

氏名(本籍)	つのだ 角田	はじめ 肇	(愛媛県)
学位の種類	医学博士		
学位記番号	博乙第523号		
学位授与年月日	平成元年5月31日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	ヒト羊水中インターロイキン-1 (IL-1) の経時的变化と生物学的役割に関する研究 (dissertation形式)		
主査	筑波大学教授	医学博士	杉田良樹
副査	筑波大学教授	医学博士	柏木平八郎
副査	筑波大学教授	医学博士	小磯謙吉
副査	筑波大学教授	医学博士	藤木素士
副査	筑波大学教授	医学博士	眞崎知生

## 論文要旨

### 《目的》

妊娠の成立を、母体にとって半同種移植の成功と考え、免疫学的観点から研究する生殖免疫学は産婦人科学においても重要な分野として注目されている。一方、免疫系においてはサイトカインと呼ばれる抗体以外の液性因子も様々な働きを演じていることが明らかにされてきている。中でも、インターロイキン1 (IL-1) は、マクロファージ、単球から産生されるサイトカインであり、T cell, B cell などの免疫担当細胞の増殖、分化を誘導する。また、内因性発熱物質活性、急性期の炎症蛋白誘導などの炎症反応にも IL-1 が関係しており、その作用機序として、多くの場合プロスタグランジン産生を介して作用するといわれている。したがって、IL-1 が胎児の免疫系を始めとする臓器の増殖、分化や分娩時の子宮収縮にも関与している可能性が考えられる。そこで本研究では、胎児の子宮内環境に密接な関係を有し、いろいろな生理活性物質を含有していることが知られている羊水に注目し、羊水中の IL-1 を調べることにより、生殖現象における IL-1 の働きを解明することを目的とした。

### 《対象および方法》

10症例の妊娠正常期および6症例の妊娠16~18週の羊水中の IL-1 活性を測定した。採取された羊水は HPLC ゲル濾過により部分精製した後、エンドトキシン不応性である C3H/HeJ 系マウス6~10週

齡の胸腺細胞浮遊液による [<sup>3</sup>H] Thymidine の取り込みで測定した (Lymphocyte activating factor assay)。検出された IL-1 活性については抗 IL-1  $\alpha$ ,  $\beta$  抗体を用いた中和実験ならびに等電点電気泳動法によりその性状を検討した。さらに、これらのサンプルに recombinant IL-1  $\alpha$  1.5 U/ml を加えて IL-1 assay を行うことにより IL-1 inhibitor の検出も試みた。

次に抗 IL-1  $\alpha$ ,  $\beta$  抗体を用いた酵素抗体法により妊娠15週から41週までに採取した羊水47サンプルについて IL-1  $\alpha$ ,  $\beta$  濃度を測定し、妊娠週数別変動について調べた。

## 《結果》

### (1) ヒト羊水中の IL-1 活性の証明

分娩時に採取したヒト正常羊水10例中8例に IL-1 活性を認めた。HPLC ゲル濾過上、IL-1 活性は本来の IL-1 の分子量である20-15 KD (低分子 IL-1) とそれより高分子である90-60 KD (高分子 IL-1) の2箇所が存在していた。さらに、抗 IL-1  $\alpha$ ,  $\beta$  抗体による中和実験および等電点電気泳動により検討すると、高分子の IL-1 活性は IL-1  $\beta$  であり、低分子の IL-1 活性は IL-1  $\alpha$  と IL-1  $\beta$  の両者の混合であった。また、ヒト正常羊水中には70-50 KD の非特異的な胸腺細胞増殖抑制活性に加え、recombinant IL-1  $\alpha$  添加による測定法により、新たに30-20 KD の特異的 IL-1 inhibitor の存在を証明した。一方、妊娠16-18週の羊水中には、IL-1 活性、IL-1 inhibitor のいずれも同定できなかった。

### (2) 羊水中の IL-1 濃度の変動

ELISA により羊水中の IL-1 濃度を測定した結果、妊娠15-22週の妊娠早期の羊水中にも IL-1  $\alpha$  低濃度 ( $19.2 \pm 21.7$  pg/ml) ながら存在していたのに対して、IL-1  $\beta$  は測定感度以下であった。また、陣痛発来前の妊娠正常羊水中の IL-1  $\alpha$  濃度は  $63.4 \pm 50.1$  pg/ml と妊娠早期のものに比べて微増していたのに対して IL-1  $\beta$  はやはり検出されなかった。これに対して、陣痛発来後の分娩時に採取した正常羊水中には、それ以前の羊水に比べて高濃度の IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$  が存在しており (IL-1  $\alpha$   $233.1 \pm 351.9$  pg/ml, IL-1  $\beta$   $1093.5 \pm 1369.7$  pg/ml), 同一羊水中の IL-1  $\beta$  の濃度は密接に関連していた。また、羊水中の IL-1 濃度は、分娩時間に比例して増加する傾向を認めた。

## 《考察》

本研究で、一般に生体液より直接証明することの困難な IL-1 がヒト正常羊水中には IL-1  $\alpha$ ,  $\beta$  共に高濃度に存在していることが明らかになった。また、羊水中においては IL-1  $\beta$  のみが高分子の形態でも存在していることが判明した。さらに、羊水中の IL-1 活性の出現と共に IL-1 inhibitor も出現することから羊水中の IL-1 が妊娠時にも何らかの役割を演じていることが考えられる。

そこで ELISA 法により多数の羊水中の IL-1 濃度を測定したところ、分娩時の陣痛に伴い IL-1  $\alpha$ ,  $\beta$  共に急激に増加していた。このことは IL-1 がプロスタグランジン産生を介して分娩時の

子宮収縮のメカニズムに関与している可能性を強く示唆している。また、IL-1 $\alpha$ が妊娠早期の羊水中にも低濃度ながら存在していたことからIL-1が胎児の発生においても細胞、臓器の増殖分化のシグナルになっているかもしれない。

本研究により、妊娠時、特に分娩時にIL-1が重要な働きをしており、胎児の発育成長に何らかの意義を有していることが示唆されるとともにプロスタグランジンを介して子宮収縮にも関与している可能性があると考えられた。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、ヒト羊水中のインターロイキンの妊娠および分娩時の子宮収縮への関与を明らかにすることを目的として行われた。まず陣痛発来後の正期羊水中にインターロイキン-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) および $\beta$ を確認し、分子量20~30 KDのIL-1特異的阻害物質の存在を明らかにした。さらに、妊娠経過中のIL-1を定量し、少量のIL-1 $\alpha$ が経時的に増加し、陣痛発来後IL-1 $\alpha$ 、 $\beta$ ともに高濃度に存在することを明らかにした。未だプロスタグランジン増加との関係、IL-1産生細胞の同定、阻害物質の性質など不明な点も多いが、分娩時の子宮収縮のメカニズム解明への基礎的データとして価値の高いものと評価される。本研究から子宮収縮ひいては分娩機構の研究がさらに発展することが期待される。

よって著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。