

Title	Reactive oxygen species mediate leukocyte-endothelium interactions in prostaglandin F2 α -induced luteolysis in rats.
Sub Title	機能的黄体退縮における白血球：内皮間相互作用と酸素ストレスの関与
Author	峰岸, 一宏(Minegishi, Kazuhiro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.2 (2003. 6) ,p.44-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0044

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Reactive oxygen species mediate leukocyte-endothelium interactions in prostaglandin F_{2α}-induced luteolysis in rats.

(機能的黄体退縮における白血球-内皮間相互作用と酸素ストレスの関与)

峰 岸 一 宏

内容の要旨

黄体は、胚着床に向けた子宮内膜の脱着膜変化や着床後の妊娠維持に不可欠な性ステロイドホルモンであるプロゲステロンを産生する。黄体機能不全に伴う病的な黄体退縮は、不妊症や不育症を引き起こすと考えられており、黄体の維持・退縮機構の解明は生殖内分泌学における重要なテーマの一つである。近年、黄体退縮因子であるプロスタグランジン (PG) F_{2α}が、活性酸素の産生を誘導し、プロゲステロン産生を抑制することが明らかにされている。また、黄体退縮期に一致して黄体組織に白血球浸潤が認められている。しかしながら、黄体退縮過程における白血球集積・浸潤と黄体機能との関連や活性酸素の役割について検討した報告はない。そこで本研究では、機能的黄体退縮モデルでの白血球集積と活性酸素の役割を解明することを目的とした。

幼若Sprague-Dawleyラットの黄体機能を維持させるために偽妊娠とし、PGF_{2α}投与により機能的黄体退縮を誘導した。黄体微小循環を生体顕微鏡により観察し、黄体細静脈における白血球接着反応を観察した。また、集積・浸潤した好中球の指標として卵巣組織ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性を測定し、機能的黄体退縮の発生は、血清プロゲステロン濃度測定により確認した。抗CD18単クローン抗体を前投与することで、CD18依存性の白血球集積・浸潤が黄体退縮に与える影響を評価した。次に、活性酸素消去酵素のsuperoxide dismutase (SOD) とカタラーゼを用いて、活性酸素が白血球集積・浸潤や黄体機能に与える影響について検討を加えた。さらに、黄体内酸素ストレスの経時的変化についてH₂O₂感受性蛍光プローブを用いて評価した。

黄体細静脈での接着白血球数と卵巣MPO活性は、それぞれPGF_{2α}投与後60分、120分で有意に増加し、黄体退縮期における好中球集積・浸潤が確認された。また、プロゲステロン濃度はPGF_{2α}投与後30分に低下した後、時間依存性に低下し、機能的黄体退縮が確認された。抗CD18抗体投与は、PGF_{2α}によって誘導された接着白血球数や卵巣MPO活性の増加、プロゲステロン濃度の低下を抑制し、集積・浸潤した好中球の黄体退縮への関与が考えられた。活性酸素消去酵素投与もPGF_{2α}によって惹起されるこれらの変化を抑制した。黄体実質領域でのH₂O₂発生による酸素ストレスの誘導が、PGF_{2α}投与後30分で認められた。以上より、黄体退縮初期に発生した活性酸素の影響下で、CD18依存性の白血球-内皮間相互作用を介して浸潤した好中球が黄体退縮機構に関与しているものと考えられた。黄体退縮期での微小循環動態や好中球の黄体機能への関与を明らかにしたことは、黄体機能不全の病態を解明する上で臨床上重要であると考えられた。

論文審査の要旨

黄体機能は着床やその後の妊娠維持に不可欠であり、その破綻に伴う黄体機能不全は、不妊・不育などの原因として考えられている。プロスタグランジン (PG) F_{2α}が活性酸素を誘導し、プロゲステロン合成を抑制するとされ、また黄体退縮期に黄体への白血球浸潤が報告されているが、白血球集積を介する黄体退縮機構は不明である。本研究では、ラット機能的黄体退縮モデルを用いて白血球集積および活性酸素の役割について検討した。その結果、黄体退縮初期に誘導された酸素ストレスの影響下で、白血球インテグリンCD18依存性の白血球-内皮間相互作用を介して集積・浸潤した白血球、主に好中球が黄体退縮機構に関与することが示された。

審査では、まず今回用いた偽妊娠ラットについて質疑がなされた。成熟ラットは黄体の内分泌機能を持たず、妊娠ラットでは黄体退縮阻害作用を有する胎盤性ラクトゲンの影響で黄体退縮モデルの確立が困難なことから、性周期のない幼若ラットを妊娠に類似したホルモン環境である偽妊娠とした旨が回答された。さらに、偽妊娠8日目黄体成熟期に相当し、PGF_{2α}レセプターの発現が認められる時期であることも補足された。次に、プロゲステロン合成阻害への酸素ストレスの関与について質問がなされた。活性酸素に誘導される酸素ストレスが、黄体細胞内での黄体化ホルモンレセプターやシトクロムP450sccへの阻害作用を通じてプロゲステロン合成を阻害している旨が回答され、好中球浸潤時期での酸素ストレスの変化やcell viabilityとの関係についても検討すべきとの助言があった。さらに、好中球集積について討議がなされた。ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性のコントロールについて質問され、resident macrophageによるMPO活性を反映している可能性がある旨が回答された。また、MPO活性の意義に関連して、微小循環における好中球接着と血管外遊出がMPO活性の変化に反映されていないとの指摘があり、経時的な組織学的検討を行って確認すべきとの助言がなされた。最後に、本モデルでの黄体退縮機構について質疑がなされた。抗CD18単クローン抗体の投与量や作用機序について質問があり、さらに、抗CD18抗体投与による各パラメーターの変化が僅少であることから、CD18以外の機構の関与が指摘された。この討議に関連して、抗CD18抗体投与は、黄体細胞におけるPGF_{2α}による初期の生物学的反応を抑制しないことから、好中球の機能的黄体退縮への関与は二次性のものと推測される旨が説明され、初期のプロゲステロン合成抑制機構の解明が重要であるとの指摘も受けた。以上より、本研究にはさらに検討すべき点はあるものの、黄体退縮における好中球集積の黄体機能への関与と、その過程における活性酸素の役割を明らかにした点で、生殖生理学上有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 産婦人科学 吉村 泰典
産婦人科学 野澤 志朗 医化学 末松 誠
内科学 池田 康夫 病理学 岡田 保典
学力確認担当者：北島 政樹、野澤 志朗
審査委員長：野澤 志朗

試問日：平成15年3月11日