

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592422

研究課題名(和文)黄体化未破裂卵胞を中心とした排卵障害治療におけるG-CSFの有用性に関する研究

研究課題名(英文)The usefulness of G-CSF in the treatment of luteinized unruptured follicle (LUF) induced by clomiphene citrate (CC) / human menopausal gonadotrophin (hMG) and human chorionic gonadotrophin (hCG)

研究代表者

牧野田 知 (MAKINODA, Satoru)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：80165688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：排卵誘発剤を使用するも排卵しない黄体化未破裂卵胞(LUF)を呈した不妊症患者に対し、血球成分の一つである顆粒球を増加させる作用があるG-CSFを投与した。G-CSFを投与していない周期の排卵率は50.0%であった。それに対しG-CSFを投与した周期の排卵率は90.3%で有意な排卵率の上昇が認められた。近年の生殖補助技術の進歩によって体外受精は特殊な治療方法ではなくなったが、いまだ高額な治療費が必要である。本治療法のような比較的安価である一般不妊治療法が新たに一つ確立されることは少子化に悩む現在の我が国にとってきわめて大きな意義のあるものといえる。

研究成果の概要(英文)：For infertile patients with luteinized unruptured follicle (LUF) who did not ovulate in spite of the ovulation induction used by clomiphene citrate or gonadotropin and hCG, we administered granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) with the action to increase granulocytes which are one of blood components.

The ovulation rate of cycles when we did not give G-CSF was 50.0%. Compared with it, the ovulation rate increased to 90.3% with G-CSF. The increase is significant ($P < 0.001$). In recent years, an in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer (IVF/ICSI-ET) were not specific regimen by the progress of assisted reproductive technology (ART). However, these treatments are still expensive. In contrast, our method using G-CSF is cheaper and less invasive than ART. This method must be used at first for the patients suffering from LUF.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：排卵障害 G-CSF サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

1980年にEspeyが発表した「排卵は炎症類似現象である」という仮説にしたがって数多くの研究が行われ、ヒトの排卵機構に各種のサイトカインが関与していることが明らかにされてきた。サイトカインの卵巣機能における重要性が多く論文で明らかにされてきたにもかかわらず、Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) に関しての報告は決して多いとはいえない。我々以外の英文報告としては、1993年Ziltener et al. が培養卵巣上皮細胞においてG-CSFが他のサイトカインに比してより多く分泌されていること、1997年Hock et al. がFSH製剤による排卵誘発の際にG-CSFが末梢血でも増加し、その結果白血球増多がおこることを報告している程度であった。我々は1995年(Eur J Clin Invest 25(11):877-879)と1996年(Int J Gynaecol Obstet 55(3):265-271)に2編の英文報告を行い、多くのサイトカインの中で最もG-CSFが排卵期の末梢血で他の時期に比較して有意に増加することを報告してきた。また2002年には、G-CSFのmRNAが排卵直前の卵胞期後期に他の時期に比して10倍近くも増加し、G-CSFが顆粒膜細胞に局在していることを明らかにした(Hum. Reprod. 17(12):3046-3052)。

2. 研究の目的

我々がかねてから、炎症の際に最も動員される顆粒球の増殖因子であるG-CSFに注目し、その排卵機構における働きについて研究し、G-CSFは排卵機構の中でも顆粒球などを介して、もしくは直接的に卵胞膜の破綻に関与していることを明らかにしてきた。またG-CSFは抗がん化学療法の際の白血球減少に対する治療薬として20年以上の使用経験があり、G-CSFが排卵機構に関与しているのであれば、本剤を排卵障害治療薬として使用し、排卵障害に悩む患者さんの治療に役立て

たいと考えるのは研究者として当然の発想である。そこでG-CSFを用いて卵胞膜破綻の機構が障害された患者の治療を行うべく、本研究を計画した。

3. 研究の方法

(1) 本学病院ならびに不妊症専門クリニックにおいて、黄体化未破裂卵胞(LUF)を主とする排卵障害患者を診断し、本研究への協力を求める。

(2) 協力を得られた対象患者について、排卵障害の原因について検討する。特に、強度の癒着などの物理的な排卵障害を除くために腹腔鏡による腹腔内観察を可能な限り全例に対して行う。

(3) 対象患者に対し基礎体温表上の高温期の確認やプロゲステロン値の測定や経膈超音波検査を施行し、LUFを診断する。

(4) 適応基準(40歳未満、卵巣周囲に強度の癒着が認められない、試験実施周期では前周期と同様の卵巣刺激などの処置が行われること、など)を満たし、かつ除外基準(G-CSF投与時の末梢血白血球数が10,000/ μ L以上、薬剤過敏症の既往やアレルギー素因のある症例、肝・腎・心機能に高度の障害がある症例、医師が参加不相当とみなした症例、など)に該当しない症例に対して、インフォームド・コンセントを得て、次周期にLUFとなった卵巣刺激方法に加えてG-CSFを投与する。投与時期は当科での正常性周期女性でのG-CSF濃度の変動を参考に、当初は推定されるhCG投与の24-48時間以前にG-CSF 100 μ gを皮下投与する方法で行う。なお、(3)も含め来院時には白血球数を含めた血算を行うとともに、G-CSFや関連する各種ホルモン、各種サイトカイン濃度を測定するために血清を採取し保存する。

(5) (3)および(4)において採取した血清を用いてG-CSFや関連する各種ホルモン、各種サイトカイン濃度を測定する。

(6)(3)および(4)における排卵率、G-CSF や関連する各種ホルモン、各種サイトカイン濃度をデータ処理する。

(7)(6)をもとに LUF 治療における G-CSF 投与の有用性を検討する。

4. 研究成果

G-CSF を投与していない排卵誘発周期の排卵率は 50.0% (83/166 周期)であった。それに対し G-CSF を投与した排卵誘発周期の排卵率は 90.3% (84/93 周期)で有意な排卵率の上昇が認められた ($P < 0.001$)。LUF 発症のリスク比は 0.554 (95% CI: 0.469 - 0.654)で G-CSF は有意に LUF 発症を予防した。また 7 例が妊娠した。対象患者の 93 周期は 28 日間の月経周期を有する女性では 1 年あたり 7.2 人に相当し妊娠率は 97.2% (7/7.2) となる。

hCG 投与後のため黄体となるも排卵しない LUF に対し G-CSF は高い排卵効果を示し、G-CSF が一般不妊治療を行う際の補助的な排卵誘発治療薬として有用である可能性を明らかにした。さらに本研究は G-CSF や好中球が関与する炎症反応が LH サージから排卵までの現象において決定的な意味を持つことを示唆している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 10 件)

(1)発表者名：藤井 亮太

発表課題：黄体化未破裂卵胞 (LUF) に対する G-CSF の治療効果

学会等名：第 18 回日本生殖内分泌学会

発表年月日：2013 年 12 月 7 日

発表場所：東京

(2)発表者名：柴田 健雄

発表課題：黄体化未破裂卵胞 (LUF) に対する G-CSF の治療効果について

学会等名：第 31 回日本受精着床学会

発表年月日：2013 年 8 月 8 日から 9 日

発表場所：別府

(3)発表者名：藤井 亮太

発表課題：ラット排卵過程における gelatinase の作用について

学会等名：第 65 回日本産科婦人科学会

発表年月日：2013 年 5 月 10 日から 12 日

発表場所：札幌

(4)発表者名：藤井 亮太

発表課題：The effectiveness of G-CSF in the treatment of LUF

学会等名：The International Ovarian Conference 2013

発表年月日：2013 年 3 月 9 日から 11 日

発表場所：Taipei

(5)発表者名：柴田 健雄

発表課題：黄体化未破裂卵胞 (LUF) に対する G-CSF の治療効果について

学会等名：第 57 回日本生殖医学会

発表年月日：2012 年 11 月 8 日から 9 日

発表場所：長崎

(6)発表者名：藤井 亮太

発表課題：Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) prevents LUF in clomiphene treatment

学会等名：The 28th of Annual Meeting of the ESHRE

発表年月日：2012 年 7 月 1 日から 4 日

発表場所：Turkey、Istanbul

(7)発表者名：藤井 亮太

発表課題：黄体化未破裂卵胞（LUF）に対するG-CSFの効果について

学会等名：第64回日本産科婦人科学会

発表年月日：2012年4月13日から15日

発表場所：神戸

(8)発表者名：富澤 英樹

発表課題：黄体化未破裂卵胞（LUF）の治療法 - Granulocyte Colony-stimulation Factor (G-CSF) の効果

学会等名：第63回日本産科婦人科学会

発表年月日：2011年8月29日

発表場所：大阪

(9)発表者名：富澤 英樹

発表課題：A novel treatment of luteinized unruptured follicle caused by ovulation induction using clomiphene – human chorionic gonadotropin

学会等名：The 27th of Annual Meeting of the ESHRE

発表年月日：2011年7月3日から6日

発表場所：Sweden、Stockholm

(10)発表者名：藤井 亮太

発表課題：The involvement of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in the release of a mature oocyte

学会等名：The 27th of Annual Meeting of the ESHRE

発表年月日：2011年7月3日から6日

発表場所：Sweden、Stockholm

6 . 研究組織

(1)研究代表者

牧野田 知 (MAKINODA, Satoru)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：86165688

(2)研究分担者

藤井 亮太 (FUJII, Ryota)

金沢医科大学・看護学部・准教授

研究者番号：30298351

早稲田 智夫 (WASEDA, Tomoo)

金沢医科大学・医学部・講師

研究者番号：40367488

富澤 英樹 (TOMIZAWA, Hideki)

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：40319059

藤田 智子 (FUJITA, Satoko)

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：90350785