

論 文 内 容 要 旨

題目 Expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant suppresses tumor necrosis factor alpha expression and thereby prevents the follicles from undergoing atresia and apoptosis (サイトカイン誘発好中球化学誘引物質の発現は TNF α 発現を抑制することにより卵胞の閉鎖およびアポトーシスから回避させる)

著者 Yu Tanaka, Akira Kuwahara, Kenjiro Ushigoe, Yuya Yano, Yuka Taniguchi, Yuri Yamamoto, Toshiya Matsuzaki, Toshiyuki Yasui, Minoru Irahara

平成 29 年 3 月 12 日発行 Reproductive Medicine and Biology
第 16 巻第 3 号 157 ページから 165 ページに発表済

内容要旨

排卵現象は炎症反応と類似すると考えられている。成熟した卵胞の周囲に好中球が集簇し、卵胞壁の菲薄化が進み、平滑筋の収縮により卵の放出が行われる。この過程に様々なサイトカインやケモカインが関与する。

ラットにおけるサイトカイン誘発好中球化学誘引物質 (CINC/gro) は、ヒトのインターロイキン (IL) -8 に似た CXC ファミリーのケモカインである。排卵期に卵巣莢膜細胞層に好中球が浸潤してくることが観察されており、CINC/gro は排卵を調節する因子の 1 つとして知られている。今回我々は、排卵機構の解明の一環として、未だ明確でない排卵後の卵胞閉鎖の調節メカニズムに CINC/gro が関与するかを検討した。

すでに確立しているラット排卵誘発モデルを用いた。すなわち、21 日齢の幼若雌ラットに妊馬血清性性線刺激ホルモン (PMSG) 10 単位を腹腔内投与して卵胞を發育させ、PMSG 投与 48 時間後にヒト絨毛性性線刺激ホルモン (hCG) 10 単位を腹腔内投与して排卵を誘起した。このモデルに、hCG 投与時に抗 CINC/gro 抗体を併せて投与した (抗体群)。対照として家兎血清を投与した。この排卵誘発モデルにおいて、1) 卵管内へ排卵数の実測、2) PAS 染色による排卵局所での好中球浸潤状態の観察、3) 卵胞發育に関係するサイトカインである Cox-2、IL-1 β 、卵胞閉鎖に関係する TNF α 、アポトーシス関連の Bcl-2、Bcl-2-associated X (Bax) の mRNA 発現量を realtime RT-PCR で調べた。また 4) Cox-2、IL-1 β 、TNF α の

様式(8)

蛋白発現を免疫染色で調べるとともに、5) TUNEL 法により卵胞のアポトーシスの状態を検討した。

得られた結果は以下のとおりである。

1. 排卵個数は、対照群に比べて抗体群で有意に減少していた。
2. 莖膜細胞層への好中球浸潤は抗体群で減少していた。
3. Cox-2、IL-1 β の mRNA 発現量は抗体群で有意に発現が減少しており、TNF α の mRNA 発現量は抗体群で増加していた。また、Bax/Bcl-2 の mRNA 発現量比は増加していた
4. Cox-2、IL-1 β の蛋白は対照群において、また TNF α の蛋白は抗体群において、それぞれ発現が増加していた
5. 抗体群は対照群よりも卵胞閉鎖が早く、多数生じていた。TUNEL 法では抗体群で陽性細胞を認めたが、非投与群では陽性細胞を認めなかった

以上の結果より、CINC/gro は莖膜細胞層への好中球遊走を促進させ、排卵を促していること、CINC/gro と IL-1 β の発現は排卵へ向けて相乗的に働いていること、CINC/gro は TNF α 発現量を調節することにより卵胞閉鎖およびアポトーシスを抑制する可能性が示唆され、排卵および卵胞閉鎖のメカニズムに CXC ファミリーのケモカインが深く関わっていることが推定された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	乙医第 1756 号	氏名	田中 優
審査委員	主査 金山 博臣 副査 常山 幸一 副査 安倍 正博		

題目 Expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant suppresses tumor necrosis factor alpha expression and thereby prevents the follicles from undergoing atresia and apoptosis (サイトカイン誘発好中球化学誘引物質の発現は TNF α 発現を抑制することにより卵胞の閉鎖およびアポトーシスから回避させる)

著者 Yu Tanaka, Akira Kuwahara, Kenjiro Ushigoe, Yuya Yano, Yuka Taniguchi, Yuri Yamamoto, Toshiya Matsuzaki, Toshiyuki Yasui, Minoru Irahara

平成 29 年 3 月 12 日発行 Reproductive Medicine and Biology
 第 16 巻第 3 号 157 ページから 165 ページに発表済
 (指導教授 苛原 稔)

要旨 排卵現象は炎症反応と類似すると考えられる。成熟した卵胞の周囲に好中球が集簇し、卵胞壁の菲薄化が進み、平滑筋の収縮により卵の放出が行われる。この過程に様々なサイトカインやケモカインが関与すると考えられている。また、排卵に至らない卵胞はアポトーシスにより閉鎖に陥ることが知られている。

ラットにおけるサイトカイン誘発好中球化学誘引物質 (Cytokine-induced neutrophil chemoattractant :CINC) は、ヒトのインターロイキン (IL) -8 に相当する CXC ファミリーのケモカインであり、排卵調節因子の 1 つと推定されている。そこで申請者らは、排卵機構の解明の一環として、未だ明確でない排卵や排卵後の卵胞閉鎖の調節メカニズムに CINC が関与するかを検討した。

すでに確立しているラット排卵誘発モデルを用いた。すなわち、21日齢の幼若雌ラットに妊馬血清性性腺刺激ホルモン (PMSG) を投与して卵胞を発育させ、PMSG 投与 48 時間後にヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG) を投与して排卵を誘起した。このモデルに、CINC の作用抑制のため hCG 投与時に抗 CINC 抗体を併せて投与し (抗体群)、対照として家兔血清を投与した (対照群)。

この排卵誘発モデルにおいて、1) 卵管内への排卵数、2) 排卵局所での好中球浸潤状態、3) 卵胞発育に関係するサイトカインである Cox-2、IL-1 β 、卵胞閉鎖に関係する TNF α 、アポトーシス関連の Bcl-2、Bcl-2-associated X (Bax) の mRNA 発現量、4) Cox-2、IL-1 β 、TNF α の蛋白発現、5) TUNEL 法による卵胞のアポトーシス、について調べ両群を比較検討した。得られた結果は以下のとおりである。

1. 排卵個数は、対照群に比べて抗体群で有意に減少していた。
2. 莢膜細胞層への好中球浸潤は抗体群で減少していた。
3. Cox-2、IL-1 β の mRNA 発現量は抗体群で有意に減少し、TNF α の mRNA 発現量は抗体群で増加していた。また、Bax/Bcl-2 mRNA 発現量比は増加していた。
4. Cox-2 蛋白、IL-1 β 蛋白は対照群の方が、また TNF α 蛋白は抗体群の方が、それぞれ顕著に発現していた。
5. 抗体群は対照群よりも卵胞閉鎖が早く、多数生じており、TUNEL 法では抗体群で陽性細胞を認めたが、対照群では陽性細胞を認めなかった。

以上の結果より、CINC は莢膜細胞層への好中球遊走を促進させ排卵を促すこと、また、TNF α の発現の増加を抑制することにより卵胞閉鎖を抑制していることが示され、排卵および卵胞閉鎖のメカニズムにケモカインが深く関わることを明らかにした。

これらの成果は排卵機構の解明に寄与するところ大であると考えられ、学位授与に値すると判定した。