

氏名	エルベルタギー・ハリッド		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	第5019号		
学位授与年月日	平成19年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項		
学位論文名	In vitro effect of dehydroepiandrosterone sulfate on steroid receptors, aromatase, cyclooxygenase-2 expression, and steroid hormone production in preovulatory human granulosa cells (ヒト顆粒膜細胞におけるステロイド受容体、アロマトラーゼ、サイクロオキシゲナーゼ2の発現とステロイド産生に及ぼすデヒドロエピアンドロステロン硫酸の影響)		
論文審査委員	主査教授 石河 修	副査教授 井上 正康	
	副査教授 西沢 良記		

論文内容の要旨

【目的】男性ホルモンさらに女性ホルモンの前駆体であるデヒドロエピアンドロステロン硫酸 (DHEAS) の卵巣顆粒膜細胞に対する影響を調べ意義を検討した。

【対象】体外受精目的で卵子を採取時に得られた卵胞液に含まれる顆粒膜細胞を同意を得て初代培養細胞として使用した。

【方法】卵胞液を40%パーコールに重層遠心して中間層に分離される顆粒膜細胞をコラゲナーゼとヒアルロニダーゼを用いて分散し、DHEASを含まない培養液および20ng/mL DHEASまたは200ng/mL以上の濃度でDHEASを添加した培養液を加えて5日間培養した。トリブシンを用いて分散し回収した顆粒膜細胞からRNAを分離、アンドロゲン受容体 (AR)、エストロゲン受容体 (ER) α 、 β 、プロゲステロン受容体 (PR)、 3β ヒドロキシステロイド・デヒドロゲナーゼ (3β HSD)、アロマトラーゼ (Arom)、サイクロオキシゲナーゼ (Cox) 2のmRNA発現量をリアルタイムPCR法で調べるとともに、培養液中のホルモン濃度を測定した。

【結果】20ng/mLのDHEASを添加した群では顆粒膜細胞においてAR、 3β HSD、Arom、Cox2のmRNA発現が有意に増加し、ER β のmRNAの発現は抑制され、培養液中のエストロンおよびエストラジオールが有意に高値となった。一方DHEASを200ng/mL以上の濃度で添加した群での同様の検討では有意差がみられず、男性ホルモン作用をもつアンドロステンジオンが培養液中へ分泌され増加したことによると推察された。

【結論】DHEASは卵巣顆粒膜細胞において排卵に関与する遺伝子発現を促進していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

体外受精目的で卵子を採取時に得られた卵胞液に含まれる顆粒膜細胞を提供者の同意を得て初代培養細胞として5日間培養する際に、男性ホルモンさらに女性ホルモンの前駆体でもあるデヒドロエピアンドロステロン硫酸 (DHEAS) を添加して卵巣顆粒膜細胞に対する影響を調べ意義を検討している。

予備実験で顆粒膜細胞の増殖条件が良好となる16%牛胎仔血清を含む培養液にDHEASやエストロゲンが測定感度以下であることを確認している。卵胞液中より低い濃度である20ng/mLのDHEASを添加した顆粒膜細胞の群では、DHEASを添加しなかった細胞の群に比較して、培養液中のエストロンおよびエストラジオールが有意に高値となったばかりでなく、細胞のアンドロゲン受容体 (AR)、 3β ヒドロキシステロイド・デヒドロゲナーゼ3

(β HSD)、アロマターゼ (Arom)、サイクロオキシゲナーゼ2 (Cox2) のmRNA発現が有意に多く、エストロゲン受容体 β (ER β) のmRNAの発現は抑制されていた。一方DHEASを200ng/mLの濃度で添加した群では、培養液中のアンドロステンジオンおよびテストステロンが有意に高値になり、DHEASを2000ng/mLの濃度で添加した群では、テストステロンがさらに高値になった。DHEASを200ng/mLまたは2000ng/mLの濃度で添加された顆粒膜細胞ではAR、 3β HSD、Arom、Cox2のいずれのmRNA発現もDHEASを添加しなかった細胞の群に比較して有意差がなく、培養液中のエストロンおよびエストラジオールも有意差を示さず、男性ホルモン作用をもつアンドロステンジオンやテストステロンの培養液中への分泌が増加したことよると推察している。

これら見出された現象から20ng/mL程度の低濃度のDHEASによって顆粒膜細胞は 3β HSD、Aromの発現を増加させエストロゲンの分泌を増して、卵胞の発育と排卵の準備状態を形成しているが、排卵期になると高濃度のDHEASはエストロゲンの分泌にブレーキをかけていると考察している。

本研究は、排卵と黄体形成に重要な役割を担っている顆粒膜細胞が、血液中または卵胞液中のDHEASによって影響を受けており、低濃度のDHEASに暴露されていると女性ホルモン産生経路が優位となるが、排卵期の卵胞液中の高濃度のDHEASに暴露されると男性ホルモン産生経路が優位に傾くなど、顆粒膜細胞の機能調節に関与している可能性を示す研究であり、本研究者は博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断された。