

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 永井 美和子

本研究は卵巣の周期的変化が血管 / リンパ管新生、血管維持、組織修復など様々なプロセスによって調節されており、骨髄由来細胞が卵巣に浸潤してくることが知られている中で、樹状細胞 (DC) の役割について検討し、下記の結果を得ている。

1 . 卵巣内における樹状細胞の存在の有無とその局在を確認するため、ヒト卵巣およびマウス卵巣をDC特異的抗体で免疫組織化学染色を行った。ヒト黄体期卵巣 (成熟樹状細胞のマーカーである抗CD83 抗体で染色) とマウス卵巣 (CD11c-DTR-GFPマウスを用いて樹状細胞を抗GFP抗体で染色) において、樹状細胞は卵巣内に存在し、特に脈管周囲に局在していることが明らかとなった。

2 . 卵胞形成・排卵・黄体化に伴う卵巣での DC の量的経時的変化を評価するために、未熟マウスに卵胞刺激ホルモン (Follicle stimulating hormone FSH) 作用のある妊馬血清性腺刺激ホルモン pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) と黄体化ホルモン (Luteinizing hormone LH) 作用のある hCG の投与を行い、各卵巣周期を人工的に作りローサイトメトリー法を用いた。結果、DC の割合は、卵胞発育・黄体形成過程において卵巣に増加し、卵胞発育・排卵・黄体形成・黄体維持に関与している可能性が示唆された。

3 . DCの機能評価を行う為、CD11c-DTR-GFP遺伝子改変未熟マウスにジフテリア毒素 (DTx) を投与し一時的にDCを枯渇し各種卵胞発育および卵巣ホルモン (卵胞ホルモン;エストロゲン・黄体ホルモン;プロゲステロン) を対照群と比較した所、性周期前には対照群と差を認めなかった。卵胞期においては、対照群では、多数の二次卵胞・成熟卵胞さらに黄体も認めたが、DC枯渇マウス卵巣においては成熟卵胞・黄体は殆ど認められずそれに伴い閉鎖卵胞の数が増加していた。これと一致して血中エストロゲン値も、対照群においては上昇を認めるも、DC枯渇群においては低値のままであった。黄体期においては、DC枯渇マウスの卵巣では出血が顕著で、黄体形成が明らかに障害されていた。また、血中プロゲステロン濃度も、DC枯渇群では、対照群に比べ低値であった。

4 .DC回復後の卵巣機能に対する検討を加えるため、CD11c-DTRマウスを使用し、PMSG・hCGの投与により排卵・黄体形成を促した時点でDTxにより一時的にDCを枯渇させたマウスを放置し、DCの回復の後2週間および6週間後にPMSG・hCGを投与し卵胞発育・排卵・黄体化を試み、それぞれマウス卵巣・血清を回収し組織学的検討およびプロゲステロンを測定することにより卵巣機能を評価した。結果、コントロールと比較しDC回復2週間後の卵巣では黄体数が少数であったが、前述の実験で行った黄体形成中にDCを枯渇させたマウスの卵巣と比較すると、黄体数は多かった。同様に血清中プロゲステロンの値もコントロールと比較しDC回復2週間後のマウスでは低値であったものの、黄体形成中にDCを枯渇させたマウスと比較すれば高値であった。一方、DC回復後6週間後の卵巣においては黄体を

認めず、血清中プロゲステロン値もと非常に低値であり、組織学的にも黄体の形成は全く認められなかった。

5 . 卵巣および脾臓よりDCを抗CD11c抗体、抗MHCII抗体で染色しフローサイトメトリー法を用いてソーティングし、血管 / リンパ管新生・維持に関与する因子につきmRNA発現を比較した。結果、卵巣内の樹状細胞は、全身の樹状細胞に比し（本研究では脾臓の樹状細胞を用いた）、VEGFR2、VE-cadherinといった、血管内皮細胞のマーカーの発現が高い傾向にあった。

6 . DC を枯渇させた卵巣とコントロール群卵巣組織より得られた mRNA を用いて各種脈管新生 / 維持因子につき検討を行った。その結果、卵巣組織より得られた mRNA において PlGF、VEGF-A、FGF-1 および FGF-2 では DC を枯渇させた卵巣において発現量が増大している傾向を認めた。VEGF-C に関しては DC 枯渇卵巣とコントロール群卵巣では差を認めなかった。VEGF-D、ANG1/ANG2 は DC を枯渇させた卵巣において発現量が減少している傾向をみとめた。

以上、本論文は樹状細胞が卵胞発育・排卵・黄体形成 / 維持過程において卵巣に増加し、卵胞発育・排卵・黄体形成・黄体維持において必須であることを明らかにした。その機序として、血管 / リンパ管新生・維持を介していることが予想され、臨床的には樹状細胞の機能が早発卵巣機能不全や黄体機能不全といった病態に関連があることが示唆された。本

論文は卵巣機能不全の原因のさらなる解明、さらに治療法の確立に重要な貢献をなすと考

えられ、学位の授与に値するものと考えられる。