

論文内容の要旨

論文提出者氏名 伊藤 文武

論文題目

Medroxyprogesterone acetate enhances monocyte-endothelial interaction under flow conditions by stimulating the expression of cell adhesion molecules.

論文内容の要旨

閉経後女性では同年齢の男性に比し動脈硬化を含む心血管疾患の発症率が高い。閉経後女性での血中女性ホルモン（エストロゲン）は男性よりも有意に低いことからエストロゲンの動脈硬化保護作用が示唆されてきた。しかし、大規模臨床試験におけるホルモン補充療法（HRT）の動脈硬化に対する予防効果は期待されたほどではなかった。その原因の一つとして HRT にエストロゲンとともに使用される黄体ホルモン（プロゲステロン）の種類により、血管内皮への炎症反応が促進される可能性が指摘されている。そのため各種プロゲステロンの動脈硬化発症リスクを個別に検討し、新規 HRT レジメンを開発することが望まれている。

動脈硬化発症の初期段階では血管内皮への接着分子を介した単球接着が引き金となる。我々は単球の血管内皮への接着反応を検証しうる flow chamber system を確立させている。この system においては、一定の shear stress を血管内皮に負荷させ、in vivo に近い状態で接着反応を検証することが可能である。今回、この system に分子化学的手法を併用して、各種プロゲステロンの動脈硬化への影響を詳細に検討した。

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）に各種プロゲステロン{medroxyprogesterone acetate(MPA)、progesterone(P4)、dienogest(DNG)、dydrogesterone(DG)、levonorgestrel(LNG)、norethisterone acetate (NETA)}を単独または estradiol(E2)と同時に添加後に IL-18 を添加した。real-time PCR により接着分子 mRNA 発現量を、ELISA および免疫組織化学法により接着分子タンパク発現量を、flow chamber system により HUVEC への U937 単球細胞接着数を、ホルモン無添加(対照)群と比較した。

MPA 単独添加群では ICAM-1 mRNA 発現量は対照群に比し $1.75 \pm 0.17 (\Delta\Delta Ct \text{ 値} \pm SD)(p < 0.01)$ 、MPA+E2 同時添加群では $2.38 \pm 0.07 (p < 0.01)$ と有意に増加した。他の P 単独あるいは E2 との同時添加では有意な変化はみられなかった。E-selectin、VCAM-1、

P-selectin でも同様の傾向を示した。MPA 単独群、MPA+E2 群ともに ICAM-1、E-selectin のタンパク発現量が対照群に比し有意に増加した。免疫組織化学法においても MPA 単独群、MPA+E2 群で ICAM-1、E-selectin のタンパク発現量が対照群に比し有意に増加した。U937 の HUVEC への接着数は、MPA 単独群では対照群に比し有意に増加した $\{56.0 \pm 1.5 \text{ vs. } 46.5 \pm 3.5 (\text{接着数} \pm SD)(p < 0.05)\}$ 。この MPA の単球接着亢進作用は、接着分子の siRNA を用いた knockdown により有意に抑制されたことから、単球接着亢進作用は ICAM-1 の発現増強に依る部分があるということが示唆された。さらに MPA の作用機序を調べるためグルココルチコイド受容体(GR)アゴニストである dexamethasone(Dex)およびアンドロゲン受容体(AR)アゴニストである dihydrotestosterone (DHT)を同時添加したところ、接着分子の発現は対照群に比し有意に増加したが、単球接着数に有意な変化は見られなかった。また、MPA の接着分子発現増強作用と各種ステロイド受容体との関連を抑制実験により調べたところ、GR アンタゴニストである RU486 を同時添加した場合に MPA の作用は一部抑制された。AR アンタゴニストの同時添加では有意な変化はみられなかった。以上の結果から、MPA の作用は一部 GR を介しているが、AR は介していないことが明らかとなった。

以上のことから、閉経後女性における標準的な HRT で使用される MPA が動脈硬化発症のリスクとなることが示唆された。天然型の P4 あるいは DNG は接着分子の発現を変化させず単球の血管内皮への接着も亢進させないことから、今後の HRT レジメンの選択肢の一つとなる可能性が示唆された。しかし、in vitro での研究による限界も存在するため今後 in vivo での検討および大規模臨床試験による個別のプロゲステロン製剤の作用効果につき検討が必要であると考えられた。