

考察：R-R 間隔の標準偏差，隣接する R-R 間隔の自乗平均の平方根，高周波成分は副交感神経活動を示しており，低周波成分は交感神経と副交感神経の双方の活動を示しているとされる．肺静脈基部には自律神経巣が存在することが知られており，肺静脈アブレーションにより自律神経巣が障害され自律神経活動抑制が生じると考えられている．交感神経は副交感神経と比較し心房内に広範囲に分布することが知られており，肺静脈アブレーション後も神経支配が保たれると考えられる．以上から本研究で認められた心拍変動解析値の減少は，相対的な副交感神経抑制を示していると考えられる．心拍変動は3ヶ月後と1年後で変化がないことから術後の副交感神経抑制は1年以後も持続すると考えられる．

発作性心房細動の再発の有無による検討から本研究の成績には心房期外収縮抑制による心房細動抑制効果と副交感神経抑制による心房細動抑制効果が混在しており，副交感神経抑制単独による心房細動抑制効果は小さいと思われる．

肺静脈アブレーション中に生じる徐脈や頻脈反応の有無による検討から，術後の副交感神経抑制による心房細動抑制効果を反映する指標ではないことが示唆された．副交感神経活動抑制を得るために通電中の反応を指標に通電回数や通電出力を増加する必要はないと思われる．

結論：肺静脈アブレーション後の副交感神経活動抑制は長期間持続することが明らかになった．副交感神経活動抑制は肺静脈基部の自律神経巣障害による効果であると思われる．

本研究により心拍変動抑制は1年以後も持続することが明かとなった．心拍変動解析値の減少は副交感神経活動抑制を示しており，肺静脈アブレーションによる肺静脈基部自律神経巣の障害により生じると考えられる．本研究は肺静脈アブレーション後，副交感神経活動抑制が長期間持続することを明らかにしたものであり，学位論文に値する論文である．

氏名	しまおかまさお 島岡 昌生
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医第968号
学位授与の日付	平成20年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	正常妊娠子宮内膜におけるエリスロポエチン情報発現に関する研究
論文審査委員 (主査)	教授 星 合 昊
	(副主査) 教授 金 丸 昭 久
	(副主査) 教授 竹 村 司

論文内容の要旨

【目的】

Epo が赤血球造血に関する腎・肝以外の器官や組織で産生されていることが報告され、Epo-EpoR 情報系は我々の体において多様な生理作用に関与していることが示唆されている。妊娠子宮内膜での Epo の役割は、マウスの妊娠維持に Epo-EpoR 伝達系は必須のものであることが報告されている。このことに鑑み、本研究では妊娠週齢の異なった時期の人工妊娠中絶によって採取されたヒトの子宮内膜において Epo がどのような妊娠生理に関与しているかを明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法】

被験者の同意を得て獲得した人工妊娠中絶術後の5週から8週までの子宮脱落膜20検体を対象とした。標本の一部を液体窒素により凍結標本として、他の一部を免疫組織用に固定した。総 RNA2 $\mu$ R を、逆転写酵素を使用して cDNA 合成後、エリスロポエチンおよび受容体の PCR 反応を行った。全ての検体から細胞質成分及び膜成分の蛋白量を抽出した。膜成分でエリスロポエチン受容体の Western blotting を行い、細胞質成分で RIA 法によりエストラジオールを測定した。固定標本で、免疫組織染色および二重免疫染色を行った。測定値は Student's t-test で検定し、 $p < 0.05$  を統計的有意とした。

【結果】

6週の子宮内膜のエリスロポエチンおよびエリスロポエチン受容体 mRNA の発現量が他の週と比較して有意に高値を示した。各週齢で子宮内膜におけるエリスロポエチン受容体蛋白の発現を認めた。抗 EpoR 抗体による免疫染色で、脱落膜細胞、栄養膜細胞、血管内皮細胞等が陽性反応を示した。特に6週の栄養膜細胞の血管壁侵入像で栄養膜細胞層の細胞が強陽性反応を示した。7週で栄養膜細胞層と合体層の細胞に陽性反応を示した。絨毛内の胎児組織由来の血管内皮細胞が陽性反応を示した。各週の E2 量は、週齢と共に上昇傾向が認められた。5週、6週および7週の脱落膜組織の二重染色で、脱落膜細胞と栄養膜細胞に Epo と aromatase 共存像が認められた。細胞性栄養膜細胞に aromatase と Epo が強く発現し、栄養膜合体層へと分化する部位に aromatase の強発現を認めた。

【考察・結論】

6週を中心とした脱落膜組織が他週と比べて有意に Epo mRNA と EpoR mRNA およびアロマターゼ mRNA が高値を示した事は、妊娠6週に胎児を取り巻く環境、すなわち脱落膜反応や胎盤形成に係る過程と Epo 上昇との関連性が推測される。6週では栄養膜細胞の増殖とそれらの母体血管壁への侵入が認められ、これらの局所に EpoR と、Epo・aromatase の共存が認められた。このことは栄養膜細胞の分化過程誘導に Epo が関与していることが考えられる。結論として Epo 情報はヒトの妊娠過程で栄養膜細胞の分化に関与している可能性が高い。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成20年 月 日 公表予定	出版物名
	公 表 内 容	近畿大学医学雑誌 第33巻 第2号
	全 文	平成20年 月 日 発行予定

論文審査結果の要旨

【目的】

エリスロポエチン (Epo) は赤血球産生に必須のサイトカインで、通常は成人の腎臓の皮質の間質細胞で産生される。Epo は赤血球造血に関する腎・肝以外の器官や組織で産生されていることが報告され、Epo-EpoR 情報系は我々の体において多様な生理作用に関与していることが示唆されている。妊娠子宮内膜での Epo の役割は、妊娠マウスの子宮腔内に抗 Epo 抗体を挿入すると胚の脳形成障害を誘発したり、また、胚が発生せず脱落膜の発育が阻止されることから、マウスの妊娠維持に Epo-EpoR 伝達系は必須のものであることが明らかとなった。このことに鑑み、本研究では妊娠週齢の異なった時期の人工妊娠中絶によって採取されたヒトの子宮内膜において Epo がどのような妊娠生理に関与しているかを明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法】

被験者の同意を得て獲得した人工妊娠中絶術後の5週から8週までの子宮脱落膜20検体を対象とした。標本の一部を液体窒素により凍結標本として、他の一部を免疫組織用に固定した。総 RNA2 $\mu$ g を、逆転写酵素を使用して cDNA 合成後、エリスロポエチンおよび受容体の PCR 反応を行った。全ての検体から細胞質成分及び膜成分の蛋白量を抽出した。膜成分でエリスロポエチン受容体の Western blotting を行い、細胞質成分で RIA 法によりエストラジオールを測定した。固定標本で、免疫組織染色および二重免疫染色を行った。測定値は Student's t-test で検定し、 $p < 0.05$  を統計的有意とした。

【結果】

6週の子宮内膜のエリスロポエチンおよびエリスロポエチン受容体 mRNA の発現量が他の週と比較して有意に高値を示した。各週齢の子宮内膜におけるエリスロポエチン受容体蛋白の発現は Western blotting 法で検出出来た。

抗 EpoR 抗体による免疫染色で、脱落膜細胞、栄養膜細胞、血管内皮細胞等が陽性反応を示した。特に顕著に6週の栄養膜細胞の血管壁侵入像で栄養膜細胞層の細胞が陽性反応を示し、さらに7週で栄養膜細胞層の細胞と栄養膜合体細胞層の細胞に陽性反応を示した。絨毛内の胎児組織由来の血管内皮細胞が陽性反応を示した。更に週数が加わると、陽性反応を示す栄養膜合体細胞の増殖が顕著となった。各週の子宮内膜のE2量は、週齢と共にE2の量が上昇している傾向が認められた。5週、6週および7週の脱落膜組織に二重染色で、脱落膜細胞と栄養膜細胞にEpoとaromatase共存像が認められた。細胞性栄養膜細胞にaromataseとEpoが強く発現していた。また、栄養膜合体層へと分化する部位にaromataseが強発現していた。

#### [考察]

6週を中心とした脱落膜組織が他週と比べて有意にEpo mRNAとEpoR mRNAおよびアロマトラーゼ mRNAが高値を示した事は、妊娠6週に胎児を取り巻く環境、すなわち脱落膜反応あるいは胎盤形成に係る過程にEpoの機能を上昇させる事象が起こっていることが推測される。従って、この週数の脱落膜にはEpoの分泌が他週と比べて有意に上昇していることが推測される。また、6週を中心とする脱落膜内のアロマトラーゼ mRNA発現量は他週の発現量と比べると有意に高値を示した。この事から、アロマトラーゼがEpo mRNA発現の増強を誘発するには相当のアロマトラーゼが必要であることが示唆される。6週では栄養膜細胞の増殖とそれらの母体血管壁への侵入を認め、これらの局所にEpoR、Epoおよびaromataseが共存していた。このことは細胞性栄養膜の増殖と侵入さらに細胞性から合体栄養膜細胞への過程の誘導にEpoが関与して細胞性栄養膜の増殖を促しているのではないかと考えられる。この胎盤形成の初期の過程にEpo情報が血管壁や栄養膜の細胞をアポトーシス死から救っている可能性も考えられる。結論としてEpo情報はヒトの妊娠過程で栄養膜細胞の分化に関与している可能性がある。

発表後の質疑応答は下記の如くであった。

1. 妊娠6週でEpoが上昇する理由は何が考えられるか？

答え：臨床的には、妊娠6週は胎児心拍が確認できる時期である。Epoは心筋の発達を助ける作用がある為、妊娠6週で上昇すると思われる。また、妊娠6週は絨毛が発達する時期であり、Epoは血管新生を促す為、絨毛血管の新生に関与していると思われる。

2. 妊娠6週以降、Epoは減少し続けるのか？

答え：妊娠初期に限れば減少しているが、妊娠後期にはEpoが多量に存在する事が判明している。胎盤完成後は、胎盤よりEpoが多量に放出されて、妊娠後期にはEpoは上昇すると考えられる。

3. 流産するとEpoはどうなるのか？

答え：流産後の子宮脱落膜のEpoは人工妊娠中絶後に比べて少なかった。

Epoの減少が先にあり、それが原因で流産すると推測される。

4. EpoよりもEpoRが多量に存在するのはなぜか？

答え：Epoを多量に取り込む為にEpoRは更に多量に存在すると推測される。

5. 流産した母体に感染症等の既往はなかったか？

答え：まだ十分な検索ができていない。今後検討していく予定である。

6. in situではどうなるか？

答え：安田先生が過去に行った実験ではマウスの卵巣嚢にEpoとEpoRの明確な発現を認めた。

本講演では、妊娠初期の妊娠維持機構におけるエリスロポエチンの役割について、実験結果に基づいて興味深い考察を行っている。また公聴会での質問に対し、実験データと産科学の知識に基づいて適切な回答を行っている。故に演者は本学学位授与にふさわしい学識を備えていると思われる。