

P1-280 Insulin-like growth factor-I による卵管細胞の vascular endothelial growth factor 産生調節大分大¹, 福岡大²奈須家栄¹, 伊東裕子², 弓削彰利¹, 河野康志¹, 植原久司¹

【目的】卵管液は受精, 胚の成熟と輸送など, ヒトの生殖過程において重要な役割を有する. 卵管液の産生は血管透過性の調節による血清の浸出量の増減により調節されると考えられる. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) は卵管組織や卵管液に存在する成長因子で, その産生は排卵期に増加する. IGF-I は gonadotropin と sex steroid hormone の cross-talk に関与していると考えられている. 我々は, 卵管から産生される血管透過性調節因子である vascular endothelial growth factor (VEGF) に着目し, ヒト卵管上皮細胞および間質細胞の培養系を用いて, 卵管細胞の VEGF 産生に対する IGF-I の作用について検討した. 【方法】子宮筋腫の手術時に, 患者 (36—42 才, n=6) の同意を得て手術時に採取した増殖期の正常卵管膨大部より, collagenase を用いて, 卵管上皮細胞および間質細胞を分離, 培養した. 24-well plate に confluent となった卵管上皮細胞と卵管間質細胞の各々に, IGF-I (0—10ng/ml) を加えて 24 時間刺激した後, 培養上清を回収した. 培養上清中の VEGF₁₆₅ 濃度を ELISA 法を用いて測定した. 【成績】卵管上皮細胞, 間質細胞ともに無刺激の細胞培養上清中に VEGF₁₆₅ の分泌 (865.0±18.0 pg/ml および 943.7±35.5pg/ml) を認めた. 卵管上皮細胞, 間質細胞ともに, IGF-I の刺激により VEGF₁₆₅ の産生が有意に増加 (IGF-I 10ng/ml の刺激で 1288.3±87.2pg/ml および 1229.7±34.4pg/ml, p<0.0001) した. 【結論】卵管の局所において排卵期に増加する IGF-I は卵管細胞の VEGF の産生を促進することにより, 卵管の血管透過性を亢進させると考えられる. この mechanism は正常および各種病態における卵管液の産生に関与していると推察される.

P1-281 下垂体でのゴナドトロピン産生における Akt/PKB の役割について

島根大

サンドラムティアラ, 金崎春彦, 原田 崇, 折出亜希, 宮崎康二

【目的】Akt/PKB (プロテインキナーゼ B) は PI3 キナーゼにより活性化され, 細胞の生存シグナルとして重要な役割を持つことが知られている. 今回我々は下垂体ゴナドトロピン産生細胞を用いゴナドトロピン各サブユニット発現に対する PI3 キナーゼ及び Akt/PKB の役割について検討した. 【方法】ゴナドトロピン産生細胞のモデル細胞として LβT2 細胞を用い, GnRH 及び IGF-1 にて刺激をおこなった. Akt/PKB の活性化はリン酸化 PKB 抗体を用いたウェスタンブロッティングで測定し, ゴナドトロピンプロモーター活性はルシフェラーゼベクターを用いたルシフェラーゼアッセイで評価した. 【成績】GnRH 刺激で Akt/PKB 活性は刺激 5 分後より有意に増加した. GnRH による Akt/PKB 活性化反応は PI3 キナーゼ阻害剤である LY294002 により完全に抑制され, また PKB 阻害剤でも PKB のリン酸化は阻害された. IGF-1 刺激で Akt/PKB は活性化された. GnRH 刺激によりゴナドトロピン α, LHβ, FSHβ サブユニットプロモーターはいずれも増加したが, IGF-1 刺激でゴナドトロピンプロモーターの活性化は起こらなかった. Akt/PKB インヒビターは GnRH による各プロモーター活性に影響を与えなかったが, PI3 キナーゼ阻害剤存在下では GnRH 刺激による α 及び FSHβ サブユニットプロモーター活性は GnRH 単独刺激に比べて有意に増加した. 【結論】Akt/PKB は GnRH により活性化されるが, 直接ゴナドトロピンの発現には影響を与えず, Akt/PKB の上流に存在する PI3 キナーゼが, ゴナドトロピン α 及び FSHβ サブユニットの発現に関与する事が示唆された.

P1-282 マウス卵巣における卵巣凍結保存に関する基礎的研究

聖マリヤンナ医大

井埜まり絵, 斉藤寿一郎, 鈴木 直, 津田千春, 谷内麻子, 五十嵐豪, 高橋則行, 木口一成, 石塚文平

【目的】若年者や生殖可能年齢女性への化学療法や放射線治療は, 卵巣機能不全をきたすことがある. このような症例の卵巣組織の摘出保存は, 自身の卵巣組織による生児獲得を目的とした治療, ホルモン動態の改善や QOL の維持に有用である. 今回, 卵巣機能の長期保存方法の確立と, 保存した卵巣による妊娠成立を目的として基礎的実験となるマウス卵巣の vitrification 法による凍結融解後の卵巣自家移植を行った. また, 最近, 生殖可能年齢のヒト女性の悪性腫瘍に対し化学療法を施行する際に, GnRHa を前投与することにより治療後の卵巣機能回復が改善されると報告されている. 本実験では卵巣摘出前に GnRHa を投与し, その効果の有無を検討した. 【方法】7 週齢の ICR 雌マウスを用い vitrification 法にて凍結融解後の卵巣自家移植を行った. A 群: GnRHa 投与群, B 群: 両側卵巣摘出し凍結・融解後の卵巣を背筋筋膜下に移植した群, C 群: GnRHa 投与後両側卵巣摘出し凍結・融解後の卵巣を背筋筋膜下に移植した群の 3 群に分類した. 凍結融解後自家移植し, 2 週間後, 4 週間後, 12 週間後に子宮・卵巣重量とマウスの体重の推移を観察し, 血中 E2 値の測定を行った. また, 移植後の性周期を陰スメア・子宮内膜組織診により観察した. 【成績】B 群, C 群において卵巣凍結・融解後自家移植した後も E2 値, 陰スメア・子宮内膜組織診により性周期が保たれていることを証明した. 【結論】GnRHa 投与後に卵巣を vitrification 法により凍結融解後に自家移植することで, 生着率をさらに向上させることができた.