

初期胚着床部における接着性物質の局在に関する免疫組織学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 朝比奈, 俊彦 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/937

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	医博第 84号	学位授与年月日	平成 2年 3月26日
氏名	朝比奈 俊彦		
論文題目	初期胚着床部における接着性物質の局在に関する免疫組織学的研究		

論文の内容の要旨

〔目的〕 受精卵における胚と子宮内膜との接着現象に関しては、その機序は依然として不明な点が多く、未だ十分解明されているとは言い難い。しかし近年、不妊や初期流産の原因のひとつとしてこの接着現象の異常が注目されてきている。

基礎的研究の分野では、最近になって細胞接着性物質である fibronectin, laminin, type IV collagen などの関与が示唆されるようになってきた。臨床面においては、先天性無フィブリノゲン血症や先天性第 XIII 因子欠損症患者が妊娠するにあたって、これらの患者にはフィブリノゲンや第 XIII 因子を補充しないと妊娠しがたいことや、たとえ妊娠したとしても補充療法なしでは早期にすべて流産してしまうことが分かってきた。

そこで本研究では、着床直後のマウス初期胚およびヒト初期妊娠着床部、さらに正常子宮内膜培養細胞における接着関与物質の局在を酵素抗体法を用いて検索し、初期胚と子宮内膜の接着機構の解明を試みた。

〔実験材料〕 実験に用いた組織は ①妊娠 5 日目のマウス子宮 2 例、②ヒト患者手術時に得られた妊娠 7～8 週の卵管膨大部妊娠 5 例、③同、妊娠 8 週の卵管峡部妊娠 1 例、④単純子宮摘出術が行われた妊娠 5 週の子宮筋腫合併妊娠 1 例、⑤子宮筋腫手術時に得られた正常子宮内膜 1 例 である。

実験に用いた抗体および発色剤は、抗マウス fibronectin ウサギ IgG、抗マウス laminin ウサギ抗血清、抗ウシ type IV collagen ウサギ抗血清、抗ヒト fibronectin ウサギ IgG、抗ヒト laminin ウサギ IgG、抗ヒト type IV collagen ウサギ抗血清、抗ヒト XIII_A ウサギ抗血清、抗ヒト XIII_S ウサギ抗血清、horseradish peroxidase 標識抗ウサギ IgG ヤギ IgG fraction である。

〔実験方法〕 ① ICR 系雌マウスを PMS-hCG を用いて過排卵処理し交配させ、妊娠 5 日目に子宮を摘出し、fibronectin (FN)、laminin (LM)、type IV collagen (C_{IV})、XIII 因子 subunit S (XIII_S) の染色を行った。②ヒト卵管妊娠およびヒト子宮内妊娠着床部で、FN、LM、C_{IV}、XIII 因子 subunit A (XIII_A)、XIII_S の染色を行った。③ヒト正常子宮内膜を無血清培地で単層培養し、FN、XIII_A、XIII_S の染色を行った。

染色は全て酵素抗体間接法を用いた。

〔実験結果〕 ①マウス初期胚着床部では、FN と XIII_S が trophoblast giant cells に、C_{IV} は子宮内膜上皮細胞と間質部に陽性染色された。LM は distal endoderm とその基底膜に陽性染色された。②ヒト初期妊娠着床部では、C_{IV} が syncytiotrophoblast の表面と絨毛間質結合織及び脱落膜細胞に、FN は絨毛間質部及び脱落膜間質部に、XIII_A は絨毛間質部の大型単核細胞及び脱落膜間質部の類円形単核細胞に陽性染色された。卵管妊娠と子宮内妊娠の結果は同じであった。③子宮内膜培養細胞においては、FN と XIII_A が間質細胞に陽性染色された。

〔結語〕 ①マウス初期胚着床部の結果より、着床時の接着現象において、母体の C_{IV} と胚の FN 及びそれらの接着に架橋的に働く XIII 因子の関与が強く示唆された。②ヒト初期妊娠着床部の結果より、初期妊娠における接着機構においても、母体の FN、C_{IV}、XIII_A 及び胚の C_{IV} の重要性が強く示唆された。③さらにその FN と XIII_A は、子宮内膜間質細胞で産生されていることが判明した。

先天性第 XIII 因子欠損症では、母体が健常で胎児が患者の時はその妊娠は流産とならず維持されるが、反対に母体が患者で健常な胎児を宿した時は補充療法なしでは妊娠は維持されず全て流産してしまう。我々の結論はこれらの臨床病態ともよく一致した。

論文審査の結果の要旨

不妊や妊娠初期流産の一因として、近年、受精卵の子宮内膜への接着・着床の過程における接着物質を介しての接着異常が注目されるようになってきた。臨床的にも、フィブリノーゲンや血液凝固第XIII因子(XIII)の先天的欠損患者では妊娠の成立や流産防止のためにこれらの因子を補充しなければならないことが知られている。しかしながら接着・着床部位の接着物質の状態については不明の点が多く、ことに、予想される接着物質を着床部位において直接証明した試みはほとんどない。

申請者はこの点を明らかにするために、マウスおよびヒトの着床部位についてフィブロネクチン(FN)、ラミニン(LM)、IV型コラーゲン(CIV)、XIII因子(XIII_AおよびXIII_S)の局在を免疫組織化学的に検討した。

本研究において得られた主要な所見と、これから得られた接着・着床に関する考えはつぎの通りである。

1. マウス初期胚(妊娠5日、胚盤形成期)では胚盤胞(blastocyst)を包む栄養膜巨細胞(trophoblastic giant cell)にFNとXIII_S(抗ヒトXIII因子抗体使用)が陽性であり、LM陽性部位は胚盤胞腔の内側を覆う遠位内胚葉とその基底膜に限られていた。
2. ヒト初期胚着床部(5週2日ないし8週4日、卵管妊娠および筋腫合併子宮内妊娠)では絨毛栄養膜合胞細胞層表面および脱落膜細胞質にCIV陽性、脱落膜・内膜間質の細胞間にFN陽性であった。XIII_Aの陽性部は絨毛間質および脱落膜に散在する大型単核細胞であった。
3. ヒト子宮内膜細胞を培養し、FNとXIII_Aが内膜間質細胞により産生されることを証明した。
4. マウス初期胚の所見に基き胚の内膜接着現象にFN、CIVおよびXIIIの関与が推定され、XIIIが前2者に架橋的に働くと考えられた。
5. ヒト初期妊娠における所見からも上記諸物質が接着へ関与する可能性が推定された。

審査委員会においては、本論文の審査の過程において以下のような問題について質疑応答がなされた。

- a. 一次および二次抗体の特異性についての吟味は適切か。
- b. モノクローン抗体は利用できないか。
- c. 栄養膜細胞および内膜・脱落膜要素の接着物質について経時的変化を検討する必要はないか。
- d. 内膜搔爬材料を利用できないか。
- e. 内膜細胞培養において認められたFNやXIII_Aが外来性である可能性はいかにして否定したか。

これらに対する申請者の応答はおおむね満足できるものであり、接着性物質が胚の内膜への接着・着床に関与する可能性を具体的に示したことが評価された。

以上によって、本審査委員会は本論文が医学博士の学位授与に値する内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	白澤	春之			
	副査	教授	川島	吉良	副査	教授	藤瀬 裕
	副査	助教授	太田	英彦	副査	助教授	宮本 愛