Osaka University Knowledge Archive

Title	Interleukin 1 receptor antagonist expression in epithelial cells of human endometrium
Author(s)	福田, 真理子
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40474
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 89 】

氏　　名	福　田　真理子（ふくだ まりこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　12849　号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 18 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	Interleukin 1 receptor antagonist expression in epithelial cells of human endometrium （ヒト子宮内膜上皮細胞における IL-1 receptor antagonist の発現）
論文審査委員	（主査） 教授 村田 雄二 （副査） 教授 濵岡 利之　教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

【目　的】

女性生殖器のうち子宮内膜は，子宮頸管を通じて膣内細菌叢に近接しており，通常の性交渉を含めて上行性感染を起こす機会が多いことは臨床上よく知られている。局所の感染に際してはInterleukin 1（IL-1）を代表とする炎症性サイトカインが誘導され，生体防御のための炎症反応が進行することが多い。しかしながら炎症性サイトカインはしばしば正常組織に対して毒性を示す。生殖現象においてもIL-1による子宮内膜細胞の脱落膜化の抑制や，IL-1がマウス胚の発育を阻害することが報告されている。

本研究では生殖現象においてIL-1の作用に拮抗する生体防御因子としてのIL-1 receptor antagonist（IL-1ra）に着目し，子宮内膜のIL-1，IL-1raの月齢周期に伴う産生の変動に関して蛋白レベル，mRNAレベルで解析し，同時に性腺ホルモンとの関連性についても検討を加えた。

【方法ならびに成績】

1．子宮内膜組織の培養上清中のIL-1α，IL-1β，IL-1ra濃度のELISAによる測定

増殖期および分泌期のヒト子宮内膜を採取し，子宮内膜上皮細胞を単離して2×10^5/mlに調整し，培養上清中のIL-1α，IL-1β，IL-1raの濃度をそれぞれに特異的なマウスモノクローナル抗体を用いてenzyme-linked immunosorbent assayで測定した。

増殖期と分泌期での差をみると，IL-1αは増殖期に11 pg/ml，分泌期に10 pg/ml，IL-1βも増殖期に55 pg/ml，分泌期に40 pg/mlとほぼ一定であった。一方IL-1ra濃度は増殖期に465 pg/mlに対して分泌期に1710 pg/mlと有意に上昇していた。

2．子宮内膜組織のIL-1ra mRNAのreverse transcription polymerase chain reaction（RT-PCR）による測定

子宮内膜からacid guanidine thiocyanate phenolchlorform法でtotal RNAを抽出した。1 μgのRNAからreverse transcriptaseでcomplementary DNAを合成した。このRT産物を用いて，IL-1raおよびinternal controlとしてβ-actinのそれぞれのprimer pairを含む系でPCRをおこなった。PCRは変性94°C，アニール55°C，伸長72°C

で30サイクル行った。IL-1ra の primer は，既知の intracellular IL-1ra の cDNA 配列をもとにして468 bp になるよう特異的プライマー一組を合成した。PCR 産物をアガロースゲル電気泳動し，エチジウムブロマイドで染色の上，紫外線透過光の強度をデンシトメーターで測定した。

分泌期子宮内膜では増殖期の約 4 倍の IL-1ra がみられた。一方経口卵胞・黄体合成ホルモン投与による偽妊娠状態の子宮内膜でも分泌期とほぼ同様の強い IL-1ra の発現が見られた。

3．免疫組織化学的染色による IL-1ra の局在

ヒト子宮内膜の凍結組織切片を作成し，IL-1ra に対するヤギポリクローナル抗体を用いて染色した。

分泌期子宮内膜では内膜腺上皮細胞層が全体に強く染色された。

【総括】

1．ヒト子宮内膜から IL-1α，IL-1β，IL-1ra が産生されていることを確認した。

2．IL-1ra の免疫組織化学的局在はおもに内膜上皮層であることを明らかにした。

3．子宮内膜での IL-1ra の発現は転写レベル，蛋白レベルのいずれにおいても分泌期には増殖期に比べ有意に高値となっており，分泌期子宮内膜では IL-1ra が IL-1の作用を阻害しうる程度に存在することを明らかにした。IL-1ra 遺伝子の発現には性ステロイドホルモンが関与していることが予想された。

4．IL-1ra が分泌期子宮内膜で高い発現を示したことから，着床の場である子宮内膜や胚の発育に IL-1が及ぼす悪影響を IL-1ra が軽減する可能性があり，着床現象における IL-1ra の重要性を示すものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

生殖現象において Interleukin 1とその作用に拮抗する natural inhibitor である IL-1 receptor antagonist（IL-1ra）に着目し，ヒト子宮内膜における IL-1α，IL-1β，IL-1ra の月経周期に伴う産生の変動について蛋白レベル，mRNA レベルで解析し，以下の結果を得た。

1．ヒト子宮内膜上皮細胞を単離し，培養上清中の IL-1α，IL-1β，IL-1ra 濃度を ELISA で測定すると，IL-1α，IL-1β は増殖期と分泌期でほぼ一定であるのに対し，IL-1ra は分泌期により高値であった。

2．ヒト子宮内膜組織から RNA を抽出し，RT-PCR 法によって IL-1ra の mRNA レベルの発現を検討したところ，増殖期に比べて分泌期や，卵胞黄体ホルモン投与中の内膜で約 4 倍の強さとなっており，子宮内膜では IL-1ra が転写レベル，蛋白レベルのいずれにおいても分泌期に増殖期よりも強く発現していることを初めて明らかにした。

3．ヒト子宮内膜における IL-1ra の免疫組織化学的局在は分泌期内膜において上皮層にあることを明らかにした。

以上のことにより，IL-1ra 遺伝子の発現に性ステロイドホルモン，特に黄体ホルモンが深く関わることが示唆され，子宮内膜において IL-1ra が果たす生理的機能の一部が明らかにされた。よって本論は学位の授与に値すると考えられる。