



Title	Expression and the function of CX3C chemokine-fractalkine in the human reproduction
Author(s)	張, 慶
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45308
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	張 慶
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 18534 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	Expression and the function of CX ₃ C chemokine-fractalkine in the human reproduction (ヒト生殖領域における CX ₃ C ケモカイン-fractalkine の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 田 雄 二 (副査) 教 授 宮 坂 昌 之 教 授 奥 山 明 彦

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

CX₃C-chemokine である fractalkine (FRK) は Lymphotactin の遺伝子配列をプローブとしたデータベースの検索によって発見されたケモカインとして知られている。T 細胞、NK 細胞などに対する遊走作用を持つ。FRK がヒトの脳、肺、腎臓など臓器に存在しており種々の病態に関与していることが明らかとなっている。また産婦人科領域ではヒト胎盤にその発現が認められ、妊娠維持機構に関与していることが明らかとなっている。一方、FRK のレセプターは CX₃CR1 であり、NK 細胞などに発現している。ヒト生殖領域において様々なサイトカインやケモカインが生殖機能に関与することが明らかとなっている。そこで、本研究において、FRK のヒト生殖領域における FRK の存在を検討し、その機能を解明することを目的とした。

【方法】

Informed consent を得たうえで大阪大学医学部附属病院産婦人科を受診した不妊患者の配偶者 80 例及び妊孕能が明らかな健常男性 15 例であり、3 日以上禁欲の上で用手的に採取した精液を検討に用いた。CASA を用いて精液検査を行った上で、精漿を分離し保存した。また informed consent を得たうえで大阪大学医学部附属病院において婦人科疾患にて付属器摘出術を受けた患者 13 例 (29～45 才) の卵管の一部を採取し、以下の実験に供した。

1. 精漿中の FRK 蛋白の存在を Western blot にて解析した。また、その蛋白量を NIH Image にて解析し、精液検査所見との相関を統計学的に解析した。また精漿中の interleukin(IL)-8 の濃度を ELISA を用いて測定した。
2. 卵管各部位 (卵管峡部、卵管膨大部、卵管采部) における FRK の蛋白の存在を Western blot にて検討した。
3. 卵管各部位における FRK の蛋白の局在及び CX₃CR1 の局在を免疫組織染色にて解析した。
4. 卵管各部位における FRKmRNA および CX₃CR1mRNA の発現を RT-PCR を用いて解析した。
5. 精液中の CX₃CR1mRNA 発現陽性白血球の存在および精子における CX₃CR1mRNA の発現を RT-PCR にて解析した。さらに、精子における CX₃CR1 の局在を蛍光免疫染色法にて確認した。

【結果】

1. Western blot によって精漿中に FRK 蛋白が存在し、精液検査所見との関連について検討したところ、精子運動能との間に相関を認め、精子運動不良群において FRK 濃度は対照群および精子運動良好群に比べて有意に低値を示した。また精漿中の IL-8 の濃度と FRK 濃度との間には相関を認めなかった。
2. 卵管各部位（卵管峡部、卵管膨大部、卵管采部）において Western blot によって FRK の蛋白の存在を確認した。その発現には卵管部位による差は認められなかった。
3. 免疫組織染色にて卵管の峡部、膨大部、采部に FRK 蛋白の局在は卵管上皮細胞に認められ、とくに絨毛を有する細胞に強陽性を示した。一方、CX₃CR1 陽性細胞は卵管上皮および卵管間質に認められた。
4. 卵管各部位に FRKmRNA および CX₃CR1mRNA の発現を RT-PCR にて確認した。その発現には卵管部位による差は認められなかった。
5. 精漿中に CX₃CR1mRNA 陽性白血球が存在し、精子にも CX₃CR1mRNA の発現が認められた。蛍光免疫染色法にて精子尾部に CX₃CR1 の存在を確認した。

【総括】

CX₃C-chemokine である FRK は、ヒト卵管組織および精漿中に存在していた。卵管に発現している FRK は卵管における免疫防御機構に関与している可能性がある。さらに精子に FRK のレセプターである CX₃CR1 が存在し、さらに精漿中の FRK 濃度と精子運動能との間に相関を認めたことから、FRK が精子運動および遊走活性に寄与している可能性がある。ヒト生殖領域に存在する FRK がヒトの受精現象および妊娠能に深く関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

CX₃C-chemokine である fractalkine (FRK) は Lymphotactin の遺伝子配列をプローブとしたデータベースの検索によって発見され、T 細胞、NK 細胞などに対する遊走作用を持つ。ヒト生殖領域において様々なサイトカインやケモカインが生殖機能に関与することが明らかとなっている。本研究ではヒト生殖領域とくに男性精漿中及び女性卵管における FRK の存在を検討し、その機能を解明することを目的とした。その結果、ヒト精漿中には恒常的に FRK 蛋白が存在し、精子運動性との間に相関を認め、精子運動不良群において FRK 濃度は有意に低値を示した。精漿中に CX₃CR1 陽性白血球が存在したが、感染との関連は認められなかった。また、ヒト精子尾部に CX₃CR1 の局在を確認した。一方、ヒト卵管各部位に FRK 蛋白が存在し、その局在は卵管上皮細胞に認められた。CX₃CR1 陽性細胞は卵管間質に認められた。

本論文は FRK が精漿中及び卵管における免疫防御機構に関与している可能性を示した。さらに、FRK が精子運動および遊走活性に寄与している可能性があり、ヒト生殖領域に存在する FRK がヒトの受精現象および妊娠能に深く関与している可能性が示唆された。審査員の合議により学位論文に値するものと判定した。