

P1-23-4 周排卵期卵巣における、IL-1 beta 誘導性ケモカイン群の同定および解析

日本医大

桑原慶充, 富山僚子, 山下恵理子, 小野修一, 市川智子, 峯 克也, 明樂重夫, 竹下俊行

【目的】IL-1 beta は LH サージの中心的なメディエーターであり、複数の局所分子の誘導を介して排卵のプロセスや卵胞血管新生に作用していると考えられる。本研究では IL-1beta 誘導性の卵巣ケモカイン群を同定し発現調節について解析を行った。【方法】PMSG 投与 48 時間後の幼若マウス (21 日齢) より卵巣を採取し、IL1-beta 添加、非添加において組織培養 (6 時間) を行った。PCR アレイおよびリアルタイム RT-PCR 解析により IL1-beta 添加により発現誘導される分子群の同定を行った。さらに、幼若マウス PMSG-hCG 過排卵モデル (PMSG 7.5IU/hCG 10IU) を用いて、マウス生体内の周排卵期における発現調節、局在について解析を行った。【成績】卵巣組織培養系において、IL1-beta (2ng/ml) の添加により CCL2, CCL11, CXCL1, CXCL2, CXCL5 ($n=6$, $p<0.01$), が有意に発現誘導された。マウス生体内では、CCL2 は hCG 投与 3 時間後、CCL11, CXCL2, CXCL5 は hCG 投与 6 時間後をピークに一過性に発現増加を示した。CCL11 は英膜間質領域 ($n=4$, $p<0.005$), CXCL2, CXCL5 は顆粒膜細胞 ($n=3$, $p<0.05$) に優位な発現を示した。【結論】マウス周排卵期卵巣において、IL-1 beta により誘導されるケモカイン群が存在し、白血球の遊走や血管新生を介し、排卵、黄体形成等、周排卵期の生理的プロセスに関与している可能性が示唆された。

P1-23-5 体外受精治療下黄体化顆粒膜細胞における BMP15, GDF9 mRNA の発現の臨床的検討

大阪医大

川邊紗智子, 山下能毅, 太田沙緒里, 福田真実子, 小西博巳, 山本 輝, 藤城奈央, 吉田陽子, 林 美佳, 林 正美, 奥田喜代司, 大道正英

【目的】BMP15 (bone morphogenetic protein15), GDF9 (growth differentiation factor 9) は卵胞発育、成熟を修飾している因子であり、顆粒膜細胞での発現が報告されているが臨床成績との関連性は不明な点が多い。今回我々は黄体化顆粒膜細胞における BMP15, GDF9 mRNA 発現について患者背景及び臨床成績の解析を行った。【方法】H21 年より H23 年に当院で施行した体外受精 32 症例 (子宮内膜症性不妊群 16 症例, 男性不妊群 13 症例, 原因不明不妊群 3 症例) を対象とした。インフォームドコンセントを行い、採卵時に得られた顆粒膜細胞における BMP15 mRNA, GDF9 mRNA 発現を One Step real time PCR で $\Delta\Delta CT$ 法を用いて定量し、臨床成績 (年齢, 血清 E2 値, P 値, 採卵数, 受精率, 良好胚率) との相関とそれぞれの発現量を妊娠群, 非妊娠群において比較検討した。【成績】BMP15, GDF9 mRNA 発現は年齢, 血清 E2 値, P 値, 採卵数, 受精率, 良好胚率と有意な相関は認めなかった。また、BMP15, GDF9 mRNA 発現は妊娠群, 非妊娠群において有意差はなかった。3 群間で BMP15 mRNA 発現に有意差はなかったが、子宮内膜症性不妊症例での GDF9 mRNA 発現は他群と比較し有意に低かった ($p=0.02$)。【結論】BMP15, GDF9 mRNA 発現の卵発育に対する影響は不明であったが、子宮内膜症症例では顆粒膜細胞において GDF9 mRNA の発現低下が不妊原因の一端である可能性が示唆された。

P1-23-6 ヒト卵胞における Fractalkine/CX3CL1 発現と臨床応用に関する検討川崎医大¹, 三宅医院²張 良実¹, 小田隆司², 中井祐一郎¹, 佐野力哉¹, 石田 剛¹, 郭 翔志¹, 福家信二¹, 前田岳史¹, 中村隆文¹, 清川麻知子², 三宅 馨², 下屋浩一郎¹

【目的】本邦では、晩婚化などから不妊症患者の増加し、10 組に 1 組の夫婦が不妊症とされ、体外受精・胚移植などの高度生殖補助医療も一般的治療となっている。しかし、高度生殖補助医療においてより効率的な卵胞発育や卵の質の客観的指標を見出すことは大きな課題であり、卵胞液中に存在する様々な因子を測定して評価に用いることが可能となればそのメリットは大きい。Fractalkine/CX3CL1 (以下 FRK) は、ケモカインと細胞接着分子の 2 つの特性を持ち、活性化血管細胞上に発現する結合型ケモカインであり、その受容体 CX3CR1 は、NK 細胞などの異常な細胞の排除に深く関わる免疫細胞に発現している。今回我々は、ヒト卵胞における FRK の発現ならびにそれに伴う免疫制御機構を解析し、臨床応用の可能性を検討した。【方法】患者同意のもと、体外受精・胚移植治療患者の採卵時に卵胞液を穿刺吸引し、卵細胞を回収した後の卵胞液を凍結保存し、同時の血清を採取保存して研究に供与した。卵胞液中の FRK の存在を Western blot 法を用いて解析し、卵胞液および血清中の FRK 濃度を ELISA 法にて測定した。なお、本研究は倫理委員会の承認を得、研究者に利益相反は存在しない。【成績】FRK 濃度は卵胞液中で $0.72 \pm 0.62 \text{ ng/ml}$ 、血清では $0.86 \pm 0.48 \text{ ng/ml}$ であり、両群間に有意な正の相関を認め、血清中において有意差に高値を示した。妊娠成立し、胎児心拍が確認された群では、卵胞液中 FRK 濃度が 0.54 ng/ml で不成功群の 0.73 ng/ml に比し低値を示す傾向が認められた。【結論】卵胞液中に FRK が存在し、妊娠成功率と関連する可能性が示唆された。卵胞液中に存在する細胞における FRK 受容体との関連について今後検討する予定である。