

氏名	縣 紗 智 子
(ふりがな)	(あがた さちこ)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 28 年 12 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	The effect of moderate to severe endometriosis on expression of growth differentiation factor-9 mRNA in human granulosa cells under controlled ovarian hyperstimulation (子宮内膜症合併不妊症の顆粒膜細胞における GDF-9mRNA 発現への影響)
論文審査委員	(主) 教授 高 井 真 司 教授 近 藤 洋 一 教授 岡 田 仁 克

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《研究目的》

子宮内膜症性不妊症は女性不妊原因の25 - 40%にも及び、少子・晩産化にある近年増加傾向にある。子宮内膜症患者においては卵胞顆粒膜細胞のステロイド合成能低下により卵胞発育異常を来し、その結果妊孕能低下に関与していると考えられており、生殖補助医療においても卵胞発育異常による受精率、妊娠率の低下が認められる。そこで申請者らは卵胞発育に重要な因子であるgrowth differentiation factor-9 (GDF9)に着目した。

GDF9 は transforming growth factor- β スーパーファミリー群に属する主に卵母細胞より分泌される蛋白であり、オートクリン、パラクリン経路を介して初期卵胞の発育を促す。

成熟卵胞においては顆粒膜細胞からも分泌され、黄体ホルモン（LH）サーージ後の卵胞刺激ホルモン誘導性ステロイド産生及び LH レセプターの発現を阻害し、卵胞の早期黄体化を抑制している。子宮内膜症性不妊症患者における卵胞液中 GDF9 蛋白発現量は非子宮内膜症性不妊症患者と比較し低下しているとの報告があるが、子宮内膜症性不妊症患者の顆粒膜細胞 GDF9mRNA 発現量に及ぼす影響を調べた報告はない。

今回申請者らは子宮内膜症性不妊症患者での顆粒膜細胞 GDF9mRNA 発現の不妊症への関与を明らかにするために、子宮内膜症性不妊症例と非子宮内膜症性不妊症例（対照群）との間で卵胞液中 GDF9 蛋白発現量の差と、顆粒膜細胞 GDF9mRNA 発現量の差及び妊孕能関連因子との相関関係を解析し、比較した。

《対象と方法》

対象は 2010 年より 2012 年までに当科でインフォームドコンセント取得後に採卵した、26 歳から 43 歳までの女性不妊症例である。手術時に子宮内膜症と診断された症例を子宮内膜症例（以下子宮内膜症群、13 例）、子宮内膜症例以外を非子宮内膜症例（以下対照群、11 例）とした。まず卵胞液中 GDF9 蛋白の発現量を Western blotting 法で比較定量し、次に顆粒膜細胞中 GDF9mRNA 発現量を Taqman プローブを用いた One step リアルタイム PCR 法で増幅し、 $\Delta\Delta Ct$ 法で解析し比較した。

《結果》

1. 卵胞液中 GDF9 蛋白の発現量に有意差は認めなかった。
2. 顆粒膜細胞においては子宮内膜症群での GDF9mRNA 発現量は対照群と比較し有意 ($p = 0.034$) に低値であった。
3. 妊娠の有無で比較すると GDF9mRNA 発現量に有意差は認めなかった。
4. 対照群においては採卵数、形態良好胚数と GDF9mRNA 発現量との間に正の相関傾向 ($r = 0.51, r = 0.63$) を認めたのに対し、子宮内膜症群においては相関関係を認めなかった。

5. 対照群においては採卵時血清エストラジオール値、プロゲステロン値と GDF9mRNA 発現量との間に弱く負の相関 ($r = 0.59$ 、 $r = 0.55$) を認めたのに対し、子宮内膜症群においては相関関係を認めなかった。

《結論》

子宮内膜症では顆粒膜細胞の GDF9mRNA 発現量が低下していることが明らかになった。これにより卵胞発育が障害され、胚の質が低下している可能性が示唆された。

(様式 甲 6)

論文審査結果の要旨

子宮内膜症性不妊症は近年増加傾向にあり、その主な治療法である生殖補助医療 (ART) での治療成績は不良である。この一因として今回申請者らは卵胞発育に重要な役割を果たす growth differentiation factor-9 (GDF9) に着目した。既に子宮内膜症での卵胞液中 GDF9 蛋白発現量が低下していることを報告した研究があるが、本研究は子宮内膜症での顆粒膜細胞 GDF9mRNA 発現量を検討したものである。

結果は卵胞液中 GDF9 蛋白の発現量に有意差は認めなかった。しかし、子宮内膜症群での顆粒膜細胞 GDF9mRNA 発現量は対照群と比較し有意 ($p = 0.034$) に低値であった。妊娠の有無で比較すると GDF9mRNA 発現量に有意差は認めなかった。また、対照群においては採卵数、形態良好胚数と GDF9mRNA 発現量との間に正の相関傾向を認め、採卵時血清エストラジオール値、プロゲステロン値と GDF9mRNA 発現量との間に弱く負の相関を認めたのに対し、子宮内膜症群においては採卵数、形態良好胚数、血清エストラジオール値、プロゲステロン値の全てに対し相関関係を認めなかった。

今後さらなる検討が必要であるが、本研究により少なくとも調節卵巣刺激周期下の子宮内膜症では顆粒膜細胞での GDF9mRNA 発現量が低下していることが明らかになった。これにより卵胞発育が障害され、胚の質が低下している可能性が示唆され、ART 成績の改善に貢献し得る新たな知見であると考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Reproductive medicine and biology 14(4): 179-184, 2015