

平成 8 年度厚生省心身障害研究
「不妊治療の在り方に関する研究」

排卵誘発と着床環境に関する研究
(分担研究：多胎妊娠の予防に関する研究)

分担研究報告書

研究協力者

鳥取大学医学部産科婦人科学教室

寺川直樹

原田 省

要約：不妊治療として行われる卵巣刺激周期においては，多数の卵胞が発育するために自然排卵周期に比して性ホルモン濃度が異常に増加する．この過剰なホルモン環境が受精卵の着床を阻害することが示唆されている．Keratinocyte growth factor (KGF)は，ヒト子宮内膜において着床期に一致して発現が増強することが知られている．本研究では，KGFの着床における役割を知ることを目的として，マウス胚盤胞の着床に及ぼすKGFの作用について検討した．KGFは胚盤胞のhatching, attachmentには影響を及ぼさなかったが，trophoblast spreading面積を有意に増加させた．胚盤胞にはKGF受容体が，子宮内膜にはKGF遺伝子が発現していることがRT-PCR法によって示された．子宮内膜に発現するKGFはパラクリン作用によって胚盤胞発育を促進することが明らかとなった．

緒言

不妊治療として行われる卵巣刺激周期においては、多数の卵胞が発育するために自然排卵周期に比して血中エストラジオール(E₂)やプロゲステロン(P)が増加する。この性ホルモン異常高値となる環境が受精卵の着床を阻害することが示唆されている¹⁾。近年、性ステロイドホルモンは、種々の増殖因子やサイトカインを誘導することで、子宮内膜の増殖と分化をコントロールすることが明らかとなっている。着床期の胚においても多数の増殖因子の受容体が発現しており、これらの増殖因子がパラクリン・オートクリン機構により胚発育と子宮内膜の受容能に影響を及ぼし、複雑な着床機構に関与している。keratinocyte growth factor (KGF)は、ヒト子宮内膜において着床期に一致して発現が増強することが知られている²⁾。したがって、本研究ではKGFの着床過程における役割について明らかにすることを目的とする。

対象と方法

過排卵刺激を行ったB6C3F1雌マウスから胚盤胞を採取する。KGF(0-100ng/ml)の存在下に、5%ウシ胎児血清添加改変EMEM培養液中で胚盤胞を72時間培養し、胚盤胞のhatching, attachment, spreading率ならびに着床胚のtrophoblast spreading (TS)面積を計測する。胚培養にはfibronectin coated dishを用いた。マウス胚盤胞、着床後胚、子宮内膜上皮および間質細胞におけるKGFとKGF受容体(KGFR)の発現をRT-PCR法にて検索する。RT-PCRにて得られた結果は、Southern blotting法にてその特異性を確認した。

成績

100ng/mlのKGF添加はhatching, attachment率には影響を及ぼさなかったが、spreading率を有意に増加させた。1, 10, および100ng/mlのKGFは、TS面積を有意に増加させた。TS面積は100ng/mlのKGF添加によって最大176%に増加した(図1)。

RT-PCR法によってマウス子宮内膜間質細胞にKGFの遺伝子発現が確認された。マウス胚盤胞および着床後胚においてKGFR遺伝子が発現することが明らかとなった(図2)。

考察

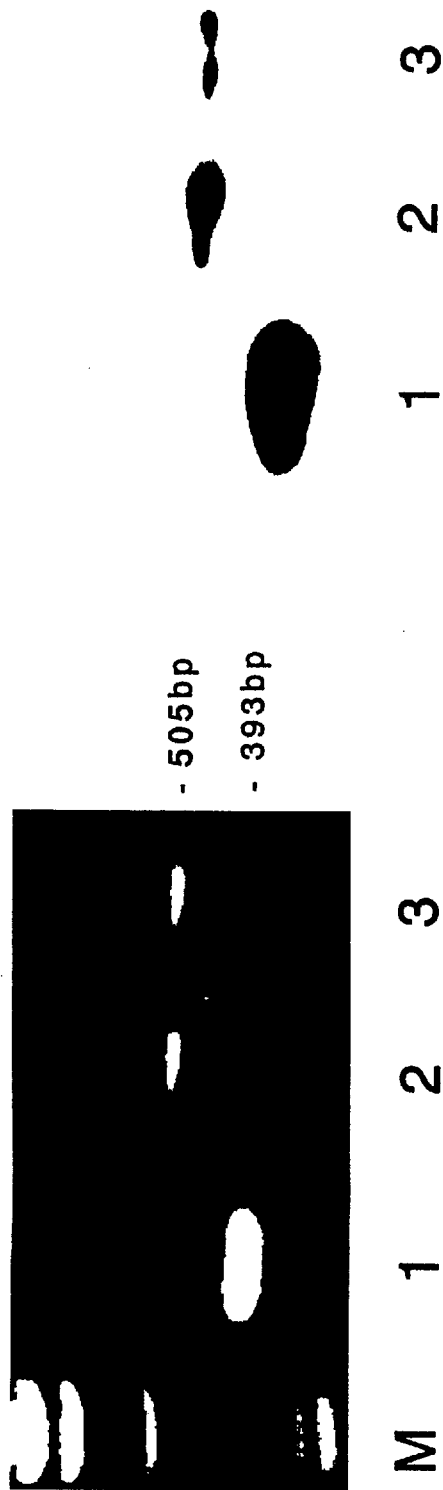
KGFは子宮内膜間質に強い発現を認め、性ステロイドホルモンにより発現が調節されている。ヒト子宮内膜では、KGFの遺伝子発現はプロゲステロンに依存し

て着床期の内膜で特異的に発現することが明らかとなっている²⁾。今回マウス胚盤胞の着床に関する実験成績から、KGFはマウス胚の着床において促進作用を有することが明らかとなった。KGFの作用は、EGFやTGF α のような増殖因子とは異なり、着床過程全般に作用するのではなく、trophoblast spreadingに対して特異的に作用、in vivoにおいてもtrophoblastが内膜に浸潤していく過程で重要な役割を担っているものと考えられる。

今後は、マウス子宮内膜におけるKGF発現の性周期による変動を蛋白ならびにmRNAレベルで検討する。次に、ヒト子宮内膜におけるKGFの発現レベルを検討する予定である。

文献

- 1) Harada T, Yoshida S, Katagiri C, Takao N, Ikenari T, Toda T, et al. Reduced implantation rate with subtle rise in serum progesterone concentration during the follicular phase of cycles stimulated with a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropin. Hum Reprod 1995;10:1060-1064.
- 2) Siegfried S, Pekonen F, Nyman T, Ammala M. Expression of mRNA for keratinocyte growth factor and its receptor in human endometrium. Acta Obstet gynecol Scand 1995; 74: 410-14.



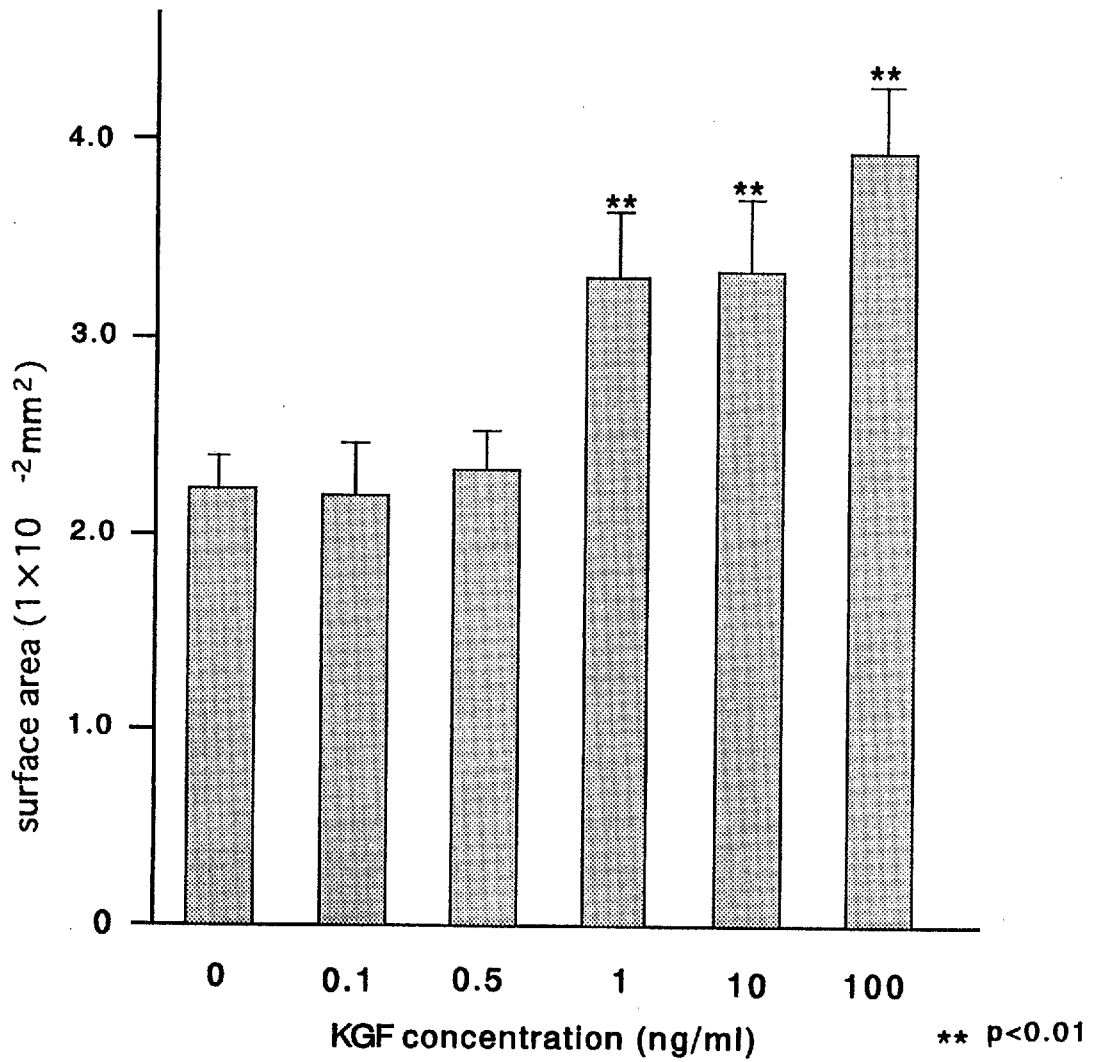
M; Marker

Lane1; マウス子宮内膜間質細胞におけるKGFの発現

Lane2; マウス胚盤胞におけるKGFRの発現

Lane3; マウス着床後胚におけるKGFRの発現

図2 マウス胚と子宮内膜におけるKGFとKGFR



☒ 1 KGFとtrophoblast outgrowth



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:不妊治療として行われる卵巣刺激周期においては、多数の卵胞が発育するために自然排卵周期に比して性ホルモン濃度が異常に増加する。この過剰なホルモン環境が受精卵の着床を阻害することが示唆されている。Keratinocyte growth factor (KGF)は、ヒト子宮内膜において着床期に一致して発現が増強することが知られている。本研究では、KGFの着床における役割を知ることを目的として、マウス胚盤胞の着床に及ぼすKGFの作用について検討した。KGFは胚盤胞のhatching, attachmentには影響を及ぼさなかったが、trophoblast spreading面積を有意に増加させた。胚盤胞にはKGF受容体が、子宮内膜にはKGF遺伝子が発現していることがRT-PCR法によって示された。子宮内膜に発現するKGFはパラクリン作用によって胚盤胞発育を促進することが明らかとなった。