

京都大学	博士 (医学)	氏名	堀内 由佳
論文題目	<b>Lactoferrin is associated with a decrease in oocyte depletion in mice receiving cyclophosphamide</b> (ラクトフェリンはシクロフォスファミド投与マウスにおける卵枯渇の軽減に関与する)		
(論文内容の要旨) 抗悪性腫瘍剤を要する若年女性癌患者の妊孕性保持は、婦人科のみならず小児科・血液腫瘍科の分野でも注目されている。特に未婚女性では受精卵凍結保存が適用されず、卵子・卵巣組織の凍結保存や <b>GnRH</b> アナログによる卵巣防護効果も未確立である。そこで本研究では、抗悪性腫瘍剤によりマウス卵巣で発現変動する分子に着目し、卵巣特異的な細胞障害機構の解析と新たな防御分子の可能性について探索した。今回抗悪性腫瘍剤投与に伴いマウス卵巣で発現変動する分子として単離されたラクトフェリン (以下 <b>LF</b> ) に着目し、抗悪性腫瘍剤による卵巣障害における本分子の機能につき検討を加えた。 <b>3</b> 週齢 <b>ICR</b> マウスにシクロフォスファミド (以下 <b>CPM</b> ) <b>100 mg/kg</b> を単回腹腔内投与し、 <b>Foxo3a</b> 及び <b>Caspase-2</b> を卵巣障害マーカーとして用い、卵巣障害の早期発現点を探索したところ、 <b>2</b> 分子の発現増強より投与後 4 日目の段階で原始卵胞に既に何らかの障害が誘導されていることが示唆された。そこで投与後 4 日目において、卵巣組織及び対照群卵巣組織の間で <b>cDNA</b> マイクロアレイ解析を行った。その結果、ラクトフェリンの発現量が <b>CPM</b> 投与後の卵巣組織において対照群の約 <b>3</b> 倍に亢進することが判明した。ラクトフェリンは免疫増強, 発がん抑制, 抗酸化作用といった多彩な生物学的機能が知られているが、卵巣に対する機能に関してはほとんど知られていない。そこでラクトフェリンが抗悪性腫瘍投与時に卵巣を防護している可能性を想定し、ラクトフェリン投与が障害された卵巣に及ぼす影響について検討を加えた。 <b>CPM</b> 反復投与 ( <b>200mg/kg</b> , 隔週腹腔内投与) によるマウス卵巣障害モデルにおいてラクトフェリンを連日経口投与し、 <b>CPM</b> 投与開始後 <b>24</b> 週後に卵巣を摘出、卵胞各発育段階の分子マーカー発現を指標に定量的 <b>RT-PCR</b> 法、及び免疫組織化学染色を用いた卵胞計測を用いて、摘出卵巣について検討した。その結果、 <b>2</b> つの <b>CPM</b> 投与群ではいずれも、生食投与対照群に比して著しい卵巣の萎縮及び卵胞の減少を認めたが、この 2 群のうち <b>CPM/LF</b> 投与群では、 <b>primary follicle</b> までの分子マーカーである <b>Sohlh1</b> の発現が <b>CPM/BSA</b> 投与対照群に比べ有意に高く、かつ排卵関連分子である <b>Adamts1</b> の発現も有意に高かった。また、形態学的検索においても <b>CPM/BSA</b> 投与群に比べ <b>CPM/LF</b> 投与群に卵胞が多く残存しているという結果が得られた。 以上より、ラクトフェリン投与により、抗悪性腫瘍剤によって初期卵胞の受ける障害が軽減され、また、排卵抑制が軽減される可能性があることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

化学療法における若年女性がん患者の妊孕性温存は注目されている問題であり、特に未婚女性においては受精卵凍結保存が適用されず、また卵子・卵巣組織の凍結保存や **GnRH** アナログによる卵巣防護効果も未確立である。そこで本研究では、抗悪性腫瘍剤によりマウス卵巣で発現変動する分子に着目し、発現増強する分子として単離されたラクトフェリン(以下**LF**)に着目し、抗悪性腫瘍剤による卵巣障害における機能につき検討を加えた。

シクロフォスファミド投与による卵巣障害の早期発現点において、障害卵巣と対照卵巣との間で**cDNA**マイクロアレイ解析を行った結果、**LF**の発現量がシクロフォスファミド投与後に対照群の約**3**倍に増強することが判明した。そこで**LF**の長期投与が障害卵巣に及ぼす効果について検討を加えたところ、残存卵胞数において**LF**投与群と対照群との間に有意差が見られ、また分子マーカーを用いた検討でも、初期卵胞及び排卵能の指標が有意に改善することが判明した。以上より、**LF**投与により、抗悪性腫瘍剤によって初期卵胞の受ける障害及び排卵障害が、軽減される可能性があることが示唆された。

以上の研究は、ラクトフェリンの卵巣防護機能の可能性を示した初めての報告であり、若年女性がん患者の化学療法施行時における新たな妊孕性温存方法の解明に貢献し、今後の治療法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21年1月28日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降