



Selective progesterone receptor modulator asoprisnil down-regulates collagen synthesis in cultured human uterine leiomyomacells through up-regulating extracellular matrix...

森川, 哲

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2008-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4333

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004333>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏 名 森川 哲
博士の専攻分野の名称 博士（医学）
学 位 記 番 号 博い第 1933 号
学位授与の要 件 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の日 付 平成 20 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Selective progesterone receptor modulator asoprisnil down-regulates collagen synthesis in cultured human uterine leiomyomacells through up-regulating extracellular matrix metalloproteinaseinducer(選択的プロゲステロン受容体モジュレーター asoprisnil は培養ヒト子宮筋腫細胞において extracellular matrix metalloproteinaseinducer を増加させることによりコラーゲン合成を減少させる)

審 査 委 員

主 査 教 授 松尾 雅文
教 授 熊谷 俊一
教 授 前川 信博

子宮筋腫は性成熟期婦人に好発する良性腫瘍であり、その発育にはエストロゲンが密接に関与していると考えられてきたが、我々の教室での一連の基礎的研究によりプロゲステロンも子宮筋腫発育に対して促進的に働くことが明らかとなつた。プロゲステロンは標的細胞の核受容体であるプロゲステロン受容体と結合し、種々の遺伝子発現を調節しているが、プロゲステロン受容体モジュレーターはプロゲステロン受容体と結合すると、細胞特異的に *agonist*、*antagonist* あるいは *mixed agonist/antagonist* 作用を発揮することが知られている。最近の臨床試験により、選択的プロゲステロン受容体モジュレーター asoprisnil が子宮筋腫体積を有意に縮小させ、また子宮筋腫随伴症状を軽減させる効果を有することが立証された。しかし、asoprisnil の子宮筋腫縮小機序には未だ不明な点が多い。我々は asoprisnil が培養子宮筋腫細胞の細胞増殖能を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかにしてきた。

近年、子宮筋腫は細胞外マトリックスにおいて異常なコラーゲン原線維構造を含むことが指摘されている。しかし、asoprisnil の子宮筋腫における細胞外マトリックス産生に対する影響に関する報告は皆無である。今回、我々は無血清培養系を用いて培養したヒト子宮筋腫細胞とヒト正常子宮平滑筋細胞において、細胞外マトリックスの主成分であるコラーゲンとコラーゲンの分解に関わる酵素に対する asoprisnil の影響を検討した。

患者の同意を得て手術時に子宮筋腫組織と近接する正常子宮平滑筋組織を採取し、コラゲナーゼ処理後に浮遊細胞を回収した。細胞は phenol red-free DMEM 培地で 120 時間培養した後に無血清培地に替え、asoprisnil 添加下 (10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M) あるいは非添加下に細胞培養を 48 時間継続した。extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN),

matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), membrane type 1-MMP (MT1-MMP), tissue inhibitors of MMP-1,2 (TIMP-1,2), type I collagen, type III collagen 蛋白発現をウエスタンプロット法にて解析した。

無処理培養子宮筋腫細胞における EMMPRIN, MMP-1, MT1-MMP 蛋白発現は無処理培養正常子宮平滑筋細胞に比べて有意に低下しており、一方無処理培養子宮筋腫細胞における TIMP-1, TIMP-2, type I collagen, type III collagen 蛋白発現は無処理培養正常子宮平滑筋細胞に比べて有意に増加していた。 10^{-7} M と 10^{-6} M の asoprisnil 添加 48 時間後に、培養子宮筋腫細胞でのEMMPRIN, MMP-1 および MT1-MMP 蛋白発現は対照群と比べて有意に増加したが、TIMP-1, TIMP-2, type I collagen および type III collagen 蛋白発現は有意に低下した。しかし、asoprisnil 添加は培養正常子宮平滑筋細胞の細胞外マトリックス関連蛋白およびコラーゲン発現に影響を及ぼさなかった。

以上より、培養子宮筋腫細胞では培養正常子宮平滑筋細胞に比べて、EMMPRIN, MMP-1 および MT1-MMP 蛋白発現が低下し、TIMP-1 と TIMP-2 蛋白発現が増加しているために、type I collagen および type III collagen 蛋白発現が増加しているものと推測された。asoprisnil は培養子宮筋腫細胞において EMMPRIN, MMP-1 および MT1-MMP 蛋白発現の増加、TIMP-1, TIMP-2, type I collagen および type III collagen 蛋白発現の減少を惹起させることで、子宮筋腫における細胞外マトリックスを減少させる方向に作用することが推測された。しかし、asoprisnil は培養正常子宮平滑筋細胞における細胞外マトリックス関連蛋白およびコラーゲン発現に影響を与える、細胞特異的に作用することが示唆された。

本研究は asoprisnil の培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の細胞外マトリックス関連蛋白およびコラーゲン発現

に及ぼす影響を *in vitro* で検討したものである。asoprisnil は培養正常子宮平滑筋細胞に影響を与えることなく、培養子宮筋腫細胞における細胞外マトリックス関連蛋白発現に作用しコラーゲン合成を減少させることを明らかにした。

これらの結果より、asoprisnil による培養子宮筋腫細胞におけるコラーゲン合成の抑制は細胞外マトリックスにおけるコラーゲンの蓄積を減少させ、その結果細胞外マトリックスにおいてコラーゲン I~VI 型と結合した状態で細胞外マトリックスに存在している成長因子である PDGF 等の蓄積も減少することが推測される。このように asoprisnil が細胞外マトリックスの代謝を変化させることにより、子宮筋腫組織の支持構造を不安定化し子宮筋腫増殖を抑制することが推測された。

本研究は asoprisnil が子宮筋腫細胞発育に対して細胞外マトリックス発現に影響を与えることを国際的に初めて明らかにしたものであり、子宮筋腫発育の抑制機序の一端を解明したものとして価値ある集積である。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 1934 号	氏名	森川 哲
論文題目	<p>Selective progesterone receptor modulator asoprisnil down-regulates collagen synthesis in cultured human uterine leiomyoma cells through up-regulating extracellular matrix metalloproteinase inducer</p> <p>選択的プロゲステロン受容体モジュレーター asoprisnil は培養ヒト子宮筋腫細胞において extracellular matrix metalloproteinase inducer を増加させることによりコラーゲン合成を減少させる</p>		
審査委員	主査 松尾 雅文 副査 宮谷 俊一 副査 前川 信博		
審査終了日	平成 年 月 日		

(要旨は1, 000字~2, 000字程度)

子宮筋腫は性成熟期婦人に好発する良性腫瘍であり、その発育にはエストロゲンが密接に関与していると考えられてきたが、これまでの一連の基礎的研究によりプログステロンも子宮筋腫発育に對して促進的に働くことが明らかとなった。プログステロンは標的細胞の核受容体であるプログステロン受容体と結合し、種々の遺伝子発現を調節しているが、プログステロン受容体モジュレーターはプログステロン受容体と結合すると、細胞特異的に *agonist*、*antagonist* あるいは *mixed agonist/antagonist* 作用を發揮することが知られている。最近の臨床試験により、選択的プログステロン受容体モジュレーター asoprisnil が子宮筋腫体積を有意に縮小させ、また子宮筋腫随伴症状を軽減させる効果を有することが立証された。しかし、asoprisnil の子宮筋腫縮小機序には未だ不明な点が多い。我々は asoprisnil が培養子宮筋腫細胞の細胞増殖能を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかにしてきた。

近年、子宮筋腫は細胞外マトリックスにおいて異常なコラーゲン原線維構造を含むことが指摘されている。しかし、asoprisnil の子宮筋腫における細胞外マトリックス産生に対する影響に関する報告は皆無である。今回、無血清培養系を用いて培養したヒト子宮筋腫細胞とヒト正常子宮平滑筋細胞において、細胞外マトリックスの主成分であるコラーゲンとコラーゲンの分解に関わる酵素に対する asoprisnil の影響を検討した。

患者の同意を得て手術時に子宮筋腫組織と近接する正常子宮平滑筋組織を採取し、コラゲナーゼ処理後に浮遊細胞を収した。細胞は phenol red-free DMEM 培地で 120 時間培養した後に無血清培地に替え、asoprisnil 添加下 (10^{-8} M、 10^{-7} M、 10^{-6} M) あるいは非添加下に細胞培養を 48 時間継続した。 extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN), matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), membrane type 1-MMP (MT1-MMP), tissue inhibitors of MMP-1,2 (TIMP-1,2), type I collagen, type III collagen 蛋白発現をウェスタンプロット法にて解析した。

無処理培養子宮筋腫細胞における EMMPRIN, MMP-1, MT1-MMP 蛋白発現は無処理培養正常子宮平滑筋細胞に比べて有意に低下しており、一方無処理培養子宮筋腫細胞における TIMP-1, TIMP-2, type I collagen, type III collagen 蛋白発現は無処理培養正常子宮平滑筋細胞に比べて有意に増加していた。 10^{-7} M と 10^{-6} M の asoprisnil 添加 48 時間後に、培養子宮筋腫細胞での EMMPRIN, MMP-1 および MT1-MMP 蛋白発現は対照群と比べて有意に増加したが、TIMP-1, TIMP-2, type I collagen

および type III collagen 蛋白発現は有意に低下した。しかし、asoprisnil 添加は培養正常子宮平滑筋細胞の細胞外マトリックス関連蛋白およびコラーゲン発現に影響を及ぼさなかった。

以上より、培養子宮筋腫細胞では培養正常子宮平滑筋細胞に比べて、EMMPRIN, MMP-1 および MT1-MMP 蛋白発現が低下し、TIMP-1 と TIMP-2 蛋白発現が増加しているために、type I collagen および type III collagen 蛋白発現が増加しているものと推測された。asoprisnil は培養子宮筋腫細胞において EMMPRIN, MMP-1 および MT1-MMP 蛋白発現の増加、TIMP-1, TIMP-2, type I collagen および type III collagen 蛋白発現の減少を惹起させることで、子宮筋腫における細胞外マトリックスを減少させる方向に作用することが推測された。しかし、asoprisnil は培養正常子宮平滑筋細胞における細胞外マトリックス関連蛋白およびコラーゲン発現に影響を与えることなく、細胞特異的に作用することが示唆された。

本研究は asoprisnil の培養子宮筋腫細胞と正常子宮平滑筋細胞の細胞外マトリックス関連蛋白およびコラーゲン発現に及ぼす影響を *in vitro* で検討したものである。asoprisnil は培養正常子宮平滑筋細胞に影響を与えることなく、培養子宮筋腫細胞における細胞外マトリックス関連蛋白発現に作用しコラーゲン合成を減少させることを明らかにした。

これらの結果より、asoprisnil による培養子宮筋腫細胞におけるコラーゲン合成の抑制は細胞外マトリックスにおけるコラーゲンの蓄積を減少させ、その結果細胞外マトリックスにおいてコラーゲン I~VI 型と結合した状態で細胞外マトリックスに存在している成長因子である PDGF 等の蓄積も減少することが推測される。このように asoprisnil が細胞外マトリックスの代謝を変化させることにより、子宮筋腫組織の支持構造を不安定化し子宮筋腫増殖を抑制することが推測された。

本研究は asoprisnil が子宮筋腫細胞発育について、その細胞外マトリックス発現に影響を与えることを研究したものの、従来ほとんど行われなかった子宮筋腫発育の抑制機序について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。