

氏名	矢島康雄 やしまやすお
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第844号
学位授与の日付	昭和55年7月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	ヒト卵巢中 collagen 分解酵素活性の排卵酵素としての意義

(主査)  
論文調査委員 教授 村地 孝 教授 星野一正 教授 西村敏雄

### 論文内容の要旨

1916年 Schochet により排卵時の卵胞破裂は部分的には蛋白分解酵素による卵巣莢の変化によって起こるのではないかという考え方が提唱されて以来、排卵機構における ovulatory enzymes の存在が注目され卵胞壁離開との関連性が検討されてきた。1965年に至り Espey らは bacterial collagenase をウサギ卵胞中に注入することにより排卵が誘発される実験を行い排卵における collagen 分解酵素の役割に注目した。この collagen 分解酵素には中性域に至適 pH をもつ neutral collagenase と酸性域に至適 pH をもつ cathepsin B<sub>1</sub> が知られている。

neutral collagenase については合成基質 N-carbobenzoxy-Gly-Pro-Gly-Gly-Pro-Ala (N-CBZ-GPG GPA) を用いて Espey らがウサギ卵巣において酵素活性を認めている。また Morales らはその分子中に Gly-Ile band を有するため mammalian collagenase に比較的特異性が高いと考えられる合成基質 dinitrophenyl-Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly-D-Arg (DNP-peptide) を用いてラット卵巣における酵素活性を認めている。

cathepsin B<sub>1</sub> については合成基質  $\alpha$ -N-bzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide HCl(BANA) を用いて岡崎らがラット卵巣中に、本橋らがウサギ卵巣中にその酵素活性を認め、排卵を中心とした変化について報告している。

今回私は、ヒト卵巣 homogenate を酵素源に用いて、既存の方法である合成基質 N-CBZ-GPGGPA による collagenolytic enzyme 活性および合成基質 BANA による cathepsin B<sub>1</sub> 活性を測定して53例の data を集積した。さらに Morales らが用いたものより分子量が高く一層 vertebrate collagenase に対して特異性が高いといわれ、少し構造の異なる合成基質 DNP-peptide(DNP-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-D-ArgOH) を使用して中性域における酵素活性を測定し、かつまた nature な collagen が真にヒト卵巣 homogenate 中の vertebrate collagenase によって分解されることを証明するために幼若ラット皮膚より精製した <sup>14</sup>C-labelled collagen を基質として使用中性域での酵素活性を測定して22例の data を集積し、排卵を中心とした collagen 分解酵素活性のヒト卵巣における変化について検討した。

その結果、ヒト卵胞頂部においては排卵に向けて vertebrate collagenase, cathepsin B<sub>1</sub> のごとき collagen fiber を一次的に degrade する酵素活性が上昇し collagen fiber は分解され、排卵前卵胞では消費性に一過性の活性低下を招いたごとく見えるものの、collagen fiber の分解を終了する排卵時には高い酵素活性を示した。collagenolytic peptidase 活性を示していると思われる N-CBZ-GPGGPA 分解酵素活性は vertebrate collagenase や cathepsin B<sub>1</sub> より遅れて排卵時に活性の上昇を示しており、すでにこれら2酵素によって denatured collagen となった collagen 残渣をさらに完全に分解しているものと考えられる。

これらの結果は超微形態学的に観察される multivesicular structures や lysosomes の変動と一致しており、今回測定した collagenolytic enzymes が排卵酵素として卵胞破裂機序に関与している可能性を強く示唆している。

### 論文審査の結果の要旨

排卵時の卵胞破裂機構、なかでも卵胞頂部の断裂機序について enzyme theory が提唱され、collagen を分解する酵素として中性域と酸性域に至適 pH を示す2種類の酵素群が認められる。中性域に至適 pH を示す酵素活性は合成基質 N-CBZ-GPGGPA, 合成基質 DNP-peptide および幼若ラットから抽出した <sup>14</sup>C-labelled collagen の3種の基質を使用し、また酸性域に至適 pH を示す lysosome 酵素の1つ cathepsin B<sub>1</sub> 活性は合成基質 BANA を使用し、それぞれ卵胞試料を卵胞頂部、基底部および顆粒膜細胞層に分けて、卵胞発育過程を追いながらこれら活性値を測定した。

その結果、ヒト卵胞頂部においては排卵に向けて、vertebrate collagenase, cathepsin B<sub>1</sub> のごとき collagen fiber を一次的に分解する酵素活性が上昇して、collagen fiber を分解し、排卵前卵胞では消費性に一過性の活性低下を招いた如く見えるものの、collagen fiber の分解を終了する排卵時には高い酵素活性を示した。これらの結果は超微形態学的に観察される collagen fiber の疎しょう化の像の推移に一致しており、今回測定した collagenolytic enzymes が排卵酵素として関与している可能性を強く示唆し、排卵機序に新知見を加えた。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。