

論文内容の要旨

論文提出者氏名 高岡 宰

論文題目

Daidzein-rich isoflavone aglycones inhibit cell growth and inflammation in endometriosis

論文内容の要旨

子宮内膜症は、子宮内膜類似組織が子宮腔外に生着し進展する疾患で、性成熟期女性の5%から10%が罹患する。子宮内膜症病巣局所にエストロゲンレセプター (ER) β 遺伝子が高発現することから、エストロゲンの ER β を介しての作用は重要である。また子宮内膜症間質細胞ではエストロゲンはサイトカインを誘発することで炎症に直接関わっている。インターロイキン (IL) -6、IL-8、COX-2 および PGE₂ などの炎症性サイトカインは子宮内膜症病巣局所でエストロゲン合成を促進し、病巣の進展・維持を助長している。それゆえに子宮内膜症はエストロゲン依存性炎症性疾患として考えられている。

子宮内膜症治療薬には低用量エストロゲン・プロゲステロン (LEP) や GnRH アゴニスト、プロゲステロンなどがある。これらの治療薬は効果があるが、副作用もある。例えば、LEP や GnRH アゴニストは排卵抑制することから直ちに妊娠を希望する女性には使用できない。したがって性成熟期の子宮内膜症患者に対して新しい作用機序による副作用のない治療薬が望まれる。

イソフラボンは弱いエストロゲン作用を持つ植物由来の非ステロイド天然物である。イソフラボンはエストロゲンと構造が類似しているため ER と結合しエストロゲン様作用を発揮する。イソフラボンの活性はエストロゲンの 1,000 分の 1 から 10,000 分の 1 と非常に弱いので、エストロゲン血中濃度の高い性成熟期女性に対してイソフラボンは抗エストロゲン作用を持つこともある。イソフラボンの子宮内膜症に対する効果の詳細は明らかになっていない。本研究で、子宮内膜症性嚢胞から分離した子宮内膜症間質細胞 (OESCs) と正常子宮内膜間質細胞 (NESCs) および子宮内膜症マウスモデルを使用し、子宮内膜症に対するダイゼインリッチイソフラボンアグリコン (DRIAs) の効果をグリコシド型イソフラボンであるイソフラボン 40 (Iso-40) と比較調査した。

子宮内膜症間質細胞および正常子宮内膜の細胞増殖抑制を WST-8 アッセイで測定した。インターロイキン (IL) -6、IL-8、アロマターゼおよび COX-2 の遺伝子発現をリアルタイム PCR で測定した。プロスタグランジン (PG) E₂ のタンパクレベルを ELISA で、アロマ

ターゼ酵素活性をトリチウム水法で測定した。NF- κ B 関連タンパクレベルはウエスタンブロットおよび蛍光免疫染色で測定した。子宮内膜症モデルマウスの嚢胞は個数、嚢胞重量で評価し、Ki67 染色で細胞増殖能を測定した。

DRIAs は濃度依存性に子宮内膜症間質細胞の増殖を抑制した (P < 0.05 for 0.2 μ M DRIAs; P < 0.01 for 2 and 20 μ M)。正常子宮内膜では増殖抑制効果は示さなかった。DRIAs の前駆物質である Iso-40 は子宮内膜症細胞および正常子宮内膜ともに増殖抑制効果は示さなかった。アグリコン単体 (ダイゼイン、ゲニステイン、およびグリシテイン) および代謝物エクオールは、子宮内膜症間質細胞の増殖を抑制しなかった。DRIAs は IL-6、IL-8、COX-2 およびアロマターゼの mRNA 発現を抑制した。一方で Iso-40 は 4 つの mRNA の発現を抑制しなかった。DRIAs は PGE₂ のタンパクレベルを減少させた (P < 0.05)。DRIAs は子宮内膜症間質細胞のアロマターゼ酵素活性を減少させた (P < 0.05)。DRIAs は、TNF- α によって促進される I κ B のリン酸化を抑制し、蛍光免疫染色で NF κ B のサブユニットである p65 の核内取り込みを阻害することを確認した。ER β アンタゴニストである PHTPP は DRIAs の増殖抑制効果を抑制した。トランスフェリング siRNA による ER β ノックダウン細胞は DRIAs の効果を打ち消した。ER α アンタゴニストの MPP は DRIAs の効果は打ち消さなかった。さらに DRIAs は ER β の転写標的として同定された SGK1 の遺伝子発現を減少させた (P < 0.05)。マウスは、正常餌、DRIAs 含有の餌、または Iso-40 含有の餌で飼育されたものの 3 群に分類した。DRIAs 投与群の病変数および総重量は、他の群より有意に低かった (P < 0.01)。正常群と比較して、Iso-40 群の総重量または病変数の減少はなかった。さらに、3 群間で子宮重量およびマウス体重に差はなかった。DRIAs 処理後の嚢胞の間質は Ki-67 陽性の割合が有意に減少した (P < 0.01)。

DRIAs は ER β を介して子宮内膜症の細胞増殖を抑制し、子宮内膜症モデルマウスの病変形成を抑制した。