th2 細胞であることが確かめられた。
2. 子宮内膜症組織における Eotaxin は間質細胞と上皮細胞の 2 種類の細胞に発現された。トータル頻度は約 19%であった。Eotaxin は酵素抗体法と蛍光抗体法により細胞質に存在することが示された。その上、多くの Eotaxin 及び IL-4 陽性細胞はしばしば子宮内膜症組織での同じ血管を囲んで、分布していた。
3. RT-PCR 法により ESC に、IL-4 受容体の遺伝子発現が確認された。
4. RT-PCR 法、Real-time quantitative PCR 法と ELISA 法にて、IL-4(0.1-10ng/ml) 添加により 24 時間後、Eotaxin mRNA の発現量(5.5 fold)と蛋白質の発現量(8.7 fold) は用量依存性に有意に増加した。最大効果は 10ng/ml で観察された。
5. IL-4(0.1-10ng/ml)添加により、Cell Counting kit -8 (48 時間) と BrdU Cell Proliferation Assay (72 時間) によって、ESC の細胞数と BrdU 取り込みは用量依存性に有意に増加した。この IL-4 の ESC 増殖作用は抗 IL-4 受容体中和抗体により抑制された。
6. Western blotting 法により、ESC での p38 MAPK、SAPK/JNK と p42/44 MAPK のリン酸化状態を調べた。ESC で IL-4 は p38MAPK, JNK, ERK の各 MAP キナーゼのリン酸化を誘導した。次に各 MAP のキナーゼの阻害剤 (SB202190、P600125、PD98059) を添加し、IL-4 の ESC 増殖効果を検討した。各 MAP キナーゼの阻害剤は IL-4 の ESC 増殖作用を有意に抑制した。特に、これら 3 つの MAP キナーゼ阻害剤の同時添加は、IL-4 の ESC 増殖作用を強く抑えた。
7. 炎症性サイトカインである TNF- α は ESC 増殖を促進することが報告されている。今回の検討では IL-4 と TNF- α は ESC 増殖に関して協同作用を示した。

以上、本論文でTh2細胞は子宮内膜症組織においてIL-4を産生していた。IL-4はIL-4受容体により子宮内膜症の増殖を促進することが示唆された。IL-4のESC増殖作用に参与する細胞内シグナル伝達経路は各MAPのキナーゼであることが認められた。子宮内膜症ではTh17細胞が炎症を介して促進因子として作用していることが知られており、病巣におけるT細胞系のネットワークを制御することが今後の治療戦略に重要かも知れない。子宮内膜症組織における2種類の細胞：間質細胞と上皮細胞はEotaxinを分泌していることが示唆された。子宮内膜症組織はEotaxinの新しい産生源であることが知られている。多くのEotaxin及びIL-4陽性細胞は同じ血管を囲んでいることが発現され、Eotaxinは子宮内膜症組織の血管新生に関わっている可能性が示唆される。さらに、IL-4はEotaxinを介して子宮内膜症組織の血管新生に影響を与えるかも知れない。また、IL-4は用量依存性にESCからのEotaxinの分泌を促進する効果を示した。これらの所見は、Eotaxinが子宮内膜症の発展でいろいろな役割を演ずることが示唆されている。すなわち、子宮内膜症の病態生理において、IL-4が重要な役割を果たすことが考えられた。本研究は子宮内膜症の発症への解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。