

論 文 内 容 要 旨

題 目 Lipopolysaccharide promotes early endometrial-peritoneal interactions in a mouse model of endometriosis

(子宮内膜症モデルマウスにおいて LPS は腹膜子宮内膜症初期病巣形成を促進する)

著 者 Kaoru Keyama, Takeshi Kato, Yuri Kadota, Otgontsetseg Erdenebayar, Kana Kasai, Takako Kawakita, Anna Tani, Sumika Matsui, Takeshi Iwasa, Kanako Yoshida, Masahiko Maegawa, Akira Kuwahara, Toshiya Matsuzaki, Minoru Irahara

平成 31 年 The Journal of Medical Investigation 第 66 巻第 1 号掲載予定

内容要旨

子宮内膜症は生殖可能年齢の女性に多く発症する疾患で、子宮内膜組織が腹腔内など子宮内腔外に発生、増殖し、月経困難症や不妊症をひきおこす。発生原因として、卵管を経て腹腔内に流入した月経血に含まれる子宮内膜が生着する移植説が有力と考えられ、その背景に腹腔内の炎症の存在が示唆されている。

そこで我々は、子宮内膜症モデルマウスの腹腔内に炎症環境を形成し、実際に子宮内膜症病変の形成が促進されるかについて検討した。

まず、子宮内膜症モデルマウスを用いた実験を以下のように行った。ドナーマウス(8週齢 C57BL/6 雌マウス)の卵巣を摘出し、エストラジオール(2 μ g/日)を7日間補充し、8日目に子宮内膜を採取した。同系8週齢雌マウスの腹腔内に、ドナーマウスから採取した子宮内膜と新鮮血100 μ l(C群)あるいは新鮮血100 μ l+Lipopolysaccharide (LPS) 100 μ g (LPS群)を注入した。注入後7日目にレシピエントマウスを開腹し、子宮内膜症病変の個数と表面積を測定し両群を比較した。

次いで、マウスへ LPS を腹腔内に投与した際の腹腔内環境を調べた。LPS50 μ g を8週齢の C57BL/6 雌マウスの腹腔内に投与し、2時間後、6時間後、1日後、3日後、5日後、7日後、10日後に生理食塩水 1ml で腹腔内を洗浄し回収し

様式(8)

た。コントロール群として生理食塩水 0.1ml を腹腔内に注入し、同様に腹腔内を洗浄した。回収した洗浄腹水を用いて TNF α 、IL-6、MIP-2 の測定を ELISA 法により行った。

得られた結果は以下の通りである。

1. 内膜症モデルマウスによる実験では、C 群、LPS 群どちらも腹腔内に内膜症病巣の形成を認めたことを HE 染色で確認した。
2. 内膜症病変を形成した個体数はコントロール群と LPS 群で有意差を認めなかったが、内膜症病変の大きさは C 群 $3.1 \pm 3.7\text{mm}^2$ 、LPS 群 $10.8 \pm 8.6\text{mm}^2$ と LPS 群の方が有意に大きかった。
3. 腹腔内に生理食塩水を注入した群では TNF- α 、IL-6 は測定感度以下で、CXCL2/MIP-2 は 2 時間後に軽度上昇しその後ゆるやかに低下した。
4. 腹腔内に LPS を投与した群では、TNF α は投与後 2 時間後に $133.11 \pm 52.43\text{pg/ml}$ 、IL-6 は投与 2 時間後に $1327.16 \pm 26.83\text{pg/ml}$ 、CXCL2/MIP-2 は 1 日目に $70.01 \pm 24.89\text{pg/ml}$ とそれぞれ最高値となった後、速やかに低下した

以上より、血液と LPS をマウスの腹腔内に同時投与することにより子宮内膜症病変の増殖が促進されたこと、腹腔内への LPS 投与により炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-6、CXCL2/MIP-2 が産生されたことが示され、月経血の逆流に加えて腹腔内の炎症が存在することにより、子宮内膜症の初期の病巣形成を促進することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1397 号	氏名	毛山 薫
審査委員	主査 常山 幸一 副査 安倍 正博 副査 米村 重信		

題目 Lipopolysaccharide promotes early endometrial-peritoneal interactions in a mouse model of endometriosis
(子宮内膜症モデルマウスにおいて LPS は腹膜子宮内膜症初期病巣形成を促進する)

著者 Kaoru Keyama, Takeshi Kato, Yuri Kadota, Otgontsetseg Erdenebayar, Kana Kasai, Takako Kawakita, Anna Tani, Sumika Matsui, Takeshi Iwasa, Kanako Yoshida, Masahiko Maegawa Akira Kuwahara, Toshiya Matsuzaki, Minoru Irahara
平成 31 年 The Journal of Medical Investigation 第 66 巻第 1 号掲載予定
(主任教授 苛原 稔)

要旨 子宮内膜症は生殖可能年齢の女性に多く発症する疾患で、子宮内膜組織が腹腔内など子宮内腔外に発生・増殖し、月経困難症や不妊症をひきおこす。発生原因として、卵管を経て腹腔内に流入した月経血に含まれる子宮内膜が生着する移植説が有力と考えられ、その背景に腹腔内の炎症の存在が示唆されている。

そこで申請者らは、すでに確立している子宮内膜症モデルマウスを用いて、その腹腔内に炎症環境を形成することにより、実際に子宮内膜症病変の形成が促進されるかについて検討した。

子宮内膜症モデルマウスを用いて以下の実験を行った。まず、ドナーマウス (8 週齢 C57BL/6 雌マウス) の卵巢を摘出し、エストラジオール (2 μ g/日) を 7 日間補充し、8 日目に子宮内膜を採取した。同系 8 週齢雌マウス (レシピエントマウス) の腹腔内に、採取した子宮内膜組織と新鮮血 100 μ l (対照群) あるいは新鮮血

100 μ l + Lipopolysaccharide (LPS) 100 μ g (LPS 群) を注入した。注入後 7 日目に開腹し、子宮内膜症病変の個数と表面積を測定し両群を比較した。

次に LPS を腹腔内に投与した際の腹腔内環境を調べるため、生理食塩水 (対照群) あるいは LPS50 μ g (LPS 群) をマウスの腹腔内に投与し、2 時間後、6 時間後、1 日後、3 日後、5 日後、7 日後、10 日後に生理食塩水 1ml で腹腔内を洗浄し、洗浄液中の TNF- α 、IL-6、CXCL2/MIP-2 の測定を ELISA 法により行った。

得られた結果は以下の通りである。

1. 内膜症モデルによる実験では、対照群、LPS 群どちらも腹腔内に内膜症病巣の形成を認めたことを HE 染色で確認した。
2. 内膜症病変を形成した個体数は対照群と LPS 群で有意差を認めなかったが、内膜症病変の大きさは対照群 $3.1 \pm 3.7\text{mm}^2$ 、LPS 群 $10.8 \pm 8.6\text{mm}^2$ と LPS 群の方が有意に大きかった。
3. 洗浄腹水中の TNF α と IL-6 の測定値は、対照群ではほとんど測定感度以下であったのに対し、LPS 群において投与後 2 時間後に TNF α : $133.11 \pm 52.43\text{pg/ml}$ と IL-6 : $1327.16 \pm 26.83\text{pg/ml}$ と高値を示した。
4. 洗浄腹水中の CXCL2/MIP-2 は、対照群に対して LPS 群の方が高く、1 日目に $70.01 \pm 24.89\text{pg/ml}$ と高値を示した。

以上より申請者らは、マウス腹腔内に血液に加えて LPS を同時投与することにより子宮内膜症病変の増殖が促進すること、また LPS 投与で腹腔内に炎症環境が生じていることを示し、月経血の逆流に加えて腹腔内の炎症が存在することにより、子宮内膜症の初期の病巣形成が促進することを明らかにした。

本研究は、子宮内膜症の発生機序に腹腔内の炎症が重要な因子になることを明らかにした点で有意義であり、生殖内分泌学に寄与すること大であると考えられ、学位授与に値すると判定した。