

氏名（本籍）	伊 藤 俊 哉（岐阜県）
学 位 の 種 類	博 士（医学）
学位授与番号	乙 第 890 号
学位授与日付	平成 6 年 1 月 19 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	女性生殖生理における末梢血単球のエストロゲン結合部位の生物学的意義
審 査 委 員	（主査）教授 玉 舎 輝 彦 （副査）教授 佐 治 重 豊 教授 野 澤 義 則

論 文 内 容 の 要 旨

子宮内膜症は、その発育や、不妊症と関連して問題となっている。なかでも子宮内膜症患者の腹水中にはマクロファージが増加し、その骨盤内マクロファージが、各種サイトカインを分泌し、子宮内膜症の発育への影響や、不妊症の原因と関連すると考えられている。また、この作用の一部はエストロゲンの影響下にある。

そこで、骨盤内マクロファージは、末梢血単球から分化したものであるから、この、末梢血単球に、エストロゲンの作用部位である受容体（ER）ならびにERmRNAの発現を検索した。

次に、エストロゲンのマクロファージへの影響は、それを打ち消すことにより良い結果が生まれる。すなわち、これは抗エストロゲン作用である。そこで抗エストロゲン作用を示す合成ステロイド剤であるダナゾール（子宮内膜症治療薬）が、*in vivo*, *in vitro*で末梢血単球におけるERならびにERmRNAの発現に及ぼす影響を検討した。

研究方法

- 1) 正常排卵（月経）周期を有する健常婦人45人〔平均 22 ± 8 （22～44）歳〕および内視鏡下に子宮内膜症と診断され、ダナゾール療法（400mg/日、1ヵ月以上投与）中の10症例〔平均 26 ± 7 （23～43）歳〕を対象とした。
- 2) 単球をFicoll-Hypaque密度勾配遠心法およびディッシュ付着法にて分離した。
- 3) エストロゲン結合部位を末梢血単球のサイトソール分画、核KCl抽出分画、核KCl非抽出分画とにわけて検討する。すなわち、ここでの $[^3\text{H}]$ -エストラジオール-17 β とダナゾール他の各種ステロイドとの結合特異性を検討し、さらに、エストラジオール-17 β のType I とType II 結合部位をScatchard plot解析とHill係数解析で測定した。
- 4) 末梢血単球でのRNAを分離し、逆転写後、既知のERのDNA結合ドメインとステロイド結合ドメインのオリゴマーをプライマーとして用い、polymerase chain reaction（PCR）おこないDNAを増幅した。
- 5) PCR産物の特異性を検出し、ERmRNA発現量をGAPDHmRNAの発現量で補正算出し、さらにERmRNAの変性率の解析、ERゲノムの転写率の解析などをおこなった。

結 果

- 1) 末梢血単球には、Type I およびType II のエストロゲン受容体（ER）が存在した。
- 2) 月経周期が進むと、末梢血単球のERmRNA（Type I）の発現は、減少するが、ER蛋白（Type I）は、エストロゲンが働き得る時期に最高値をとり、mRNAの発現ピークより遅れる。
- 3) ダナゾールは、高濃度で末梢血単球のType I -ERおよびType II -ERと結合した。
- 4) ダナゾールは*in vivo*, *in vitro*どちらでも、末梢血単球のType I, Type II のER量を減少させた。
- 5) Type I -ERのmRNAの変動を検討したところ、ダナゾールは、*in vivo*で末梢血単球のType I のERmRNAおよびER発現量を減じた。

以上より、末梢血単球にはエストロゲン受容体（ER）が存在することを始めて明らかにした。また、この結果よりダナゾールは、子宮内膜症治療中の患者の腹水中のマクロファージのERの機能を低下させ、その結果、サイトカインの産生を阻害し、子宮内膜症の発育および関連する不妊症に効果を示す可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者、伊藤俊哉は末梢血単球にエストロゲン受容体の存在することを証明し、その生物学的意義を抗エストロゲン剤の作用機構の上から明らかにした。本研究の成果は、マクロファージにおけるエストロゲンの生物学を理解するうえで、少なからず貢献するものである。

[主論文公表誌]

女性生殖生理における末梢血単球のエストロゲン結合部位の生物学的意義

岐阜大医紀 41(6): 1030~1044, 1993