

氏名	くろ だ ひで き 黒 田 英 樹
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1783 号
学位授与の日付	平成 14 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Human ovarian surface epithelial (OSE) cells express LH/hCG receptors, and hCG inhibits apoptosis of OSE cells via up-regulation of insulin-like growth factor-1. (ヒト卵巣表層上皮細胞における LH/hCG レセプターの発現と insulin-like growth factor-1 の誘導を介したヒト絨毛性ゴナドトロピンによるアポトーシス抑制作用についての研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 日 合 弘 教 授 山 岡 義 生 教 授 藤 井 信 吾

### 論 文 内 容 の 要 旨

上皮性卵巣癌は進行例が多く発生原因や組織発生の詳細は不明である。しかし、その発生頻度は血中ゴナドトロピン値の上昇する閉経期に高く、ゴナドトロピン製剤を用いた排卵誘発治療中の卵巣癌発生も報告されていることから、卵巣癌発生にゴナドトロピンが関与する可能性が注目されている。しかし、卵巣癌の発生母地である卵巣表層上皮 (ovarian surface epithelium; OSE) がゴナドトロピンに対する感受性を有しているか、またゴナドトロピンがその増殖やアポトーシスにどのような作用をもつかは明らかでない。そこで、本研究では、OSE 細胞におけるゴナドトロピン受容体; luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin (LH/hCG) 受容体の発現の有無、さらに、ゴナドトロピンとして LH と同様の生物学的活性を有する hCG を用い、hCG が OSE 細胞の増殖ならびにアポトーシスに及ぼす影響、および hCG によるアポトーシス抑制の機序を検討した。

患者の同意のもと手術標本より得られた正常卵巣を用いて抗 LH/hCG 受容体抗体にて免疫染色を行ったところ、OSE 細胞に LH/hCG 受容体の蛋白発現が認められた。また OSE 細胞の初代培養系を用いて LH/hCG 受容体の mRNA 発現とリガンドに対する結合能をそれぞれ RT-PCR 法および binding assay 法にて検討したところ、LH/hCG 受容体 mRNA の発現および hCG に対する特異的結合能が認められた。

OSE 細胞の増殖に及ぼす hCG の効果を WST-1 法および BrDU 法により検討したところ、hCG は用量依存性にその増殖を促進した。また、hCG が OSE 細胞のアポトーシスに及ぼす影響を無血清培養条件を用い、TUNEL 法、DNA ladder 法、および抗ヒストン抗体を用いた ELISA 法にて検討した。無血清培養にて OSE 細胞のアポトーシスが誘導されたが、hCG を添加すると無血清培養によるアポトーシス誘導が有意に抑制された。OSE 細胞における hCG のアポトーシス抑制機序を解析する目的で、hCG によるアポトーシス関連遺伝子の発現変化を Northern blot 法、RT-PCR 法にて検索した。hCG 添加により bcl-2, bax, IGF-1 受容体の発現には変化がなかったが、IGF-1 mRNA の発現増加が認められ、アポトーシス抑制には hCG により誘導された IGF-1 が関与している可能性が考えられた。そこで、無血清培養において IGF-1 を添加すると hCG と同様のアポトーシス抑制が観察された。さらに、IGF-1 受容体に対する中和抗体による前処理を行ったところ、hCG によるアポトーシス抑制作用は消失した。

今回の研究により、上皮性卵巣癌の発生母地である卵巣表層上皮細胞はゴナドトロピン LH/hCG に対する受容体を発現し、リガンドである hCG は、in vitro において、卵巣表層上皮細胞の増殖を促進するとともに、hCG により誘導される IGF-1 がオートクラインあるいはパラクラインに作用しそのアポトーシスを抑制することが示された。以上より、閉経期における高ゴナドトロピン状態やゴナドトロピン製剤を用いた排卵誘発治療は卵巣表層上皮細胞の増殖やアポトーシス抑制を介してその生物学的動態に影響を与えうる可能性が示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

近年ゴナドトロピン製剤を用いた排卵誘発治療と上皮性卵巣癌との因果関係を示唆する疫学的報告がなされている。本研究は、上皮性卵巣癌の発生要因としてのゴナドトロピンの果たす役割の解明を目的として、卵巣癌の組織発生源である卵巣表層上皮 (ovarian surface epithelium; OSE) 細胞におけるゴナドトロピン (luteinizing hormone / human chorionic gonadotropin; LH / hCG) 受容体発現の有無、および hCG が OSE 細胞の増殖活性およびアポトーシスに及ぼす影響とその細胞内機序について解析している。

OSE は LH / hCG 受容体蛋白を発現し、OSE の初代培養細胞は hCG に対する特異的結合能を有し、LH / hCG 受容体 mRNA を発現していた。さらに、hCG 添加は OSE 細胞の増殖活性を促進し、無血清条件により誘導されるアポトーシスを抑制した。このアポトーシス抑制は hCG による insulin-like growth factor-1 誘導を介した機序によることが示された。以上より、OSE 細胞にはゴナドトロピン感受性があり、ゴナドトロピンは OSE 細胞に対する生物学的作用を有し、腫瘍発生にも関与しうる可能性が示唆された。

以上の研究は卵巣癌の発生要因の解明に貢献し、婦人科腫瘍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、平成14年4月4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、専門学識試験でも博士課程修了者と同等の学力を有すると認められている。