

審査結果の要旨

齊藤亜子

本研究は子宮内膜症においてその増悪因子である Proteinase-activated receptor 2 (PAR2)の発現調節因子について、卵巣子宮内膜症性間質細胞(EmSC)の初期培養を用いて検討し、以下の結果を得ている。

1. 子宮内膜症ではその腹腔内環境、また組織において様々なサイトカンが増加している。その中でも重要な働きをもつ Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ , Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , Interleukin (IL)-1 $\beta$  を EmSC に添加し 6 時間後に mRNA を回収し RT-PCR にて PAR2 mRNA 発現を測定した。この 3 つのサイトカンのうち TGF- $\beta$  のみが PAR2 mRNA 発現を増加させた。TGF- $\beta$  は濃度依存性に PAR2 mRNA 発現を増加させ、TGF- $\beta$  1ng/ml から対照をくらべ有意差を認めた。0,3,6,12,24 時間での経時的変化では 6 時間後にピークを認め約 3.2 倍となった。
2. PAR2 agonist peptide (PAR2AP)にて PAR2 を刺激すると子宮内膜症の増悪因子である炎症性サイトカンの IL-6 の分泌増加が知られている。TGF- $\beta$  10ng/ml を前投与し PAR2AP 刺激をした。TGF- $\beta$  前投与なしでは IL-6 分泌は PAR2AP 刺激前と比べ約 2.8 倍であるが、TGF- $\beta$  10ng/ml 前投与によりこの比は約 9.8 倍と増加した。TGF- $\beta$  前投与は PAR2AP による IL-6 分泌効果を増強した。
3. TGF- $\beta$  の type I 受容体阻害剤である SB431542 は TGF- $\beta$  による PAR2 mRNA 発現を抑制し、TGF- $\beta$  が PAR2AP による IL-6 分泌を増強させる効果も抑制した。PAR2 siRNA 導入は TGF- $\beta$  が PAR2AP による IL-6 分泌を増強させる効果を抑制した。このことより TGF- $\beta$  添加、PAR2AP 添加条件下での IL-6 分泌は PAR2 を介していると考えられた。
4. TGF- $\beta$  の細胞内シグナル伝達経路についての検討で、Smad 経路と MAPK 経路のどちらの経路を介しているか調べるために、Smad4 siRNA 導入または MAPK 阻害剤を使用した。MAPK 阻害剤のうち p38 MAPK の阻害剤と p42/44 MAPK の阻害剤が TGF- $\beta$  による PAR2 mRNA 発現を約 6 割に抑制した。Smad4 siRNA 導入により Smad4 mRNA は約 22%に抑制され、Smad4 のタンパク量の減少も認めたが、この条件下では TGF- $\beta$  による PAR2 発現は抑制を受けなかった。TGF- $\beta$  による PAR2 発現における細胞内伝達経路には p38 MAPK, p42/44 MAPK が関与していると考えられるが、その阻害剤での抑制率は低かった。これらのことより、TGF- $\beta$  による PAR2 発現において MAPK の活性化は十分条件ではなく、smad 経路との crosstalk やその他の non-smad 経路が関連する可能性が考えられる。

以上より、本論文は TGF- $\beta$  が PAR2 のシステムを介し、子宮内膜症の増悪に関与していることを示した。本研究以外にも TGF- $\beta$  が子宮内膜症の増悪因子であるという報告があり、治療のターゲットになる可能性がある。しかし、TGF- $\beta$  は広く生体内に分布し、多彩な作用を持つため、すぐに治療に結びつくものではなく、さらなる検討が必要である。本研究で明らかにした TGF- $\beta$  が PAR2 を増加させ IL-6 分泌作用を増強するという知見は、子宮内膜症の病態解明の一助になると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。