



Prostaglandin E2 receptor EP4-selective antagonist inhibits lipopolysaccharide-induced cervical ripening in rabbits.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 福田, 有佳 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/379">http://hdl.handle.net/10271/379</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 5 1 4 号	学位授与年月日	平成 2 0 年 3 月 1 7 日
氏 名	福 田 有 佳		
論文題目	Prostaglandin E <sub>2</sub> receptor EP4-selective antagonist inhibits lipopolysaccharide-induced cervical ripening in rabbits. (PGE <sub>2</sub> 受容体の選択的 EP4 受容体拮抗薬は家兔の LPS 誘発頸管熟化を抑制する)		

博士(医学) 福 田 有 佳

## 論文題目

Prostaglandin E<sub>2</sub> receptor EP4-selective antagonist inhibits lipopolysaccharide-induced cervical ripening in rabbits.

(PGE<sub>2</sub>受容体の選択的EP4受容体拮抗薬は家兎のLPS誘発頸管熟化を抑制する)

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### 〔はじめに〕

切迫早産は子宮収縮と頸管熟化を主徴とし、未熟児出生を引き起こす周産期の重要な疾患のひとつである。特に細菌感染により惹起される子宮頸管炎、絨毛膜羊膜炎は切迫早産の原因の主たるものと考えられる。一方、prostaglandin (PG)E<sub>2</sub>受容体サブタイプであるEP4受容体は頸管熟化に中心的役割を演ずることが最近報告された。そこでlipopolysaccharide(LPS)投与により惹起される家兎子宮頸管熟化モデルを用い、EP4阻害剤の子宮頸管熟化抑制作用を検討した。

### 〔材料ならびに方法〕

家兎は非妊娠のNew Zealand Whiteの雌で体重が3～4kgのものを使用した。薬剤は細菌の菌体成分であるLPS 1 ngを含む膣坐薬、各種濃度を含むEP4アンタゴニスト(ONO-AE3-208)(0.64 μg、6.4 μg、64 μg)の膣坐薬、及び薬剤含有なしの対照膣坐薬を作成した。薬剤の投与はLPS、EP4アンタゴニスト膣坐薬を同時に24時間毎、3回膣内に投与した。EP4アンタゴニストと、コントロールにつき各々3腹につき検討した。3回投与後24時間後に屠殺し、子宮頸管を取り出した。その後、子宮頸管の伸展度、熟化面積、コラゲナーゼ活性測定、免疫組織染色を行った。子宮頸管伸展度は摘出子宮頸管に5.8 gの加重を加え子宮頸管の長さを測定し、加重のない時点の子宮頸管長を加重時の子宮頸管長で除し算出した。熟化面積の測定は、HE染色を行った子宮頸管組織標本を100倍で観察し、無作為に3領域を選別し熟化面積(mm<sup>2</sup>)を測定、コンピューター解析し検討した。なお熟化面積は頸管間質においてHE染色で白色化している部位と定義した。コラゲナーゼ活性の測定は子宮頸管の組織を超音波破碎し、ヤガイ製のコラゲナーゼtype-1活性測定キットを用い測定した。コラゲナーゼ活性はPIERCE製BCAタンパクアッセイキットを用いタンパク濃度を測定し、補正した。免疫組織染色は凍結切片を用いCayman社製のEP4抗体を用いAPAAP法により染色した。

### 〔結果〕

子宮頸管の伸展度は、LPS単独投与群(1ng)51 ± 11 %と比較し、EP4アンタゴニスト投与群(0.64 μg、6.4 μg、64 μg)では20.1 %、29.9 %、35 %と濃度依存性に有意な伸展度の抑制が認められた。熟化面積においても、LPS投与群8.2 ± 2.2 mm<sup>2</sup>と比較し、EP4アンタゴニスト投与群では3.94 ± 0.4 mm<sup>2</sup>、3.64 ± 0.4 mm<sup>2</sup>、6.21 ± 2.0 mm<sup>2</sup>と有意に熟化面積の抑制が示された。コラゲナーゼ活性についても、LPS単独投与群492 ± 250 mU/ml/mgタンパク量と比較し、EP4アンタゴニスト投与群においては368 ± 69 mU/ml/mgタンパク量、348 ± 95 mU/ml/mgタンパク量、430 ± 68 mU/ml/mgタンパク量と濃度依存性に有意な活性の抑制が認められた。家兎の子宮頸管の免疫組織染色においては、非熟化子宮頸管ではEP4受容体の存在は認められず、一方で熟化子宮頸管部の間質細胞にEP4受容体の存在が確認された。

### 〔考察〕

家兎の子宮頸管が熟化してくると間質細胞にEP4受容体が出現してきたことより、頸管熟化機構にEP4受容体が関与することが示唆された。子宮頸管熟化過程において、頸管組織の水分量が増加しコラーゲン線維が低下する。伸展度の測定は、主に子宮頸管の線維成分の変化を観察している。EP4アンタゴニストの投与によって伸展度が抑制されたことは頸管熟化に伴う線維成分の減少が抑制されたと考えられる。EP4アンタゴニストの投与により熟化面積が増加しなかったことから熟化抑制作用が組織学的にも確認された。EP4アンタゴニストの投与により組織コラゲナーゼ活性の低下が認められたことから、EP4アンタゴニストは頸管組織のコラゲナーゼ活性を低下させコラーゲン分解を抑制し頸管熟化を抑制したと考えられる。EP4アンタゴニストを投与された頸管では水分量の増加が組織学的に示唆されたが、EP4アンタゴニストが水分を保持するヒアルロン酸産生に影響を与えている可能性がある。家兎子宮頸管熟化モデルにおいてEP4アンタゴニストはすべての熟化指標を抑制した。以上よりEP4アンタゴニストが頸管熟化抑制剤すなわち早産防止薬としての可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

切迫早産は子宮収縮と頸管熟化を主徴とし、未熟児出生を引き起こす周産期の重要な疾患のひとつである。特に細菌感染により惹起される子宮頸管炎、絨毛膜羊膜炎は切迫早産の原因の主たるものと考えられる。一方、prostaglandin (PG) $E_2$ 受容体サブタイプであるEP4受容体は頸管熟化に中心的役割を演ずることが最近報告された。そこで、申請者はlipopolysaccharide (LPS) 投与により惹起される家兎子宮頸管熟化モデルを用い、EP4拮抗薬の子宮頸管熟化抑制作用を検討した。

家兎は非妊娠のNew Zealand Whiteの雌で体重が3～4kgのものを使用した。LPS 1ngを含む膣坐薬、EP4アンタゴニスト(ONO-AE3-208) (0.64  $\mu$ g、6.4  $\mu$ g、64  $\mu$ g) の膣坐薬、及びコントロールの膣坐薬を作成した。LPS、EP4アンタゴニスト膣坐薬を24時間毎、3回膣内に同時に投与した。EP4アンタゴニスト投与群と、コントロール群につき各々3腹につき検討した。3回投与後24時間後に屠殺し、子宮頸管を取り出した。その後、子宮頸管の伸展度、熟化面積、コラゲナーゼ活性を測定し、また免疫組織化学染色を行った。

以下の結果を得た。

- 1) LPSによる子宮頸管の伸展、熟化面積の広がり、コラゲナーゼ活性の上昇は、EP4アンタゴニスト投与により有意に抑制された。
- 2) 子宮頸管の免疫組織化学染色において、非熟化子宮頸管ではEP4受容体は認められず、一方で熟化子宮頸管部の間質細胞にEP4受容体の発現が認められた。

家兎の子宮頸管のLPS刺激による熟化は、EP4アンタゴニストにより抑制された。このことから、LPSによる熟化はプロスタグランジン $E_2$ の受容体であるEP4を介しコラゲナーゼ活性を上昇させたことにより引き起こされたと考えられた。

審査委員会では、頸管熟化にプロスタグランジン $E_2$ およびその受容体であるEP4の関与を明らかにし、EP4拮抗薬が熟化を抑制することを証明し、早産予防薬としての可能性を示したことを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 早産予防における感染の役割について
- 2) EP受容体のサブタイプ、分布、機能について
- 3) LPSの投与回数と投与量について
- 4) LPSと早産誘発効果について
- 5) EP4アンタゴニストの投与量の設定根拠について
- 6) 伸長度に影響する因子について
- 7) 子宮筋におけるマトリックスメタロプロテアーゼ-1の発現について
- 8) 伸長度、熟化面積、コラゲナーゼ活性の測定法について
- 9) LPSがプロスタグランジン類を産生させるメカニズムについて
- 10) EP4アンタゴニストの臨床応用について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梅 村 和 夫		
	副査	大 園 誠一郎	副査	中 川 祐 一