

氏 名	湯 口 裕 子
(ふりがな)	(ゆぐち ひろこ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 25 年 7 月 10 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	The expression status of G protein-coupled receptor GPR30 is associated with the clinical characteristics of endometriosis (子宮内膜症における G タンパク質共役受容体 GPR30 の発現と臨床像との関連)
論文審査委員	(主) 教授 朝 日 通 雄 教授 岡 田 仁 克 教授 東 治 人

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 《目 的》

子宮内膜症は、子宮内膜組織が腹膜や卵巣、直腸膈中隔に発育、増殖する良性疾患である。生殖年齢にある女性の約 6~10%が罹患しており、月経痛や不妊を引き起こし、手術後もしばしば再発して治療に難渋する疾患である。発生機序は明らかになっていないが、発育、増殖にはエストロゲンが大きく関与しており、エストロゲンの作用抑制を目的としたホルモン治療が行われている。ゴナドトロピン放出ホルモンアゴニスト (GnRH アゴニスト) は子宮内膜症を最も強力に抑制するホルモン治療薬であるが、エストロゲンを閉経女性レベルまで低下させるため、骨粗鬆症の副作用があり長期投与は行えず、休薬期間に再燃することが多いという問題点があり、新たな治療薬が望まれている。

エストロゲンが結合するエストロゲン受容体には核内受容体である ER $\alpha$ 、ER $\beta$ の他に膜型受容体の G protein-coupled estrogen receptor 30 (GPR30) がある。

GPR30 は体内の脳、心血管、乳線、腎臓、膵臓、骨、子宮および卵巣に存在しており、GPR30 の発現異常がうつ病や高血圧、糖尿病や骨粗鬆症などに関連すると報告されている。種々の癌でも発現しており、特にエストロゲン感受性癌である乳癌、子宮体癌、卵巣癌で、GPR30 の高発現は予後不良因子として考えられているが、良性腫瘍である子宮内膜症における GPR30 の役割は未だ不明である。

そこで我々は、子宮内膜症病変における GPR30 の発現を調べ、臨床症状と治療別に比較し、内膜症の進展に寄与しているか否かを検討した。

#### 《対象と方法》

2002 年から 2010 年までに、当科で治療を行った症例で、大阪医科大学倫理委員会で承認されたプロトコールのもと、インフォームドコンセントを行い、同意を得られた症例を対象とした。手術療法を施行した子宮内膜症症例 28 例と、子宮筋腫症例 10 例の計 38 例で、子宮筋腫症例から正所性子宮内膜を採取した。子宮内膜症症例では、術前に GnRH アゴニストである酢酸リュープロレリンを投与していない群（12 例）と、約 3 ヶ月術前投与した群（16 例）を比較検討した。子宮内膜症組織および正所性子宮内膜の手術検体から mRNA を抽出し、逆転写した cDNA を real time PCR で増幅させ、GAPDH を内在性コントロールとして  $\Delta \Delta Ct$  法による解析を行って GPR30 の mRNA 発現を比較検討した。それらの手術検体をホルマリン固定後、パラフィン切片を作製し、HE 染色を行い組織学的に子宮内膜症性および正所性子宮内膜と確認した検体を、抗 GPR30 抗体を用いて免疫組織学的に GPR30 の局在と発現の程度を検討した。また、骨盤痛の visual analog scale (VAS) を用いて、臨床的背景についても検討した。

#### 《結 果》

子宮内膜症組織における GPR30 の mRNA 発現は、子宮筋腫症例の正所性子宮内膜よりも高発現していた。正所性子宮内膜において、GPR30 の mRNA 発現は月経周期の分泌期に比べて増殖期に増加しており、血中エストラジオール濃度が高い時期に一致していることから、正所性子宮内膜の増殖に関与していると考えられた。一方、子宮内膜症組織にお

ける GPR30 の mRNA 発現は分泌期においても増加しており、正所性子宮内膜で認められていた周期的な生理的反応が消失していた。

また、GnRH アゴニストを術前投与した群の子宮内膜症組織では、未投与群と比較して GPR30 の mRNA 発現が有意に低下していた。

免疫組織学的解析では、正所性子宮内膜の GPR30 の発現は、mRNA が高発現する増殖期に発現が強く、mRNA 発現が低い分泌期では発現が低いという発現パターンを示し、mRNA の発現パターンと一致した。また、遺伝子レベルの解析と同様に、GnRH アゴニスト術前投与群の子宮内膜症組織の GPR30 発現は、GnRH アゴニスト未投与群に比較して減弱していた。

臨床的には、骨盤痛の VAS が、非子宮内膜症群に比べて子宮内膜症群で有意に高く、子宮内膜症の GnRH アゴニスト投与群は未投与群に比べて有意に低下しており、GPR30 の mRNA 発現と VAS による臨床像との強い関連が認められた。

## 《結 論》

子宮内膜症組織は、子宮筋腫症例の正所性子宮内膜に比し GPR30 が高発現しており、GnRH アゴニスト術前投与群では未投与群に比し GPR30 の発現が有意に低下しており、GPR30 は子宮内膜症の程度や治療の有無と関連していると考えられた。また、骨盤痛の VAS スコアと GPR30 発現にも関連を認めた。

よって、GPR30 の高発現は、子宮内膜症の程度、特に骨盤痛の程度に関連していると考えられ、GnRH アゴニストよりも長期に行える治療として、今後の治療標的になる可能性がある。

## 論文審査結果の要旨

子宮内膜症は、月経痛・不妊を引き起こし、慢性持続性の症状は女性の健康を著しく損なう疾患である。発生機序は明らかになっていないが、発育・増殖にはエストロゲンが大きく関与しており、エストロゲンを制御することを目的としたホルモン治療が行われている。GnRH アゴニストは子宮内膜症を最も強力に制御する治療薬であるが、副作用があり長期投与が行えず、休薬期間に再燃するという問題点がある。エストロゲンが結合する受容体には ER $\alpha$ 、ER $\beta$ の他に膜型エストロゲン受容体の G protein-coupled receptor 30 (GPR30)がある。GPR30 の高発現は乳癌、子宮体癌、卵巣癌において予後不良因子と考えられているが、子宮内膜症における GPR30 の役割は未だ不明である。

申請者は、子宮内膜症組織における GPR30 の発現と、GnRH アゴニスト投与の有無による発現の差、および臨床像との関連を明らかにすることを目的とし、子宮内膜症手術により得られた GPR30 mRNA を real time-PCR で定量した。また、免疫組織化学的变化も検討した。さらに、子宮内膜症組織での GPR30 発現と骨盤痛の関連性を検討した。

子宮内膜症組織では、子宮筋腫症例の正所性子宮内膜に比し GPR30 が高発現しており、GnRH アゴニスト術前投与群では未投与群に比し GPR30 発現が有意に低下していた。GPR30 の発現は骨盤痛とも強く関連していることが判明し、子宮内膜症の臨床的な活動の程度に関与する可能性が示唆された。これらの知見から、GPR30 が GnRH アゴニストよりも副作用の少ない治療として、子宮内膜症の分子標的治療の開発に貢献するものと考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Endocrine Research 2013 Mar 4.

doi: 10.3109/07435800.2013.774011