

氏名(本籍)	小 <sup>こ</sup> 谷 <sup>たに</sup> 衣 <sup>え</sup> 里 <sup>り</sup> (茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第2,184号		
学位授与年月日	平成11年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	Biological roles of angiotensin II via its type 2 receptor during rat follicle atresia (アンジオテンシンⅡのタイプ2受容体を介した卵胞閉鎖における役割の解析)		
主査	筑波大学教授	医学博士	山下 亀次郎
副査	筑波大学教授	薬学博士	後藤 勝年
副査	筑波大学教授	医学博士	小山 哲夫
副査	筑波大学教授	獣医学博士	八神 健一

## 論文の内容の要旨

### (目的)

アンジオテンシンⅡ(AⅡ)には2種類の受容体が知られており、タイプ1受容体(AT1)を介して血圧と体液量調節に重要な役割を演じており、タイプ2受容体(AT2)は主に胎児期に発現し成熟個体では皮膚の創傷治癒や卵巣の閉鎖卵胞などでの関与が示唆されている。卵巣においては閉鎖卵胞の顆粒膜細胞にAT2が特異的に発現し、初代培養系で顆粒膜細胞のアポトーシスの進行とともにAT2の発現が増加することから、閉鎖卵胞の形成にAT2が何らかの役割を果たしている可能性が示唆されている。本研究では、人工的な卵胞閉鎖モデル系を用い生体内における卵胞閉鎖とAT2発現の関連性を明らかにするとともに、顆粒膜細胞初代培養系を用い顆粒膜細胞におけるAT2を介するAⅡの作用を顆粒膜細胞の分化・増殖因子である卵胞刺激ホルモン(FSH)作用に対する効果を中心にAT2の卵胞閉鎖における役割を検討した。

### (対象と方法)

3週齢未熟雌ラットに妊馬血清性腺刺激ホルモン(eCG)を投与し3~6日後に卵巣を摘出し、切片作成と顆粒膜細胞の調整を行った。TUNEL法およびDNA断片化によりアポトーシスの検出を行った。また、オートラジオグラフィ、定量的RT-PCR法リガンド結合実験により、mRNAおよび蛋白レベルのAT2の局在と量的変化を検討した。更に、未熟雌ラットに合成エストロゲンであるジエチルstilbestrolを投与して得た顆粒膜細胞の初代培養系を用いFSHに対するAT2を介するAⅡの作用を検討した。

### (結果)

顆粒膜細胞のAT2はmRNAレベル、蛋白レベルともにeCG投与後の時間経過に従い増加した。オートラジオグラフィにより、時間経過とともに増加するAT2が閉鎖卵胞の顆粒膜細胞に限局することが示された。この変化は形態学的な閉鎖卵胞の形成とTUNEL法およびDNA断片化により検出された顆粒膜細胞のアポトーシスの進行に同調していた。また、顆粒膜細胞初代培養系においてAⅡはFSHによる黄体化ホルモン(LH)受容体の誘導およびエストロゲン産生増加を有意に減少させ、この作用は選択的AT1拮抗薬では制御されず、選択的AT2拮抗薬で抑制された。また、無血清下で培養することにより生じる顆粒膜細胞のDNA断片化をFSHは抑制するが、AⅡはこのFSHによる抑制効果を阻害した。更に、FSHは増殖、分化に重要な因子であるextracellular signal-regulated kinase(ERK)の活性を上昇させたが、AⅡはAT2を介してFSHによるERK活性上昇を有意に抑制した。

(考察)

卵巣の性周期におけるAT2の作用としては、卵巣を閉鎖へ向かわせる決定因子の一つである可能性と、すでに閉鎖を運命づけられた卵巣でその進行を促進する可能性の二つが考えられる。今回の検討によりAT2は排卵前卵巣には殆ど発現せず、顆粒膜細胞のアポトーシスを伴う閉鎖卵巣の形成と同調してその発現が増加したことから、後者の可能性が強く示唆された。また、機能的には、LH受容体の誘導、エストロゲン産生、ERKの活性化などの顆粒膜細胞の分化と維持に関わるFSH作用を抑制することにより、顆粒膜細胞のアポトーシスを促進させ卵巣を退縮させる役割を担っていると考えられる。ヒトの多嚢胞性卵巣症候群患者では、排卵障害や不妊症が認められ、また、本疾患患者の血中プロレニンおよびレニン濃度が高く、正常卵巣に比べ嚢胞性卵巣の顆粒膜細胞でレニンおよびA IIの発現が多いことが報告されており本疾患の病因・病態におけるAT2の意義が考えられる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

雌ラット卵巣切片、分離した顆粒膜細胞および顆粒膜細胞の初代培養系を用い、アンジオテンシンのタイプ2受容体(AT2)に関し、遺伝子レベル、蛋白レベルおよび受容体機能について検討した研究である。その結果、AT2は、卵巣機能に重要な作用をもつ卵巣刺激ホルモン(FSH)の多くの機能に対し抑制的に作用することにより、顆粒膜細胞のアポトーシスを伴う閉鎖卵巣の形成促進に作用していることを明らかにした。この知見は卵巣機能の調節機構に関する観点から高く評価できる。

今後、本研究を進展させることにより、臨床的に重要な疾患である多嚢胞性卵巣症候群(本症候群の病態については考察の項参照)の病因と病態の解明および治療法の確立につながることを期待される。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。