

氏名	吉岡信也
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2244号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	「ヒト卵巣における細胞膜結合型カルボキシペプチダーゼおよびエンドペプチダーゼの発現に関する研究」

論文調査委員 (主査) 教授 藤田 潤 教授 小川 修 教授 藤井信吾

論文内容の要旨

性成熟期の卵巣では、卵胞発育や閉鎖、または排卵後の黄体形成と退行に伴い、細胞の増殖、分化および細胞死が周期をもって繰り返されており、その結果おこる性ステロイドホルモン産生の変化によって性周期が形成されている。卵胞発育や黄体形成などの調節因子としては、古くから知られるゴナドトロピンに加えて、近年では種々のペプチドによる局所調節機構の存在が注目されてきた。これまでの検討により、細胞膜結合型のアミノペプチダーゼであるアミノペプチダーゼN、ジペプチジルペプチダーゼIVが、卵胞および黄体の構成細胞表面に発現し、その分化・機能調節に関与していることが解明されている。膜結合型ペプチダーゼはその活性部位を細胞外に有し、細胞外のペプチドがレセプターに結合する前にペプチド濃度を調節すると考えられている。本研究では、現在知られている膜結合型ペプチダーゼのうち、ペプチドのN末端からアミノ酸を切断するアミノペプチダーゼに対し、C末端から切断するカルボキシペプチダーゼM (CPM)、および中央から切断するエンドペプチダーゼであるエンドセリン・コンバーティング・エンザイム (ECE) -1のヒト卵巣における発現を検討した。

CPMのヒト卵巣での発現を単クローン抗体を用いて免疫組織学的に調べた結果、CPMは卵胞では初期発育卵胞よりその発育に伴って内莢膜細胞に徐々に発現し、排卵期のLHサーージ中には卵丘を含む顆粒膜細胞にも黄体化とともに急速に発現した。黄体では妊娠黄体を含めて大および小黄体細胞にその発現が継続していた。RT-PCR法にてCPMのmRNAの発現も黄体に確認された。

次にECE-1のヒト卵巣での発現を免疫組織学的に調べた結果、ECE-1はCPMと同様に卵胞発育に伴い内莢膜細胞に徐々に発現し、顆粒膜細胞には排卵前よりその発現が観察された。また月経および妊娠黄体では両黄体細胞にその発現が継続しており、RT-PCR法にてECE-1のmRNAの発現が確認された。ウエスタンブロットによる検討では、黄体におけるECE-1の蛋白発現量は初期および中期黄体に比べ後期黄体では減弱していた。次に黄体化顆粒膜細胞培養系を用いてECE-1の活性調節因子を検討したところ、ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) およびインターロイキン1によってECE-1の活性が増強されることが示された。

以上の結果より、CPMおよびECE-1は、卵巣顆粒膜細胞と莢膜細胞が黄体へと分化していく過程に、その細胞表面に発現することが明らかになった。また顆粒膜細胞における発現は共にLH/hCGによって、さらにECE-1はサイトカインによっても調節されていることが判明した。卵巣におけるCPM、ECE-1の基質が何であるかは未だ不明であるが、CPMの基質としてブラジキニンが、ECE-1の基質としてはエンドセリン1の前駆体であるビッグエンドセリン1とブラジキニンが知られている。CPM、ECE-1が共に微小血管の多く分布する卵胞の内莢膜細胞や黄体に発現していることを考えあわせると、CPMとECE-1の膜結合型ペプチダーゼはこれら血管作動性物質を調節することによって、卵巣機能調節に関与している可能性が示唆された。

本研究によって、アミノペプチダーゼに加え、カルボキシペプチダーゼおよびエンドペプチダーゼも卵巣顆粒膜細胞と莢

膜細胞にその分化に伴って発現することが明らかになり、これら膜結合型ペプチダーゼが相互に協調して卵胞発育や黄体形成などの調節因子として生理的な役割を果たしている可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

近年、種々のペプチドによる局所卵巣機能調節機構が注目されている。これまでの検討で、細胞膜結合型アミノペプチダーゼがヒト卵巣に発現し卵巣機能に関与していることが推察された。

本研究では、膜結合型ペプチダーゼのうち、カルボキシペプチダーゼ M (CPM)、およびエンドペプチダーゼであるエンドセリン・コンバーティング・エンザイム (ECE) -1 のヒト卵巣での発現を検討した。

CPM は卵胞期の内荏膜細胞に発現し、排卵期の LH サージ中には顆粒膜細胞に黄体化と共に急速に発現した。黄体ではその発現が継続していた。

ECE-1 は卵胞期の内荏膜細胞に発現し、顆粒膜細胞には排卵直前より発現が観察され、黄体化と共に発現が増強した。ECE-1 の蛋白発現量は初期・中期黄体に比べ後期黄体では減弱していた。またヒト絨毛性ゴナドトロピンやインターロイキン 1 によって ECE-1 の活性が増強されることが示された。

本研究によって、アミノペプチダーゼに加え、カルボキシペプチダーゼとエンドペプチダーゼも卵巣顆粒膜細胞と荏膜細胞にその分化に伴って発現することが明らかとなった。この結果、種々の膜結合型ペプチダーゼが相互に協調して細胞外のペプチド濃度を調節することによって、卵胞発育や黄体形成に生理的な役割を果たしている可能性が示唆された。

以上の研究は新たな卵巣機能局所調節機構の解明に貢献し、生殖生理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、本学位授与申請者は、平成 12 年 2 月 14 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。