

P2-4-6 ヒト顆粒膜細胞から産生される growth differentiation factor (GDF)-3 は bone morphogenetic protein (BMP) サイトカインにより誘導され、BMP による LH 受容体発現低下をキャンセルする

富山大¹, 東京大²

吉野 修¹, 秋山育美², 大須賀穰², 甲賀かをり², 原田美由紀², 齋藤 滋¹, 藤井知行²

【目的】卵巣局所因子である BMP-6, 7 は顆粒膜細胞 (GC) における LH 受容体発現を低下させ、同細胞の黄体化を抑制することで卵胞発育に寄与していることが知られている。一方、卵胞が排卵、黄体化するためには、黄体化抑制因子である BMP サイトカインの解除が必要である。この機序を明らかにするため、卵巣における GDF-3 の発現、および作用につき検討した。【方法】倫理委員会の承認および患者の同意の下、以下の検討を行った。実験 1 婦人科悪性腫瘍疾患で摘出されたヒト正常卵巣切片を用い、GDF-3 の局在を免疫染色法にて検討した。実験 2 体外受精時に得られた培養顆粒膜細胞に BMP-6, -7 (100 ng/ml) を 24 時間添加し、GDF-3 mRNA 発現を定量的 PCR にて検討した。また、同培養系にリコンビナント GDF-3 (0-100 ng/ml) と BMP-7 (0-100 ng/ml) を同時添加し、LH 受容体 mRNA の発現を定量的 PCR にて検討した。【成績】実験 1 GDF-3 はヒト正常卵巣において、胞状卵胞の顆粒膜細胞に発現を認め、特に排卵直前の卵胞に発現が強かった。同様の発現パターンを BMP サイトカインにも認めている。また、原始卵胞以降のすべてのステージの卵胞に GDF-3 の発現を認めた。実験 2 BMP-6, -7 とともに GC における GDF-3 発現を 4-5 倍亢進させた ($P<0.01$)。BMP-7 単独では、GC における LH 受容体発現を濃度依存的に最大 90% 減少させたが、GDF-3 の同時添加により、BMP-7 による LH 受容体の発現減少作用は、キャンセルされた ($P<0.01$)。【結論】GDF-3 は BMP サイトカインにより誘導され、同サイトカインの顆粒膜細胞に対する作用を阻害した。卵胞発育の過程において、BMP サイトカインシステムには negative feedback 機構が備わっていることが示唆された。

P2-4-7 メラトニン長期投与によるマウス卵巣加齢の予防効果

山口大

田村博史, 田邊 学, 岡田真紀, 李 理華, 田村 功, 浅田裕美, 山縣芳明, 杉野法広

【目的】卵胞数の減少や卵の質の低下に起因する卵巣の加齢は、高齢女性の妊孕能低下の重要な因子である。我々は松果体ホルモンのメラトニンが卵胞液中に存在し、抗酸化作用を発揮して、排卵過程で発生する活性酸素から卵を保護することを報告してきた。今回はメラトニンの長期投与で卵巣の加齢を予防できるかどうかを検討した。【方法】10 週齢雌 ICR マウスをメラトニン投与群 (M 群) とコントロール群 (C 群) の 2 群に分け、43 週まで同一条件下で飼育した。メラトニン投与群はメラトニン水 (100 $\mu\text{g/ml}$) を、コントロール群は水を飲水させ飼育した。13, 23, 33, 43 週齢で PMSG (15 IU) による過排卵刺激を行い、48 時間後 HCG (15 IU) を投与、15 時間後に卵巣、卵管を採取した。(1) 卵管内より卵子を回収し排卵数を計測した。(2) 回収した卵子に雄マウスより採取した精子を媒精 (10×10^4 個/ml) して体外受精を行ない、24 時間後に受精を確認した。【成績】(1) 排卵数は、C 群では 13 週: 24.4 ± 8.9 個, 23 週: 26.3 ± 3.3 個, 33 週: 12.8 ± 4.3 個, 43 週: 6.4 ± 1.1 個と加齢に伴い低下した。M 群では 13 週: 19.0 ± 10.0 個, 43 週: 11.6 ± 3.2 個と、C 群に比較して 43 週で有意に多かった。(2) 体外受精の受精率は、C 群では 13 週: 77.9%, 23 週: 73.4%, 33 週: 52.9%, 43 週: 21.4% と加齢に伴い低下した。M 群では 13 週: 67.4%, 43 週: 50.9% と、C 群に比較して 43 週で有意に高値であった。【結論】メラトニンの長期投与によって、加齢に伴う排卵数の減少、受精率の低下が防がれた。メラトニンの投与によって卵巣の加齢を軽減できる可能性がある。

P2-4-8 顆粒膜細胞において Metformin は AMPK を介して翻訳制御因子の活性を調節する

大分大

甲斐由布子, 河野康志, 岡本真実子, 井上尚実, 奈須家栄, 檜原久司

【目的】メトホルミンは多嚢胞性卵巣症候群の排卵誘発に用いられる薬剤であるが、卵巣に対しての直接的な作用機序は明らかになっていない。今回、卵巣顆粒膜細胞におけるメトホルミンの役割を明らかにする目的で、AMP-activated protein kinase (AMPK) の活性化による翻訳制御因子の活性調節を検討した。【方法】顆粒膜細胞培養細胞株 (KGN) を培養し、種々の濃度の 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside (AICAR) およびメトホルミンを添加し、蛋白を抽出し、western immunoblot 法を用いて AMPK の活性を検討した。さらにその下流にある翻訳制御に関連する 4EBP-1, p70S6kinase および S6 ribosomal protein の活性を同様に検討した。さらに、TNF- α による IL-8 ならびに GRO α 産生に及ぼす AMPK の影響について検討した。【成績】顆粒膜細胞に AICAR およびメトホルミンを添加したところ AMPK のリン酸化が認められ、さらに 4EBP-1, p70S6kinase, S6 の活性は低下した。TNF- α と AICAR の添加で、IL-8 の産生は有意 ($p<0.01$) に抑制された。TNF- α により IL-8 ならびに GRO α 産生は亢進したが、AICAR およびメトホルミンの添加で、IL-8 ならびに GRO α の産生は有意 ($p<0.01$) に抑制された。【結論】AMPK は細胞内のエネルギーセンサーとして働きエネルギーバランスを調整しており、近年の報告では、AMPK の活性化により炎症性サイトカインの作用を抑制することが知られている。顆粒膜細胞において活性化された AMPK はその下流にある翻訳制御因子の活性を下げることで蛋白合成を低下させ、炎症性変化を調整する可能性が示唆された。