

氏 名	はっ とり な お 服 部 奈 緒
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1754 号
学位授与の日付	平 成 13 年 7 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	Epoxide hydrolase affects estrogen production in the human ovary (エポキシド水解酵素はヒト卵巣におけるエストロゲン産生に関与する)

論文調査委員 (主 査)
教 授 中 尾 一 和 教 授 小 川 修 教 授 藤 井 信 吾

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト黄体は、排卵後の卵胞より急速に形成される特異な内分泌組織であり、主として progesterone および estradiol を産生する。本研究では黄体機能に関連する物質を捉えることを目的として、患者同意のもと開腹手術時に得られたヒト黄体細胞をマウスに免疫し、ヒト卵巣の凍結切片を用いた免疫組織化学法による検索でヒト黄体細胞の細胞質に特異的に反応するモノクローナル抗体を得た。次に、ヒト黄体細胞を可溶化し、作製された抗体を用いたアフィニティークロマトグラフィーをおこなったところ、抗原分子は分子量 46KD の蛋白質であることが判明した。この抗体で同様に免疫染色されるブタ肝細胞から抗原蛋白を多量に精製し、アミノ酸配列を決定したところ、その配列はヒトの microsomal epoxide hydrolase (mEH) と高い相同性を示した。ヒト黄体より精製した抗原蛋白が epoxide 水解活性を示したことおよび分子量も既報と一致することから、この抗原蛋白が肝臓での解毒酵素として知られている mEH であることが明らかとなった。

ヒト卵巣の凍結切片を用いた蛍光抗体法によって、mEH は未発育の小卵胞では内荏膜細胞にのみ発現していることがわかった。発育卵胞では顆粒膜細胞に弱く、内荏膜細胞に強く発現していた。また、月経周期黄体および妊娠黄体においては、大黄体細胞に中等度の、小黄体細胞には強い発現が見られた。

次に mEH の卵巣における機能を推察する目的で、体外受精-胚移植時に得られたヒト黄体化顆粒膜細胞に mEH の拮抗阻害剤である 1,2-epoxy-3,3,3-trichloropropane を加えて培養した。阻害剤は黄体化顆粒膜細胞の progesterone の合成にはほとんど影響を及ぼすことなく、testosterone から estradiol への転換を阻害することがわかった。また、mEH の epoxide 水解活性を阻害する濃度依存性と、培養顆粒膜細胞の estradiol 産生阻害の濃度依存性がほぼ一致した。顆粒膜細胞の超音波破碎液に阻害剤を加えてもこの転換阻害は見られなかったことから、mEH は estradiol 合成系に間接的に働いていることが示唆された。

抗痙攣剤 sodium valproate やその代謝産物が EH 活性を阻害することが報告されている。一方この薬剤投与により、testosterone から estradiol への転換障害が推察されている多嚢胞性卵巣症候群に類似した内分泌異常がひき起こされることが注目されてきた。これまで内分泌機能異常がもたらされる機構は不明であった。本実験によって、sodium valproate やその代謝産物が卵巣に直接作用し EH 活性を阻害することにより、steroidhormone 合成の異常が誘発されるという新たな仮説を提示することができた。

以上本研究により、卵巣において mEH が卵胞や黄体に発現していることが明らかにされた。また、mEH が卵巣の estradiol 合成系に関与していることが示唆された。さらに、抗痙攣剤がひき起こす内分泌異常が、卵巣における EH 活性の阻害によるものであるという仮説が導き出された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では黄体機能に深く関与する物質を捉える目的で、ヒト黄体組織をマウスに免疫してヒト黄体細胞に強く反応するモノクローナル抗体を作製した。この抗体で認識される抗原は分子量 46KD の蛋白質であり、ブタ肝臓から精製した抗原

蛋白の部分アミノ酸配列分析および酵素活性実験の結果、肝臓での解毒酵素として知られている microsomal epoxide hydrolase (mEH) であることが判明した。そこでヒト黄体化顆粒膜細胞の培養系に mEH 活性の阻害剤を作用させて黄体細胞に対するその機能を検討したところ、testosterone (T) から estradiol (E2) への転換が阻害されることが観察され、mEH が卵巣における E2 合成に関与する可能性が示された。EH 活性を阻害する薬剤としては sodium valproate などの抗痙攣剤が知られているが、これらの薬剤は多嚢胞性卵巣症候群に類似した内分泌異常をきたすことが以前より報告されてきた。抗痙攣剤のこのような副作用の機序は不明であったが、本研究にて卵巣細胞に発現している mEH が E2 合成に関与することが示されたことにより、その副作用の機序として、抗痙攣剤が卵巣に直接作用して T の過剰産生すなわち多嚢胞性卵巣症候群を誘起する機構が推察された。

以上の研究は卵巣機能の解明に貢献し、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13年4月23日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並び学識確認のための諮問を受け、合格と認められたものである。