



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ Inhibits Chorionic Gonadotropin Secretion  |
| Author(s)    | 大橋, 一友   |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37793">https://hdl.handle.net/11094/37793</a>  |
| rights       |  |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|            |  |
|------------|--|
| 氏 名        | おお かし とも 友   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士 (医学)  |
| 学位記番号      | 第 10077 号  |
| 学位授与年月日    | 平成 4 年 3 月 16 日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 2 項該当   |
| 学位論文名      | <b>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math> Inhibits Chorionic Gonadotropin Secretion</b><br>(腫瘍壊死因子 $\alpha$ によるヒト絨毛性ゴナドトロピン分泌の抑制作用) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 谷澤 修<br>(副査)<br>教授 濱岡 利之 教授 岸本 忠三   |

## 論文内容の要旨

### (目 的)

インターロイキン 1, インターロイキン 6, 腫瘍壊死因子 (TNF)  $\alpha$  など胎盤からは多数のサイトカインが産生され, 妊娠の維持に関与していると考えられる。また, そのレセプターも絨毛細胞に広く分布している。TNF  $\alpha$  については抗腫瘍物質や免疫機構の中のメディエーターとして多彩な生物学的作用が報告されているが, 胎盤では主に絨毛細胞, 脱落膜細胞, 胎盤マクロファージから産生され, 子宮内感染などの際に産生量が増加する。TNF  $\alpha$  は妊娠後期においてプロスタグランディンを介して子宮収縮を誘発するとされている。しかし, TNF  $\alpha$  が妊娠の初, 中期に産生された場合, 妊娠にどのような影響を与えるかは不明である。一方 TNF  $\alpha$  の生物学的な意義は最近では免疫機構の中にとどまらず, 内分泌調節因子としての役割も注目されている。本研究においては初期の妊娠維持にとって重要であるヒト絨毛性ゴナドトロピンの分泌に対し, TNF  $\alpha$  が与える影響に関して考察を加えた。

### (方法ならびに成績)

医学的適応で行われた人工妊娠中絶術の際に採取した妊娠 6 週の胎盤を患者の同意を得た上で実験に供した。実体顕微鏡下に絨毛を分離し, 妊娠初期絨毛の器官培養を行った。培養には 10% ウシ胎児血清添加 RPMI 1640 を用い, これに種々の濃度の human recombinant TNF  $\alpha$  を加えた。また hCG を産生する絨毛腫瘍細胞株 NUC1 についても同様の検討を行った。

上記条件下で器官培養, 細胞培養を行い, 培養液中のヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG),  $\beta$  2 microglobulin ( $\beta$  2 m) の量を測定した。hCG の測定は酵素抗体法で行った。また  $\beta$  2 m はラジオイムノアッセイを用いて測定した。

さらに NUCI については培養終了後、4 M guanidine isothiocyanate で溶解し、CsCl 比重遠心を用いて全 RNA を抽出した。全 RNA をアガロースゲル上で電気泳動した後ニトロセルロース膜にブロッティングし、hCG  $\beta$  全長をコードする 540 base pair の cDNA を用いて Northern hybridization を行った。

器官培養した絨毛は TNF  $\alpha$  を 10-100U/ml の濃度で 24 時間作用させることによって絨毛組織蛋白量あたりの hCG 分泌が有意に抑制された。しかし器官培養した絨毛には絨毛細胞以外の細胞も含まれており、細胞相互に影響を与えあっている可能性も否定できない。そこで培養絨毛腫瘍細胞株 NUCI を用いて TNF  $\alpha$  の絨毛細胞への直接作用を検討した。NUCI から hCG 分泌に対して TNF  $\alpha$  は濃度 1 U/ml より分泌を抑制した。種々の濃度の TNF  $\alpha$  を 24 時間添加した場合の hCG 分泌量を TNF  $\alpha$  無添加の群と比較すると、1 U/ml では 12%、10 U/ml では 19%、100 U/ml では 29% の hCG 分泌抑制がみられた。TNF  $\alpha$  はある種の腫瘍細胞には障害性を持つ。TNF  $\alpha$  による NUCI から hCG 分泌に対する抑制効果が TNF  $\alpha$  の直接細胞障害によるものでないかどうかを検討するため各濃度の TNF  $\alpha$  の NUCI に対する細胞障害性をトリパンブルー染色と MTT 還元能で検討した。その結果 TNF  $\alpha$  は NUCI に対して細胞障害性を示さなかった。

TNF  $\alpha$  添加による NUCI から hCG 分泌抑制を転写レベルで検討したところ TNF  $\alpha$  の添加によって hCG  $\beta$  mRNA の量が減少し、TNF  $\alpha$  100 U/ml を 24 時間作用させると hCG  $\beta$  mRNA の量は TNF  $\alpha$  の無添加の場合の 23% にまで減少した。

正常絨毛の器官培養では TNF  $\alpha$  の産生はほとんど認められないが、感染が存在すると妊娠 15-16 週の羊水中に 20-30 U/ml の TNF  $\alpha$  が検出されるといわれる。従って、子宮内感染時の胎盤から産生される TNF  $\alpha$  (は hCG の産生を) 抑制することにより、妊娠継続を妨げる可能性がある。

(総括)

- 1) 正常絨毛の器官培養において TNF  $\alpha$  は hCG の分泌を抑制する。
- 2) 培養絨毛腫瘍細胞株 NUCI の hCG 分泌に対する TNF  $\alpha$  の抑制作用は濃度依存性であり、転写レベルで hCG  $\beta$  mRNA の量の減少を伴う。
- 3) TNF  $\alpha$  の hCG 分泌抑制作用は直接細胞障害性によるものではない。
- 4) 妊娠初期の子宮内感染時に胎盤より産生される TNF  $\alpha$  は絨毛細胞の hCG 分泌を抑制することによって妊娠維持に有害な働きをする可能性がある。

## 論文審査の結果の要旨

上記論文は胎盤より産生されるサイトカインである tumorspacer necrosis factor-  $\alpha$  の内分泌調節因子としての役割を解明したものである。妊娠初期に子宮内感染が起こると絨毛細胞、脱落膜細胞、マクロファージより TNF  $\alpha$  が産生される。この TNF  $\alpha$  が初期の妊娠維持にとって重要であるヒト絨毛性ゴナドトロピンの分泌を直接抑制することによって妊娠維持に対して有害な働きをする可能性があることを本論文では示している。よって本論文は学位を授与されるに値する研究であることを確認した。