

論 文 要 旨

ヒト子宮内膜において低酸素および内分泌環境による血管新生因子の発現調節
機構の解明

関西医科大学産科学婦人科学講座
(指導：神崎秀陽 教授)

都築 朋子

【研究目的】

生体機能の制御や各種病態の発生・進展の要が、局所における血管新生であることは周知されている。月経周期で急速に変化する子宮内膜は、生体内で最も顕著な血管新生の場となっている。血管新生の中心的な役割を担っている Vascular endothelial growth factor (VEGF)、および血管新生因子のひとつでケモカインである Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) が知られている。血管新生因子 Angiopoietin (ANGPT) には ANGPT1 とそれに拮抗する ANGPT2 があり、ANGPT1 優位になると血管の安定化、ANGPT2 優位あるいは ANGPT2/ANGPT1 比の上昇により血管新生を促している。

子宮内膜機能調節機構を解明するためには、そのプロセスの時間軸に着目して、虚血による低酸素環境の月経期、性ステロイドホルモンの制御下にある増殖期と分泌期に分割して検討する必要がある。子宮内膜機能調節の要となるのは血管新生であり、これを制御する血管新生因子の調節機構の解析が何より重要である。今回、培養ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) を用いて、低酸素および内分泌環境における血管新生因子の発現調節機構を解析した。

【研究方法】

研究材料として、本学倫理委員会の承認および患者の同意の得られたヒト子宮内膜組織を採取した。分離した ESC を低酸素状態 (2%O₂) あるいは正常酸素状態 (20%O₂) で、性ステロイドホルモンのエストラジオール (E) とプロゲステロン (MPA) を添加培養した。リアルタイム PCR と ELISA 法にて VEGF、SDF-1、ANGPT1、ANGPT2 の発現動態を解析した。低酸素応答のマスター制御転写因子である低酸素誘導因子 (Hypoxia inducible factor; HIF)-1 α の関与を Western blot 法で解析した。低酸素状態を模倣する塩化コバルト CoCl₂、HIF-1 α 結合阻害薬であるエキノマイシンの添加実験により、HIF-1 α の発現変化と血管新生因子の分泌能を検討した。さらに VEGF、ANGPT 発現調節における E と低酸素刺激の相互作用を検討した。

【結果】

低酸素状態は、ESC で VEGF mRNA 発現およびその産生を誘導し、SDF-1 mRNA 発現およびその産生を抑制した (P<0.01)。また CoCl₂ は、濃度依存的に VEGF 産生を亢進、SDF-1 産生を低下させた (P<0.01)。CoCl₂ による HIF-1 α 蛋白誘導能を確認すると、その発現ピークを培養 6 時間後に認めた。CoCl₂ により

誘導された VEGF はエキノマイシンで抑制され ($P < 0.01$)、この効果はエキノマイシンによる細胞毒性や HIF-1 α 蛋白レベルの変化に由来しないことを確認した。一方、CoCl₂により抑制された SDF-1 は、エキノマイシンで変化しなかった。

ESC で低酸素状態および E 作用は、ANGPT2 優位 (ANGPT2/ANGPT1 比の上昇) および VEGF 産生を増加させた ($P < 0.01$)。低酸素環境で E による ANGPT2/ANGPT1 比や VEGF 産生における相乗作用を認めなかった。E と MPA 同時添加の結果は VEGF 産生を維持しており、ANGPT1 優位 (ANGPT2/ANGPT1 比の低下) となった。

【考察】

月経期の低酸素環境において、子宮内膜再生の重要な血管新生因子である VEGF が HIF-1 α シグナル経路を介して促進される制御機構が明らかとなった。VEGF は子宮内膜症の病態進展に深く関わっており、HIF-1 α 阻害薬エキノマイシンはその治療薬への応用が期待されている。現在、子宮内膜症患者から採取した内膜症細胞を用いてエキノマイシンの効果を検討中である。

低酸素環境の月経期や E 作用の増殖期で、ANGPT2 優位と共に VEGF 誘導により血管新生が促進され、E とプロゲステロン作用の分泌期で ANGPT1 優位となり血管成熟を促すという、子宮内膜局所における血管新生制御機構が判明した。

生殖現象でのヒト子宮内膜の研究は、実験動物では月経周期に伴う変化や着床形態が異なるために、そのアプローチには大きな困難がある。今回、ヒト子宮内膜を用いた一連の研究から低酸素および内分泌環境で血管新生因子がそれぞれ特異的に制御されており、血管新生における ESC の細胞生理学的役割が明らかとなった。