

〈1〉 初期卵胞発育を制御する因子の網羅的同定とその臨床応用

Comprehensive identification of regulatory factors for early ovarian follicle growth and those clinical application

聖マリアンナ医科大学高度生殖医療技術開発講座 河村 七美

我々は、PTEN 阻害剤と PI3K 活性化剤を用いた休眠原始卵胞の人為的活性化技術(IVA; *in vitro activation*)を開発・臨床応用し、早発卵巣不全患者が自らの卵子で妊娠できる新たな不妊治療に成功している。本法の成績向上のためには、活性化後の初期卵胞発育を促進する方法の開発が重要である。そこで本研究では、初期卵胞発育を制御する局所因子の網羅的同定を試み、その臨床応用を目指した。各発育段階のマウス初期卵胞をレーザーマイクロダイセクションにて採取した。検体を DNA マイクロアレイに供し、各発育段階の卵胞に発現している分泌シグナルをもつリガンドを第1段階スクリーニングとして抽出した。次にそれらのリガンドの受容体の発現量および発現変化を DNA マイクロアレイで比較した。さらに、リガンドまたは受容体が初期卵胞で高発現しているものを候補因子として、DNA マイクロアレイの結果を *real-time qPCR* で確認した。既に報告がある初期卵胞発育に関与する因子とヒトでホモログが存在しない因子を除くと、23 個の候補因子に絞り込むことができた。次にマウス卵巣組織培養系において、候補因子の初期卵胞の発育促進効果の有無について調べた。卵巣は原始卵胞と1次卵胞を含む5日齢マウス卵巣、原始卵胞と1次卵胞に加え初期2次卵胞を含む10日齢のものを用い、各候補因子を含む培養液で4-5日間培養した。培養終了後、卵巣をブアン固定して卵巣重量を測定し、組織切片を作成して卵巣内の各発育段階の卵胞分布を候補因子非添加の対照群と比較することでスクリーニングを行った。23 個の候補因子のうち5個の因子で解析が終了し、3 個の因子に1次卵胞/2次卵胞の発育促進効果を認めた。残りの候補因子は現在スクリーニングを継続中である。今後は、*in vitro* で初期卵胞発育を促進した因子を最終候補因子としてマウスに直接投与し、生体内での初期卵胞発育への効果について評価する予定である。