

P-460 ヒト顆粒膜細胞における IGFBP-1の生理学的意義の検討

杏林大

勝又木綿子, 安藤 索, 矢崎智子, 和地祐一, 酒井 謙, 神野正雄, 岩下光利, 中村幸雄

【目的】卵巣内の IGF とその結合蛋白(IGFBP)は卵胞発育に深く関与し, 卵巣局所調節因子として重要な役割を有する. IGFBP-1はヒト黄体化顆粒膜細胞 (GC) から分泌されるが, 本研究では GC からの IGFBP-1の分泌とその作用について検討した.

【方法】体外受精採卵時に患者の同意のもとに採取された卵胞液から GC を Ficoll を用いて分離し, 10%FBS, DMEM/F-12にて48時間の前培養後, 各種薬剤を添加し, serum free の条件下でさらに24時間培養した. hCG 10 IU/ml, IGFBP-1 10^{-10} ~ 10^{-6} M 投与時および IGFBP-1 10^{-6} M とファイブロネクチンのインヒビターである RGD peptide 34 μ M 同時投与時の progesterone (P) 産生を RIA にて測定した. 次に hCG と P が IGFBP-1分泌に影響するかどうかを検討するため, hCG 10 IU/ml ならびに P のアンタゴニストである RU486 10^{-6} M 投与時の IGFBP-1産生を ELISA にて測定した.

【成績】P 産生は hCG 添加 (311.9 ng/ml) だけでなく, IGFBP-1添加 (188.6 ng/ml) でも control 86.3ng/ml に比べ有意に促進された ($p<0.05$). IGFBP-1は用量反応性に P 産生を促進した. さらに IGFBP-1による P 産生は RGD peptide の添加により抑制された. IGFBP-1は hCG 10 IU/ml 投与により control に比較し約3倍に上昇し ($P<0.05$), さらに IGFBP-1 mRNA 発現は hCG により用量反応性に増大した. RU486は hCG の IGFBP-1産生を抑制しなかった.

【結論】IGFBP-1は GC から hCG 依存性に分泌され, hCG とは独立して P 産生を促進した. IGFBP-1による P 産生は RGD peptide により抑制されたことから, IGFBP-1は GC の $\alpha_5\beta_1$ インテグリンを介して作用すると考えられた. 以上の結果から, hCG による顆粒膜細胞の黄体化には IGFBP-1が関与する可能性が示唆された.

P-461 ヒト顆粒膜細胞は外因系凝固阻害因子 Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) を産生していた

神戸市立中央市民病院

島田逸人, 中村公彦, 星野達二, 山田 聡, 鈴木尚子, 岡本尊子, 田口裕子, 青木卓哉, 伊原由幸

【目的】排卵直前のヒト卵胞液が凝固すれば卵の遊離が困難となる. この抗凝固作用は卵胞液中に Heparan sulfate 様物質および遊離型 tissue factor pathway inhibitor (TFPI) が多量に存在しているために生じ, Heparan sulfate 様物質は AT-III および Heparin cofactor II の thrombin 阻害作用を増強するとともに TFPI の Xa 阻害作用をも増強し卵胞液の抗凝固状態に寄与することを明らかにした. さらに卵胞液を heparitinase で処理し Heparan sulfate 様物質を分解すると, 卵胞液の凝固活性が回復することも確認した. また抗 thrombin 物質の干渉を除いた状態で, より正確な凝固因子定量を行い, 従来報告されていた「卵胞液には凝固因子が極めて少ない」との定説を覆した. 今回は, 卵胞液に高濃度で存在する TFPI の産生細胞を検索した.

【方法】IVF 操作時に, 研究に供することに関し, 患者の同意を得て採取された卵胞液を用いた. 卵胞液の細胞成分より Percoll 遠心分離法により, 顆粒膜細胞を分離し, この細胞より total RNA を得た. この中の TFPI mRNA の検出は, Probe に radiolabeled human TFPI cDNA を用い, Autoradiography にて半定量した. 対照としてヒト血管内皮細胞を用いた.

【成績】顆粒膜細胞にヒト血管内皮細胞より太い, TFPI mRNA band が, 観察された.

【結論】TFPI の産生細胞として従来報告されていた血管内皮細胞, 血小板, マクロファージ以外にもヒト顆粒膜細胞で産生されることが示され, 顆粒膜細胞の新たな生理機能が注目される.

P-462 一酸化窒素がヒト黄体化顆粒膜細胞の apoptosis に及ぼす影響

岩手医大

東梅久子, 吉崎 陽, 利部輝雄

【目的】一酸化窒素 (NO) がヒト黄体化顆粒膜細胞の apoptosis に及ぼす影響について検討した.

【方法】体外受精・胚移植を目的とした採卵時に, 患者の同意を得て卵胞液および黄体化顆粒膜細胞を採取した. 黄体化顆粒膜細胞は卵胞液量から大卵胞群 (5ml 以上), 中卵胞群 (2-5ml 未満), 小卵胞群 (2ml 未満) に分類し, 卵胞液中の estradiol (E_2), progesterone (P_4) 濃度を EIA 法にて, NO 濃度を Griess 法 (TCL-NOX1000) にて測定した. また各群における黄体化顆粒膜細胞の apoptosis の発現率および細胞周期を laser scanning cytometry にて測定した. 更に黄体化顆粒膜細胞を前培養後に NO donor である sodium nitro prusside (SNP) を投与し, 6時間後, 12時間後の培養液上清中の E_2 , P_4 濃度 (RIA 法), apoptosis と細胞周期の関連について検討した.

【成績】1) 卵胞液中の NO 濃度は小卵胞群において高い傾向が見られた. 卵の成熟度は未熟卵が得られた卵胞液の NO 濃度が高い傾向が見られた. 2) 小卵胞群では大卵胞群より apoptosis 発現率が増加し, 細胞周期では G_{2+M} 期に apoptosis 細胞が見られた. 3) NO donor 投与にて培養液上清中の E_2 , P_4 の産生は低下した. また apoptosis 細胞は増加し, 細胞周期では G_{2+M} 期に apoptosis 細胞が見られた.

【結論】NO はヒト黄体化顆粒膜細胞の apoptosis を誘導し, 黄体機能の調節に抑制的に作用する可能性が示唆された.