

氏 名	こおり た だい ぞう 郡 田 大 造
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1837 号
学位授与の日付	平 成 15 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Cyclic Mechanical Stretch Augments Prostacyclin Production in Cultured Human Uterine Myometrial Cells from Pregnant Women : Possible Involvement of Up-regulation of Prostacyclin Synthase Expression (周期的伸展刺激による培養ヒト妊娠子宮筋細胞からのプロスタサイクリン産生亢進作用-プロスタサイクリン合成酵素発現の増加が関与する可能性-)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 真 鍋 俊 明 教 授 藤 井 信 吾

論 文 内 容 の 要 旨

prostacyclin (PGI₂) は強力な血管平滑筋弛緩作用を有するが、子宮平滑筋も弛緩させる。妊娠中、ヒト母体血中のPGI₂濃度は上昇し、陣痛発来時にはさらに上昇する。ヒト子宮筋は種々のprostaglandin (PG) を産生し、なかでもPGI₂は最も多く産生されるが、妊娠子宮筋におけるPGI₂産生調節機序は未だ十分には明らかにされていない。本研究は、妊娠中および陣痛発来時におけるヒト子宮筋からのPGI₂産生調節機序を明らかにすることを目的とした。

ヒト子宮筋は、婦人科的疾患により摘出した非妊娠、妊娠初期、妊娠後期（陣痛発来前）のヒト子宮体部より患者の同意を得て採取した。これらのヒト子宮筋におけるPG合成系各酵素 (cytosolic phospholipase A₂ (cPLA₂), cyclooxygenase-1, 2 (COX-1, 2), prostacyclin synthase (PGIS)) の蛋白発現を免疫染色法および Western blot 法にて検討した。非妊娠子宮に比して、妊娠子宮では特に妊娠後期にCOX-1およびPGISの蛋白発現が著しく増加しており、これらが妊娠中のPGI₂産生増加に関与していると考えられた。

陣痛発来時のPGI₂産生増加機序の検討において、陣痛発来中のヒト子宮筋を採取することは困難であるため、培養ヒト子宮筋細胞を調整して*in vitro*の実験系を確立した。すなわち、陣痛により子宮筋に加わる周期的な伸展刺激に着目し、Flexer cell 3000 systemを用い培養ヒト子宮筋細胞に陣痛に類似した周期的伸展刺激を加え、伸展刺激がPGI₂の安定代謝産物である6-keto-PGF₁ α 産生およびPG合成系酵素であるcPLA₂, COX-1, 2, PGISの蛋白および遺伝子発現におよぼす影響を各々Western blot法とRT-PCR法で検討した。さらに、培養ヒト子宮筋細胞にPGIS promoter/luciferase ベクターを遺伝子導入し周期的伸展刺激がPGIS転写活性におよぼす影響を検討した。

周期的伸展刺激により、培養上清中の6-keto-PGF₁ α 濃度は時間依存性に上昇した。培養ヒト子宮筋細胞のPGIS転写活性は4時間後に、mRNA発現は8時間後に、そして蛋白発現は24時間後に有意に増加した。一方、cPLA₂およびCOX-1, 2は遺伝子発現、蛋白発現いずれも変化を示さなかった。すなわち、周期的伸展刺激は、培養ヒト子宮筋細胞のPGIS発現を転写レベルで亢進させ、PGI₂の産生・分泌を促進する可能性が示唆された。

さらに、周期的伸展刺激が、培養ヒト子宮筋細胞におけるPGI₂産生を増加させる機序を検討するため、AP-1サイトの阻害剤であるcurcuminを添加して検討した。curcumin添加により、周期的伸展刺激で誘導された培養ヒト子宮筋細胞の6-keto-PGF₁ α 産生およびPGIS蛋白発現の増加は、部分的ではあるが有意に阻害された。これらより、周期的伸展刺激が、培養ヒト子宮筋細胞におけるPGIS発現を増加させる機序に、AP-1サイトが重要な役割を果たしていると考えられた。

以上の検討より、妊娠中は子宮筋におけるCOX-1およびPGIS発現が増加し、PGI₂産生増加に関与していると考えられた。また、陣痛を模した周期的伸展刺激は、少なくとも部分的にAP-1サイトを介して培養ヒト子宮筋細胞のPGIS遺伝子発現を転写レベルで亢進しPGI₂分泌を増加する可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は陣痛発来時のヒト子宮筋におけるprostacyclin (PGI₂) 産生調節機序の一端を明らかにすることを目的としている。

非妊娠、妊娠初期、後期（陣痛発来前）のヒト子宮筋における、eicosanoid合成系各酵素の蛋白発現を検討したところ、妊娠後期にcyclooxygenase-1 (COX-1), prostacyclin synthase (PGIS) の蛋白発現が有意に増加しており、妊娠中のPGI₂産生増加に関与していると考えられた。

陣痛により子宮筋に加わる周期的な伸展刺激に着目し、培養ヒト子宮筋細胞（hUM 細胞）に陣痛を模した周期的伸展刺激を加えたところ、培養上清中へのPGI₂分泌、PGIS転写活性、PGISのmRNAならびに蛋白発現は有意に増加した。この伸展刺激によるPGI₂分泌およびPGIS蛋白発現の増加はAP-1サイト阻害剤の添加により有意に抑制された。すなわち、周期的伸展刺激はhUM細胞においてAP-1サイトの活性化を介してPGIS発現を転写レベルで亢進させ、最終的にPGI₂分泌を促進する可能性が明らかとなった。

以上の研究は、分娩時におけるヒト妊娠子宮筋のPGI₂産生調節機序の解明に貢献し、周産期医療の進歩に寄与するところが多い。

従って、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15年7月23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。