



Induction of follicular growth by exogenous interleukin-8

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 後藤, 淳子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1568

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 291号	学位授与年月日	平成11年 1月 8日
氏 名	後 藤 淳 子		
論文題目	Induction of follicular growth by exogenous interleukin-8 (インターロイキン-8による卵胞成熟の誘導)		

博士(医学) 後 藤 淳 子

論文題目

Induction of follicular growth by exogenous interleukin-8

(インターロイキン-8による卵胞成熟の誘導)

論文内容の要旨

〔はじめに〕

排卵過程は、局所の炎症反応に類似していると指摘されており、その過程に免疫系の細胞が関与している可能性が提唱されている。実際にマクロファージ、好中球、mast cell、およびリンパ球などの免疫系の細胞が、排卵直前の卵胞周辺又は卵胞内に存在することが確認されている。そして、これらの細胞から分泌される種々のサイトカイン〔インターロイキン(IL)-1、IL-6、腫瘍壊死因子(TNF)- α 〕などが、排卵過程に重要な役割を果たしているとは推定されている。一方、IL-8も急性炎症反応において重要なサイトカインの一つである。IL-8は血管内皮細胞の接着分子の産生を促し、ヒスタミンなどによる血管透過性を亢進し、好中球を炎症の場に遊走させるサイトカインである。しかし、排卵過程におけるIL-8に関する報告は少ない。そこで、ヒト卵巣組織内のIL-8の局在を免疫組織学的に検索し、動物実験を用いてIL-8を外因性に投与することにより、IL-8の排卵過程における卵胞成熟に及ぼす影響について検討した。

〔方法〕

- (1) 手術時に同意を得て採取した、正常排卵周期を有する婦人の卵巣組織(卵胞期2例、黄体期2例)の健常部をホルマリン固定し、抗ヒトIL-8抗体および抗ヒトmast cell tryptase抗体で染色した。そして、IL-8陽性細胞とmast cell tryptase陽性細胞(=mast cell)の卵巣髄質または間質部分における細胞数を、卵胞期と黄体期とで比較した。またIL-8陽性細胞とmast cellのミラー切片を作成し、両者が同一の細胞であるかどうかを検討した。
- (2) 生後3週 of Wistar rat に pregnant mare serum gonadotropin(PMSG)10unitを腹腔内投与(ip)した。その48時間後、それらのratを、human chorionic gonadotropin(hCG)10unit、IL-8(0.2、2.0、20.0 μ g)、生理食塩水投与の5群に分け、各群にipした。各々投与6時間後に卵巣を摘出し、ヘマトキシリン-エオジン染色後、画像処理装置(LUZX III)で平均卵胞面積を算出し各群間で比較した。
- (3) 生後7週 of Wistar rat を用い、左卵巣にIL-8を、右卵巣に生食を局注した。ratは、IL-8の投与量によりA群(0.1 μ g投与)、B群(1.0 μ g投与)、C群(10.0 μ g投与)の3群に分け、投与6時間後における左右卵巣の平均卵胞面積を(2)と同様の方法で算出し、比較した。

〔結果〕

- (1) ヒト卵巣組織髄質または間質部分のIL-8陽性細胞数(mean \pm SD)は、1 mm^2 あたり卵胞期10.0 \pm 4.8、黄体期2.0 \pm 1.9で卵胞期に多くみられた。また卵巣組織のミラー切片において、IL-8陽性細胞とmast cellはその局在が一致していた。
- (2) 生後3週 of Wistar rat の卵胞面積($\times 10^{-2} \text{mm}^2$) [mean \pm SD] は、hCG群は14.3 \pm 0.9、IL-8(0.2 μ g)群は5.2 \pm 0.9、IL-8(2.0 μ g)群は7.2 \pm 0.7、IL-8(20.0 μ g)群は13.2 \pm 0.8、生理食塩水群は3.6 \pm 0.9であり、IL-8を20.0 μ g ip投与すると、hCGと同等の卵胞面積の著明な増大がみら

れた。

(3) 生後7週のWistar ratに、左卵巢にはIL-8、右卵巢には生食を局注した時の卵胞面積 ($\times 10^{-2} \text{mm}^2$) [mean \pm SD] は、

A群 (0.1 μg 投与) では、左卵巢3.2 \pm 1.2、右卵巢3.0 \pm 0.8、

B群 (1.0 μg 投与) では、左卵巢3.6 \pm 0.9、右卵巢3.0 \pm 0.8、

C群 (10.0 μg 投与) では、左卵巢6.1 \pm 1.5、右卵巢3.0 \pm 0.8、

であった。IL-8局注量を10.0 μg とした時に、有意な卵胞面積の増大がみられた。

[考察]

排卵直前の卵胞周辺に、好中球が浸潤することはよく知られているが、好中球遊走因子である IL-8 に関する知見は乏しい。今回のヒト卵巢組織の免疫染色結果から、IL-8陽性細胞は卵胞期の髄質または間質部分に多く認められ、その産生細胞のひとつが mast cell であると考えられた。mast cell は炎症局所において IL-1、TNF、IL-8、ヒスタミン等を放出する。その結果血管透過性を亢進し、白血球を炎症の場に遊走させる。排卵過程が急性炎症反応と仮定すると、mast cell はその過程において重要な細胞のひとつかもしれない。

Wistar rat に外因性に IL-8 を投与すると、卵胞面積の増大がみられた。PMSG 投与後卵胞成熟 (顆粒膜細胞の増加、卵胞液の漸増) が起こるが、IL-8 を外因性に投与するとその作用はさらに増強し、卵巢の腫大 (卵胞腔の拡大、間質の浮腫) がひき起こされた。体外受精 (IVF-ET) においては、FSH/hMG 製剤投与後に hCG を投与すると、高頻度に著明な卵巢腫大を伴う卵巢過剰刺激症候群をおこすが、この現象は今回の実験モデルと同一のものかもしれない。

以上より IL-8 は排卵過程における卵胞成熟に重要なサイトカインであると考えられた。

論文審査の結果の要旨

排卵過程は、局所の炎症反応に類似していると指摘されており、その過程に免疫系の細胞が関与している可能性が提唱されている。インターロイキン-8 (IL-8) も急性炎症反応において重要なサイトカインの一つである。しかし、排卵過程における IL-8 に関する報告は少ない。申請者はこのことに着目し、ヒト卵巢組織内の IL-8 の局在を免疫組織学的に検索し、動物実験を用いて IL-8 を外因性に投与することにより、IL-8 の排卵過程における卵胞成熟に及ぼす影響について検討した。

1) 未熟ratにpregnant mare serum gonadotropin (PMSG) を腹腔内投与 (ip) し、その48時間後、ratにhuman chorionic gonadotropin (hCG)、IL-8、生理食塩水を投与した。それらの組織学的変化を比較した。

2) 成熟ratの右卵巢に生理食塩水、左卵巢にIL-8を局注した。

3) 正常排卵周期を有する婦人の卵巢組織を抗ヒト IL-8抗体および抗ヒト mast cell 抗体で染色した。

1) については、IL-8を20.0 μg ip 投与すると、hCG と同等の卵胞面積の著明な増大がみられた。

2) では、IL-8局注量を10 μg としたときに、有意な卵胞面積の増大がみられた。3) ではそれぞれの陽性細胞数を卵胞期と黄体期で比較したところ、卵胞期に多くみられた。またそれぞれの局在が一致した。そこで申請者は hCG 投与と IL-8 投与での比較を行った。卵胞径の増大、血管透過性亢進、好中球の浸潤、コラーゲン線維の解離は hCG 投与と IL-8 投与ともに同様の組織的变化を生じた。しかし、IL-8 投与では排卵には至らなかったことを報告した。

さらにヒトにおいて FSH/hMG 製剤投与後 hCG を投与すると、高頻度に著明な卵巢腫大を伴う卵巢過

刺刺激症候群（OHSS）をおこす。申請者は今回の実験モデルはOHSSと類似の可能性も指摘した。

以上より申請者はIL-8は排卵過程における卵胞成熟に重要なサイトカインであると結論した。

この発表の際に申請者に次のような質問がなされた。

- 1) 排卵過程における「炎症類似反応」の意味
- 2) 卵胞破裂のメカニズムについて
- 3) IL-8に注目した理由
- 4) 実験に用いたIL-8の用量の妥当性について
- 5) IL-8以外のサイトカイン（IL-1、TNF- α など）での卵巣組織変化について
- 6) hCG投与時の卵巣における好中球浸潤の意義と機序
- 7) mast cellとIL-8の関連について
- 8) 免疫染色法の特異性について
- 9) 卵胞のサイズがIL-8投与48時間後に縮小する機序について
- 10) hCGによるIL-8産生の用量依存性について
- 11) IL-8と好中球浸潤の時間的關係について
- 12) 卵の成熟と卵胞の成熟の関連について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も充分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 中 村 浩 淑

副査 教授 右 藤 文 彦 副査 教授 筒 井 祥 博