

氏 名	なかむらきみひこ 中村公彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1610 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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	An aminopeptidase inhibitor, bestatin, enhances gonadotropin-stimulated ovulation in mice (アミノペプチデース阻害ベスタチンは、マウスにおいてゴナドトロピン刺激下の排卵を促進する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 藤 田 潤 教 授 塩 田 浩 平 教 授 森 崇 英

論 文 内 容 の 要 旨

卵胞顆粒膜、莢膜細胞の分化経路に伴い発現してくる物質は、卵胞細胞の機能および分化調節に関与していると考えられる。アミノペプチデース N (AP-N) は、これら分化関連物質の一つとして、ヒト卵巣内莢膜細胞および小黄体細胞に特異的に発現していることが明らかにされた。AP-N は細胞膜結合のアミノペプチデースであり、その酵素活性部位を細胞外に有し、細胞外のペプチドを分解するとされている。最近、卵胞発育および閉鎖における局所因子として種々のペプチドが注目されていることより、AP-N を含む膜結合性アミノペプチデースが卵胞の発育において重要な局所調節因子として関わっている可能性が推測された。

本研究では、以上の仮説を検証するために、膜結合性アミノペプチデースの卵胞発育に対する生理的役割について、幼弱マウスの排卵系を用いて、その阻害剤であるベスタチンを投与することで検討した。

生後 6 日目から 35 日目までのマウス卵巣についてそれぞれ凍結切片を作製し、単クローン抗体を用いた免疫組織染色により AP-N の発現を、更に組織化学染色によりアミノペプチデース活性を調べた。免疫組織染色では、莢膜間質細胞のみに AP-N の発現を認め、組織化学染色では、莢膜間質細胞、顆粒膜細胞の両者にアミノペプチデース活性を認めた。次に、生後 20 日目のマウスに 12 時間毎にベスタチン (4mg/ml, 100 μ l) を計 4 回 (ベスタチン投与群) または PBS (100 μ l) を計 4 回 (非ベスタチン投与群) 腹腔内に投与した条件下で、生後 21 日目に PMSG 5IU と生後 23 日目に hCG 5IU 投与し排卵誘発した。また hCG 投与 19 時間後に卵管内に排卵された卵の数を算定した。その結果、非ベスタチン投与群に対して、ベスタチン投与群で明らかな排卵数の増加を認めた。さらに、ベスタチンの卵巣嚢内への局所投与を行った。生後 20 日目のマウスをネブプタール麻酔下に開腹し、一方の卵巣嚢内にベスタチン (4mg/ml, 3 μ l) を投与 (ベスタチン投与群) し、反対側の卵巣嚢内にはコントロールとして PBS (3 μ l) を投与 (非ベスタチン投与群) した。排卵誘発は、腹腔内投与実験と同様に行い、卵巣あたりの排卵数を検討した。その結果、ベスタチン投与群は、反対側の非ベスタチン投与群に比べて有意な排卵数の増加を認めた。また、排卵現象そのものに対してアミノペプチデースが関与しているか否かについて、同様の卵巣嚢内への

局所投与実験系で、卵巢嚢内投与の時期を、hCG 投与直前に行い排卵数を検討した。その結果、ベスタチン投与群と、非ベスタチン投与群で排卵数に有意な差は認めなかった。以上の結果から、ベスタチンによる細胞外アミノペプチデース活性の阻害により、マウス卵胞発育が促進されることが明らかとされ、膜結合型アミノペプチデースは、マウス卵巢における新しい局所制御因子である可能性が示唆された。

生殖医学の分野は、体外受精一胚移植を初めとし、めざましい発展を遂げつつあるが、未だ不妊治療において、外因性ゴナドトロピン刺激に対して無反応あるいは低反応の患者は多く、その有効な治療法は確立されていない。現在、ベスタチンは、主に副作用の少ない免疫賦活剤として既に臨床応用されていることから、これらの患者に対して新しい補助療法の一つとなりうる可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、膜結合性アミノペプチデースの卵胞発育に対する生理的役割について幼若マウスの排卵誘発系を用いて検討したものである。

まず、生後6日目から35日目までのマウス卵巢組織切片において膜結合性アミノペプチデースの発現を検討したところ、莢膜間質細胞にアミノペプチデース-Nの発現を、また莢膜間質細胞および顆粒膜細胞の両者にアミノペプチデース活性を認めた。

次に、幼若マウスにアミノペプチデースの活性阻害剤であるベスタチンを全身または卵巢嚢内局所投与して、排卵誘発を施行し排卵に対する影響を検討した。その結果、ベスタチン投与群において、非ベスタチン投与群に比べて有意に排卵数が増加することが判明した。

これらの結果は、アミノペプチデース活性を阻害することで卵胞発育が促進されることを示しており、膜結合型アミノペプチデースが卵胞発育における新しい局所調節因子である可能性が示唆された。

以上の研究は、卵巢機能局所調節因子の解明に貢献し、生殖生理学に寄与するところが多い。

従って、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9年2月28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。