

氏名	藤 田 一 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2243 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Administration of tymocytes derived from non-pregnant mice induces an endometrial receptive stage and leukaemia inhibitory factor expression in the uterus (非妊娠マウス由来の胸腺細胞投与が子宮での leukaemia inhibitory factor の発現を誘導し、子宮内膜を胚着床可能期へ導く)

論文調査委員 (主査) 教授 湊 長博 教授 桂 義元 教授 藤井信吾

### 論 文 内 容 の 要 旨

マウスでは implantation window と呼ばれる期間にのみ子宮内膜への胚の着床が可能となるが、その子宮内膜の分化は主として性ステロイドホルモンによって制御されていると考えられてきた。一方で、内分泌系のみならず免疫系による子宮内膜分化の調節機構の存在も検討されており、これまでに妊娠マウスの T リンパ球を含む脾臓由来細胞が子宮内膜の分化を調節してマウス胚の着床を促進することが観察された。本研究では T リンパ球の胚着床に対する生理的役割をさらに調べる目的で、偽妊娠マウスへの胚移植実験系を用いて、胸腺細胞の子宮内膜の分化や胚着床に対する作用を検討した。

本実験では 21 日齢幼若マウスから分離調整した胸腺細胞を、未だ implantation window の閉じている偽妊娠 2 日目のレシピエントマウスに静注投与し、直後に、妊娠 4 日目のドナーマウスの子宮腔から回収した着床前の胚盤胞をレシピエントマウスの子宮腔内に移植した。コントロールとして胸腺細胞洗浄後の最終調整上清液のみを静注し、胚移植 7 日後に開腹して着床率を比較すると、胸腺細胞の投与にて着床が促進されることが示された。

次に、上記の胸腺細胞の胚着床促進作用が卵巣からのステロイドホルモンの変化によるものかどうかを調べるために、胚着床前に卵巣を摘出してプロゲステロンのみを補充する、いわゆる delayed implantation の系を用いて検討した。この系ではプロゲステロン補充のみでは移植胚の着床が開始しないが、エストロゲンを補充することによって着床が開始される。本実験では偽妊娠 3 日目のマウスの卵巣を摘出した後に連日プロゲステロンの皮下注を続け、7 日目に胚移植を施行してさらに同日と 8 日目に胸腺細胞あるいは胸腺細胞調整上清液を投与した。その結果、胚移植後 7 日目に胸腺細胞投与群ではエストロゲンを補充しなかったにもかかわらず半数以上の個体に着床を認めたのに対して、コントロール群では着床を認めなかった。

続いて胸腺細胞の子宮内膜の分化に与える影響を検討するために、胚の着床に不可欠とされるサイトカイン leukaemia inhibitory factor (LIF) の子宮での発現変化を調べた。上記の delayed implantation の系において 7 日目に胸腺細胞あるいは胸腺細胞調整上清液のみの静脈内投与、あるいはエストラジオールの皮下注をし、12 時間後、24 時間後にそれぞれ子宮を摘出した後、RT-PCR 法を用いて子宮での LIFmRNA の発現を調べた。その結果、エストラジオール投与と同様に、胸腺細胞静注により 12 時間後、24 時間後ともに LIFmRNA の発現が誘導されたが、コントロールには発現が誘導されなかった。

さらに、胸腺細胞のどの細胞分画に胚の着床促進作用が存在するか調べるために、カラムを用いてマウス胸腺細胞を CD 4 (+/-) CD 8 (-) 細胞群と CD 4 (-) CD 8 (+/-) 細胞群に分け、それぞれを偽妊娠 2 日目マウスの子宮内膜内に局所投与し、直後に胚を移植して着床に対する効果を検討した。その結果、CD 4 (+/-) CD 8 (-) 細胞投与群の方にコ

ントロールに比べて有意に高い着床率を認めた。

以上、本研究によって幼若マウスの胸腺細胞が子宮内膜の分化を制御し、さらにマウス胚の着床を促進する可能性が示された。これらの知見は、近年ヒト体外受精で問題となっている子宮内膜分化の異常による着床不全症例の治療法の開発に貢献するものと期待される。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は免疫系細胞の胚着床に対する生理的役割を調べる目的で、偽妊娠マウスへの胚移植実験系を用いて、マウス胸腺細胞の子宮内膜の分化や胚着床に対する作用を検討したものである。本来まだ胚の着床期に至っていない為妊娠2日目のICR系マウスの子宮腔に、妊娠4日目のマウスから採取した胚盤胞を移植し、同時に幼若マウスの胸腺細胞を静注すると、対照群に比較して有意に高い着床率を認めた。

次に偽妊娠3日目に卵巣を摘出してプロゲステロンのみを補充する delayed implantation の系を用い、7日目に胚移植を施行して、同時に胸腺細胞を投与すると、対照群に着床を認めなかったのに対し、胸腺細胞投与群には半数以上の個体に胚の着床を認めた。

同じ系で胚の着床に不可欠とされるサイトカイン LIF の子宮での発を調べると、胸腺細胞投与によりエストラジオール投与と同様に子宮での LIFmRNA の発現が誘導された。

さらに胸腺細胞の子宮内膜内への局所投与により、CD4 (+/-) CD8 (-) 細胞群が有意な着床促進効果を持つことが示された。これらのことより、マウスにおいて胸腺細胞が、卵巣からのステロイドホルモンの変化によらず直接子宮内膜の分化を制御して胚の着床を促進する可能性が示された。

以上の研究は免疫系が胚着床に及ぼす生理的役割の解明に貢献し生殖生理学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年2月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。