

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

現代医療 (1999.10) 31巻10号:2579～2585.

【フリーラジカルと疾患】
産婦人科疾患

石川睦男、玉手健一、千石一雄

産婦人科疾患

石川 睦 男*, 玉手 健 一***, 千石 一 雄**

旭川医科大学 産婦人科 (*教授, **助教授, ***講師)

はじめに

医学系の各分野において、フリーラジカルおよびその調節酵素が種々の生理的役割を有していることが解明されつつあり、産婦人科領域においても数々の検討がなされている。近年、排卵¹⁾や黄体機能²⁾、卵巣癌³⁾との関連が明らかにされ、また新生児領域においても未熟児網膜症や新生児肺低形成などとの関わりが示唆されていたが、未解明の部分が多いのが現状である⁴⁾。本稿においてはおもに産婦人科の関連する生殖生理、周産期および婦人科腫瘍の領域において解明しつつあるフリーラジカルの役割について概説する。

生殖生理学におけるフリーラジカル

1. 排 卵

Laloraya らは各性周期ラット卵巣においてスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)活性とスーパーオキシド($O_2^{\cdot-}$)が逆相関で変化することを報告している⁵⁾。また我々のSODの局在性に関する検討でも、活性と蛋白の局在が一致しており、Cu,Zn-SODはおもに成熟卵胞顆粒膜細胞および卵管上皮に局在し、卵細胞を酸素

毒より防御する役割を担い、またMn-SODは成熟卵胞外莢膜細胞および黄体にそれぞれ強く局在し、黄体機能と密接に関係することが推察された⁶⁾(表1)。さらにヒト卵巣および卵管においてSOD分布はMn-SODが中心であり、Cu,Zn-SODは比較的限局した部位にのみ存在し、ラットとはその分布が異なり、SOD分布に動物種で差のあることが判明した⁷⁾。

また過排卵処置ラット排卵機構におけるSOD投与の影響より、Cu,Zn-SODとMn-SODいずれも排卵抑制作用を有することより、活性酸素は排卵に対し何らかの促進的な影響を有し、その作用を特異的に消去する酵素作用によって排卵抑制が起こる可能性が示唆された⁶⁾。さらにラットにNO合成酵素(NOS)阻害剤を投与した場合、hCG(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン)によって起こる排卵が抑制されること、外因性NOが排卵を惹起し、NOS阻害剤の効果を相殺することなどが報告されており⁸⁾、 $O_2^{\cdot-}$ やNOが卵胞破裂に直接的あるいは間接的に関与していると考えられる。

2. 受精—精子を中心として

ヒト精子においてSOD活性は運動精子数と正の相関を示し、また過酸化脂質(LOOH)は非

表 1. ヒトおよびラット卵巣, 卵管における免疫組織学的局在

局在部位	ヒト	ラット	機能
原始, 発育卵胞			
顆粒膜細胞	未 検	Cu,Zn	
成熟卵胞			ステロイド産生促進
顆粒膜細胞	Mn	Cu,Zn	卵子を活性酸素により防御
莢膜細胞	Mn, Cu,Zn	Cu,Zn, Mn	排卵に関与
吸引顆粒膜細胞	Mn	未 検	
黄 体			
月経黄体細胞	Mn	Mn	黄体機能促進
妊娠黄体細胞	Mn, Cu,Zn	Mn	黄体機能促進
卵 管			
膨大部上皮細胞	Mn	Cu,Zn	胚細胞を活性酸素より防御
峽部上皮細胞	Mn, Cu,Zn	Cu,Zn	各種成長因子の産生促進

Mn ; Mn-SOD Cu,Zn ; Cu,Zn-SOD

運動精子数と相関することが報告されている。また、精漿中に含まれる多核白血球をはじめとする白血球より産生される活性酸素は精子運動率を低下させることが判明している。また男性不妊症患者での精子は比較的高頻度に活性酸素を生成し、活性酸素レベルと精液量、精子運動率、直進性などと負の相関を認めるとの報告もある⁴⁾。一方、NOにおいても精子運動能および受精能に種々の影響を及ぼすことが報告されており、精漿中のNO濃度と精子運動率に逆相関を認めるとされている。さらにNO供与剤であるSNPの高・中濃度の投与(ミリモルまたはマイクロモル濃度)により用量依存性に精子運動率の抑制、生存率の低下を認め、その抑制効果はNO消去剤ヘモグロビン添加により解除されたと報告されている。このことから、高濃度のNOは $O_2^{\cdot-}$ や過酸化水素(H_2O_2)と反応し、ペルオキシ亜硝酸やヒドロキシルラジカル(HO^{\cdot})の産生により精子細胞膜の不飽和脂肪酸の過酸化を引き起こすと同時に、精子ミトコンドリア内の呼吸鎖酵素を抑制し、精子機能を障害すると考えられる。一方、低濃度のNO供

与剤(ナノモル濃度のSNP)は精子運動率、生存率に促進的に作用するとの報告が多く認められる⁹⁾。

3. 胚発育, 着床

マウスおよびラットにおける2 cell block現象がSODやチレオドキシニンなど抗酸化酵素の添加により解除され、また厳密な低酸素下での培養実験によっても同様の結果が得られたことより、受精、分割の過程でフリーラジカルが関与していることが示唆されている。また、卵管上皮細胞にも大量のSODが存在しており、これらは胚発育に対して促進的に作用するものと考えられる。

一方、銅を用いた子宮内避妊器具は着床傷害作用を有しており、この作用機序に活性酸素の関与が推測されている。子宮内膜においてもSODなど抗酸化機構が存在しており、着床に対して防御的役割をするものと考えられているが、そのメカニズムについてはまったく解明されていない。

4. 黄体機能

ラット過排卵、妊娠黄体におけるMn-SOD,

eNOS, iNOS の各 mRNA の発現動態および Mn-SOD 濃度, プロゲステロン (P4) 濃度を解析した結果, Mn-SOD mRNA 発現は hCG 投与 7 時間後および妊娠 14 日目に, Mn-SOD 蛋白は 24 時間後および妊娠 16 日目にピークを示

し, P4 濃度と同様の推移を示した²⁾(図 1). 妊娠黄体において iNOS mRNA は妊娠 12 日目より比較的急激に増強し, 妊娠末期でピークを示した. さらにラット培養黄体化顆粒膜細胞の実験系より, NO 供与剤である SNAP, SIN-1 はい

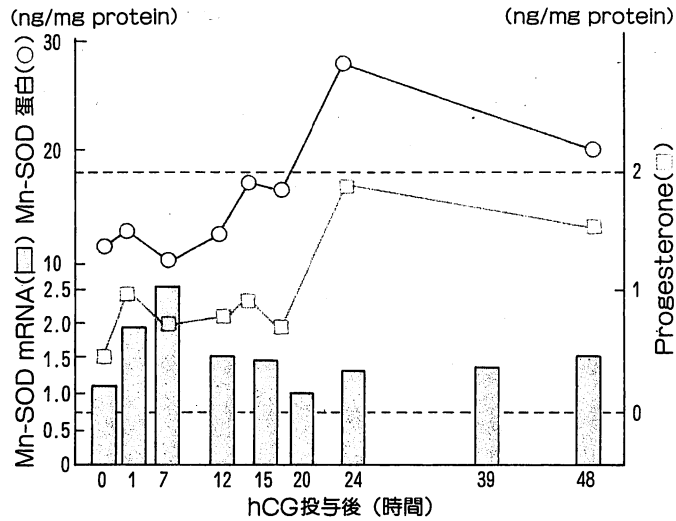


図 1. 過排卵ラット黄体における Mn-SOD mRNA, Mn-SOD 濃度およびプロゲステロン濃度の変化

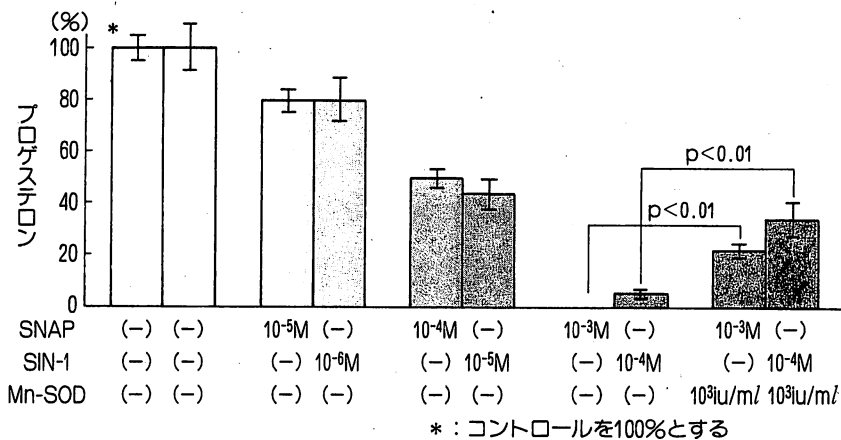


図 2. 培養顆粒膜細胞における SNAP, SIN-1 および Mn-SOD の添加による P4 産生への影響

いずれも用量依存的に P4 産生を抑制し(図 2), DNA 断片化が認められたが, Mn-SOD によっていずれの P4 産生能も有意に回復し, DNA 断片化が抑制された(未発表)。以上より, ラット黄体機能調節機構において, Mn-SOD は黄体機能促進的に, NO は黄体機能抑制的に作用し, 各々量的, 時間的变化を示し, かつ相互にクロストークしながら, その調節に関与していることが示唆された。しかし NO においては逆に顆粒膜細胞のアポトーシスを抑制するとの報告もあり¹⁰⁾, 細胞環境や濃度差によって相反する反応がみられることもあり, さらに検討が必要である。

周産期における活性酸素

1. 妊娠

妊娠中において母体血中の Mn-SOD の蛋白量をみると妊娠に伴い Mn-SOD のレベルが減少していることが判明した。したがって, 妊娠の初期と末期で比較すると 1% レベルで有意に Mn-SOD のレベルが低下していた(図 3)。

Church らは Mn-SOD の遺伝子発現がヒト胎盤トロホプラストの形態学的, 生化学的な分化に先行または協調していると報告している¹¹⁾。一方, NO も妊娠によって増加し, プロスタサイクリン(PGI₂)などの降圧物質およびエ

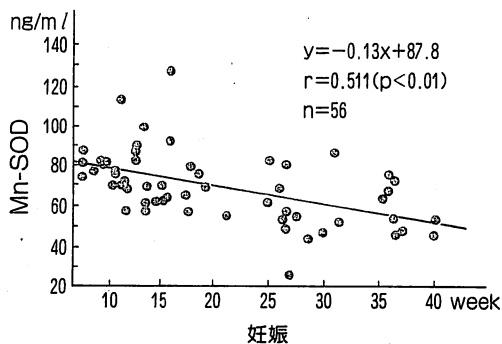


図 3. 妊娠母体血中の Mn-SOD 蛋白量の推移

ンドセリン, アンジオテンシン II, トロンボキサン A₂ などの昇圧物質とバランスを取りながら妊娠中の血圧コントロールを行っている。妊娠中毒症においては正常例に比して NOS-NO 系の減少が認められ, ラットにおける NOS 阻害剤投与実験では中毒症でみられる高血圧, 胎児発育遅延, 胎盤重量減少および病理所見が認められると報告されている¹²⁾。

また子宮筋層内においては L-アルギニン-NO-cGMP システムが存在し, 子宮筋収縮抑制作用を有しているとされており, 妊娠中期では高 NO 状態となり妊娠維持に働き, 妊娠末期において NO が減少し, 分娩の準備状態を作る一因となっていると考えられる¹³⁾。以上より, 重症妊娠中毒症や切迫早産例に NO 供与剤であるニトログリセリン投与が臨床的に試みられているが, 明らかな結論はでていない。

2. 胎児

胎児は胎盤を介して母体血より酸素を供給しており, かつ独特の胎児循環により動脈血中酸素濃度は低い状態にある。しかし分娩直後, 新生児は急激に体外生活を余儀なくされ, 肺呼吸により血中酸素濃度は急激に上昇しエベレストの頂上より一気に駆け下りるがごとき環境変化に対応する能力を準備しなくてはならない(Mount Everest in the Uterus)。Asayama らはラットにおける Cu,Zn-SOD と Mn-SOD の胎生中期から成長期における諸臓器の組織レベルでの発現, 推移を免疫学的に検討し, 両 SOD の臓器別および発育段階別変動は各臓器により異なり, また Cu,Zn-SOD と Mn-SOD の間においても異なることを報告している¹⁴⁾。またヒトにおいても赤血球, 肺および脳などの組織内 SOD 濃度が検討されており, 赤血球では妊娠初期より徐々に増加し, 40 週前後ではほぼ成人値と同レベルに達するが, 脳では増加傾向を示すものの出生時でも成人の 3 分の 1 程度であり, 各臓器によりその発現時期も異なる。さらにグルタチオンペルオキシダーゼやカタラーゼ

など他の抗酸化酵素においても同様の傾向が認められる。いずれにしても胎児はその未熟性に関して新生児よりさらに活性酸素の影響を受けやすく、ダウン症候群における知能障害など出生直後すでに新生児異常として取り扱われているものの中に、胎児期の疾患として考慮すべき病態が含まれていることは容易に推察できる⁴⁾。

3. 新生児

未熟児網膜症において、網膜色素上皮細胞およびその周辺では光刺激による反応において一重項酸素(1O_2)、 $O_2^{\cdot-}$ や $LOOH$ の発生が認められ、本症の原因の一つとして、高濃度酸素下での光、とくに短波長光線が光化学反応を起こしやすかつ未熟児網膜では抗酸化能が低いことにあるとされている。またビリルビンは抗酸化作用を有しており、本来これは活性酸素防御能を有するビリルビンを体内に保持する機能の結果と解釈できる。この防御機構の過剰な一方の極限状態が高ビリルビン血症であり、新生児核黄疸であると推測される。このほか、活性酸素との関連が示唆されている先天異常には、Duchenne型筋ジストロフィー、Dubin-Johnson-Spring症候群、間欠性急性ポルフィリン沈着症、Fanconi氏貧血、グルタチオン還元酵素やカタラーゼ欠損症などが挙げられる。また新生児領域では新生児肺低異形成、脳性麻痺などの発症に活性酸素の関与が示唆されている。また近年未熟児医療においてNO投与の臨床的有効性が明らかになりつつある。

婦人科疾患とフリーラジカル

1. 子宮腺筋症

子宮腺筋症の異所性内膜と腹水中のCu,Zn-SODおよびMn-SODの発現について検討した。子宮内膜症、腺筋症、機能性不妊症患者の腹水中SOD濃度の比較ではいずれのSODも腺筋症で有意に高値を示し、これらの異所性内膜の組織中のmRNAレベルもMn-SODで強

く発現し、また免疫染色においてもMn-SODが強く染色されることが確認された。腹水中で高濃度のMn-SODが存在する理由として、腺筋症で発生した $O_2^{\cdot-}$ などの活性酸素は異所性内膜でのMn-SODを誘導することが推測された。このことは他の炎症反応でみられる活性酸素が関わっている現象が腺筋症の病態にも関与していることが推測される¹⁵⁾。

2. 子宮内膜症

子宮内膜症の発生機序として、月経血の逆流により子宮内膜組織が何らかの機転で免疫能低下を来した腹膜に移植されるという仮説が有力視されており、この免疫能低下のメカニズムにNOなどを中心としたフリーラジカルが関与していると報告されている¹⁶⁾。子宮内膜症患者腹水中のT細胞やNK活性の低下、活性マクロファージの増加およびインターロイキン 1β (IL- 1β)、IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α)の増加などがみられ、抗酸化レベルの亢進が逆流内膜組織の移植を助長させると考えられるが、明確な結論は今後の検討を待たなければならない。

3. 卵巣癌

卵巣癌において血中Mn-SOD値が高く、腫瘍マーカーとして有用である可能性が示唆されている。Mn-SODの婦人科悪性腫瘍の陽性率をみると、子宮頸癌22.5%、子宮体癌20.0%であり、上皮性の卵巣癌においては61.0%の陽性率であった。また卵巣癌および婦人科良性疾患

表 2. 診断テストによる比較

	Mn-SOD	CA-125
臨床的感度	66% (75/114)	78% (89/114)
臨床的特異度	84 (182/217)	67 (146/217)
診断効率	55	52
有効度	78 (257/331)	71 (235/331)
陽性反応的中度	68 (75/110)	56 (89/160)

における比較において、Mn-SODはCA-125に比し感度は低いが、疑陽性率が低いため特異度はCA-125、67.0%に比しMn-SODは84.0%と高くなり、有効度はMn-SODが78%であり、CA-125の71%に比して高値をとり、Mn-SODの卵巣癌診断における有用性が示唆された²⁾(表2)。また、卵巣癌患者におけるMn-SODの血清値は病態の進行に伴い、臨床的に有用であった。

このほか子宮内膜癌におけるeNOS, SOD, ペルオキシダーゼ活性などの組織内濃度の検討¹⁷⁾や各種婦人科癌における抗癌剤を含む化学療法¹⁸⁾、放射線療法¹⁹⁾に対する感受性との関連について検討されているが明確な結論はでない。

おわりに

排卵、受精、分割および着床の過程で卵細胞および初期胚は急激かつ正確に細胞内でのエネルギー代謝の効率化を行っている。これまで、エネルギー代謝の効率化に伴う抗酸化酵素の進化が微生物からほ乳類まで系統発生学として研究されてきているが、個体発生において重要な位置を占める生殖生理学領域ではほとんど研究が進んでいなかった。また個体発生をあらゆる意味でsupportする卵巣、卵管および子宮内膜などの生殖器における機能の分化およびその病態について、さらにその結果としての胎児、新生児期における種々の疾患においても同様の研究進展状況である。

文 献

- 1) Ishikawa M *et al* : The role of superoxide dismutase and ovarian function. Assisted Reproduction Reviews 6 : 16, 1996.
- 2) 玉手健一ほか : 黄体と活性酸素. Horm Front Gynecol 4 : 41, 1997.
- 3) Ishikawa M *et al* : Reactivity of a monoclonal to manganese superoxide dismutase with human ovarian carcinoma. Cancer Res 50 : 2538, 1990.
- 4) 石川睦男ほか : スーパーオキシドと産婦人科疾患. 日産婦誌 46 : 855, 1994.
- 5) Laloraya M *et al* : Changes in levels of superoxide anion radical and superoxide dismutase during the estrous cycle of *rattus norvegicus* and induction of superoxide dismutase in rat ovary by lutropin. Biochem Biophys Res Comm 157 : 146, 1988.
- 6) 玉手健一ほか : ラット排卵周辺期における活性酸素およびSuperoxide Dismutaseの意義. 日産婦誌 44 : 1, 1992.
- 7) Tamate K *et al* : The role of superoxide dismutase in the human ovary and fallopian tube. J Obstet Gynecol 21 : 401, 1995.
- 8) Shukovski L *et al* : The involvement of NO in the ovulatory process in the rat. Endocrinology 135 : 2287, 1994.
- 9) 千石一雄ほか : 男性精子とNO—男性生殖におけるNOの役割—. Horm Front Gynecol 6 : 343, 1999.
- 10) Matsumi H *et al* : Evidence for an inverse relationship between apoptosis and inducible nitric oxide synthase expression in rat granulosa cells : a possible role of nitric oxide in ovarian follicle atresia. Endocrine J 45 : 745, 1998.
- 11) Church SL *et al* : Introduction of manganese vitro differentiation. Develop Biol 149 : 177, 1992.
- 12) Kiss H *et al* : Expression of endothelial (type III) nitric oxide synthase in cytotrophoblastic cell lines : regulation by hypoxia and inflammatory cytokines. Placenta 19 : 603, 1998.
- 13) Buhimschi I *et al* : Involvement of a nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in control of human uterine contractility during pregnancy. Am J Obstet Gynecol 172 : 1577, 1995.
- 14) Asayama K *et al* : Immunohistochemical study on perinatal development of rat superoxide dismutases in lung and kidneys. Pediatr Res 29 : 487, 1991.
- 15) Ishikawa M *et al* : Expression of superoxide dismutase (SOD) in adenomyosis. Am J Obstet Gynecol 169 : 730, 1993.
- 16) Wu MY *et al* : Increase in the production of interleukin-6, interleukin-10, and interleukin-12 by lipopolysaccharide-stimulated peritoneal macrophages from women with endometriosis. Am J Reprod Immunol 41 : 106, 1999.

- 17) Bentz BG *et al* : Cytoplasmic localization of endothelial constitutive nitric oxide synthase in endometrial carcinomas. *Tumor Biol* 18 : 290, 1997.
- 18) Keping LX *et al* : Therapy of human ovarian cancer by transfection with the murine interferon β gene : role of macrophage-inducible nitric oxide synthase. *Human Gene Therapy* 9 : 2699, 1998.
- 19) Nakano T *et al* : Manganese superoxide dismutase expression correlates with p53 status and local recurrence of cervical carcinoma treated with radiation therapy. *Cancer Res* 56 : 2771, 1996.