

145 ヒト受精卵着床部位における LIF (Leukemia Inhibitory Factor) 機能の解析

大阪大学, 市立芦屋病院*, 大阪労災病院**
澤井啓祐, 松崎昇, 下屋浩一郎, 橋本一昌,
信永敏克, 伊藤進一, 佐治文隆,
亀田隆*, 谷口武**

[目的] LIFは受精卵の着床・発育に深く関与するサイトカインであるが、その作用機序は不明である。我々は着床部位でのLIFの機能を明らかにするため、LIF刺激による絨毛細胞のhCG産生調節機能に注目し、その解析を試みた。[方法] 1) 初期絨毛と脱落膜を採取し、それぞれの器官培養上清中のLIF, IL-6をELISAにより測定した。2) 絨毛、脱落膜組織に抗LIF抗体を用い、免疫組織染色を施行した。3) 免疫組織染色法、RT-PCR法により IL-6 signal transducer(gp130)の初期絨毛における発現を検討した。4) 初期絨毛を酵素処理して絨毛細胞を得て、LIF等による刺激にて産生されたhCGを測定した。5) (4)と同様にして得られた絨毛細胞を、gp130の特異抗体であるGPX7と、IL-6 receptor(gp80)の特異抗体であるPM1、または tyrosine kinase 阻害剤genisteinで処理した後、LIFにより刺激し、産生されたhCGを測定した。[成績] 1) 初期絨毛組織及び脱落膜の器官培養では、LIFはIL-6とは異なり、絨毛組織よりも脱落膜で主に産生された。2) 絨毛組織の免疫組織染色によりLIFはcytotrophoblastのみに染色された。3) gp130はcyto- および syncytiotrophoblast共に染色され、RT-PCR法でもmRNAが初期絨毛に存在した。4) LIF刺激による絨毛細胞のhCG産生はLIF濃度に依存性に上昇した。また、LIFとIL-6両者のhCG産生能は相加的であった。5) LIF刺激によるhCG産生はGPX7により抑制されたが、PM1では変化なく、genisteinによって抑制された。[結語] 主として脱落膜で産生されたLIFは絨毛細胞よりのhCG産生を促進し、hCGによる絨毛細胞の増殖・分化機能を調節していることが明らかにされた。

146 変性割球が着床に及ぼす影響に関する 検討

鹿児島大
沖 利通, 中村佐知子, 山元慎一, 大西英資,
伊集院博文, 柿木博成, 堂地 勉, 永田行博

[目的] 体外受精胚移植において、受精しても正常発育を示さず、fragmentationを起こす卵は多い。しかし、このような変性卵の中には、正常割球が混在しており、変性卵を除去することで胚移植に利用できる可能性がある。この研究では変性割球が胚の着床に悪影響を及ぼすか検討した。[方法] 8週齢のICR雌マウスを過排卵処理し、hCG投与と同時に10週齢の同系雄マウスと交配させ、72時間後卵管還流法で4細胞期胚を採取。その後6時間5% CO₂ in air, 37°Cで培養。Mg/Ca free HTFで処理し、0.1M sucrose下、micromanipulatorで変性割球を除去し、24時間培養後偽妊娠雌マウス卵管に移植し、生仔数を検討した。変性割球をそのままとし残った正常割球3個(D-3)、2個(D-2)、1個(D-1)のもの(D群)、変性割球を除去し、正常割球が3個(R-3)・2個(R-2)・1個(R-1)になったもの(R群)とした。対照群として形態学的に正常な4細胞期胚で体外培養だけのもの(C-4)、正常割球除去後残った正常割球が3細胞(C-3)・2細胞(C-2)・1細胞(C-1)のものとした(C群)。[成績] それぞれの生仔獲得率は、C群のC-1: 0.0% (0/20), C-2: 22.7% (5/22), C-3: 40.7% (11/27), C-4: 56.0% (14/25) に対し、D群 D-1: 0% (0/5), D-2: 9.1% (1/11), D-3: 16.7% (2/12), R群 R-1: 0.0% (0/6), R-2: 12.5% (1/8), R-3: 36.4% (4/11), であった。[結論] 正常割球が3個以上ならC群とR群の間に生仔獲得率に差を認めなかったが、D群では低い傾向にあった。このことから、変性割球が2個以上あれば着床に悪影響を与える。逆に、変性卵でも正常割球が3個以上あれば変性割球除去により移植胚として利用できることが証明された。