

梅抽出物ウムリンの不妊治療成績改善効果とその作用メカニズム ーウムリン成分プロトカテクアルデヒドは酸化ストレスを抑制するー

宇都宮洋才¹、河野良平¹、奥野祥治²、宇都宮智子³

¹大阪河崎リハビリテーション大学

²和歌山工業高等専門学校

³うつのみやレディースクリニック

【研究背景】

梅干を作る際に得られる梅酢には梅干と同様に様々な有効成分が含まれます。その梅酢から作成した梅成分ウムリン（旧称：BX70）をニワトリに与えると生存率、産卵率、卵質が向上することが報告されています¹。我々は梅成分ウムリンが生殖機能向上に有効であると考え、以下の複数の研究を実施しました。

【概要】

晩婚化に伴い、不妊治療患者の高齢化が進んでおり、卵巣の老化による卵子数の減少、卵子の質の低下が不妊治療の大きな障害となっています。

難治性患者に対してさまざまな試みがなされていますが、そのなかで DHEA (dehydroepiandrosterone) はサプリメント製剤として用いられており、卵子の質を改善するとされています。

卵子の質の低下は酸化ストレスによるところが大きいと考えられていることから、抗酸化作用をもつ梅がヒト卵子にも有益である可能性を考えました。そこで我々は研究①②ART（生殖補助医療技術）反復不成功の難治性不妊患者に対し、DHEA とウムリンを ART 治療前より投与して ART 治療成績の改善をもたらす可能性を検討しました。また、研究③ヒト卵巣顆粒膜細胞株 COV434 を使用し、ウムリンに含まれる酸化ストレスに対して有効な生理活性物質を探索し、その効果について検討しました。

【研究①：ART 反復不成功の難治性不妊患者に対する DHEA と脱塩濃縮梅酢の効果】

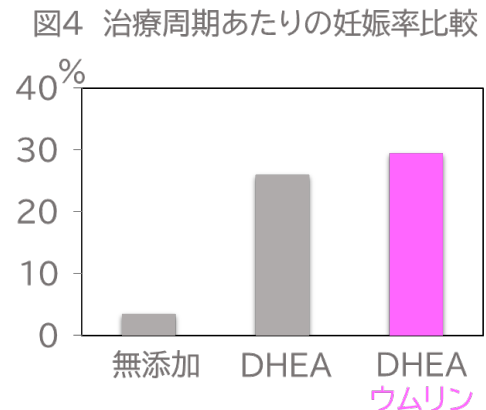
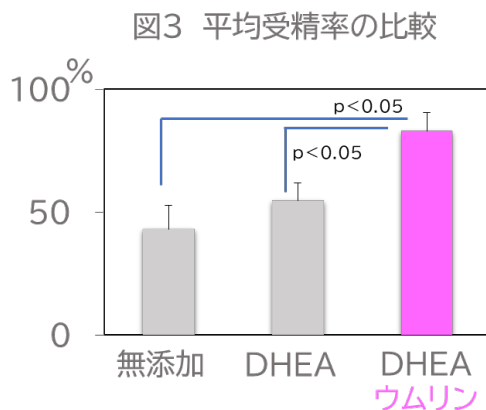
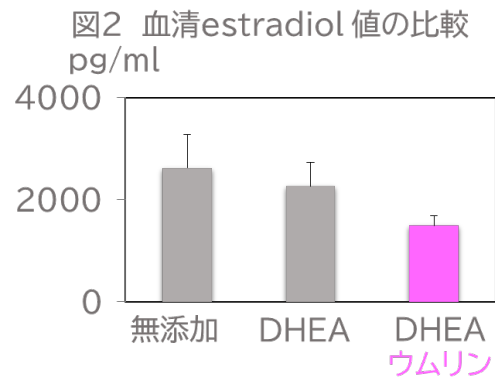
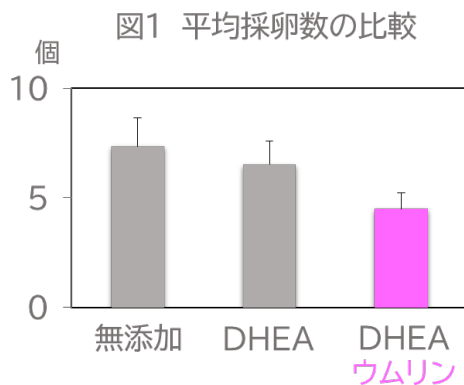
ART を施行し、良好胚の得られない反復不成功例 18 例（33 歳～43 歳、平均年齢 39.2 歳）に対して、DHEA を 50mg/day で連日投与しました。DHEA を 2 か月間服用の後卵巣刺激を行い採卵、I V F（体外受精）または I C S I（顕微授精）を施行しました。上記 18 例のうち DHEA を服用後も妊娠に至らなかった症例のうち同意の得られた 9 例に対し、DHEA 50mg/day とウムリン 12ml/day を 2 か月間服用後に卵巣刺激を行い採卵、I V F または I C S I 施行しました。何も服用しなかった周期と DHEA 服用周期、DHEA とウムリン服用周期、それぞれの採卵前 HCG（排卵誘発剤）投与日の血清 estradiol (E2) 値、採卵数、受精率、妊娠率（胎嚢が確認された臨床的妊娠）について検討しました。

治療成績の結果を表 1 および図 1～4 に示します。平均採卵数は無添加周期、DHEA 周期、DHEA/ウムリン周期の順に、治療周期が経過するごとに採卵数は低下していききました（図 1）。採卵前 HCG 投与日平均血清 E2 値は、無添加周期、DHEA 周期、DHEA/ウムリン周期の順に採卵数と同様に治療が経過するごとに低下しました（図 2）。一方、平均受精率は無添加周期よりも DHEA 周期、DHEA/ウムリン周期が有意に高率でした（図 3）。治療周期当たりの妊娠率についても無添加周期、DHEA 周期、DHEA/ウムリン周期の順に有意に高率となりました（図 4）。

治療成績

	①無添加周期	②DHEA周期	③DHEA/ウムリン周期
症例数(例)	18	18	9
IVF周期(周期)	24	21	14
ICSI周期(周期)	5	6	3
妊娠周期/治療周期 治療周期あたり妊娠率	1/29 3.4%	7/27 25.9%	5/17 29.4%
(妊娠数/症例数) 症例あたり妊娠率	(1例/18例) 5.6%	(7例/18例) 38.9%	(5例/9例) 55.6%

表 1 治療成績



【研究②：ウムリン単独の効果】

研究①とは別の不妊症患者 10 症例：29 歳～41 歳（平均年齢 35.6 歳）に対し治療周期の 2 か月前からウムリン 12ml/day を投与の後、体外受精を施行しました。その結果、10 症例中 6 例で妊娠が成立しました。

【研究③：卵巣の顆粒膜細胞を酸化ストレスから保護する効果を指標として、梅から生理活性物質を探索】

ヒト卵巣顆粒膜細胞株（COV434）を用いて酸化ストレス（H₂O₂ 処理）による細胞死を抑制する効果を指標として、梅の種から 3,4-dihydroxybenzaldehyde(3,4-DHBA, プロトカテカルデヒド)を単離・同定しました（図 5）。プロトカテカルデヒド（PA）は抗酸化作用、抗炎症作用など様々な効果が知られてい

ます。この PA の COV434 細胞に対する効果として、酸化ストレスによって起こる細胞死（アポトーシス）への予防効果を検討しました。また、PA の E2 分泌に対する影響を細胞培養中の E2 濃度を求めることで調査しました。

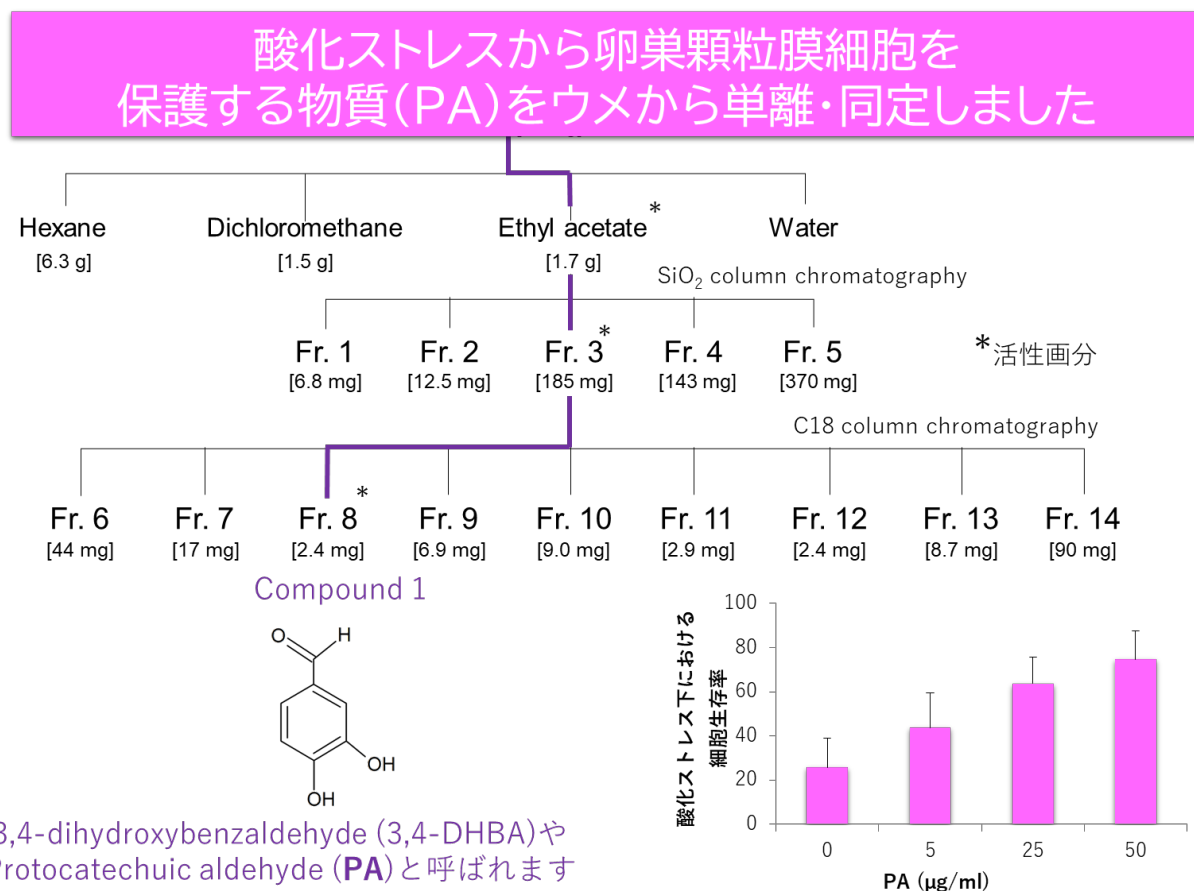


図 5

COV434 細胞を PA とともに培養した結果、酸化ストレスによって細胞死が誘導され細胞生存率 20%程度となるところ、PA はその細胞死を抑制し、50 µg/ml の濃度ではコントロールと比較して約 70%の生存率を示しました（図 5 右下）。また、PA は濃度依存的にカスパーゼ活性（アポトーシス細胞で増加）の増加と細胞毒性を抑制し、細胞生存率を増加させました。形態学的観察下においても酸化ストレスによる COV434 細胞のアポトーシスが、PA によって抑制されることが判明しました（図 6）。また、COV434 細胞の E2 分泌量は PA によって増加し、SF-1(Steroidogenic factor 1:E2 産生に関わる遺伝子)の遺伝子発現量も増加しました。

PAは酸化ストレスによるアポトーシスを抑制します

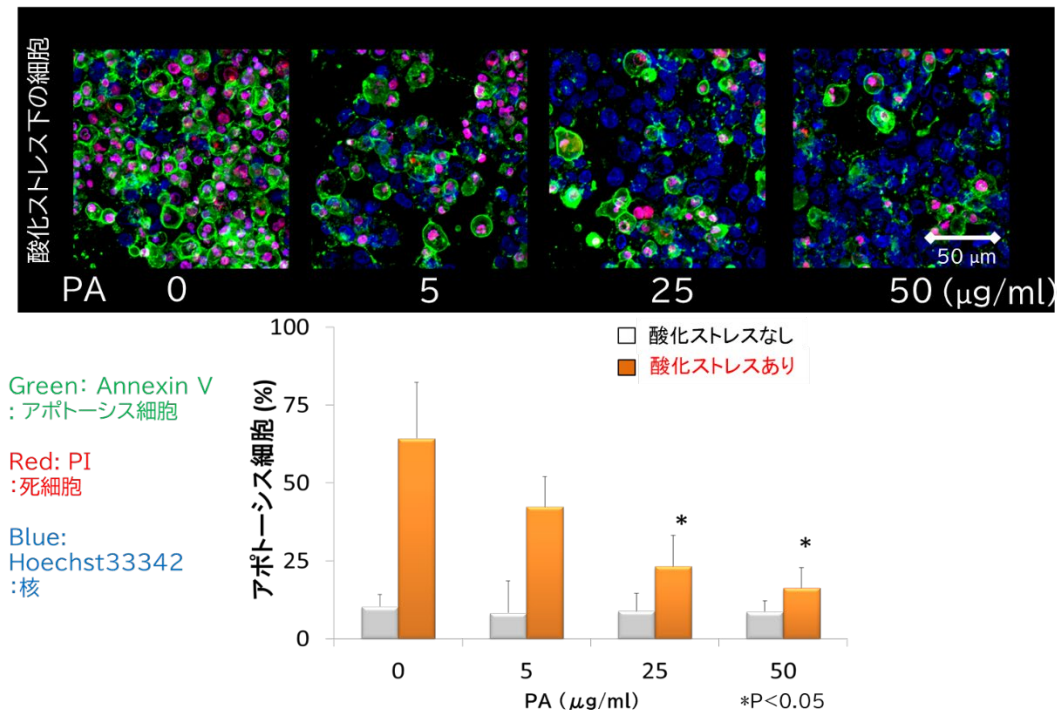


図 6

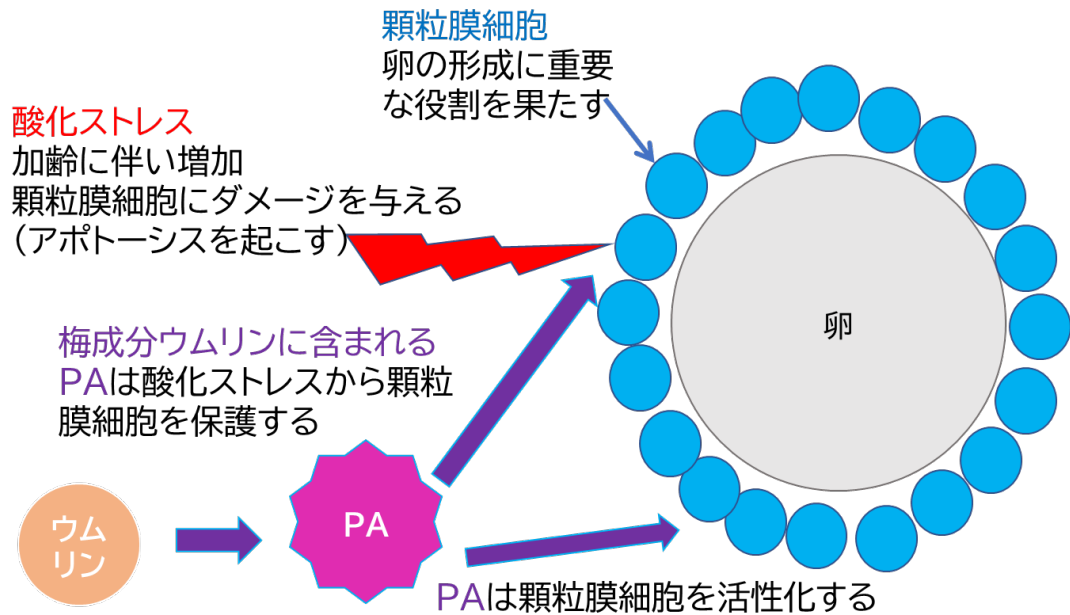
【考察】

本研究において反復 ART 不成功患者に対して DHEA やウムリンを投与すると受精率が有意に上昇して高い妊娠率が得られました。卵の老化は酸化ストレスが顆粒膜細胞のアポトーシスに関与した結果と考えられており、DHEA とウムリンが顆粒膜細胞のアポトーシスを抑制し、卵変性を阻止した可能性が考えられました。以上より難治性不妊患者に対して DHEA とウムリンを投与することにより卵の質が改善し ART 治療成績を改善させる可能性が示唆されました。

COV434 細胞を用いた研究では、梅の種から高い抗酸化力を有する PA を単離・同定しました。この PA の抗酸化力により細胞の酸化ストレスを減弱しアポトーシスを抑制したと考えられます。さらには、顆粒膜細胞の SF-1 遺伝子を活性化させることで E2 の分泌を増加させることが判明しました。したがって、PA は酸化ストレスから顆粒膜細胞を保護し、顆粒膜細胞をより活性化し質の良い卵形成に寄与する可能性があります。PA はウムリンにも含まれますが、ウムリンには PA 以外の抗酸化物質や抗炎症物質も含まれるため、ウムリンが不妊症治療で有効であるのは、PA だけでなく様々な物質が働くためと示唆されます。

以上からウムリンは不妊症予防や不妊症治療において有効であると期待されており、現在も研究を進めています。

梅成分ウムリンに含まれるPAは酸化ストレスから卵巣顆粒膜細胞を保護し、顆粒膜細胞をより活性化することで質の良い卵形成に寄与する可能性があります



研究Ⅰ 宇都宮智子 他, 日本受精着床学会雑誌 31(1): 61-64, 2014

研究Ⅱ 宇都宮智子 他, 日本卵子学会発表 2014

研究Ⅲ Ryohei Kono, et al., Acta Histochemica et Cytochemica 47(3): 103-112, 2014

引用文献

1. 伊丹哲哉, 香川高士, 細川清, 吉村幸則, ニワトリの産卵成績と卵質に及ぼす脱塩濃縮梅酢の影響 日本家禽学会 42: J209-J216, 2005.