

氏名	こ さか けん ぞう 小 阪 謙 三
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2842 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Human chorionic gonadotropin (HCG) activates monocytes to produce interleukin-8 via a different pathway from luteinizing hormone/HCG receptor system. (ヒト絨毛性ゴナドトロピンは黄体化ホルモン/ヒト絨毛性ゴナドトロピン受容体システムと異なる経路で単球からのインターロイキン8の産生を亢進する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 長 澤 丘 司 教 授 小 川 修 教 授 杉 田 昌 彦

論 文 内 容 の 要 旨

本研究は妊娠初期における胚と母体の相互作用を免疫学・内分泌学の双方の観点から検討することを目的とし、母体末梢血単核球のインターロイキン8（以下 IL-8 と略す）分泌に対する胚由来ホルモンであるヒト絨毛性ゴナドトロピン（以下 HCG と略す）の効果をそのシグナル伝達経路も含めて解析した。本研究の背景として、これまでにヒト絨毛癌由来細胞株である BeWo 細胞の浸潤が妊娠初期ヒト女性から得られた末梢血単核球由来の走化性因子により促進されること、および非妊娠ヒト女性から得られた末梢血単核球に HCG を作用させると BeWo 細胞に対する浸潤促進作用が増強されることが見いだされてきた。さらに同様の末梢血単核球による浸潤促進作用はマウス胚の伸展・浸潤に対しても観察され、末梢血単核球が胚着床局所においてヒト胚の浸潤を制御している可能性が示唆された。そこで、ヒト末梢血単核球に HCG を投与した際に産生が亢進する液性因子をスクリーニングしたところ、IL-8 の産生が亢進することが明らかにされた。

本研究では、最初にリコンビナント HCG が高濃度において、非妊娠女性の末梢血単核球からの IL-8 産生を亢進させることを確認した。この反応は HCG の受容体として現在知られている LH (Luteinizing Hormone)/HCG 受容体に対する有効濃度より顕著に高濃度の HCG を投与した場合にのみ認められた。そこで、この現象をより詳しく検討するために下記のような実験を行った。まず、この反応における IL-8 mRNA の発現開始時間を検討したところ HCG 投与30分後から IL-8 の mRNA 発現が誘導されることが確認された。次に、この反応がリコンビナント HCG 製剤中の夾雑物によるものではなく HCG による特異的な反応であることを確認する目的で抗 HCG 抗体を用いた HCG 吸収試験を行い、この効果の特異性を確認した。また、この反応の細胞内シグナル伝達経路を検討したところ、細胞質に存在する NF κ B が HCG 刺激後核内へ移動したこと、また NF κ B の阻害剤の添加により IL-8 の産生が減弱したことより、この反応の細胞内シグナル伝達には NF κ B が関与していると考えられた。IL-8 の産生促進はおもに単球によるものであること、さらに蛍光標識した HCG は末梢血単核球のうち主に単球に結合することが観察されたが、単球の細胞表面には LH/HCG 受容体の発現は認められなかった。また、LH/HCG 受容体を介する反応は細胞内シグナル伝達経路においてプロテインキナーゼ A あるいはプロテインキナーゼ C を介することが知られているが、高濃度 HCG による IL-8 の産生はプロテインキナーゼ A およびプロテインキナーゼ C 各々の阻害剤では阻害されなかった。以上の結果より、IL-8 の産生促進は通常の LH/HCG 受容体を介さない反応であることが示された。一方、IL-8 の産生促進は D-マンノースの添加によって部分的に阻害されることが明らかとなり、糖鎖の豊富なホルモンである HCG の糖鎖がこの反応に関与している可能性が示唆された。また、体内で既に HCG に曝されている妊娠初期女性より得られた末梢血単核球からの IL-8 産生の基礎値は非妊娠女性より得られた末梢血単核球からの IL-8 産生に比較して亢進していることが観察された。

これらの結果より、ヒト単球は LH/HCG 受容体システムとは異なる経路で HCG に対する反応性を有する可能性が示さ

れた。また、この作用は糖鎖やレクチンを用いたシグナル伝達システムを介している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は妊娠初期における胚と母体の相互作用を免疫学・内分泌学の双方の観点から検討することを目的とし、母体末梢血単核球（以下 PBMC）の IL-8 分泌に対する胚由来ホルモンであるヒト絨毛性ゴナドトロピン（以下 HCG）の効果を解析した。これまでに PBMC がヒト胚の浸潤を制御している可能性が示唆されてきた為、ヒト PBMC に HCG を投与した際に産生亢進する液性因子をスクリーニングし、IL-8 の産生亢進が確認された。

本研究では、リコンビナント HCG が非妊娠女性の PBMC からの IL-8 産生を亢進させることを確認した。この反応は黄体化ホルモン/HCG 受容体に対する有効濃度より顕著に高濃度の HCG を投与した場合にのみ認められた。また、抗体を用いた吸収実験にてこの反応が夾雑物などによるものでなく HCG に特異的であること、IL-8 の産生は主に単球によることなどを確認した。さらに、IL-8 の産生促進は通常 LH/HCG 受容体を介さない反応であることが示された。一方、IL-8 の産生促進は D-マンノースの添加によって部分的に阻害されることが明らかとなり、HCG の糖鎖がこの反応に関与している可能性が示唆された。

これらの結果より、ヒト単球は LH/HCG 受容体システムとは異なる経路で HCG に対する反応性を有する可能性とこの作用が糖鎖やレクチンを用いたシグナル伝達システムを介している可能性が示唆された。

以上の研究は、ヒト着床現象の解明に貢献し、不妊症の中で現在最も問題となっている着床不全症例の病態解明と治療法の確立に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年2月8日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。