

〈6〉ヒト顆粒膜細胞および黄体化顆粒膜細胞の不活化細胞株の樹立と、これら細胞株を用いた卵胞発育制御機構の解明

名古屋大学医学部附属病院周産母子センター 岩瀬 明

顆粒膜細胞の正常な増殖は卵胞発育に必須であり、顆粒膜細胞のアポトーシスが卵胞発育に影響を与えていると考えられている。従って顆粒膜細胞における生理活性物質の分泌やホルモン反応性を解析し、またアポトーシス誘導の機序を解明することは卵胞発育機構の解明に有用であると考えられる。顆粒膜細胞としての性質を保つ cell line を樹立することにより、顆粒膜細胞を用いた実験を安定した条件で行うことが期待できる。当院倫理委員会の承認とインフォームドコンセントのもと、体外受精採卵時に得られた卵胞液より黄体化顆粒膜細胞を、また卵巣腫瘍手術時に得られた健側卵巣より胞状卵胞を同定し、非黄体化顆粒膜細胞を分離し、ウイルスベクターを用い human telomerase reverse transcriptase catalytic subunit gene (hTERT), cyclin D1, human mutant cyclin-dependent kinase を種々の組み合わせで遺伝子導入を行った。黄体化顆粒膜細胞 2 種類、非黄体化顆粒膜細胞 4 種類の不活化細胞株を得た。LH、FSH 刺激に対するエストラジオール(E)、プロゲステロン(P)産生の反応性は不良であったが、forskolin, 8-Br-cAMP 刺激では E、P 産生の増加を認めた。定量的 PCR では各刺激で aromatase の発現増加を認めた。ゴナドトロピンに対する反応性が不良であったため、初期卵胞発育に関する因子の発現を RT-PCR にて確認したところ、非黄体化顆粒膜細胞株において bone morphogenetic protein (BMP)-2, -5, -6, anti-Mullerian hormone (AMH), BMP タイプ I レセプターA, B, タイプ II レセプターの発現を認めた。また BMP-4, -15 添加により Smad-1,5,8 のリン酸化を確認した。ゴナドトロピンによる sex steroids 産生こそ不良であったものの、aromatase 発現誘導や、BMPs 発現、BMPs に対する反応性などを考慮すると、本不活化細胞株はヒト顆粒膜細胞の性質を十分備えていると考えられる。今後は、本細胞株を用い BMPs 刺激により誘導される因子等について解析を進めていく予定である。