



TITLE:

Prostaglandin F₂ α , cytokines, and cyclic mechanical stretch augment matrix metalloproteinase-1 secretion from cultured human uterine cervical fibroblast cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yoshida, Masahiro

CITATION:

Yoshida, Masahiro. Prostaglandin F₂ α , cytokines, and cyclic mechanical stretch augment matrix metalloproteinase-1 secretion from cultured human uterine cervical fibroblast cells. 京都大学, 2004, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2004-03-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/147549>

RIGHT:

氏 名	よし だ まさ ひろ 吉 田 昌 弘
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1844 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 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	Prostaglandin F _{2α} , cytokines, and cyclic mechanical stretch augment matrix metalloproteinase-1 secretion from cultured human uterine cervical fibroblast cells (プロスタグランジンF _{2α} , サイトカインおよび周期的伸展刺激による培養ヒト子宮頸部線維芽細胞からのマトリックスメタロプロティナーゼ-1分泌亢進作用)
論文調査委員	(主 査) 教 授 真 鍋 俊 明 教 授 成 宮 周 教 授 藤 井 信 吾

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト子宮頸部は主に線維芽細胞で構成されており、分娩時には短時間で熟化、開大する。この熟化過程には細胞外マトリックスの分解が必須であり、matrix metalloproteinases (MMPs) などコラーゲナーゼが重要な働きをしている。本研究は、分娩時における妊娠ヒト子宮頸部でのMMPs産生調整機序を明らかにすることを目的とした。

ヒト妊娠子宮頸部組織は婦人科的疾患の手術時に患者の同意のもとに採取したものをを用いた。ヒト子宮頸部は主にコラーゲン type I, type IIIで構成されていることから、それに特異性をもつMMP-1, 8, 13に着目し、まず、MMP-1, 8, 13の発現を免疫染色法にて検討したところ、MMP-1は子宮頸部細胞間質、腺細胞全てに広く分布しているのに対し、MMP-8, 13は腺細胞にのみ分布していた。そこで我々は頸部熟化のコラーゲナーゼとして特にMMP-1に着目した。

陣痛発来時のヒト子宮頸部細胞を採取するのは困難であるため、培養ヒト子宮頸部線維芽細胞を調整し、*in vitro*の実験系を確立した。非妊娠、妊娠の各時期の子宮頸部組織中、および培養ヒト子宮頸部線維芽細胞の上清中のMMP-1の発現をWestern blot法にて調べた。非活性型のMMP-1である52kDの位置に主バンド、活性型のMMP-1である41kDの位置に副バンドを認めた。

また、非妊娠、妊娠の各時期の子宮頸部組織、及び培養ヒト子宮頸部線維芽細胞でのMMP-1 mRNAの発現をRT-PCR法を用い確認した。

Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), Interleukin-1 α (IL1- α) は子宮頸部熟化に深くかかわっていると考えられている。そこで、子宮頸部、子宮筋層、培養ヒト子宮頸部線維芽細胞にRT-PCR法を用いて、EP3 receptor, FP receptorのRNAが発現していることを確認後、これらの物質を培養ヒト子宮頸部線維芽細胞に添加しMMP-1の分泌を検討したところ、用量依存性に増加した。また、Zymography法では、MMP-2分泌に変化は認めず、MMP-9は検出感度以下であった。Cyclooxygenaseの阻害剤であるIndomethacinと共に添加すると、IL1- αにて産生亢進したMMP-1分泌はIndomethacinにて用量依存性に抑制されるも、PGF_{2α}には産生亢進Indomethacinでは抑制されず、IL1- αによる産出亢進は、prostaglandinを介している可能性が示唆された。

さらに、培養ヒト子宮頸部線維芽細胞に陣痛発来を模した機械的伸展刺激を加え、培養上清中へのMMP-1分泌を調べたところ、24時間の刺激により、MMP-1の産生は有意に増加した。これら伸展刺激をうけた細胞のmRNA発現をNorthern blot法にて調べたところ、6時間の伸展刺激にて有意にMMP-1のmRNAの発現が増加した。また、AP-1サイトを阻害するcurcumin添加により、濃度依存性に抑制されたことから、伸展刺激によるMMP-1の産生亢進には、AP-1サイトが深くかかわっていることが示唆された。

以上の検討により、妊娠中のヒト子宮頸部には、その細胞外マトリックスの主要構成成分であるtype I, IIIコラーゲンを基質とするMMP-1が発現していることが示された。また、培養ヒト子宮頸部線維芽細胞を用いた検討では、子宮頸部熟

化の因子と考えられている $\text{PGF}_{2\alpha}$, $\text{IL1-}\alpha$ の添加により, MMP-1 の発現は有意に増加し, また陣痛発来を模した周期的伸展刺激により, AP-1 サイトを介して MMP-1 の発現が増加した。IL1- α などサイトカインや先進児頭による物質的伸展刺激は, MMP-1 分泌亢進を介して頸部熟化に深くかかわっていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は分娩時のヒト子宮頸部熟化過程における matrix metalloproteinases (MMPs) の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。

ヒト子宮頸部の熟化には, 細胞外マトリックスの分解が必須であるので, その主要構成成分である I 型および III 型コラーゲンに基質特異性を有する MMP-1, -8, -13 の局在を免疫組織化学的に検討したところ, MMP-1 が子宮頸部間質に広く分布していたことから, 本研究では MMP-1 を中心に行っている。

分娩時に子宮局所で増加する prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$, interleukin-1 α を培養ヒト子宮頸部線維芽細胞に添加すると, MMP-1 分泌が有意に増加した。一方, 分娩時には陣痛に伴って下降する児頭により子宮頸部へ周期的な伸展刺激が加わることに着目し, 培養ヒト子宮頸部線維芽細胞にコンピューター制御された装置を用いて陣痛を模した周期的な伸展刺激を加えたところ, MMP-1 の遺伝子発現ならびに分泌量が有意に増加した。また, 周期的伸展刺激による MMP-1 分泌増加作用は AP-1 サイトを介していることが示された。

以上の研究は, 分娩時の子宮頸部熟化過程における MMP-1 産生調節機序を明らかにし, 周産期医学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16年1月13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。