

(様式 甲 5)

氏 名	吉 田 陽 子
(ふ り が な)	(よ し だ よ う 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 27 年 1 月 28 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	Analyzing the possible involvement of anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian hormone receptor II single nucleotide polymorphism in infertility (不妊症における抗ミュラー管ホルモンおよび受容 体の一塩基多型解析の意義)
論 文 審 査 委 員	(主) 教授 大 槻 勝 紀 教授 東 治 人 教授 廣 瀬 善 信

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《目 的》

生殖補助医療(ART)により年間約 1 万人の出生児が誕生しているが、胚移植の周期あたりの妊娠率は 30%弱にとどまっている。これは ART を受ける患者の高齢化や、子宮内膜症などの合併による採卵数や受精率の低下が低い妊娠率の要因と考えられている。

抗ミュラー管ホルモン(AMH)は TGF-super family に属する蛋白ホルモンで、原始卵胞の発育開始を抑制し、発育卵胞への FSH を抑制する作用を有している。

AMH は前胞状卵胞内の顆粒膜細胞で作られ、血清 AMH が胞状卵胞数に強く関連し排卵前期卵母細胞を予測する因子として有用であると考えられており、近年、血中 AMH の

測定が卵巣予備能の予測する指標の一つとなりつつある。

卵胞発育においては、前胞状卵胞から成熟卵胞になるまで FSH に依存し、FSH の分泌が亢進し LH surge により排卵が起こる。体外受精において、4 個以上の採卵を条件とした場合、血清 AMH の特異度および感度は FSH に比較して高いことから、AMH は卵巣機能評価法として FSH 基礎値より優れていると報告されている。

近年、AMH および AMH receptor (AMHR)の一塩基多型(SNP)として、AMH の 1 種類の SNP (AMH: 146 T>G)と AMHR の 4 種類の SNP (AMHR: -482 A>G, IVS1+149 T>A, IVS5-6 C>T, IVS10+77 A>G)が報告されているが、卵成熟および胚発育への関与はいまだ不明な点が多い。

今回、SNP 解析を大量のサンプルで行うために、TaqMan 法でタイピング(Homo、Hetero、Wild)とし、自然妊娠の妊婦 DNA をコントロールとして、不妊患者の SNP 解析を行い、AMH および AMHR の SNP の両群における発現率を比較し、SNP が卵胞発育不全や受精率低下などの不妊原因となり得るかについて検討した。

《対象と方法》

2010 年 3 月から 2013 年 3 月までに大阪医科大学産婦人科でインフォームドコンセントを取得後に、体外受精治療を受けた不妊患者 80 例（不妊群：高齢不妊症 51 例、子宮内膜症 18 例、男性不妊症 11 例）を対象とした。採血した検体から Genomic DNA を High Pure PCR Template Preparation Kit®(Poche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany)を用いて末梢血より抽出し、Taqman 法により SNP タイピングを行い、AMH (AMH146T>G) および AMH receptor (AMHR II -482A>G、AMHR II IVS1+149T>A、AMHR II IVS5-6C>T、AMHR II IVS10+77A>G) の各 SNP の Homo、Hetero および Wild の発現頻度と、それらの体外受精治療の臨床経過(卵獲得率、受精率、妊娠率)に及ぼす影響について、自然妊娠後に分娩に至った 28 名をコントロールとして比較検討した。

《結 果》

不妊症群において、AMH146T>G は 12 例の Homo を認め、AMHR は AMHR II -482A>G が 3 例、AMHR II IVS5-6C>T が 5 例、AMHR II IVS10+77A>G が 3 例の Homo を認めた。

AMH の Homo の卵獲得率、受精率、妊娠率は Wild と有意差はなく、AMHR の Homo と Wild の間にも受精率、妊娠率に有意差を認めなかった。しかし、AMHR II -482A>G の Homo の卵獲得率は 28.5% で、Wild に比較し有意に低く、AMHR II IVS1+149T>A、AMHR II IVS5-6C>T、AMHR II IVS10+77A>G の Homo と比較しても有意に低かった。

AMHR II -482A>G の Homo 3 例は AMHR II IVS5-6C>T も Homo であり、3 例が子宮内膜症合併で、そのうち 2 例は難治性排卵障害であった。

不妊群と自然妊娠群のアレル頻度の比較についての検討では、有意差を認めなかった。自然妊娠における AMHR II -482A>G の Homo は 3 例認め、3 例とも AMHR II IVS5-6C>T の Homo であり、内訳は 2 例が反復流産、1 例が胎児発育不全であった。

《結 論》

今後さらなる検討が必要と考えられるが、AMHR II -482A>G の Homo は AMHR II IVS5-6 の Homo と共存する傾向にあり、これらは卵巣機能低下による不妊症に関与している可能性があることが示唆された。

(様式 甲 6)

論文審査結果の要旨

近年、AMH および AMH receptor (AMHR)の一塩基多型(SNP)として、AMH の 1 種類の SNP (AMH: 146 T>G)と AMHR の 4 種類の SNP (AMHR: -482 A>G, IVS1+149 T>A, IVS5-6 C>T, IVS10+77 A>G)が報告されているが、卵成熟および胚発育への関与はいまだ不明な点が多い。

申請者らは、体外受精治療を受けた不妊患者例 80 例（不妊群：高齢不妊症 51 例、子宮内膜症 18 例、男性不妊症 11 例）を対象とし、AMH および AMHR の各 SNP の Homo、Hetero および Wild の発現頻度と、それらの体外受精治療の臨床経過(卵獲得率、受精率、妊娠率)に及ぼす影響について、自然妊娠後に分娩に至った 28 名をコントロールとして比較検討した。

AMH の Homo の卵獲得率、受精率、妊娠率は Wild と有意差はなく、AMHR の Homo と Wild の間にも受精率、妊娠率に有意差を認めなかった。しかし、AMHR II -482A>G の Homo の卵獲得率は 28.5%で、Wild に比較し有意に低く、AMHR II IVS1+149T>A、AMHR II IVS5-6C>T、AMHR II IVS10+77A>G の Homo と比較しても有意に低かった。AMHR II -482A>G の Homo 3 例は AMHR II IVS5-6C>T も Homo であり、全例が子宮内膜症合併で、そのうち 2 例は難治性排卵障害であった。

不妊群と自然妊娠群のアレル頻度の比較についての検討では、有意差を認めなかった。自然妊娠における AMHR II -482A>G の Homo は 3 例認められ、3 例とも AMHR II IVS5-6C>T で Homo であり、内訳は、2 例が反復流産、1 例が胎児発育不全であった。

本研究により、今後さらなる検討が必要と考えられるが、AMHR II -482A>G の Homo は AMHR II IVS5-6 の Homo と共存する傾向にあり、これらは卵巢機能低下による不妊症に関与している可能性があることが示唆された。

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)

Journal of Assisted Reproduction and Genetics 31(2): 163-168, 2014