

97            ブタ顆粒膜培養細胞におけるアミノペプチデース阻害剤 bestatin のステロイド産生におよぼす効果の検討

京都大、同胸部疾患研\*、福井赤十字病院\*\*、  
国立京都病院\*\*\*

山田成利、藤原 浩、橘 敏之\*\*、中村公彦、  
本田徹郎、前田道之\*、杉並 洋\*\*\*、森 崇英

【目的】前回aminopeptidase Nの阻害剤である bestatin がマウスの卵胞発育を促進することを報告した。今回、ブタ顆粒膜培養細胞を用いて、bestatin がステロイド産生におよぼす影響を検討した。

【方法】直径4～5mmのブタ卵胞から顆粒膜細胞を採取培養し、7日目に、alanine-p-nitroanilideを用いてアミノペプチデース活性を測定し、またこの反応をbestatinが阻害するかを検討した。次に同じ培養系を用いて、ブタFSH投与群と非投与群にわけ、それぞれbestatin 0, 0.4, 4, 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ を添加した。7日目に培養上清を回収し細胞あたりのエストラジオール(E2)、プロゲステロン(P)産生を比較した。

【成績】ブタ顆粒膜細胞にアミノペプチデース活性があること、およびbestatinがこれを阻害することを確認した。E2産生は、FSH投与群において、bestatin (40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) によって促進された ( $p < 0.01$ )。またP産生も、FSH投与群、非投与群ともに、bestatin (40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) によって促進された ( $p < 0.01$ )。

【結論】bestatinは、ブタ顆粒膜培養細胞におけるE2, P産生を促進した。このことよりアミノペプチデースがステロイド産生に関与していることが示唆された。

98            ヒト卵胞液中の macrophage migration inhibitory factor (MIF)の定量解析と顆粒膜細胞の steroidogenesisにおける役割

北海道大中央研究部

和田真一郎、西平 順

【目的】macrophage migration inhibitory factor (MIF)は免疫系に深く関与することが知られているが、卵巣機能とくにsteroidogenesisへの関与は不明である。体外受精における卵胞液中のMIF濃度と受精との関係およびヒト培養顆粒膜細胞のsteroidogenesisにおけるMIFの関与について検討することを目的とする。【方法】体外受精のための卵胞穿刺により得られた卵胞液および顆粒膜細胞の12、24、36、48時間後の培養上清中のMIFを、独自に開発したELISA法にて測定した(測定感度1.0ng/ml)。測定には、recombinantヒトMIFをstandardとし、そのpolyclonal抗体を使用した。培養液には10、5、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ のウサギ抗ヒトMIF抗体(Ig-G分画)および非免疫ウサギIg-Gを同濃度添加した。なお、対象(79症例)からは本研究に対する同意をえてMIFを測定した。有意差検定はt-testによった。【成績】79症例の穿刺卵胞液においてMIF値を測定し、そのうち男性不妊因子を除外して66症例を解析した。体外受精が成立した42例では $0.335 \pm 0.063 \mu\text{g}/\text{mL}$ ( $M \pm SD$ )、非受精の24例では $0.372 \pm 0.078 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった( $p < 0.05$ )。対象の血中濃度は10～20ng/mlであるので、卵胞液中には高濃度にMIFが存在していた。また抗ヒトMIF抗体の添加によりヒト培養顆粒膜細胞のP4産生は、ウサギ抗ヒトMIF抗体の濃度が1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の時、コントロールに比べ上昇( $4.2 \rightarrow 131.5 \text{ ng}/\text{mL}$ )し、5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( $5.5 \rightarrow 57.3 \text{ ng}/\text{mL}$ )、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ( $10.8 \rightarrow 12.9 \text{ ng}/\text{mL}$ )と高濃度の抗体を添加するにつれて減少した。【結論】ヒト卵胞液中のMIF濃度にはじめて検討を加えた。MIFは卵子および顆粒膜細胞の成熟に関与し、適当量のMIFの存在下でP4産生が促されることがはじめて示唆された。