

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
荻田正子	主査 教授 大槻 勝紀 副査 教授 辻 求 副査 教授 勝岡 洋治 副査 教授 朝日 通雄
主論文題名 Does advanced-stage endometriosis affect the gene expression of estrogen and progesterone receptors in granulosa cells? (重症子宮内膜症が顆粒膜細胞においてエストロゲン及びプロゲステロン受容体の遺伝子発現に影響を及ぼしているのか?)	
学位論文内容の要旨	
《背景と目的》 子宮内膜症は生殖年齢女性の約 7%に認められ、不妊症との関係は以前から強く示唆されており、社会的関心も高い。不妊をきたす機序としては①癒着による卵巣、卵管機能の機械的障害②卵胞発育異常、排卵障害③自己免疫抗体④腹腔内環境の異常などであり、体外受精を行った子宮内膜症患者における受精率、着床率及び Veek 分類に基づいた良好胚率の低下が報告されている。 エストロゲン受容体 (以下 ER) 及びプロゲステロン受容体 (以下 PR) は核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド結合依存性の転写因子で、ER には ER- α と ER- β 、PR には PR-A と PR-B のそれぞれ 2 つの生物学的作用の異なる isoform が存在する。ER は子宮内膜、莖膜細胞及び顆粒膜細胞に発現し、特に ER- β を介するエストラジオール活性は FSH による顆粒膜細胞の増殖に必要不可欠であり、その結果として LH サージによる排卵が惹起されている。PR-A 及び PR-B は排卵前から顆粒膜細胞に発現し、黄体期では PR-A が優位で両者とも黄体期初期と中期	

に比べ後期の発現が低い。体外受精時に採取した顆粒膜細胞において、PR mRNA の発現は非良好胚の方が良好胚よりも有意に高く、PR mRNA の発現が良好胚率に関係しており、また子宮内膜症組織では正常子宮内膜組織と比較し ER- β 及び PR-A mRNA の発現が高くなっていることが不妊原因と考えられている。

本研究では、子宮内膜症の受精および胚発育への関与を検討する目的で、子宮内膜症患者の体外授精において採取した顆粒膜細胞における ER、PR mRNA 発現について卵管性不妊患者をコントロール群として比較検討した。

《方 法》

大阪医科大学産婦人科にて体外受精治療において採卵に至り、患者同意の下に顆粒膜細胞を得た子宮内膜症性不妊症 18 症例、コントロールとしては子宮内膜症を有さない卵管性不妊症 23 症例の顆粒膜細胞を用いた。両群の平均年齢、総 hMG 量、LH、FSH、血中 E2 及び P 値、受精率、採卵数、良好胚率、妊娠率、そして ER- α 、ER- β 、PR-A 及び PR-B の各 mRNA の発現について GAPDH を内部標準とし StepOne Real Time PCR 法 ($\Delta \Delta CT$ 法、TaqMan Gene Expression Assays 使用) で測定した。

《結 果》

総 hMG 量、LH、FSH、血中 E2 及び P 値に関して両群間で有意差はなかった。受精率、採卵数及び妊娠率に関しても有意差はなかったが、良好胚率では子宮内膜症群よりもコントロール群の方が有意に高い結果となった。また、顆粒膜細胞において ER- α 及び PR-A mRNA は子宮内膜症群の方がコントロール群よりも有意に高かったが、ER- β 及び PR-B mRNA では有意差はなかった。また、子宮内膜症群において ER mRNA と PR mRNA に相関はなかったが、コントロール群では正の相関が認められた。さらに、妊娠群と非妊娠群に関して比較すると、ER- α mRNA は妊娠群と比べて非妊娠群の方が有意に高く、PR-A mRNA は妊娠群と比

べて非妊娠群の方が高い傾向であった。

《考 察》

本研究では、顆粒膜細胞における ER- α 及び PR-A mRNA 発現が妊娠群と比較し非妊娠群で高い傾向にあり、子宮内膜症群はコントロール群と比較し ER- α 及び PR-A mRNA が有意に高かったことより ER- α 及び PR-A mRNA の発現の亢進が卵胞発育を阻害し、不妊原因となる可能性が示唆された。さらに、コントロール群の顆粒膜細胞における ER mRNA 発現は PR mRNA 発現と正の相関を認めたが、子宮内膜症群では相関は認められなかった。これは子宮内膜症患者では顆粒膜細胞においても子宮内膜症間質細胞と同様に ER と PR のプロモーターの脱メチル化を引き起こしている可能性が考えられた。

結論として、顆粒膜細胞における ER- α 及び PR-A mRNA の発現が高いことが子宮内膜症による卵巣機能を低下させることになり、不妊の一因となっている可能性がある。今後、ER と PR のプロモーター領域のメチル化の検討を行い、子宮内膜症の ER 及び PR のプロモーター領域への関与を検討していく必要がある。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第	号	氏名	荻田正子
論文審査担当者			主査教授	大槻 勝紀
			副査教授	辻 求
			副査教授	勝岡 洋治
			副査教授	朝日 通雄
主論文題名				
Does advanced-stage endometriosis affect the gene expression of estrogen and progesterone receptors in granulosa cells?				
(重症子宮内膜症が顆粒膜細胞においてエストロゲン及びプロゲステロン受容体の遺伝子発現に影響を及ぼしているのか?)				
論文審査結果の要旨				
<p>子宮内膜症は生殖年齢女性の約7%に認められ、不妊症との関係は以前から強く示唆されており、社会的関心も高い。また、体外受精を行った子宮内膜症患者において受精率、着床率及びVeek分類に基づいた良好胚率の低下が報告されている。</p> <p>エストロゲン受容体(以下ER)及びプロゲステロン受容体(以下PR)は核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド結合依存性の転写因子で、PRにはPR-AとPR-B、ERにはER-αとER-βのそれぞれ2つの生物学的作用の異なるisoformが存在する。体外受精時に採取した顆粒膜細胞において、PR mRNAの発現は非良好胚の方が良好胚よりも有意に高く、PR mRNAの発現が良好胚率に関係している。また子宮内膜症組織では正常子宮内膜組織と比較しER-β及びPR-A mRNAの発現が高くなっていることが不妊原因と考えられている。</p> <p>申請者は、子宮内膜症の受精および胚発育への関与を検討する目的で、子宮内膜症患者の体外受精において採取した顆粒膜細胞におけるER、PR mRNA発現につ</p>				

いて卵管性不妊患者をコントロール群として比較検討した。

結果は、顆粒膜細胞における ER- α 及び PR-A mRNA 発現が妊娠群と比較し非妊娠群で高い傾向にあった。また、子宮内膜症群はコントロール群と比較し ER- α 及び PR-A mRNA が有意に高かったことから、ER- α 及び PR-A mRNA の強発現が卵胞発育を阻害し、不妊原因となる可能性が示唆された。また、コントロール群の顆粒膜細胞における ER mRNA 発現は PR mRNA 発現と正の相関を認めたが、子宮内膜症群では相関は認められなかった。これは子宮内膜症患者では顆粒膜細胞においても子宮内膜症間質細胞と同様に ER と PR のプロモーターの脱メチル化を引き起こしている可能性が考えられた。結論として、顆粒膜細胞における ER- α 及び PR-A mRNA の発現が高いことが子宮内膜症による卵巣機能を低下させることになり、不妊の一因となっている可能性がある。今後、ER と PR のプロモーター領域のメチル化の検討を行い、子宮内膜症の ER 及び PR のプロモーター領域への関与を検討していく必要があると考える。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条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)

Fertility and Sterility 95(3): 889-894, 2011